

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
PHYSIOLOGIE ANIMALES

Laboratoire d'Hydrobiologie et
Environnement



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF ANIMAL
BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

Laboratory of Hydrobiology and
Environment

**Antibiorésistance et risque sanitaire lié à la
bactérie *Pseudomonas aeruginosa* isolée de
quelques systèmes aquatiques dans les
villes de Douala et Yaoundé (Cameroun)**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph. D en Biologie des
Organismes Animaux

Par : **EHETH Jean Samuel**
D.E.A en Hydrobiologie et Environnement

Sous la direction de
NOLA Moïse
Professeur

Année Académique : 2021





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 Monsieur **EHETH Jean Samuel**, Matricule 02R014, soutenance autorisée par la correspondance N° 499-2020/UYI/CRFD/URFD-SVSE/20 du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 05 Mars 2021, attestons que les corrections exigées au candidat lors de cette évaluation faite le 22 Mars 2021, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

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

Yaoundé, le 16 Avril 2021

Président du Jury


F. Nyukon

Examineurs



Sado Kamdem Sylvain, PhD
Food Technologist & Food Microbiologist
Associate Professor
University of Yaoundé I

Chef de Département


Charles Félicie
Bilong Bilong
Professeur

LISTE PROTOCOLAIRE

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

ANNÉE ACADEMIQUE 2019/2020

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 12 Juin 2020

ADMINISTRATION

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

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

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

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

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :
 MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste

17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
25	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	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	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste

36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)
--

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UII</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>

13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>
----	-----------------------------	------------	-----------------

14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste

44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

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

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

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

18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE 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	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

27	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (34)

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

11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
12	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste

20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
32	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
33	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
34	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste

25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (27)

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	AMINOOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
---	---------------------	------------	---------------------------

2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes</i>
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Chef Division. UN</i>
3	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
4	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
8	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
9	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
10	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
11	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
12	WOAFO Paul	Professeur	En poste

13	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
----	---------------------	-----------------------	----------------

14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
15	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
16	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	MINERESI
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste

28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

38	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

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

9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel</i>
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (06)	3 (2)	39 (18)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (14)
BPV	06 (0)	11 (02)	9 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (1)	9 (02)	12 (02)	03 (0)	34 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	02 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	09 (01)	25 (2)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	40 (5)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	43(7)
Total	69 (4)	99 (28)	130 (33)	45 (10)	343 (75)

Soit un total de **344 (75)** dont :

- Professeurs **70 (4)**
- Maîtres de Conférences **100 (28)**
- Chargés de Cours **130 (33)**
- Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DEDICACE

A la mémoire de ma mère **TCHOUNKWE Bernadette**

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement de l'Université de Yaoundé I. Je remercie le Professeur **NOLA Moïse** pour son accueil dans le laboratoire et sa disposition à diriger cette thèse. Par ses qualités humaines, il demeure pour moi un modèle de collaboration. 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 :

- tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, et notamment son Chef le Professeur **BILONG BILONG Charles-Félix** pour la formation reçue et pour avoir inculqué en moi la passion de la recherche ;
- les Professeurs **ZEBAZE TOGOUET Serges Hubert**, **AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM** et **FOTO MENBOHAN Samuel** pour avoir fourni le matériel nécessaire à l'analyse physicochimique des échantillons d'eau ;
- les Docteurs **LONTSI DJIMELI Chrétien**, **TCHAKONTE Siméon** et **TAMSA ARFAO Antoine**, pour leur sollicitude et leur aide dans la valorisation de ce travail sur le plan statistique. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect ;
- les Docteurs **MOUSSA Djaouda**, **NOUGANG Mireille Ebiane**, **MOUGANG Marlyse Luciane**, **NOAH EWOTI Olive Vivien**, qui m'ont accueilli au sein du laboratoire d'Hydrobiologie et Environnement avec bienveillance et m'ont fait profiter de leurs conseils. C'est un agréable devoir pour moi de leur exprimer ici ma profonde et respectueuse gratitude ;
- messieurs **MANDJEM Maurice**, **AWONO BIOLO Ruben**, Mme **SIDA ONAMBE Carole Françoise**, **ATEBA BESSA Henriette** pour m'avoir facilité l'acquisition du matériel de microbiologie dans un contexte financier très tendu ;
- monsieur **NGEUSSEU Etienne** qui a sacrifié son temps et son véhicule pour aurer les multiples déplacements sur le terrain, pendant toute la durée de l'étude ;
- mon père **MOUSSIAN Raymond**, mon grand père **NYAMSI Joël Régence**, mon oncle **TCHOUTA NYAMSI Alain**, mes frères **Ergelin**, **Laurent** et ma sœur **Josiane** pour tous les sacrifices consentis ;

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce document, qu'ils trouvent en ce moment, toute ma reconnaissance.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE	i
DEDICACE	xiii
REMERCIEMENTS	xiv
SOMMAIRE	xv
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	xixx
LISTE DES FIGURES	xxii
LISTE DES TABLEAUX	xxiii
RESUME	xxv
ABSTRACT	xxvi
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I – REVUE DE LA LITTERATURE	5
I-1- GENERALITES SUR LES EAUX SOUTERRAINES	6
I-1-1- Définition et origine.....	6
I-1-2- Caractéristiques des eaux souterraines.....	6
I-1-3- Pollution des eaux souterraines.....	7
I-2- GENERALITES SUR <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	9
I-2-1- Caractéristiques microbiologiques.....	9
I-2-2- Habitat	10
I-2-3- Facteurs influençant la survie et la croissance de <i>P. aeruginosa</i> dans les eaux	11
I-2-4- Mode de contamination, pathologies et facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> ...	13
I-2-5- Génome.....	16
I-3- GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES.....	16
I-3-1- Définition et origine.....	16
I-3-2- Classification et mode d’action des antibiotiques	17
I-4- CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES DANS LES VILLES DE DOUALA ET YAOUNDE.....	20
I-5- RESISTANCE DE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> AUX ANTIBIOTIQUES.....	21
I-5-1- Principaux antibiotiques actifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
I-5-2- Résistance naturelle	21
I-5-3- Résistance acquise	21
I-6- DISSEMINATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DANS LES EAUX NATURELLES	22
I-6-1- Rôle des effluents hospitaliers.....	22

I-6-2- Rôles de effluents des abattoirs.....	22
I-5-3- Rôles d'autres effluents anthropiques.....	23
1-7- IMPACT DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX SUR LES RESISTANCES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES.....	23
I-7-1- Stress oxydatif et résistance aux antibiotiques	24
I-7-2- Stress nutritif.....	24
I-7-3- Stress thermique	25
I-7-4- Stress acide	26
I-7-5- Limitation en oxygène	26
I-7-6- Métaux lourds	27
I-7-7- Stress osmotique et rayonnement ultraviolet (UV)	28
CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES	29
II-1- MATERIEL.....	30
II-1-1- Présentation des villes de Yaoundé et Douala	30
II-1-2- Caractérisation des hôpitaux sélectionnés pour l'étude	33
II-1-3- Choix des sites d'échantillonnage de l'eau	34
II-1-4- Caractéristiques des puits sélectionnés	35
II-2- METHODES.....	38
II-2-1- Prélèvement des échantillons d'eau	35
II-2-2- Analyse des facteurs abiotiques des puits	39
II-2-3- Isolement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> des échantillons d'eau.....	40
II-2-4- AntibioGramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
II-2-5- Détermination de quelques phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	43
II-2-6- Détermination de l'index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) dans les sites d'échantillonnage.....	44
II-2-7- Relations entre les facteurs abiotiques et les abondances cellulaires de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
II-2-8- Hiérarchisation des facteurs abiotiques.....	45
II-2-9- Comparaison entre les prévalences de résistantes aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i> des puits proches des hôpitaux (PPH) et des puits excentrés des hôpitaux (PEH).....	45
II-2-10- Corrélation entre les abondances cellulaires de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> des PPH et des effluents hospitaliers.....	45
II-2-11- Relations entre la résistance aux antibiotiques et les facteurs abiotiques	46

CHAPITRE III – RESULTATS ET DISCUSSION	47
III-1- RESULTATS.....	48
III-1-1- Variation des paramètres physicochimiques des eaux de puits	48
III-1-2- Variation des paramètres hydrologiques des puits.....	53
III-1-3- Variation des paramètres météorologiques des villes de Douala et Yaoundé	54
III-1-4- Variation des abondances cellulaires de <i>P. aeruginosa</i>	57
III-1-5- Corrélation établie entre les abondances cellulaires de <i>P. aeruginosa</i> et les facteurs abiotiques	61
III-1-6- Hierarchisation de l'influence des facteurs abiotiques établie sur les variations des abondances cellulaires de <i>P. aeruginosa</i>	65
III-1-7- Résistance aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i> isolé des puits de Douala et de Yaoundé.....	66
III-1-8- Fréquences des résistances de <i>P. aeruginosa</i> dans les effluents hospitaliers, et dans les puits proches de hôpitaux (PPH) ainsi que dans les puits excentrés des hôpitaux (PEH).....	69
III-1-9- Fréquences de quelques phénotypes de résistance exprimés par <i>P. aeruginosa</i> dans les PPH, les PEH et les effluents hospitaliers	71
III-1-10- Multirésistance aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i> dans les PPH, les PEH et les effluents hospitaliers.....	76
III-1-11- Index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) des PPH, des PEH et des effluents hospitaliers	76
III-1-12- Analyse comparée des fréquences des résistances aux antibiotiques de <i>P. aeruginosa</i> entre les PPH et les PEH	80
III-1-13- Corrélation établie entre les abondances cellulaires de <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> des PPH et des effluents hospitaliers	82
III-1-14- Relations établie entre les résistances aux antibiotiques et les facteurs abiotiques	83
III-2- DISCUSSION.....	85
III-2-1- Variation des facteurs météorologiques.....	85
III-2-2- Variation des paramètres physicochimiques des eaux de puits	87
III-2-3- Variation des facteurs hydrologiques des puits	91
III-2-4- Variation des abondances cellulaires de <i>P. aeruginosa</i> dans les eaux souterraines et risque sanitaire.....	91

III-2-5- Relations établie entre les abondances cellulaires de <i>P. aeruginosa</i> et les facteurs abiotiques	93
III-2-6- Hierarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique d'abondance de <i>P. aeruginosa</i> isolé des puits	95
III-2-7- Emergence des souches de <i>P. aeruginosa</i> résistantes aux antibiotiques dans les puits de Douala et Yaoundé	96
III-2-8- Phénotypes de résistance aux β -lactamines dans les eaux souterraines.....	98
III-2-9- Multirésistance de <i>P. aeruginosa</i> aux antibiotiques dans les eaux souterraines..	99
III-2-10- Comparaison des prévalences des souches résistantes de <i>P. aeruginosa</i> entre les PPH et les PEH.....	100
III-2-11- Relations entre la résistance aux antibiotiques et les facteurs abiotiques du milieu.....	102
III-2-12- Implications de la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé	104
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	105
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	109
ANNEXES.....	131
LISTE DES PUBLICATIONS TIREES DE LA THESE.....	136

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

AAC : Acétyltransférases

AHA : American Hospital Association (Association Américaine des Hôpitaux)

ANT : Nucléotidyltransférases

APH : Phosphotransférases

APHA: American Public Health Association

ATCC: American Type Culture Collection

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Elargi

BUCREP : Bureau Camerounais de Recensement de la Population

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CDCPUS: Centers for Disease Control and Prevention US

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} Génération

C4G : Céphalosporine de 4^{ème} génération

DL₅₀ : Dose Infectieuse 50

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GPS: Global Positioning System

IMP : Métallo bêta-lactamase "IMiPenemase"

LPS : Lipopolysaccharides

MBL : Métallo Bêta-Lactamase

MES : Matières En Suspension

MexAB-OprM : Multidrug efflux system « MexB : pompe ; MexA : lipoprotéine de liaison à la membrane ; OprM : porine »

MexEF-OprN : Multidrug efflux system « MexF : pompe ; MexE : lipoprotéine de liaison à la membrane ; OprN : porine »

MexGH-OprD : Multidrug efflux system « MexH : pompe ; MexG : lipoprotéine de liaison à la membrane ; OprD : porine »

MexXY-OprM : Multidrug efflux system « MexY : pompe ; MexX : lipoprotéine de liaison à la membrane ; OprM : porine »

MRA : Multirésistance aux Antibiotiques

NASA : National Aeronautics and Space Administration

NTU : Nephelometric Turbidity Unit

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

OMS/WHO : Organisation Mondiale de la Santé/World Health Organization

OXA : Bêta-lactamase « active on OXAcillin »

PNUD : Programme des Nations Unies pour le Développement

Pt. Co : Platinium Cobalt

PSE : Bêta-lactamase “*Pseudomonas* Specific Enzyme”

INS : Institut National de la Statistique

ISO : International Organization for Standardization

RpoS : Gene « RNA polymerase, sigma S »

SHV : Bêta-lactamase « SulfHydryl Variable »

TEM : Bêta-lactamase, d’après le nom du patient Temoneira chez qui elle a été identifiée pour la première fois

VIM : Métallo bêta-lactamase « Verona IMipenemase »

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Photos illustrant les colonies bleu-vert de <i>P. aeruginosa</i> en culture et les cellules de <i>P. aeruginosa</i> vues au microscope électronique à transmission.....	10
Figure 2 : Quelques symptômes des maladies causées par <i>P. aeruginosa</i>	14
Figure 3 : Principaux facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> et voies de sécrétion ou d'excrétion.....	15
Figure 4 : Noyau β -lactame des antibiotiques de la famille des β -lactamines.....	17
Figure 5 : Structures moléculaires des β -lactamines.....	18
Figure 6 : Structures moléculaires des inhibiteurs de β -lactamases.....	18
Figure 7 : Structure chimique des Aminoglycosides, exemple de la tobramycine.....	19
Figure 8 : Structures chimiques de l'acide nalidixique et ciprofloxacine.....	19
Figure 9 : Localisation de la ville de Yaoundé et des points de prélèvement des Echantillons d'eau.....	31
Figure 10 : Localisation de la ville de Douala et des points de prélèvement des échantillons d'eau.....	32
Figure 11 : Photographies de quelques puits analysés à Douala et Yaoundé.....	38
Figure 12 : Variation spatiale des valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux de puits dans la ville de Douala.....	49
Figure 13 : Variation spatiale des valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux de puits dans la ville de Yaoundé	50
Figure 14 : Variations des valeurs moyennes des paramètres hydrologiques des puits de Douala et Yaoundé.....	54
Figure 15 : Variations mensuelles des paramètres météorologiques mesurés dans les villes de Douala et Yaoundé.....	55
Figure 16 : Variation des abondances cellulaires de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
Figure 17 : Fréquences des souches R, S, et I de <i>Pseudoonas aeruginosa</i> isolées des eaux De puits de Douala et Yaoundé.....	68
Figure 18 : Fréquences des résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les effluents hospitaliers, les puits proches des hôpitaux et les puits excentrés des hôpitaux.....	70

Figure 19 : Fréquences de quelques phénotypes de résistance aux β -lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa* isolé des effluents hospitaliers, des puits proches des hôpitaux et des puits excentrés des hôpitaux.....72

Figure 20 : Prévalences de quelques phénotypes de résistance aux Aminoglycosides chez *Pseudomonas aeruginosa* isolé des effluents hospitaliers, des puits proches des hôpitaux et des puits excentrés des hôpitaux.....74

Figure 21 : Prévalences de quelques phénotypes de résistance aux Fluoroquinolones chez *Pseudomonas aeruginosa* isolé des effluents hospitaliers, des puits proches des hôpitaux et des puits excentrés des hôpitaux.....75

Figure 22 : Prévalences des souches multirésistantes de *Pseudomomas aeruginosa* isolées des effluents hospitaliers, des puits proches des hôpitaux et des puits excentrés des hôpitaux.....77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques des puits sélectionnés dans la ville de Douala.....	36
Tableau II : Caractéristiques des puits sélectionnés dans la ville de Yaoundé.....	37
Tableau III : Liste standard des antibiotiques testés.....	42
Tableau IV : Liste complémentaire des antibiotiques utilisés.....	42
Tableau V : Variation des abondances cellulaires ponctuelles de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> suivant les mois de campagnes dans les puits de Douala et Yaoundé.....	58
Tableau VI : Variation des abondances cellulaires ponctuelles de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> suivant les mois de campagnes dans les effluents hospitaliers.....	59
Tableau VII : Corrélations entre les abondances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les paramètres météorologiques et hydrologiques des puits de Douala.....	62
Tableau VIII : Corrélations entre les abondances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les paramètres météorologiques et hydrologiques des puits de Yaoundé.....	62
Tableau IX : Corrélations entre les abondances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les paramètres physicochimiques des eaux de puits à Douala.....	64
Tableau X : Corrélations entre les abondances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et les paramètres physicochimiques des eaux de puits à Yaoundé.....	64
Tableau XI : Hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique d'abondance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les puits de Douala et Yaoundé.....	66
Tableau XII : Diamètres d'inhibition des antibiotiques testés sur la souche de référence <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	67
Tableau XIII : Index de la multirésistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les effluents hospitaliers et les puits de Douala.....	78
Tableau XIV : Index de la multirésistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les effluents hospitaliers et les puits de Yaoundé.....	79
Tableau XV : Comparaison des fréquences des souches résistantes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> entre les PPH et les PEH à Douala.....	80
Tableau XVI : Comparaison des prévalences des souches résistantes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> entre les PPH et les PEH à Yaoundé.....	81
Tableau XVII : Corrélation entre les abondances cellulaires des PPH et des effluents hospitaliers à Douala.....	82

Tableau XVIII : Corrélation entre les abondances cellulaires des PPH et des effluents hospitaliers à Yaoundé.....82

Tableau XIX : Relations entre les résistances aux antibiotiques et les facteurs abiotiques des puits à Yaoundé.....84

Tableau XX : Relations entre les résistances aux antibiotiques et les facteurs abiotiques des puits à Douala.....85

RESUME

Les données sur la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des environnements aquatiques au Cameroun sont rares. Cette résistance accroît pourtant les risques de morbidité et de mortalité lors d'une infection d'origine hydrique puisque les possibilités thérapeutiques sont diminuées. Le but de ce travail est de contribuer à l'élaboration des outils de gestion des risques liés à la présence de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* résistante dans les eaux souterraines de deux zones urbaines, Douala et Yaoundé. Dans chaque ville, 14 puits à usage public et 2 effluents hospitaliers ont été étudiés. Les analyses ont porté sur l'isolement et le dénombrement des cellules de *P. aeruginosa* par la méthode de filtration, la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* par la méthode de Kirby Bauer, et l'examen de quelques facteurs abiotiques du milieu (facteurs physicochimiques, hydrologiques et météorologiques). Le test MANOVA a permis d'hierarchiser l'impact des facteurs abiotiques sur les variations des abondances cellulaires. Il apparaît que les eaux souterraines de Douala et Yaoundé ont été légèrement acides ($\text{pH} < 7$). Leur conductivité électrique maximale a fluctué autour de $500 \mu\text{S}/\text{cm}$ à Douala et de $700 \mu\text{S}/\text{cm}$ à Yaoundé. Ce qui traduit un degré de minéralisation moyen des eaux souterraines. L'oxygénation de ces eaux n'a pas dépassé $6,5 \text{ mg}/\text{L}$ en moyenne. Leurs charges en matières organiques ($2,9$ à $7,2 \text{ mg}/\text{L}$) ont été supérieures à celles souvent rencontrées dans les milieux oligotrophes. Le dénombrement des bactéries a révélé des variations mensuelles des abondances cellulaires allant de 1 à 218 UFC/100 mL, et de 1 à 210 UFC/100 mL, respectivement dans les puits de Douala et de Yaoundé. En considérant ces abondances cellulaires, le risque sanitaire lié à *P. aeruginosa* serait plus élevé lors d'une contamination par voie cutanée que lors d'une contamination par voie orale, qui requiert des abondances plus élevées d'environ 10^{10} UFC. Toutefois, du fait des fluctuations temporelles des densités cellulaires observées dans les puits, ce risque sanitaire a été non permanent. Ces fluctuations ont été impactées principalement par la conductivité électrique, le CO_2 et l' O_2 dissous. Les souches de *P. aeruginosa* isolées des puits ont exprimé dans l'ensemble des résistances aux antibiotiques vis-à-vis desquels elles sont normalement sensibles. C'est le cas de l'ofloxacine (30% ; $n = 312$), pipéracilline (22% ; $n = 312$), ticarcilline (15,84% ; $n = 312$), ceftazidime (14,15% ; $n = 311$) et de la gentamicine (11,22% ; $n = 311$). L'émergence de ces souches résistantes est préoccupante en raison d'une réduction significative des options thérapeutiques en cas d'infection hydrique. Afin de déterminer l'origine de ces résistances, les puits ont été répartis en puits proches des hôpitaux (PPH) et en puits excentrés des hôpitaux (PEH). De

même la sensibilité aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* isolées des effluents hospitaliers a été évalué dans les deux villes. Le test de régression multiple a été appliqué pour déterminer le pourcentage de variance des diamètres d'inhibition des antibiotiques expliqué par les facteurs physicochimiques des eaux de puits. Il en ressort que dans les effluents hospitaliers des deux villes, des prévalences de résistance supérieures à 50% ont été obtenues avec la ticarcilline, ofloxacin, céfépime, pipéracilline, ticarcilline/clavulanate, amikacine et la gentamicine. L'index de la multirésistance MRA (établie sur une échelle de 0 à 1) a varié de 0,57 à 0,74 et de 0,74 à 0,83 respectivement à Yaoundé et à Douala. Dans les PPH, l'index MRA a oscillé entre 0,47 et 0,68 et entre 0,48 et 0,79 à Yaoundé et à Douala respectivement. Les valeurs ont été plus faibles dans les PEH, soit de 0,1 à 0,47 à Yaoundé et de 0,2 à 0,48 à Douala. La comparaison des prévalences des souches résistantes a montré des niveaux de résistance significativement plus élevés dans les PPH par rapport aux PEH. Ceci s'expliquerait par la vulnérabilité des PPH aux effluents hospitaliers qui sont chargés en bactéries résistantes. Dans les puits des deux villes, moins de 5% des résistances ont été expliquées par les variations des facteurs abiotiques du milieu. Cette faible relation serait en effet liée aux magnitudes des facteurs abiotiques, qui seraient moins stressantes pour *P. aeruginosa* et affecteraient faiblement sa sensibilité aux antibiotiques. Elle expliquerait aussi en partie les faibles prévalences des résistances observées dans les PEH. Seul le pH acide a exercé un impact significatif sur les résistances. Ceci serait en rapport avec le stress acide que ce paramètre génère dans les eaux souterraines. Il ressort de cette étude que les eaux souterraines de Douala et Yaoundé sont contaminées par *P. aeruginosa* résistant aux antibiotiques. A travers la consommation de ces eaux, la résistance peut être transférée aux populations ainsi qu'aux animaux. En plus du contrôle du bon usage des antibiotiques en milieu hospitalier, le contrôle de l'acidification des eaux est préconisé pour la surveillance et la limitation des résistances dans les eaux naturelles.

Mots clés : Résistance aux antibiotiques, *P. aeruginosa*, eaux souterraines, effluents hospitaliers, facteurs abiotiques, risque sanitaire.

ABSTRACT

Data on antibiotic resistance of bacteria isolated from natural water sources in Cameroon are rare. This resistance, however, increases the risk of morbidity and mortality during a waterborne infection since the therapeutic options are reduced. The aim of this study was to contribute to the development of risk management strategies that are related to the presence of resistant bacteria in groundwater in the urban areas of Douala and Yaoundé. In each of these urban cities, 14 wells and 2 hospital effluents were analyzed. These analyses included the isolation and identification of *P. aeruginosa* cells by the filtration method, their resistance to antibiotics by the diffusion disk method and the examination of some abiotic factors of the environment (physicochemical, hydrological and weather). The multi-factor ANOVA test was used to prioritize the impact of abiotic factors on changes in cell abundances. It appears that groundwater of Douala and Yaoundé are slightly acidic (pH <7) with high electrical conductivity values of 500 μ S / cm and 700 μ S / cm in Douala and Yaoundé respectively. This reflects an average mineralization rate of groundwater. Oxygenation of these waters did not exceed 6.5 mg / L on average. These cities have high organic matter loads (2.9 to 7.2 mg / L) which are above those often encountered in oligotrophic ecosystems. Bacteria colonies count have revealed monthly variations in cell abundances ranging from 1 to 218 CFU / 100 mL in the wells of Douala and from 1 to 210 CFU / 100 mL in those of Yaoundé. Considering the cell abundance, the health risk associated with *P. aeruginosa* would be higher during dermal contamination than during an oral contamination, which requires higher abundances of about 10¹⁰ CFU. However, because of the temporal fluctuations in cell densities observed in wells, this health risk was non-permanent. The fluctuations were mainly influenced by electrical conductivity, CO₂ and dissolved O₂. These three parameters would exert more influence on the enzymatic activity and metabolism of *P. aeruginosa*. Isolated strains of *P. aeruginosa* from the wells generally expressed resistance to antibiotics against which they are normally sensitive. This was the case for ofloxacin (30%, n = 312), piperacillin (22%, n = 312), ticarcillin (15.84%, n = 312), ceftazidime (14.15%, n = 311) and gentamicin (11.22%, n = 311). The appearance of these resistant strains is a major concern because of its significant reduction in the treatment options for waterborne infection. In order to determine the origin of these resistances, wells were divided into two main groups. Those close to hospitals (PPH) and those far from hospitals (PEH). Similarly, the susceptibility to antibiotics of *P. aeruginosa* strains isolated from hospital effluents was evaluated in both cities. The multiple regression test was applied to

evaluate the variance (%) of antibiotic diameter inhibitions as influenced by physicochemical factors of the well. Hospital effluents of both cities, present a resistance prevalence that was greater than 50% as obtained with ticarcillin, ofloxacin, cefepime, piperacillin, ticarcillin / clavulanate, amikacin and gentamicin. The multidrug resistance index (MRA) established on a scale of 0 to 1 varied from 0.57 to 0.74 and from 0.74 to 0.83 in Yaoundé and Douala respectively. In the PPH, the MRA index fluctuated between 0.47 and 0.68 and between 0.48 and 0.79 for wells in Yaoundé and Douala respectively. Its values were lower in PEH, ranging from 0.1 to 0.47 in Yaoundé and 0.2 to 0.48 in Douala. Comparatively, the prevalence of resistant strains was significantly high in PPH than in PEH. This was explained by the vulnerability of PPH to hospital effluents that contains resistant bacteria. In wells of the two cities, less than 5% of the resistances obtained can be explained by the variations of abiotic factors of the medium. It is indeed established that environmental stress triggers in *P. aeruginosa*, molecular adaptation mechanisms which leads to antibiotics resistance mechanisms. This weak relationship could be related to the magnitudes of abiotic factors, which would be less stressful for *P. aeruginosa* and slightly affect its susceptibility to antibiotics. This partly explains the low prevalence of resistance observed in PEH. Among the parameters, only the pH seems to have had a significant impact on the resistance, which could be due to the acidic stress generated by this factor in groundwater. At the end of this study, it was realized that, groundwater of Douala and Yaoundé are contaminated with antibiotic-resistant *P. aeruginosa*. This resistance could be transferred to human and populations upon consumption of the water if not treated. In addition to controlling the proper use of antibiotics in hospitals, the control of water acidity is recommended in the monitoring and limitation processes of resistance in natural waters.

Key words: Antibiotic resistance, *P. aeruginosa*, groundwater, hospital effluents, abiotic factors, health risk.

INTRODUCTION

Les villes des pays en développement fortement urbanisées sont confrontées à de nombreuses difficultés liées à l'assainissement, à l'indisponibilité en eau potable et aux maladies y relatives. Les deux grandes métropoles du Cameroun, Douala et Yaoundé qui concentrent près de 40% de la population urbaine du pays, affichent un taux de croissance démographique annuel estimé à 5,6% (PNUD Cameroun, 2003 ; BUCREP, 2010). Cette urbanisation accélérée conduit à une forte demande en eau sans cesse croissante, ainsi qu'à une forte consommation d'antibiotiques susceptible de générer des résistances bactériennes dans les eaux naturelles (Akoachere *et al.*, 2013 ; Branchet, 2018). La majorité des populations a directement recours aux eaux souterraines pour son usage (bain, vaisselle, lessive, boisson, agriculture) (Akoachere *et al.*, 2013). Il est estimé qu'environ 1/3 des usagers utilisent ces eaux sans aucune garantie de leur qualité (Abomo *et al.*, 2013).

Plusieurs travaux ont relevé une pollution microbiologique des eaux souterraines de Douala et Yaoundé (Nola *et al.*, 2001, Nougang *et al.*, 2011 ; Nnanga *et al.*, 2014). Ces eaux hébergent une microflore variée comprenant notamment les bactéries fécales commensales, les bactéries pathogènes strictes ou pathogènes opportunistes (Nola *et al.*, 2001, Nougang *et al.*, 2011). L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* a plusieurs fois été identifiée dans ces eaux (Nola *et al.*, 2001 ; Akoachere *et al.*, 2013). Ce microorganisme est impliqué dans des infections communautaires (otite externe, conjonctivite, dermite) très redoutables chez les sujets immunodéprimés (Carpentier *et al.*, 2003). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2006) recommande le suivi régulier de *P. aeruginosa* dans les eaux à usage public. Ce qui intègre l'analyse des densités cellulaires et leurs facteurs de variation, le but étant de comprendre le potentiel de transmission du germe à l'homme.

P. aeruginosa est davantage pointé du doigt parce que les infections qu'elle cause sont parfois difficiles à traiter du fait de sa grande résistance naturelle aux antibiotiques (Hanock et Speert, 2000). Dans les villes de Douala et Yaoundé où l'accès à l'eau potable et l'assainissement est limité, la présence de cette bactérie résistante dans les eaux naturelles peut devenir un problème de santé publique. Akoachere *et al.* (2013) y ont décélé la présence des souches de *P. aeruginosa* multirésistantes à la doxycycline, cotrimoxasole, tétracycline et à l'ampicilline. L'origine de ces résistances n'a cependant pas été établie. Mais d'autres auteurs ont rapporté que la forte consommation d'antibiotiques dans les hôpitaux des villes de Douala et Yaoundé sélectionne des souches de *P. aeruginosa* résistantes aux pénicillines, céphalosporines de 3^{ème} génération, carbapénèmes et aux aminoglycosides. Les fréquences de ces résistances ont parfois dépassé 45% (Ateba *et al.*, 2013 ; Ebongue *et al.*, 2015 ; Kamga *et al.*, 2015). Il est donc prévisible que les eaux usées des hôpitaux de ces villes contiennent des

bactéries résistantes et des gènes de résistance. Elles représenteraient alors une voie de dispersion majeure des résistances dans les eaux naturelles (Fuentefria *et al.*, 2011 ; Gaze *et al.*, 2011 ; Czekalski *et al.*, 2012). Cela implique que les populations consommatrices des eaux souterraines et vivant à proximité des centres hospitaliers seraient exposées à une contamination par les bactéries multi-résistantes. Et pourtant très peu d'études ont jusqu'ici porté sur l'influence des effluents hospitaliers sur l'émergence des résistances dans les eaux naturelles aussi bien à Douala qu'à Yaoundé.

D'autres analyses ont montré que les conditions environnementales qui règnent dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé ne sont pas toujours favorables à la survie des microorganismes. Ces eaux sont acides, parfois moins oxygénées et leurs teneurs en nutriments organiques sont variables (Nola *et al.*, 2001, Nougang *et al.*, 2011). Ces propriétés chimiques font des eaux souterraines de Douala et Yaoundé des environnements potentiellement stressants pour *P. aeruginosa*. Le stress déclenche chez les bactéries des mécanismes moléculaires d'adaptation qui les protègent non seulement du stress, mais aussi modifient l'expression des gènes et la physiologie cellulaire de façon à influencer profondément leur sensibilité aux antibiotiques (Poole, 2012b ; Macdonald et Kuehn, 2013). Les mécanismes moléculaires de résistance tels que l'efflux actif (refoulement des antibiotiques vers l'extérieur), la modification de la cible ou la réduction de la perméabilité membranaire aux antibiotiques ont souvent été induits par les stress environnementaux (Moskowitz *et al.*, 2004 ; Fraud et Poole, 2011). Cependant, l'impact des propriétés chimiques des eaux souterraines de Douala et Yaoundé sur l'émergence des bactéries résistantes n'est pas encore suffisamment documenté. Ce manque de données peut sensiblement limiter les stratégies de contrôle des résistances dans les eaux naturelles. Le but de ce travail est de contribuer à l'élaboration des outils de gestion des risques liés à la présence de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* résistante dans les eaux souterraines de deux zones urbaines, Douala et Yaoundé. Plus spécifiquement, il s'agit de :

- ✓ caractériser physiquement et chimiquement quelques puits de Douala et de Yaoundé ;
- ✓ déterminer les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans ces eaux et leurs facteurs de variation ;
- ✓ évaluer les résistances aux antibiotiques de *P. aeruginosa* isolé des eaux souterraines et des effluents hospitaliers de Douala et Yaoundé ;

- ✓ rechercher l'impact potentiel des effluents hospitaliers, ainsi que le rôle de quelques facteurs abiotiques sur la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* isolées des puits.

Le présent manuscrit est organisé en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique. Le deuxième chapitre présente le matériel et les principales méthodes utilisés. Le troisième chapitre expose les principaux résultats obtenus et les interprétations ainsi que la discussion. Le travail se termine par une conclusion, des recommandations et des perspectives.

CHAPITRE I – REVUE DE LA LITTÉRATURE

I-1- GENERALITES SUR LES EAUX SOUTERRAINES

I-1-1- Définition et origine

Les eaux souterraines sont celles qu'on trouve sous la surface du sol, à l'état liquide ou à l'état gazeux. Elles résultent du séjour dans le sol des eaux en perpétuel déplacement dans l'environnement (Banton et Bangoy, 1997). 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). La vitesse des infiltrations est fonction de la perméabilité du sol et est contrôlée par la porosité du matériau géologique. L'infiltration de l'eau est rapide dans les sols constitués en majorité de graviers et de sable, et lente dans les sols argileux et limoneux (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 postule 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 rélictées 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-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). Les eaux souterraines sont relativement moins exposées au soleil que les eaux de surface ; elles sont moins agitées et les amplitudes de variation des paramètres tels que température ou de l'oxygène dissous y sont parfois atténuées (CRS, 2005).

I-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). Dans les terrains à perméabilité d'interstices tels que les sables, la pollution ne se transmet qu'à une très faible vitesse. La grandeur de la surface des particules solides permet une rétention importante, surtout s'il y a des particules argileuses (Schoeller, 2011). Dans les terrains à perméabilité de fissures (terrains cristallins et cristallophylliens), la vitesse n'est pas très rapide, la pollution le long de ces fissures est dirigée. Dans les terrains karstiques, la pénétration est rapide souvent instantanée dans les diaclases ouvertes et les gouffres. La vitesse de circulation y est grande et aucune filtration ne se produit (Schoeller, 2011).

I-1-3-1- Urbanisation

L'urbanisation avec de fortes concentrations de population dans des zones localisées, augmente considérablement la charge de la pollution, due aux rejets d'eaux usées et de déchets solides susceptibles de contaminer les eaux souterraines (Le Jallé, 2000). Les populations urbaines génèrent d'énormes volumes d'eaux usées et rejettent de grandes quantités de déchets solides et liquides. Ces déchets comprennent des matières plastiques, des bactéries, des résidus d'antibiotiques, des produits chimiques, de la graisse et de l'huile, des métaux, verre, papier, déchets organiques (Biswas, 2012). L'absence de réseau d'évacuation des eaux usées, dans la plupart des centres urbains en Afrique, oblige les populations à utiliser des latrines à fosse et/ou rejettent les eaux usées non traitées dans les cours d'eau. Cela crée une énorme pollution diffuse du système des eaux souterraines. Les eaux usées contiennent des sels, des bactéries, du phosphore et de nombreux autres produits chimiques (IGESOBTA, 2015). Le ruissellement des rues et des bâtiments porte également des polluants tels que les bactéries, du pétrole et des produits chimiques qui peuvent entrer dans les eaux souterraines (IGESOBTA, 2015).

I-1-3-2- Activité Industrielle

L'élimination incontrôlée des effluents industriels a un impact énorme sur les eaux souterraines, en particulier les déchets chimiques et nucléaires (Biswas, 2012). Les déchets industriels sont produits pendant les processus de fabrication. Les déchets industriels peuvent être toxiques, corrosifs ou réactifs. Quelques exemples peuvent être cités : les huiles, les solvants, les produits chimiques, les déchets radioactifs, de la ferraille et bien d'autres. S'ils sont mal gérés, ces déchets peuvent conduire à des conséquences dangereuses par la pollution des eaux souterraines dont les populations dépendent. Les eaux usées provenant des manufactures ou des procédés chimiques dans les industries, contribuent beaucoup à la pollution des eaux souterraines. La plupart des grandes industries ont des installations de traitement, mais de nombreuses petites industries n'en disposent pas (IGESOBTA, 2015).

I-1-3-3- Exploitation agricole

L'agriculture a des effets directs et indirects sur la qualité des eaux souterraines. Les impacts directs incluent le transport vers la nappe de quantités excessives de nitrates (NO_3^-) et de phosphates (PO_4^-) issus d'engrais, de pesticides conçus pour éliminer les parasites. L'impact direct inclue également le transport de bactéries présentes dans les excréments et le fumier en direction de la nappe, ainsi que les modifications hydrologiques liées à l'irrigation et le drainage (Böhlke, 2002). Les impacts indirects incluent les changements dans les

interactions eau-roche dans les sols et les nappes aquifères causés par une concentration accrue des principaux ions et des métaux, et par les pesticides des eaux souterraines, à des concentrations localisées dans les aquifères peu profonds (Böhlke, 2002).

I-2- GENERALITES SUR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

I-2-1- Caractéristiques microbiologiques

Pseudomonas aeruginosa plus communément appelé bacille pyocyanique, est une bactérie à Gram négative appartenant à la famille des Pseudomonadaceae. Elle se présente sous forme de bâtonnet, de 1 à 3 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large. Elle possède un flagelle monotriche polaire lui conférant une forte mobilité (Weihui et Shouguang, 2015). *P. aeruginosa* est doté d'un métabolisme aérobie stricte. Elle est catalase positive et oxydase positive (Weihui et Shouguang, 2015). Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable, pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seules sources de carbone.

La température optimale de croissance de *P. aeruginosa* se situe entre 30 et 37°C (mésophile). La capacité de croître à une température de 45°C permet de différencier *P. aeruginosa* des autres espèces appartenant au genre *Pseudomonas* (Schmidt-Lorentz *et al.*, 2010).

En culture, cette espèce produit de façon habituelle trois pigments diffusibles dans le milieu extracellulaire : la pyocyanine, pigment bleu-vert soluble dans le chloroforme, caractéristique de l'espèce d'où le nom de bacille pyocyanique ; la pyoverdine, pigment jaune-vert fluorescent insoluble dans le chloroforme, synthétisé aussi par les autres espèces du genre *Pseudomonas* ; et la pyorubine, pigment brun-rouge synthétisée de façon transitoire. *P. aeruginosa* dégage une odeur aromatique caractéristique de seringia (Arbrisseau de la Famille des Hydrangeacées, *Philadelphus coronarius*) due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment (Jayasekara *et al.*, 2008). La figure 1 présente les aspects de *P. aeruginosa* sur milieu de culture et au microscope électronique.

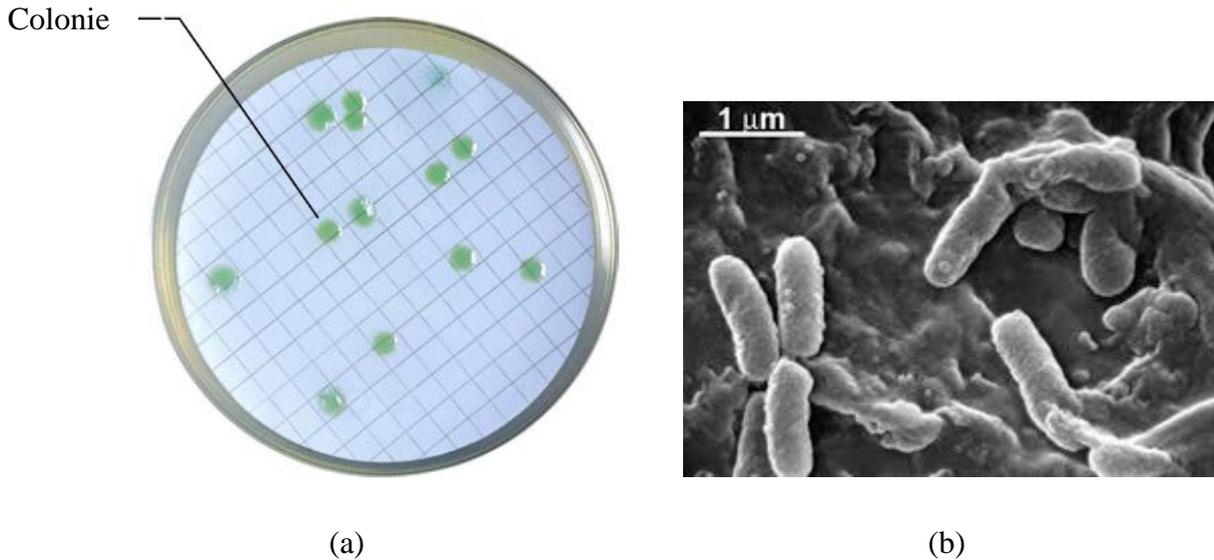


Figure 1 : (a) Colonies bleu-vert de *P. aeruginosa* isolées sur gélose au cétrimide. (b) Cellules en bâtonnet de *P. aeruginosa* vues au microscope électronique à transmission (Biokar diagnostic, support photo BK165HA, BM14508).

I-2-2- Habitat

P. aeruginosa est une bactérie ubiquiste qui est très répandue dans l'environnement. Elle vit naturellement dans l'eau douce et de mer, les sols humides ou à la surface des végétaux. (Cassidy *et al.*, 1997 ; Ahn *et al.*, 2001). Elle peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, sur tout type de support et de matériel humide à une température entre 4°C et 45°C. Certains auteurs considèrent que sa présence dans les eaux naturelles constitue un indicateur de contamination microbiologique (Ridgway *et al.*, 1990 ; Warbuton *et al.*, 1994, Geldreich, 1996). Dans les eaux de surface recevant des eaux usées, la concentration en *P. aeruginosa* peut varier de 1 à 10^4 UFC/100 mL (Geldreich, 1996). Les abondances du germe dans les eaux de rivière périurbaines, peuvent être importantes et varier de 10^2 à 2×10^2 UFC/100 mL (Alonso *et al.*, 2009). Il a été relevé que les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* peuvent atteindre $1,6 \times 10^3$ UFC/100 mL dans les eaux souterraines de Yaoundé (Nola *et al.*, 2001) ; alors que dans les piscines dont l'eau n'est pas chlorée, la concentration en *P. aeruginosa* peut dépasser les 10^3 UFC/100 mL (Mena et Gerba, 2009). Outre les eaux naturelles, *P. aeruginosa* peut aussi se retrouver dans la flore bactérienne intestinale de l'Homme et dans la bouche des animaux comme les bovins, les chiens, les chevaux et les porcs (OCDE, 1997).

I-2-3- Facteurs influençant la survie et la croissance de *P. aeruginosa* dans les eaux

La dynamique de *P. aeruginosa* dans l'eau peut être traduite par sa croissance dans l'espace et/ou le temps. Elle est fonction des facteurs abiotiques et biotiques du milieu.

I-2-3-1- Facteurs abiotiques

I-2-3-1-1- Température et pH

La température constitue le principal facteur physique pouvant influencer la survie et la multiplication de *P. aeruginosa* dans les eaux. Schmidt-Lorentz *et al.* (2010) ont montré que la température optimale de croissance de cette bactérie se situerait autour de 37°C. Une augmentation de celle-ci au dessus de 45°C déstabilise la structure membranaire de la paroi bactérienne et entraîne la mort cellulaire. Toutefois, *P. aeruginosa* peut survivre à des températures comprises entre 10°C et 45°C dans l'eau saline et l'eau distillée (Garrity, 2005). Il est à noter qu'à des températures inférieures à 10°C, la multiplication des souches de *P. aeruginosa* est considérablement ralentie voire inexistante (Wilkinson et Kerr, 1998).

P. aeruginosa est capable de survivre et de se multiplier dans des eaux dont le pH est compris entre 6 et 9. Cette bactérie semble pouvoir s'adapter au pH alcalin (Heurlier *et al.*, 2005). En revanche sa survie en milieu acide est faible (Garrity, 2005).

I-2-3-1-2- Conductivité électrique

Les eaux présentant une concentration ionique importante favoriseraient la multiplication des bactéries. La survie de *P. aeruginosa* est nettement moins importante dans l'eau distillée que dans des eaux fortement minéralisées. En effet les ions Ca²⁺ et Mg²⁺ jouent un rôle important dans la stabilisation des parois bactériennes (Teixeira *et al.*, 2001). Borella *et al.* (2003) ont montré dans l'eau chaude domestique une corrélation entre la présence de *Pseudomonas spp* et des concentrations élevées de calcium mais faibles de fer. Il faut noter que des souches de *P. aeruginosa* sont susceptibles de survivre dans des eaux de mer qui présentent une force ionique élevée (Kurath et Morita, 2003).

I-2-3-1-3- Besoins nutritifs

P. aeruginosa peut se multiplier dans des environnements oligotrophes tels que des eaux minérales ou distillées (Kerstens *et al.*, 1996 ; Jayasekara *et al.*, 2008). Une étude menée avec différents types de substrats carbonés a montré que 20 µg de carbone par litre suffisent à stimuler la croissance de *P. aeruginosa* stockée dans des eaux d'alimentation à température

ambiante (Van der Kooij *et al.*, 2003). Les bactéries de cette espèce sont capables de mobiliser une très grande variété de composés organiques tels que les acides aminés, acides carboxyliques, sucres et les acides aromatiques pour leur alimentation (Schreiber *et al.*, 2007).

I-2-3-1-4- Lumière naturelle

La lumière naturelle notamment sa composante ultraviolette (UV), aurait un impact négatif sur la survie de *P. aeruginosa* (Teixeira *et al.*, 2001). L'effet inactivant de ce paramètre pourrait s'expliquer par la production de composés toxiques appartenant à des formes réactives de l'oxygène telles que, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles qui sont responsables de l'altération de l'ADN bactérien (Gourmelon *et al.*, 1994 ; Arana *et al.*, 2010). Ainsi, une dose de 55 J/m² de lumière naturelle est nécessaire pour inactiver 90 % d'une suspension de *P. aeruginosa* dans l'eau (Wolfe, 2006). Cependant ces bactéries possèdent un système de réparation à l'obscurité dans lequel le gène *rec A* est impliqué. L'expression de ce gène chez *P. aeruginosa* augmente 2 à 6 heures après la fin d'une exposition à des doses comprises entre 100 et 600 J/m² de lumière naturelle. Ce qui explique selon Wolfe (2006), la tolérance relativement élevée de *P. aeruginosa* aux rayonnements UV en comparaison aux autres bactéries hydriques ne possédant pas de gène *Rec A* (*E. coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp.*, *Vibrio cholerae*).

I-2-3-1-5- Oxygène dissous

P. aeruginosa est une bactérie aérobie qui se procure de l'énergie par respiration aérobie avec comme dernier accepteur d'électrons, l'oxygène. Sa croissance est strictement dépendante de la concentration en oxygène dissous dans le milieu. Elle peut toutefois bien s'adapter à des conditions pauvres en O₂ en utilisant les nitrates (NO₃⁻) comme derniers accepteurs d'oxygène. On parle alors de la respiration des nitrates (Weihui et Shouguang, 2015).

I-2-3-1-6- Désinfectants

Les désinfectants tels que le chlore, l'ozone, le chloramine et l'ion argent rejetés dans l'environnement aquatique sont susceptibles de réduire considérablement les abondances de *P. aeruginosa* dans l'eau. Plusieurs études s'intéressant à l'efficacité du chlore pour la désinfection des eaux de piscine ont montré que des traitements avec 0,5 mg de chlore/L d'eau pendant 3 heures ou 1mg de chlore/L d'eau pendant 10 secondes à 10 minutes permettent une inactivation de *P. aeruginosa* (Borgmann-Strahsen, 2003). La sensibilité de *P. aeruginosa* aux chloramines a été étudiée par Ward *et al.* (2004). Ces auteurs ont montré que

10³ UFC/mL de cette espèce est inactivée à 99% par une dose de 1 mg/L de chloramine appliquée pendant un temps de contact compris entre 4 et 9,5 minutes. Cette inactivation est plus rapide à pH 6 qu'à pH 8. À 3 mg/L de chloramine, l'inactivation se produit en 1,5 et 4,5 minutes aux pH 6 et 8 respectivement. Une concentration de 80 µg/L en ion argent entraîne une réduction de 99,99% des *P. aeruginosa* après 6 heures de contact (Huang *et al.*, 2009). Selon Silvestry-Rodriguez *et al.* (2007), l'activité de ces ions ne serait pas inhibée par la présence de matière organique.

I-2-3-2- Facteurs biotiques

La flore autochtone de l'eau a un pouvoir antagoniste vis-à-vis du développement de *P. aeruginosa* (Moreira *et al.*, 1994 ; Vachee et Leclerc, 2005). Des taux de survie plus importants ont été observés pour les cellules de *P. aeruginosa* inoculés dans des eaux filtrées ou autoclavées (Teixeira *et al.*, 2001). Ce phénomène serait dû à une forte compétition entre flore autochtone et *Pseudomonas* pour les sources de carbone mobilisables dans les eaux. Pour Van Der Kooij *et al.* (2003), cette compétition pourrait expliquer la relative faible abondance de *Pseudomonas* (moins de 1% des bactéries) retrouvée dans les eaux de surface, dans les eaux brutes ou dans les eaux souterraines.

I-2-4- Mode de contamination, pathologies et facteurs de virulence de *P. aeruginosa*

I-2-4-1- Mode de contamination

Parmi les bactéries du genre *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* est l'espèce la plus communément associée à des pathologies humaines. Outre le fait qu'elle soit la cause d'infections nosocomiales chez les sujets dont l'immunité est fragilisée (elle représente 10% des infections nosocomiales hospitalières), *P. aeruginosa* est reconnue comme responsable d'infections lors de la baignade en eaux contaminées (Mena and Gerba, 2009). La voie principale de contamination est le contact, soit direct avec un sujet infecté, soit indirect par le biais de l'eau, les surfaces ou les objets contaminés. La contamination est favorisée en cas de rupture de la barrière cutanée, plaie ou dermatose, et en cas de modification de la flore cutanée commensale. Bien que plus rare, une contamination par ingestion d'eau ou par voie aérienne est possible, mais généralement limitée aux patients fragilisés, atteints, par exemple, de mucoviscidose (infection respiratoire caractérisée par une trop grande viscosité des sécrétions bronchiques) (Mena and Gerba, 2009).

I-2-4-2- Pathologies dues à *P. aeruginosa*

Les pathologies dues à *P. aeruginosa* sont couramment associées aux baignades (baignades naturelles et artificielles, piscines). Elles sont constituées par les otites externes, les conjonctivites et les kératites (inflammation de la cornée) et les folliculites (inflammation des follicules du tégument) ou dermites (Mena et Gerba, 2009). Ces pathologies, le plus souvent bénignes (sans conséquences graves) chez les sujets sains, peuvent être graves chez les sujets dont l'immunité est compromise (maladies hématologiques, déficits en immunoglobulines, diminution du nombre de globules blancs polynucléaires neutrophiles ou neutropénie, diabète sucré, transplantation d'organes, grands brûlés, SIDA, chimiothérapie). Ainsi, l'OMS estime qu'il est difficile d'évaluer réellement le nombre d'infections à *P. aeruginosa* car les symptômes sont en général limités chez les sujets sains et ne conduisent pas nécessairement à une consultation médicale (OMS, 2006). Il est à noter que le risque d'infection s'accroît pendant la baignade, car la peau sèche, qui constitue une barrière naturelle efficace contre les infections, s'altère après une immersion prolongée (l'eau contenue dans la couche cornée peut augmenter de 25 à 30 fois) et ses facultés de barrière anti-infectieuse peuvent être altérées, notamment chez les enfants (Mena et Gerba, 2009).

La figure 2 présente quelques dermites (ulcère et écthyma gangrenosum) dues à *P. aeruginosa* (Morand et Morand, 2017).



Figure 2 : Quelques symptômes des maladies causés par *P. aeruginosa* : (a) photographie d'un pied atteint d'un ulcère. (b) photographie d'un doigt atteint d'une écthyma gangrenosum. (Morand et Morand, 2017).

I-2-4-3- Facteurs de virulence de *P. aeruginosa*

P. aeruginosa élabore de nombreux facteurs de virulence qui lui permettent de survivre aussi bien dans les différents hôtes que dans l'environnement (Lazdunski, 1998 ; Lavenir, 2007). Ces facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent ainsi à *P. aeruginosa* de coloniser son hôte. Ils comprennent notamment les adhésines, impliquées dans l'adhérence et la mobilité de *P. aeruginosa*. Les adhésines bactériennes sont typiquement des structures macromoléculaires assemblées à la surface bactérienne comme le flagelle, les pili de type IV, et les fimbriae. Plusieurs molécules de surface telles que le lipopolysaccharide interviennent aussi dans l'adhésion de *P. aeruginosa* sur l'épithélium respiratoire (Pier *et al.*, 1996 ; Pier, 2002). 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. Des exemples sont de l'exotoxine A, l'élastase, les phospholipases C, les rhamnolipides et les exoenzymes sécrétés par le système de sécrétion de type III. La figure 3 résume ces facteurs de virulence.

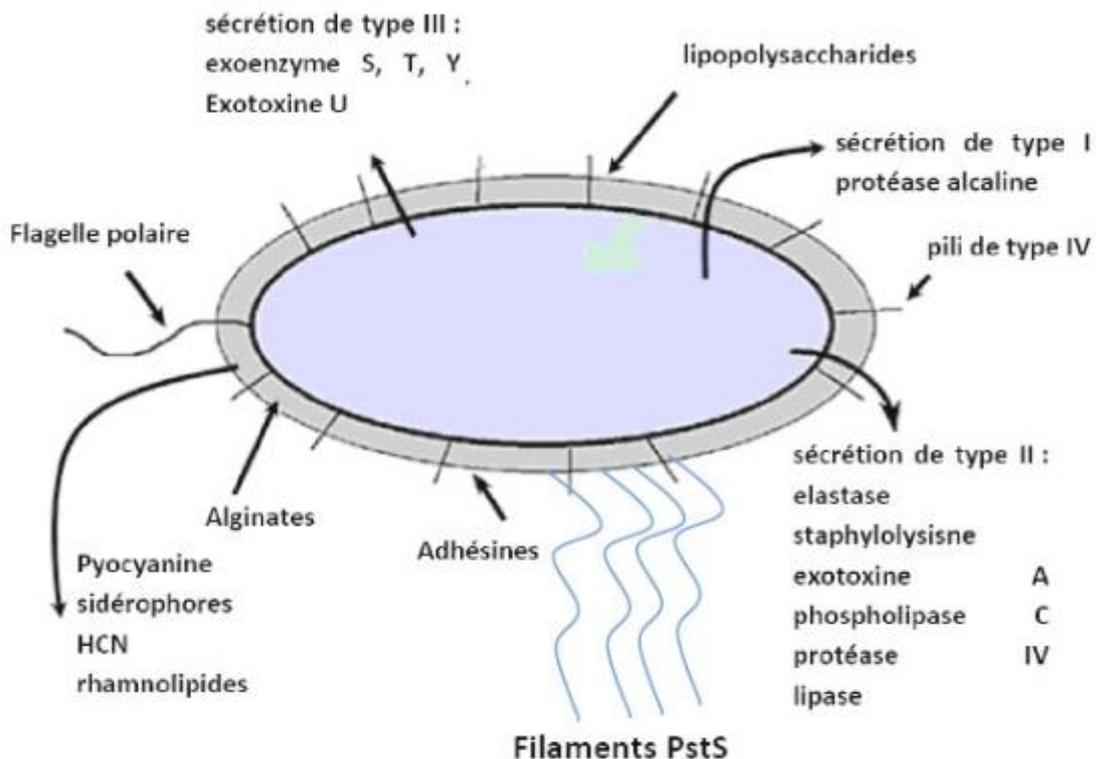


Figure 3 : Schéma présentant les principaux facteurs de virulence de *P. aeruginosa* et les voies de sécrétion ou d'excrétion (Lavenir, 2007).

I-2-5- Génome

Le séquençage complet du génome de *P. aeruginosa* a été réalisé pour la première fois par Stover *et al.* (2000). C'est le génome bactérien le plus grand jamais séquencé. Ce chromosome bactérien comprend 6,3 millions de paires de bases, codant pour 5570 gènes, dont la fonction est soit connue avec certitude, soit supposée par comparaison avec des séquences des génomes d'autres espèces bactériennes, soit inconnue. Environ 70 à 90% des gènes sont spécifiques de l'espèce, et 10% à 30% sont spécifiques du clone bactérien. Le génome chromosomique code notamment pour la plupart des facteurs de pathogénicité de *P. aeruginosa*, et pour les multiples protéines conférant la résistance aux différentes classes d'antibiotiques. La proportion de gènes de régulation (10% du génome) est la plus importante de tous les génomes bactériens séquencés connus (Stover *et al.*, 2000). Outre le chromosome bactérien, *P. aeruginosa* possède de nombreux plasmides transférables par conjugaison (d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un pont cytoplasmique) ou par transduction (par l'intermédiaire d'un vecteur viral). La taille, la complexité et la variabilité du génome de *P. aeruginosa* reflètent une évolution adaptative de l'espèce lui permettant de survivre dans différents environnements, et expliquent en partie sa grande résistance aux antibiotiques (Lavenir, 2007).

I-3- GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES

I-3-1- Définition et origine

Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique ou semi synthétique, capable d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (Van Bambeke et Tulkens, 2008). Une grande partie des antibiotiques utilisés en thérapeutique est soit directement synthétisée par des microorganismes, soit dérivée de molécules produites par ces microorganismes. Quelques microorganismes environnementaux comme les bactéries du genre *Streptomyces*, ou des champignons du genre *Penicillium* contribuent à la majeure partie de la production de ces antibiotiques. Certaines molécules, comme les sulfonamides, le triméthoprime, le chloramphénicol, la ciprofloxacine sont des antibiotiques synthétiques (Van Bambeke et Tulkens, 2008).

I-3-2- Classification et mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que leurs structures et leurs mécanismes d'action. L'action antibactérienne s'effectue selon quatre principaux mécanismes : une inhibition de la synthèse des constituants de la paroi, un blocage de la synthèse des protéines, un blocage de la synthèse des acides nucléiques et une altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (Van Bambeke et Tulkens, 2008).

Il existe trois familles majeures d'antibiotiques utilisés en milieu clinique, les β -lactamines, les aminoglycosides, et les quinolones. A ces trois familles principales, s'ajoutent les tétracyclines, les macrolides, les polymixines et les sulfonamides.

I-3-2-1- β -lactamines

Cette famille d'antibiotiques comprend un très grand nombre de molécules qui comptent parmi elles les premiers antibiotiques utilisés en médecine (les pénicillines). Les β -lactamines représentent également les antibiotiques les plus utilisés en thérapeutique des infections bactériennes. Leur structure moléculaire de base est le noyau β -lactame représenté à la figure 4 (Nordmann *et al.*, 2012).

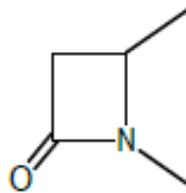


Figure 4 : Noyau β -lactame des β -lactamines (Nordmann *et al.*, 2012)

La plupart des β -lactamines comprennent en plus du noyau β -lactame un second cycle associé à des chaînes latérales qui permettent de différencier plusieurs groupes de β -lactamines, notamment les pénicillines, dont les molécules possèdent un second cycle thiazolidine (ou pénème) accolé au noyau β -lactame ; les céphalosporines, constituées d'un noyau β -lactame associé à un second cycle dihydrothiazine (ou céphème) ; les monobactames, dont le noyau est limité au cycle β -lactame ; les carbapénèmes, se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, constituant le second cycle pénème. La figure 5 représente les structures moléculaires simplifiées des diverses β -lactamines (Nordmann *et al.*, 2012).

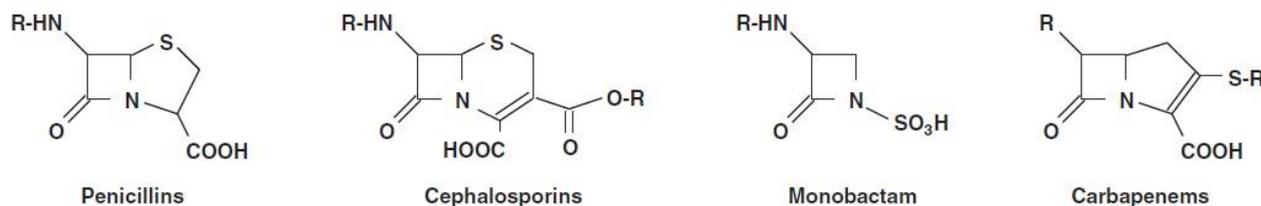


Figure 5 : Structure moléculaire des β -lactamines (Nordmann *et al.*, 2012)

Les β -lactamines ont un spectre d'activité plus ou moins large et agissent sur les bactéries en phase de multiplication, en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Leur effet est bactéricide. Les pénicillines sont souvent associées aux molécules capables de se lier aux β -lactamases, enzymes bactériennes hydrolysant les β -lactamines, augmentant leur efficacité. Ces molécules sont les inhibiteurs de β -lactamases. Les plus importantes sont les clavams (acide clavulanique), le sulbactam et le tazobactam. La figure 6 représente les structures moléculaires des inhibiteurs de β -lactamases.

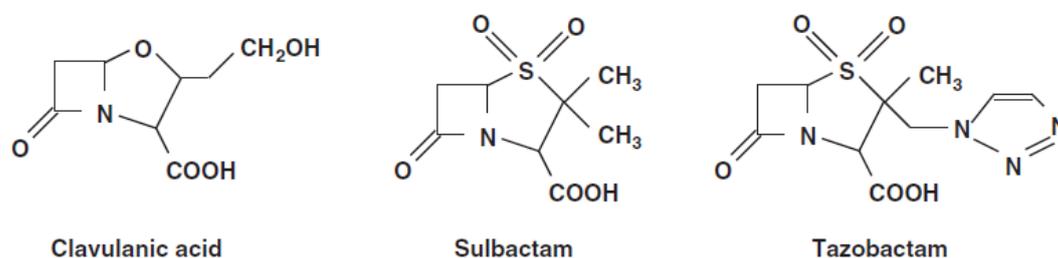


Figure 6 : Structure moléculaire des inhibiteurs de β -lactamases (Nordmann *et al.*, 2012)

I-3-2-2- Aminoglycosides ou Aminosides

Les Aminoglycosides sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides aminés (Van Bambeke et Tulkens, 2008). Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et semi-synthétiques. Les plus importants sont la tobramycine, la gentamicine, et l'amikacine. La figure 7 montre la structure chimique d'un exemple d'Aminoglycoside, la tobramycine. Ces antibiotiques sont bactéricides, à large spectre et concentration dépendant. Dans le cytoplasme bactérien, l'Aminoglycoside se fixe à des sites spécifiques de la sous-unité 30S. La liaison de l'antibiotique perturbe la synthèse protéique par un mécanisme complexe qui inclut, d'une part, l'inhibition de l'étape d'élongation et, d'autre part, l'introduction d'erreurs dans la lecture de l'ARNm, conduisant à la production de protéines erronées (Van Bambeke et Tulkens, 2008).

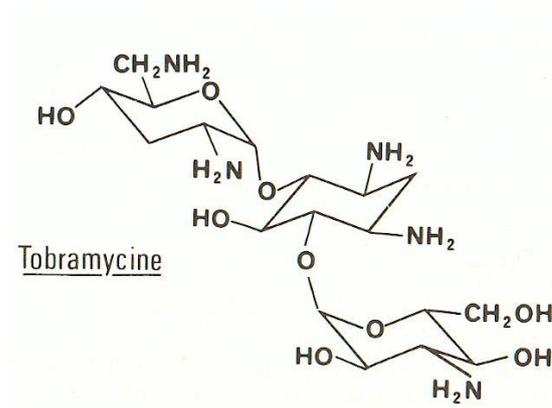


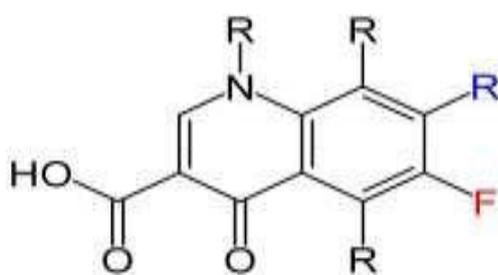
Figure 7 : Structure chimique des Aminoglycosides, exemple de la tobramycine (Van Bambeke et Tulkens, 2008)

I-3-2-3- Quinolones

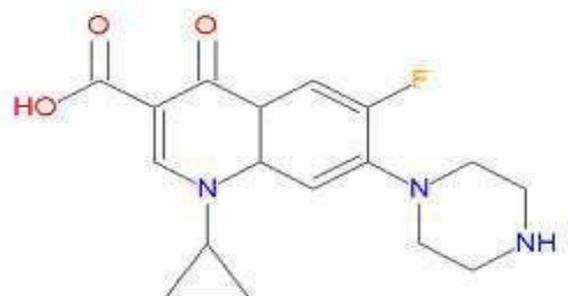
Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimiques, dérivant de l'acide nalidixique (Nordmann, 2006). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4.

Les quinolones de première génération, dont le représentant est l'acide nalidixique, n'agissent que sur les bacilles à Gram négatif et ne sont utilisées que dans le traitement des infections urinaires (Nordmann, 2006). Actuellement de nouveaux composés de cette même famille d'antibiotiques ont été mis au point, dont certains additionnés d'un atome de fluor (norfloxacin, péfloxacin, ciprofloxacine, ofloxacine...) possèdent une activité plus étendue et sont indiqués dans le traitement des infections systémiques et tissulaires à bacilles à Gram négatif et à cocci à Gram positif (Nordmann, 2006).

La figure 8 présente les structures chimiques de quelques quinolones, l'acide nalidixique et la ciprofloxacine.



Acide nalidixique



Ciprofloxacine

Figure 8 : Structures chimiques de l'acide nalidixique et de la ciprofloxacine (Nordmann, 2006).

Après avoir pénétré à l'intérieur des cellules bactériennes par des protéines de perméabilité spécifique, ces molécules hydrophiles inhibent les topoisomérases II (ADN gyrase) et IV empêchant, empêchant ainsi le déroulement harmonieux de l'ADN et sa réplication (Nordmann, 2006).

I-4- CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES DANS LES VILLES DE DOUALA ET YAOUNDE

Les antibiotiques sont fortement consommés dans les villes de Douala et Yaoundé en médecine humaine et vétérinaire. Cette consommation est influencée par la grande taille de la population et par la présence des centres hospitaliers de référence au nombre de lits actifs importants (Wogaing, 2010). Les études antérieures rapportent que les antibiotiques majoritairement consommés dans les hôpitaux de Douala entre 2005 et 2012 étaient les β -lactamines (amoxicilline, amoxicilline + clavulanate, ticarcilline, pipéracilline, pipéracilline + tazobactame, céfalotine, céfoxitine, céfotaxime, ceftazidime, imipénème); les Aminoglycosides (gentamicine, tobramycine, neltimicine, amikacine); les Fluroquinolones (norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacine); le sulfaméthoxazole + triméthoprime et la fosfomycine (Ebongue *et al.*, 2015). A Yaoundé l'usage des antibiotiques dans les fermes avicoles a été quantifié par Kamini *et al* (2016). Les antibiotiques couramment utilisés par les éleveurs étaient les Fluoroquinolones, les Sulfonamides, les Tétracyclines et les Nitrofuranes (57,1%, 53,1%, 46,9% et 17,3 % respectivement).

Les circuits illicites de vente d'antibiotiques sont répandus à Douala et Yaoundé. L'achat des antibiotiques se fait dans le secteur formel et le secteur informel. Les antibiotiques peuvent s'acheter sans prescription médicale, une pratique illégale (Wogaing, 2010). A cause de la précarité économique des populations et de l'irrégularité des médicaments en pharmacie, plusieurs individus se dirigent vers les vendeurs de rue pour l'achat des antibiotiques (Nde *et al.*, 2015). Par ailleurs, la qualité des antibiotiques vendus dans ces villes est parfois inférieure aux normes. Cette consommation inadaptée des antibiotiques constitue un facteur favorisant l'émergence des résistances bactériennes (Wogaing, 2010). Cette résistance peut être favorisée aussi par la décharge directe des antibiotiques périmés dans la nature, pratiquée par certaines structures sanitaires et pharmaceutiques, (Wogaing, 2010).

I-5- RESISTANCE DE *P. AERUGINOSA* AUX ANTIBIOTIQUES

P. aeruginosa se singularise des autres espèces bactériennes par sa grande résistance naturelle à plusieurs antibiotiques. Elle s'en distingue également par sa capacité à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance lui permettant de résister à la plupart des antibiotiques disponibles actuellement (Cavallo *et al.*, 2007). Cette grande capacité de résistance hors du commun est liée à la grande taille de son génome qui rend la bactérie particulièrement problématique en santé publique.

I-5-1- Principaux antibiotiques actifs sur *P. aeruginosa*

Les antibiotiques généralement utilisés dans le traitement des infections à *P. aeruginosa* appartiennent aux familles des β -lactamines (ticarcilline, aztréonam, imipénème, ceftazidime), Aminoglycosides (gentamicine, amikacine), Fluoroquinolones (ciprofloxacine) et Polymyxines (colistine) (Rio *et al.*, 2002). Malgré leur activité antibactérienne importante, ces molécules deviennent de moins en moins efficaces vis-à-vis de *P. aeruginosa* à cause de l'émergence des souches résistantes (Giamarellou et Kanellakopoulou, 2008).

I-5-2- Résistance naturelle

P. aeruginosa présente des résistances naturelles vis-à-vis d'un grand nombre d'antibiotiques notamment les Aminopénicillines, les Céphalosporines de 1^{ères} et 2^{ème} génération, Céfixime, Céfuroxime, Céfotaxime, Ceftriaxone, Ertapénème, Kanamycine, Tétracyclines, Chloramphénicol, Triméthoprimé, et les Quinolones (CA-SFM / EUCAST, 2016). Cette particularité résulte d'une accumulation de mécanismes de résistance multiple (Bonomo et Szabo, 2006). Le haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques repose sur la faible perméabilité membranaire, la production de la céphalosporinase induite AmpC, et la présence de gènes codant pour différents systèmes d'efflux (MexAB-OprM et MexXY-OprM) (Lister, 2009).

I-5-3- Résistance acquise

Les résistances acquises chez *P. aeruginosa* font intervenir l'un des cinq mécanismes suivants : (i) la mutation des cibles des antibiotiques (les gyrases, les topoisomérases ou les protéines ribosomales) (Higgins *et al.*, 2003) qui confèrent une résistance aux Fluoroquinolones et aux Aminoglycosides, (ii) la dérégulation de la céphalosporinase AmpC (Bonomo et Szabo, 2006) qui entraîne une résistance à la ticarcilline, à la pipéracilline et aux Céphalosporines de 3^{ème} génération, (iii) la perte de la porine OprD (Bonomo et Szabo, 2006) conduisant à la résistance aux Carbapénèmes, (iv) la surexpression des systèmes d'efflux

(Livermore, 2002 ; Hocquet *et al.*, 2006) provoquant une résistance aux β -lactamines, aux Fluoroquinolones, aux Tétracyclines, au chloramphénicol, à la triméthoprimine et aux Aminoglycosides, (v) l'expression de gènes plasmidiques d'une grande variété de β -lactamases (PSE, OXA, TEM, SHV, BLSE, MBL) et d'enzymes inactivant les Aminoglycosides (Bonomo et Szabo, 2006) qui conduit à une résistance aux Céphalosporines anti-pyocyaniques (BLSE), aux Carbapénèmes (MBL : IPM, VIM...) et aux Aminoglycosides. La résistance à la colistine impliquerait des modifications structurales de la membrane externe (Denton *et al.*, 2002).

1-6- DISSEMINATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DANS LES EAUX NATURELLES

I-6-1- Rôle des effluents hospitaliers

Les hôpitaux sont des lieux de forte consommation d'antibiotiques. Ces molécules sont administrées chez des patients souffrant d'infections bactériennes. La forte consommation d'antibiotiques dans les hôpitaux exerce une pression de sélection des bactéries résistantes susceptibles de se retrouver dans les effluent hospitaliers (Albrich *et al.*, 1999 ; Vander Stichele *et al.*, 2006 ; Kunz et Brook, 2010). Les effluents hospitaliers chargés en bactéries résistantes représentent une importante voie d'entrée de souches multirésistantes dans les eaux naturelles. Ils participent ainsi à la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement. De nombreuses souches bactériennes d'intérêt clinique, présentant des phénotypes de multirésistance ont été isolées et caractérisées à partir d'effluents hospitaliers. Plusieurs études font ressortir la prévalence du caractère de multirésistance comme étant très élevée dans les effluents hospitaliers, selon les souches (Chitnis *et al.*, 2004 ; Passerat *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2010 ; Fuentefria *et al.*, 2011). Par ailleurs certaines structures génétiques comme les plasmides et les intégrons ont été retrouvées à de fortes proportions ($\approx 50\%$) dans un panel de 150 Pseudomonadaceae et de 486 Enterobacteriaceae isolées d'effluents hospitaliers (Guo *et al.*, 2011).

I-6-2- Rôles de effluents des 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 l'animal traité aux antibiotiques 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. Certaines études ont décrit des

phénotypes de résistance à de nombreux antibiotiques chez des souches de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Campylobacter* spp., d'*Enterococcus* spp., et d'*Aeromonas* ayant été isolées d'effluents d'abattoirs et/ou de stations d'épurations (STEP) recevant des effluents d'abattoirs (Da Costa et al., 2008 ; Araújo et al., 2010 ; Igbiosa et al., 2012). Les prévalences de souches multirésistantes varient entre 37,5 et 100% selon les souches, les résistances testées et le nombre de résistances considéré.

I-6-3- Rôles 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., 2012a). Certains effluents industriels, et particulièrement les effluents d'usine de production d'antibiotiques ont été étudiés. Deux études ont mis en évidence que plus de 97% des souches bactériennes isolées à la sortie de STEP traitant des effluents d'usines de production d'oxytétracycline ou de pénicilline sont multi-résistantes, et 80% des souches isolées de ces effluents sont résistantes à plus d'une dizaine des antibiotiques testés (Li et al., 2009, 2010). D'autres auteurs ont mis en évidence l'impact d'effluents d'une usine pharmaceutique sur l'augmentation de la prévalence de souches d'*Acinetobacter* résistantes et multirésistantes aux antibiotiques dans un réseau d'eaux usées urbaines (Guardabassi et al., 1998). Les usines de production d'antibiotiques ne sont pas les seules à avoir une influence sur l'émergence de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement ; d'autres effluents d'usines induisant des pollutions aux métaux lourds, seraient également impliqués dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. En effet des phénomènes de co-sélection de résistances peuvent avoir lieu, soit par des éléments génétiques mobiles possédant des gènes de résistance aux métaux en question et des gènes de résistance aux antibiotiques, soit par des mécanismes d'efflux conférant un large spectre de résistance à la fois aux métaux et à certains antibiotiques (Rosewarne et al., 2010 ; Knapp et al., 2011).

1-7- IMPACT DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX SUR LES RESISTANCES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES

Il est aujourd'hui établi que les souches de *P. aeruginosa* 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 *P. aeruginosa* est le stress. Le stress déclenche des mécanismes moléculaires d'adaptation croisés aux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Poole, 2012b ; Macdonald et Kuehn, 2013).

I-7-1- Stress oxydatif et résistance aux antibiotiques

Les microorganismes aérobies tels que *P. aeruginosa* sont régulièrement exposés au stress oxydatif lié à la présence d'espèces réactives d'oxygène (ROS) notamment le peroxyde et l'ion superoxyde, qui sont les produits de la respiration aérobie. Les ROS endommagent une variété des macromolécules cellulaires déclenchant ainsi dans la bactérie, des réponses adaptatives spécifiques pour assurer sa survie (Imlay, 2013). Chez *P. aeruginosa*, l'exposition aux ROS stimule l'expression des systèmes d'efflux d'antibiotiques MexAB–OprM et MexXY–OprM, qui diminuent l'effet du stress oxydatif sur la bactérie et augmente la résistance aux antibiotiques (Chen *et al.*, 2008 ; Fraud et Poole, 2011). Les travaux de Fraud et Poole (2011) ont montré que l'exposition de *P. aeruginosa* au peroxyde induit l'expression du gène PA5471 codant pour le système d'efflux MexXY–OprM et une résistance aux Aminoglycosides.

Un autre type de stress oxydatif auquel *P. aeruginosa* fait face dans l'environnement est la présence d'espèces réactives de l'azote notamment l'oxyde nitrique, qui est produit lors du processus de dénitrification. Chez *P. aeruginosa*, ce stress déclenche une réponse adaptative et induit l'expression des systèmes d'efflux d'antibiotiques MexEF–OprN lui conférant une résistance au Chloramphénicol (Bowman *et al.*, 2011 ; Fetar *et al.*, 2011).

I-7-2- Stress nutritif

Il a été suggéré qu'une réduction de la croissance et de l'activité métabolique des bactéries, associée à un environnement pauvre en nutriments, pourrait expliquer la résistance bactérienne aux antibiotiques dans ces conditions. En général, les antibiotiques sont efficaces vis-à-vis des bactéries à multiplication rapide (Eng *et al.*, 1991).

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'hyperexpression des gènes de survie qui économisent l'usage des nutriments rares (Chatterji et Ojha, 2001 ; Sharma et Chatterji, 2010). Selon Dalebroux et Swanson (2012), la

carence en nutriments induit également chez la bactérie la production des alarmones (substance de signalisation de la lésion des tissus et des cellules) guanosine 5'-(tri) diphosphate, 3'-diphosphate ((p)ppGpp). La synergie des effets des alarmones et de la réponse rigoureuse modifie la physiologie de la bactérie et impacte la sensibilité aux antibiotiques (Wu *et al.*, 2010). Chez *P. aeruginosa*, le ppGpp et la réponse rigoureuse ont été associés à une multirésistance aux antibiotiques aussi bien chez les souches planctoniques que chez les souches vivant en biofilms, dans les eaux naturelles pauvres en nutriments (Nguyen *et al.*, 2011).

La carence en d'autres nutriments minéraux tels que les ions Mg^{2+} peut également impacter la résistance aux antibiotiques. Les cations divalents tels que Mg^{2+} jouent un rôle central dans la stabilisation de la membrane externe des bactéries à Gram négatif grâce à une interaction avec les lipopolysaccharides (LPS) de la membrane (Nikaido, 2003). Une déficience en cations Mg^{2+} déclenche une réponse adaptative qui implique un remodelage des LPS pour maintenir l'intégrité et la stabilité de la membrane externe (Kato et Groisman, 2008 ; McPhee *et al.*, 2006). Chez *P. aeruginosa*, ainsi que chez d'autres bactéries, ce remodelage inclue la substitution du lipide A, composant du LPS, par un composé 4-amino arabinose promoteur de la résistance aux peptides cationiques tels que la Colistine et la Polymixine B (Moskowitz *et al.*, 2004 ; Richards *et al.*, 2010).

I-7-3- Stress thermique

Le stress thermique peut modifier la configuration spatiale des protéines et augmenter la résistance des bactéries aux antibiotiques. Chez *E. coli* et *P. aeruginosa*, l'augmentation de la température induit une résistance aux Aminoglycosides (Allan *et al.*, 1988 ; Guisbert *et al.*, 2008). 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. Puisque le mode d'action des Aminoglycosides est la perturbation de la synthèse protéique au niveau des ribosomes, les cellules ayant subi un choc thermique seraient prédisposées à résister à l'action de cette classe d'antibiotique (Kindrachuk *et al.*, 2011).

Par ailleurs, il a été noté que les souches de *P. aeruginosa* exposées aux stress thermiques produisent le facteur sigma RpoS (σ^S) qui est le régulateur de la réponse générale au stress. Le facteur sigma RpoS (σ^S) contrôle l'expression des gènes de résistance au stress (Suh *et al.*, 1999). Le RpoS a été associé à la résistance à l'ofloxacin (Kayama *et al.*, 2009) et aux Carbapénèmes (Murakami *et al.*, 2005). Toutefois, les cibles du RpoS responsables de

la résistance aux Fluoroquinolones et aux Carbapénèmes chez *P. aeruginosa* sont actuellement mal connues (Poole, 2014).

I-7-4- Stress acide

L'effet du pH acide sur la résistance de *P. aeruginosa* aux Aminoglycosides a été mis en évidence par plusieurs auteurs (Xiong *et al.*, 1996 ; Moriaty *et al.*, 2007). 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 augmente leur effet bactéricide. Des études ont montré que le transport membranaire des Aminoglycosides est fonction de la différence transmembranaire en ion H⁺, ce qui explique l'impact que peut avoir le pH sur la résistance aux Aminoglycosides (Mates *et al.*, 1982 ; Bryan et Kwan, 1983 ; Eisenberg *et al.*, 1984 ; Fraimow *et al.*, 1991).

Selon Moriaty *et al.* (2007), l'activité bactéricide de la tobramycine vis-à-vis de *P. aeruginosa* diminue fortement lorsque la bactérie se développe en condition acide. Par contre la sensibilité de cette bactérie à la ceftazidime n'est pas influencée par des faibles valeurs du pH. L'influence du pH sur la résistance acquise aux Aminoglycosides tels que l'amikacine et la néticilline a été examinée par Xiong *et al.* (1995). Ces auteurs ont montré que la résistance acquise était élevée et plus prolongée avec des fortes concentrations initiales en Aminoglycoside, et que l'activité bactéricide des Aminoglycosides dépendait de leur concentration au pH 7,4. Au pH 6,5, l'activité bactéricide de l'amikacine et de la néticilline était très faible par rapport à celle observée au pH 7,4. Au pH 5,5, l'amikacine et la néticilline n'exerçaient pratiquement plus d'effet bactéricide sur *P. aeruginosa*.

I-7-5- Limitation en oxygène

Plusieurs antibiotiques ont une activité antimicrobienne moins efficace vis-à-vis des bactéries en phase stationnaire de croissance ou en état de dormance (Eng *et al.*, 1991). Ce mécanisme protecteur est plausible chez les microorganismes aérobies tels que *P. aeruginosa* dont la croissance diminue en condition anoxique. L'impact d'une limitation en oxygène sur l'antibiorésistance varie d'un antibiotique à l'autre. Field *et al.* (2005) ont révélé que la tobramycine est moins efficace sur *P. aeruginosa* en conditions anaérobies avec une concentration minimale inhibitrice 50 (CMI 50) deux fois supérieure. Alors que l'absence d'oxygène ne réduit pas l'activité antimicrobienne de la ceftazidime, du méropénème, d'aztréonam, de la pipéracilline et de la pipéracillin/tazobactam, avec des CMI 50 plus faibles ou restant inchangées pour ces antibiotiques. Les travaux de King *et al.* (2010) rapportent que la levofloxacine reste encore active sur *P. aeruginosa* en conditions anaérobies avec des CMI

inchangées en passant de l'aérobiose à l'anaérobiose, tandis que les CMI de la tobramycine, amikacine et aztréonam étaient quatre fois supérieures en anaérobiose, suggérant un accroissement de la résistance.

La grande résistance aux antibiotiques des biofilms de *P. aeruginosa* s'explique en partie par l'absence d'oxygène qui conduit certaines cellules du biofilm à l'état de dormance ou de non croissance très résistant aux antibiotiques. En comparaison aux cellules des biofilms matures, les cellules des jeunes biofilms sont plus aérobies, plus actives métaboliquement et plus sensibles aux antibiotiques (Borriello *et al.*, 2004). Le suivi des cellules actives et des cellules dormantes au sein d'un biofilm de *P. aeruginosa* a révélé que les cellules dormantes étaient plus tolérantes à la tobramycine (Kim *et al.*, 2009). La limitation en oxygène contribue à la résistance aux antibiotiques par une réduction de l'activité métabolique de *P. aeruginosa* (Walters *et al.*, 2003).

I-7-6- Métaux lourds

Il est aujourd'hui établi que les bactéries de l'environnement développent plusieurs mécanismes adaptatifs pour tolérer la présence des métaux lourds dans leur habitat (Adarsh *et al.*, 2007). Ces mécanismes sélectionnent également les gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques. Plusieurs études ont rapporté une double résistance aux métaux lourds et aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* (De Vicente *et al.*, 1990 ; Perron *et al.*, 2004 ; Kumar *et al.*, 2008 ; Oyetibo *et al.*, 2009 ; Maytar *et al.*, 2010). Les déterminants génétiques de cette double résistance sont localisés sur le chromosome bactérien ou sur les éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les transposons et les intégrons (Krulwich *et al.*, 2005). Dans la littérature, il est rapporté deux mécanismes moléculaires responsables de la double résistance métaux/antibiotiques chez *P. aeruginosa* : la co-résistance et la résistance croisée.

La co-résistance survient lorsque les gènes contrôlant les résistances aux métaux et aux antibiotiques sont portés sur le même élément génétique qui peut être le plasmide, le transposon ou l'intégron (Chapman, 2003). Chez *P. aeruginosa*, il a été rapporté une co-résistance au nickel et à l'ampicilline due au plasmide pBC15 (Raja and Selvam, 2009) et une co-résistance à l'imipénème et au zinc, au cadmium et au cobalt (Perron *et al.*, 2004). La résistance croisée survient lorsque les différents agents antibactériens s'attaquent à la même cible ou initient un même mode d'action pour détruire la cellule. Dans tous ces cas, le développement de la résistance à l'un des agents antibactériens est accompagné par une résistance à l'autre agent (Chapman, 2003). Les pompes d'efflux actifs sont impliquées dans les résistances croisées parce qu'elles refoulent vers l'extérieur des variétés d'agents

antimicrobiens pour protéger la bactérie. Il a été démontré que chez *P. aeruginosa*, la présence de la pompe d'efflux MexGH–OprD augmente la résistance au vanadium, à la ticarcilline et à l'acide clavulanique (Aendekerk *et al.*, 2002).

I-7-7- Stress osmotique et rayonnement ultraviolet (UV)

Les souches de *E. coli* et *P. aeruginosa* exposées au stress osmotique ou aux rayonnements ultraviolets (UV) développent une réponse adaptative au stress en augmentant la production du facteur sigma RpoS (Mukarami *et al.*, 2005 ; Huang *et al.*, 2009). Le facteur RpoS est le régulateur central de l'expression des gènes de stress. Il a été plusieurs fois associé à la résistance aux antibiotiques. Chez *P. aeruginosa* son hyperexpression entraîne une restauration de la résistance à l'ofloxacine (Kayama *et al.*, 2009). Le RpoS a été aussi impliqué dans la résistance aux carbapénèmes (Murakami *et al.*, 2005).

CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES

II-1- MATERIEL

II-1-1- Présentation des villes de Yaoundé et Douala

II-1-1-1- Géographie

La ville de Yaoundé est située dans l'interfluve des fleuves Nyong et Sanaga. Elle est grossièrement limitée par les 3° et 5° parallèles de latitude Nord et les 11° et 12° méridiens de longitude Est (Figure 9). Yaoundé est localisée dans la bordure occidentale du plateau Sud-Cameroun. Son relief est relativement surélevé à une altitude moyenne de 735 m au dessus du niveau de la mer.

La ville de Douala est le chef lieu de la Région du Littoral. Elle constitue la principale zone industrielle du pays. C'est une ville côtière qui longe le Golfe de Guinée entre les latitudes 3° 5' et 4° 15' Nord et les longitudes 9° 37' et 9° 50' Est (Figure 10). Douala est marquée par un relief relativement plat avec des altitudes très peu étalées d'une moyenne d'environ 25 m au dessus du niveau de la mer.

II-1-1-2- Sols

Le sol de la ville 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 subit des variations spatiales et atteint parfois 40 cm/h dans cette région (Bachelier, 1959)

Le relief de Douala est celui des basses terres côtières avec des formations sédimentaires (argiles, marnes, sables, grès...) et une importante proportion des sols hydromorphes dont les deux principaux sont :

- les sols ferrallitiques, plus abondants de couleur sombre sur les roches sédimentaires. Ils ont une texture sableuse ou sablo-argileux et leur pH est acide en moyenne de 5,5 ;
- les sols hydromorphes, localisés sur la bordure côtière ; ce sont des sols à grès ou pseudo-grès (Hieng, 2003).

II-1-1-3- Facteurs socio-démographiques et accès à l'eau potable

La démographie de Yaoundé en 2010 a été estimée à un peu plus 2200000 habitants (BUCREP, 2010). Moins de 50% des ménages dans cette ville a directement accès à l'eau potable du réseau public (INS, 2013). Les eaux souterraines y jouent un rôle fondamental

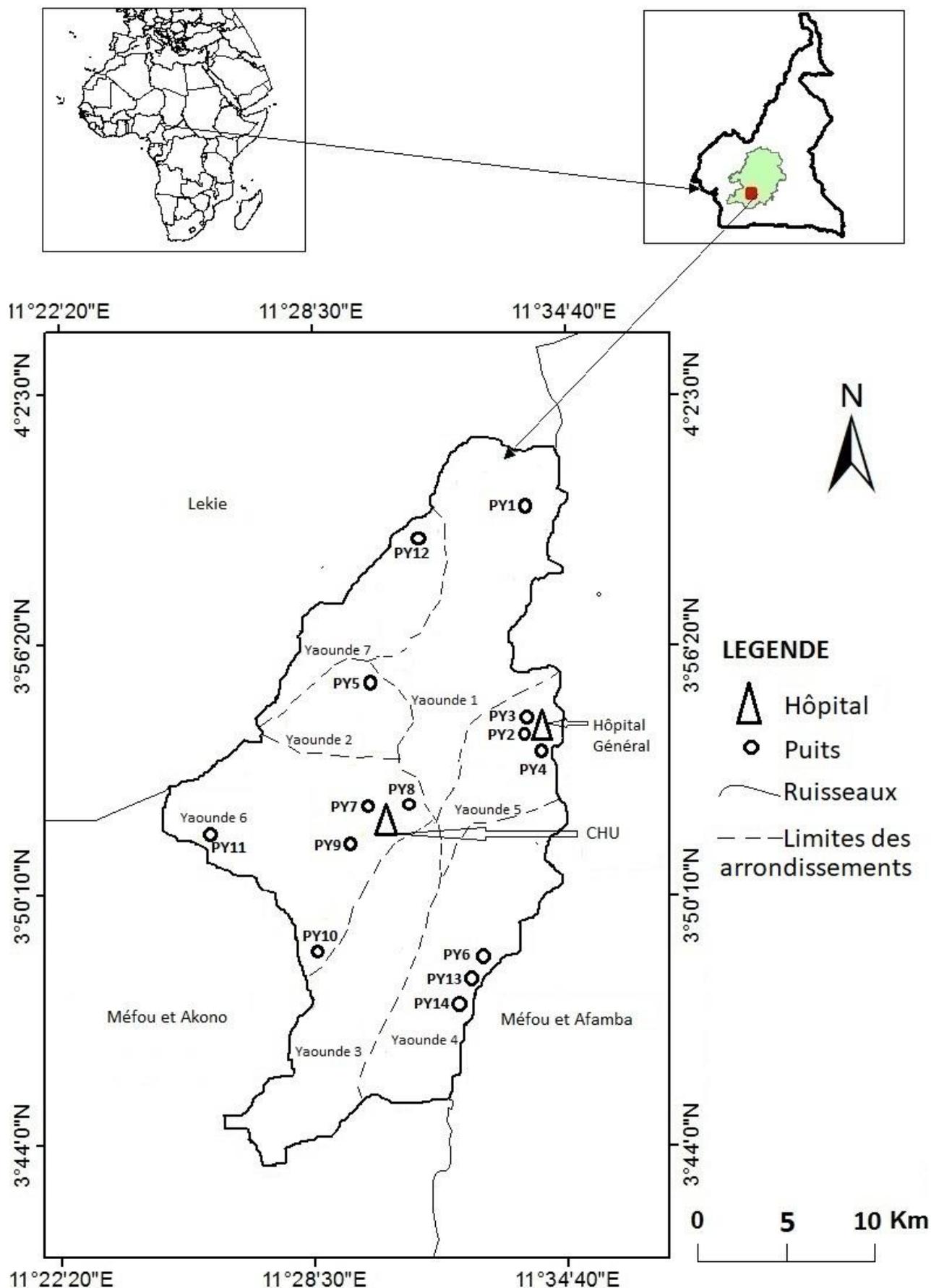


Figure 9 : Localisation de la ville de Yaoundé et des points de prélèvement des échantillons d'eau.

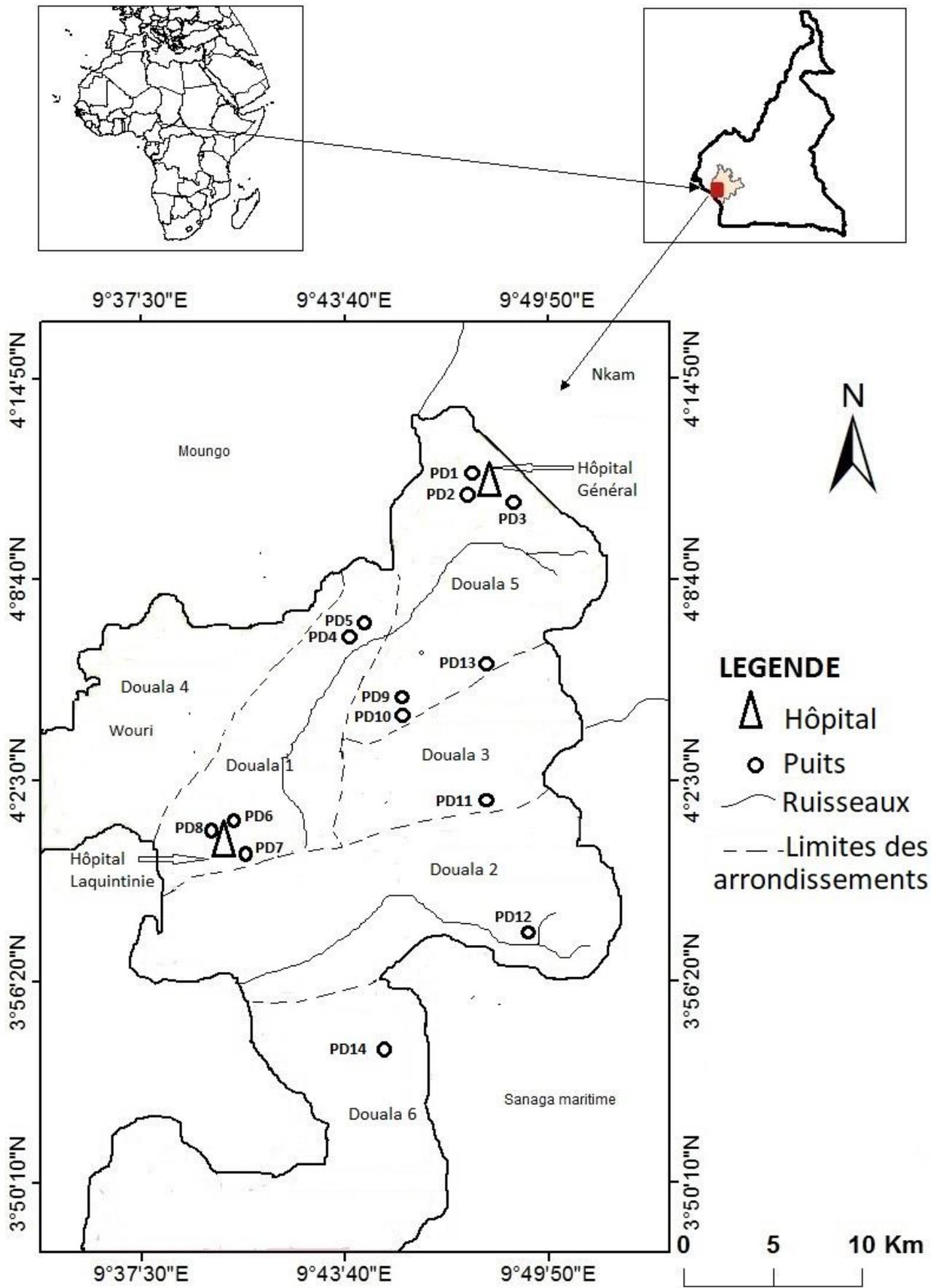


Figure 10 : Localisation de la ville de Douala et des points de prélèvement des échantillons d'eau.

dans l'approvisionnement en eau de bain, de boisson, et d'irrigation des cultures. Il a été établi qu'environ 36% des ménages à Yaoundé disposent d'un puits près de la concession pour résoudre le problème de déficit en eau (INS, 2013). Cependant 53% des ménages ont été exposés aux maladies véhiculées par l'eau en recourant aux puits pour leur alimentation (INS, 2013).

La population de la ville de Douala en 2010 a été chiffrée à plus de 2300000 habitants (BUCREP, 2010). Environ 2/3 de la population qui n'ont pas accès à l'eau de canalisation ont recours aux forages, aux puits, et aux sources naturelles quels que soient les risques sanitaires encourus (Abomo Meva'a *et al.*, 2013). A cause de la proximité de la nappe phréatique et de l'intense pollution de l'environnement urbain, et vu le phénomène de contamination des nappes lié à l'intense circulation souterraine de l'eau en zone sableuse comme Douala, la qualité des eaux de près de 3/4 des forages et puits que compte la ville est douteuse (Drouart et Vouillamoz, 2012).

Les origines des pollutions chimiques (nitrate, phosphate, ammoniacale) et microbiologiques des eaux souterraines de Douala et Yaoundé sont liées principalement aux contaminations par les latrines traditionnelles, les effluents agricoles, les fosses septiques, ainsi que par les effluents hospitaliers (Nougang *et al.*, 2011 ; Youmbi *et al.*, 2013). Dans les deux villes, les effluents hospitaliers sont déchargés dans l'environnement sans traitement ou prétraitement préalable. Les eaux de plusieurs puits destinées à la consommation humaine ne sont pas souvent éloignées des établissements sanitaires de référence.

II-1-2- Caractérisation des hôpitaux sélectionnés pour l'étude

Les hôpitaux sélectionnés et dont les effluents ont fait l'objet de cette étude correspondent aux structures sanitaires de référence. Ils hébergent plusieurs départements notamment la médecine, la chirurgie, les soins intensifs, la gynécologie/obstétrique, la pédiatrie et les urgences. Les hôpitaux retenus dans la ville de Douala ont été l'hôpital Laquintinie, doté de 732 lits actifs (150 000 patients/an) et l'hôpital Général doté de 210 lits actifs. A Yaoundé, le centre Hospitalier et Universitaire (CHU) (250 lits actifs) et l'hôpital Général (254 lits actifs) ont été choisis. Selon l'Association Américaine des Hôpitaux (AHA, 1986), le nombre de lits actifs d'un hôpital est un indicateur permettant d'évaluer qualitativement et quantitativement le volume des effluents déchargés dans l'environnement. Sur la base de cette hypothèse, l'AHA a classé les hôpitaux en 8 groupes. Pour les hôpitaux de classe 1, le volume des effluents déchargés dans la nature est d'environ 1700 m³/an. Pour les hôpitaux de classes 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8, les volumes des effluents déchargés sont

respectivement d'environ 9000, 17000, 35000, 40000, 70000, 90000 et 130000 m³/an (AHA ; 1986, Mansotte *et al.*, 1999). De ce qui précède, l'hôpital Laquintinie appartient à la classe 8. L'hôpital Général de Douala, le CHU de Yaoundé et l'hôpital Général de Yaoundé appartiennent à la classe 5. Les effluents de ces hôpitaux résultent de l'ensemble des rejets des différents services hospitaliers.

II-1-3- Choix des sites d'échantillonnage de l'eau

Dans chaque ville, 2 effluents hospitaliers et 14 puits ont été choisis comme sites d'échantillonnage. Les puits ont été choisis sur la base des critères ci-après :

- **la localisation géographique** : ce critère permet d'avoir la meilleure représentation spatiale possible selon les moyens de déplacement;
- **les usages** : les puits dont les eaux étaient utilisées pour le bain et la boisson ainsi que pour la vaisselle étaient sollicités. Ces usages favorisent en effet la transmission du germe *P. aeruginosa* par la voie cutanée ;
- **le nombre d'utilisateurs** : les puits ayant les plus fortes affluences étaient pris en compte. Ces types de puits sont d'un grand intérêt en santé publique, surtout lorsqu'ils sont contaminés par les bactériopolluants ;
- **la vulnérabilité du puits aux effluents hospitaliers** : dans chaque ville, 6 puits situés à proximité des hôpitaux (PPH) ont été choisis. Les 8 autres puits étaient relativement éloignés des centres hospitaliers (PEH), et ont été considérés comme témoin pour l'étude de l'impact potentiel des effluents hospitaliers sur l'émergence des bactéries résistantes dans les eaux souterraines. Le principe ayant soutenu cette répartition des puits est que, les effluents hospitaliers sont chargés en bactéries résistantes et en gènes de résistance (Gaze *et al.*, 2011). Ils ont une capacité d'autoépuration le long de leur écoulement. Leur potentiel de contamination des eaux souterraines diminuerait donc avec la distance du puits récepteur à l'hôpital producteur de l'effluent (Kummerer, 2009). Les figures 9 et 10 montrent les distances entre les différents puits et les hôpitaux sélectionnés. A Douala, 3 puits codés PD1, PD2, et PD3 ont été sélectionnés à proximité de l'hôpital Général et 3 puits codés PD6, PD7 et PD8 étaient analysés près de l'hôpital Laquintinie (figure 10). Les 8 autres puits de Douala codés PD4, PD5, PD9,....., PD14 ont été échantillonnés dans les quartiers dont les coordonnées géographiques sont présentées dans le tableau I. Dans la ville de Yaoundé, 3 puits codés PY2, PY3 et PY4 ont été étudiés non loin de l'hôpital Général tandis que 3 puits codés PY7, PY8 et PY9 étaient sélectionnés près du centre hospitalier universitaire (CHU) (figure 9). Les 8 autres puits étaient répartis dans la ville comme indiqué dans le tableau II.

II-1-4- Caractéristiques des puits sélectionnés

Les caractéristiques des puits sélectionnés (Tableaux I et II) ont été établies dans les deux régions d'étude :

- les caractéristiques abiotiques (localisation et altitude mesurées par un GPS portatif, profondeur) des puits;
- les sources potentielles de pollution (latrine, effluent hospitalier, fermes, fosse septique, infiltration des eaux de surface);
- les caractéristiques sécuritaires des puits (margelle, couvercle, périmètre de protection) ;
- l'usage fait de l'eau des puits.

II-2- METHODES

II-2-1- Prélèvement des échantillons d'eau

Les prélèvements des échantillons d'eau des puits et des effluents hospitaliers ont été réalisés d'Avril 2013 à Avril 2014 à la fréquence mensuelle, soit 13 mois d'échantillonnage dans chaque ville. Le choix de cette période a permis de boucler le cycle saisonnier de l'année. Dans chaque site et à chaque campagne, 2 échantillons d'eau ont été collectés l'un dans un flacon en verre stérile de 500 ml, et l'autre dans un flacon en polyéthylène de 1000 ml. Le flacon en verre contenant l'échantillon d'eau destiné aux analyses microbiologiques était rempli aux 3/4 pour permettre la respiration bactérienne, tandis que le flacon en polyéthylène contenant de l'eau destinée aux analyses physicochimiques était rempli à ras bord sans faire de bulles (APHA, 2012). Les échantillons d'eau collectés ont été conservés et transportés au laboratoire en enceinte réfrigérée à 4°C. L'analyse des échantillons a été faite dans les 24 h qui suivaient le prélèvement (Rodier, 2009). Pour ce qui est des échantillons d'eau issus des effluents hospitaliers, leur analyse a porté sur l'aspect microbiologique essentiellement. L'aspect physicochimique n'ayant pas été abordé en raison du faible intérêt que revêt l'étude de l'écologie de *Pseudomonas aeruginosa* dans les effluents hospitaliers. Les eaux usées hospitalières ne sont en effet pas consommées par les populations. Les facteurs abiotiques ayant fait l'objet d'une analyse ont été les paramètres physicochimiques (ou de qualité) des eaux de puits, les paramètres hydrologiques et les paramètres météorologiques.

Tableau I : Localisation et caractéristiques des puits échantillonnés dans la ville de Douala

Puits	Quartier	Coordonnée GPS (altitude)	Profondeur totale (m)	Distance à la source potentielle de pollution	Caractéristiques de la protection du puits	Usages de l'eau
PD1	Ndogbong	N 3°54.1' E 9°41.1' (26 m)	5,9	Effluent de l'hôpital Général à 980 m, infiltration du cours d'eau nkondi à 50m	Margelle 1m de hauteur, couvercle permanent, protection par une barrière	Bain, vaisselle, lessive, agriculture
PD2	Ndogbong	N 4°03.9' E 9°45.3' (22 m)	6,4	Effluent de l'hôpital Général 650 m, infiltration du cours d'eau nkondi à 40m	Margelle 1m de hauteur, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Bain, boisson vaisselle, lessive
PD3	Ndogbong	N 4°03.8' E 9°45.4' (20 m)	7,6	Effluent de l'hôpital Général à 1,6 Km, Débris de végétaux à 0,1m	Margelle 0,9m de hauteur, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive (taitement à l'eau de Javel)
PD4	Ndogpassi	N 4°02' E 9°44.8' (35 m)	8,7	Infiltration des eaux météoriques	Proximité de la circulation, margelle faite de roues de véhicule perméables, pas de couvercle	Pas souvent utilisé
PD5	Ndogpassi	N 4°02.8' E 9°42.1' (20 m)	4,8	Latrine à 15 m, infiltration des eaux météoriques	Proximité de la circulation, margelle 0,5m de hauteur, couvercle permanent, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive (traitement à l'eau de javel)
PD6	Akwa	N 4°03.4 ' E 9°43.7' (24 m)	5,8	Effluents de l'hôpital Laquintinie à 500m	Entouré d'une barrière en tôle, pas de margelle, pas de couvercle	Bain, vaisselle, lessive (après traitement à l'eau de Javel)
PD7	Akwa	N 4°03.7' E 9°43.3' (23 m)	4,7	Effluent de l'hôpital Laquintinie à 750m	Entouré de deux maisons, margelle 0,4m de hauteur, pas de couvercle	Bain, vaisselle, lessive
PD8	Akwa	N 4°02.8' E 9°42.8' (24 m)	5,4	Effluent de l'hôpital Laquintinie à 450m	Entouré de trois maisons, margelle 0,4m de hauteur, pas de couvercle	Bain, vaisselle, lessive
PD9	Sic cacao	N 4°05.1' E 9°44.7' (23 m)	4,7	Non identifiée	Margelle 0,6m de hauteur, couverture partielle, périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive, agriculture
PD10	Sic cacao	N 4°02.7' E 9°42.7' (25 m)	4,8	Puisage, circulation	Pas de margelle, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Lavage des véhicules
PD11	Mboppi (Ecobank)	N 4°00 ' E 9°44.9' (22 m)	5	Infiltration des eaux du ruisseau à 10m	Pas de margelle, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Tout usage domestique autre la boisson
PD12	Deido (grand moulin)	N 4°03.5' E 9°43.3' (20 m)	6,3	Non identifiée	Margelle 0,3m de hauteur, pas de couvercle, périmètre de protection en tôle	Bain, vaisselle, lessive (taitement à l'eau de Javel)
PD13	New-Bell	N 4°02 E 9°42.7 (30 m)	6,2	Infiltration des eaux d'un ruisseau à 50m	Couvert par un arbuste, margelle 1m d'hauteur, proximité de la circulation, pas de périmètres de protection	Tout usage domestique autre la cuisine et la boisson
PD14	Bonamoussadi (parcourt Vita)	N 4°04 E 9°44.7 (25 m)	6,5	Infiltration des eaux météoriques	Couvert par deux manguiers, margelle 0,4m de hauteur, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Pas souvent utilisé

Tableau II : Localisation et caractéristiques des puits échantillonnés dans la ville de Yaoundé

Puits	Quartier	Coordonnée GPS (Altitude)	Profondeur totale (m)	Distance à la source potentielle de pollution	Caractéristiques de la protection du puits	Usage de l'eau
PY1	Bastos	N 3°54' E 11°31' (751 m)	8,8	Ruisseau parcourant le quartier à 8 m	Margelle irrégulière de hauteur 0,5m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection, proximité d'une voie de passage	Bain, vaisselle, lessive (après traitement à l'eau de Javel)
PY2	Ngouso	N 4°54.3' E 11°32.3' (733 m)	7	Effluent de l'hôpital général à 700 m	Margelle de hauteur 0,5m, couvercle en bois et fermeture partielle, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive, agriculture
PY3	Ngouso	N 3°54.2' E 11°32.2' (727 m)	10,3	Effluent de l'hôpital général à 850 m	Margelle de hauteur 1,3m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselles, lessive (traitement à l'eau de Javel)
PY4	Ngouso	N 3°51' E 11°29.8' (738 m)	7,1	Effluent de l'hôpital général à 1,2 Km	Margelle de hauteur 0,7m, couvercle en tôle non fixée, pas de périmètre de protection	Tout usage domestique autre que la boisson
PY5	Miboman	N 3°52.4' E 11°33' (737)	2	Feuilles et débris de l'arbre, excréments des oiseaux vivant sur l'arbre	Sous un arbre, margelle en fût de hauteur 0,4m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Pas souvent utilisée
PY6	Etoa meki	N 3°53.1' E 11°31.7' (740 m)	6,3	Le puisage	Proximité de la circulation, margelle en fût de hauteur 0,8m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Tout usage domestique (autre que la boisson)
PY7	Obili	N 3°52.7' E 11°30.2' (738 m)	7,2	Effluent du Centre Hospitalier Universitaire à 1,3 Km	Entouré de 4 domiciles, margelle de hauteur 0,6m, pas de couvercle	Bain, vaisselle, lessive
PY8	Obili	N 3°54.2' E 11°32.2' (717 m)	6,8	Effluent du Centre Hospitalier Universitaire à 1,9 Km	Sous un arbuste, à proximité de la circulation, margelle de hauteur 0,5m, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive
PY9	Obili	N 3°51.2' E 11°29.7' (722 m)	4,6	Effluent du Centre Hospitalier Universitaire à 2,1 Km	Proximité de la circulation, margelle de hauteur 0,6m, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive (traitement irrégulier à l'eau de Javel)
PY10	TKC Mendong	N 3°50.6' E 11°28.9' (729 m)	11,1	Latrines à 20 m	Margelle, de hauteur 1m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Tout usage domestique
PY11	Biyem assi école	N 3°51' E 11°3' (782)	13,3	Puisage de l'eau	Proximité de la circulation, margelle de hauteur 1m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Bain, vaisselle, lessive, agriculture
PY12	Nkolbison	N 3°52.3' E 11°27' (722 m)	9	Infiltration du cours d'eau Abiergue ouest à 30 m	Margelle de hauteur 0,7m, pas de couvercle, pas de périmètre de protection	Usage non permanent, lavage du sol
PY13	Tsinga élobi	N 3°50.3' E 11°28.4' (724 m)	11,4	Latrines à 20 m	Proximité de la circulation, margelle de hauteur 0,7m, couvercle non rétractable, pas de périmètre de protection	Bain, lessive et vaisselle
PY14	Ekounou	N 3°50.7' E 11°31.3' (727 m)	7,2	Puisage de l'eau	Proximité de la circulation, pas de margelle, ouverture réduite par du béton, pas de périmètre de protection	Tout usage domestique (après traitement à l'eau de Javel)

La figure 11 présente les photographies de quelques puits analysés à Douala et à Yaoundé.



Puits PD13



Puits PD6



Puits PD13



Puits PY2



Puits PY7



Puits PY14

Figure 11 : Photographies de quelques puits analysés dans les villes de Douala et Yaoundé.

II-2-2- Analyse des facteurs abiotiques des puits

II-2-2-1- Analyses des paramètres physicochimiques des eaux de puits

Les analyses physicochimiques ont été faites selon les recommandations de Rodier (2009). Les paramètres retenus étaient susceptibles de générer des stress modifiant la physiologie cellulaire, la survie, ainsi que la sensibilité aux antibiotiques de *P. aeruginosa* (Poole, 2012b). Leur choix tenait également compte de la disponibilité des ressources matérielles au laboratoire.

La température, le pH, la conductivité électrique et la teneur en oxygène dissous ont été mesurés *in situ* à l'aide des kits analyseurs multiparamétriques (HAHHA Instruments et HACH). Après avoir rincé les électrodes des différents appareils avec de l'eau distillée puis avec l'eau de l'échantillon à analyser, les électrodes ont été plongées dans un volume d'eau de cet échantillon et la lecture a été directe.

Au laboratoire, la concentration du dioxyde de carbone dissous et les valeurs de l'alcalinité ont été déterminées par la méthode titrimétrique. Après avoir préalablement fixé le CO₂ de l'échantillon d'eau sur le terrain au moyen du NaOH N/20, la concentration de celui-ci a été évaluée à l'aide d'une solution titrante HCl N/10 et d'un indicateur coloré, la phénolphthaléine. La mesure de l'alcalinité a nécessité une solution titrante H₂SO₄ N/50 et un indicateur de fin de réaction, le rouge de méthyle vert de bromocrésol en solution alcoolique. Les matières en suspension (MES), la couleur et la turbidité ont été mesurées par spectrophotométrie (HACH, DR 2002) aux longueurs d'onde respectives $\lambda = 810$ nm, 455 nm et 450 nm.

La méthode digestive à au permanganate de potassium (KMnO₄) à chaud suivie d'un titrage a été utilisée pour mesurer les matières organiques dissoutes (Demande chimique en Oxygène ou oxydabilité) dans les échantillons.

II-2-2-2- Analyses hydrologiques des puits

Les paramètres hydrologiques considérés dans cette étude ont été la profondeur totale du puits et l'épaisseur de la colonne d'eau. Ils ont été mesurés à l'aide d'une corde métallique stérile graduée lestée à sa base (Rodier *et al.*, 2009). L'épaisseur de la colonne de l'eau a été mesurée à la fréquence mensuelle. A chaque puits, cette corde était préalablement rincée avec l'eau prélevée de ce puits.

II-2-2-3- Analyse des facteurs météorologiques

Les données météorologiques ont été collectées suivant la fréquence d'échantillonnage des eaux. Les précipitations ont été mesurées à l'aide d'un pluviomètre. Ce paramètre est susceptible d'influer sur les variations des abondances cellulaires dans les puits. En effet, les eaux de ruissellement qu'il génère sont généralement chargées en bactériopolluants et peuvent contaminer la nappe phréatique par infiltration (Gagliardi et Karns, 2000 ; Curriero *et al.*, 2001). L'infiltration des eaux de ruissellement météoriques peut aussi faire varier la composition physicochimique des eaux souterraines par le biais des apports extérieurs (Rodier, 2009).

La température de l'air et l'humidité relative ont été évaluées à l'aide d'un thermomètre à colonne de mercure TESTO 925 et d'un hygromètre EXTECH M0210. Ils ont été choisis en raison de leur aptitude à modifier la structure du sol et d'influencer les infiltrations vers la nappe souterraines les eaux de ruissellement d'origine météoritique (Tyler *et al.*, 1993).

L'insolation et la durée du rayonnement solaire ont été obtenues à l'aide d'un pyranomètre automatique LP PYRA et d'un héliographe MEUDON respectivement. Ces paramètres peuvent altérer l'ADN bactérien et influencer sa survie (Pizarro, 1996).

L'ensemble des données météorologiques ont été obtenues à partir de la base de données du service météorologique du Ministère Camerounais des Transports (Mintransport) et de la NASA (Surface Meteorology and Solar Energy) disponibles à l'adresse internet <http://eosweb.larc.nasa.gov/sse/> (visité le 19 Décembre 2014).

II-2-3- Isolement et décompte des cellules de *P. aeruginosa* des échantillons d'eau

Dans chaque puits et effluent hospitalier, l'isolement et le décompte des cellules de *P. aeruginosa* ont été faits pour déterminer le risque sanitaire lié à leur présence dans l'eau et la permanence ou non de ce risque. L'isolement a été réalisé par filtration d'un volume de 100 ml d'eau brute ou diluée sur une membrane filtrante en acétate de cellulose de porosité 0,45 µm (Goto et Enamoto, 1970 ; ISO 16266, 2008). La membrane a ensuite été placée sur gélose au Cétrimide et à l'acide Nalidixique (CN) coulée en boîte de Pétri de 55 x 9 mm. Les boîtes ensemencées ont été retournées et incubées dans l'étuve réglée à 37°C. Le décompte des colonies bactériennes (en UFC/100 mL) a ensuite été réalisé après 24h d'incubation. Les bactéries des colonies dénombrées ont été identifiées selon les recommandations de Holt *et al.* (2000). Les colonies bleu-vert (production de pyocyanine) étaient considérées comme étant celles de *P. aeruginosa* et n'étaient pas soumises aux tests de confirmation. Les colonies

fluorescentes non bleu-vert étaient considérées comme suspectes de *P. aeruginosa* ; elles ont été soumises aux tests de production d'ammoniaque à partir d'acétamide et d'hydrolyse de la caséine pour la confirmation (Holt *et al.*, 2000). Pour rechercher la production d'ammoniaque, un tube de bouillon d'acétamide était ensemencé à l'aide de la culture isolée et était incubée à 37°C pendant 24 h. Après incubation, deux gouttes de réactifs de Nessler étaient ajoutées au bouillon ; lorsque le test était positif une coloration jaune apparaissait. Les colonies brun rouges étaient considérées aussi comme des *P. aeruginosa* présumés ; elles étaient confirmées par le test à l'oxydase, la fluorescence sur milieu King B, la production d'ammoniac à partir d'acétamide et l'hydrolyse de la caséine. La recherche de l'oxydase a été faite par la technique de Kovacs. L'observation de la fluorescence sur le milieu King B s'est faite à l'aide d'une lampe UV 365 nm (Spectroline, Q-22/F) (Holt *et al.*, 2000).

II-2-4- Antibiogramme de *P. aeruginosa*

L'antibiogramme a été réalisé sur des souches pures de *P. aeruginosa* isolées des eaux de puits et d'effluents hospitaliers afin de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques. La méthode utilisée a été celle de la diffusion des disques imprégnés d'antibiotiques en milieu gélosé (Kirby Bauer) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) et de l'European Commity of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (CA-SFM/EUCAST, 2014). Cette méthode a l'avantage d'offrir une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier.

II-2-4-1- Choix des antibiotiques

Le choix des antibiotiques testés sur *P. aeruginosa* a été fait sur la base des recommandations du CA-SFM/EUCAST (2014) 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 (Tableaux III et IV) :

- une liste standard qui comprend 15 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, la surveillance épidémiologique de la résistance ou l'aide à l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.

La plupart des antibiotiques sélectionnés étaient utilisés dans les hôpitaux de référence choisis pour cette étude à l'exception de la céfépime, l'aztréonam, la fosfomycine et de la pipéracilline/tazobactam.

Tableau III : Liste standard des antibiotiques testés

Familles	Antibiotiques	Charge du disque
β-lactamine (Pénicilline)	Pipéracilline	75μg
	Ticarcilline	75μg
β-lactamine (C3G)	Céfotaxime	30μg
	Ceftazidime	30μg
	Cefsulodine	30μg
β-lactamine (Carbapénème)	Imipénème	10μg
	Méropénème	10μg
β-lactamine (Monobactam)	Aztréonam	30μg
	Tobramycine	10μg
Aminoside	Gentamicine	15μg/10UI
	Amikacine	30μg
	Kanamycine	30UI
Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	5μg
	Ofloxacine	5μg
Polymyxine E	Colistine	50μg

Tableau IV : Liste complémentaire des antibiotiques testés

Familles	Antibiotiques	Charge du disque
β-lactamine (C4G)	Céfépime	30μg
β-lactamine (Pénicilline)	Pipéracilline/Tazobactam	75/10μg
	Ticarcilline/Acide clavulanique	75/10μg
Non classé	Fosfomycine	50μg + 50μg G6P

II-2-4-2- Préparation du milieu

Le milieu utilisé a été la gélose de Mueller Hinton (Biorad) coulée dans les boîtes de Pétri. L'épaisseur de la gélose a été de 4 mm approximativement. La surface de la gélose était séchée avant emploi (CA-SFM/EUCAST, 2014).

II-2-4-3- Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif (Plate Count Agar), une suspension bactérienne en solution salée (0,9 % NaCl) de turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland a été réalisée, ce qui correspond à une densité

bactérienne d'environ 1×10^8 UFC/100 mL. L'inoculum a ensuite été dilué au 1/10 (1×10^7 UFC/100 mL) avant l'ensemencement (CA-SFM/EUCAST, 2014).

II-2-4-4- Ensemencement, dépôt des disques et incubation

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. Les disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée et séchée. L'écart entre les disques a été de 3 cm afin d'éviter le chevauchement des diamètres d'inhibition. Les boîtes de Pétri ont été laissées à température ambiante pour la prédiffusion des antibiotiques, et ensuite incubées 30 minutes après, à 37°C en aérobiose pendant 24 h (CA-SFM/EUCAST, 2014).

II-2-4-5- Contrôle de qualité interne

La souche de référence *P. aeruginosa* ATCC 27853 a été utilisée pour le contrôle de qualité des antibiotiques et du milieu d'ensemencement utilisés. La souche de référence devait être sensible aux antibiotiques testés et les diamètres des zones d'inhibition obtenues devaient être compris dans les limites acceptables fixées par le CA-SFM/EUCAST (2014). La souche de référence nous a été fournie par le Laboratoire de Microbiologie et Environnement du Centre Pasteur du Cameroun (CPC).

II-2-4-6- Mesure des zones 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. Seuls étaient retenus les diamètres des zones d'inhibition compris dans les limites de contrôle de qualité. L'interprétation de ces diamètres s'est faite par référence aux diamètres critiques fournis par le CA-SFM (2014) (Annexe 3). 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-2-5- Détermination de quelques phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les β -lactamines constituent le groupe d'antibiotique le plus important en clinique et en nombre de molécules actives. Elles sont majoritairement utilisées lors des infections à *P. aeruginosa* (Ebongue *et al.*, 2015 ; Kamga *et al.*, 2015). Ce germe est connu pour sa grande aptitude à développer divers mécanismes de résistance vis-à-vis de cette famille

d'antibiotiques (Lister *et al.*, 2009). Quelques phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été recherchés dans cette étude afin de caractériser les souches de *P. aeruginosa* dans les puits. Il s'agit en effet d'enzymes qui hydrolysent les β -lactamines et confèrent à la bactérie une résistance vis-à-vis de ces antibiotiques. Ces phénotypes ont été définis comme suit pour les bacilles à Gram négatif non fermentaire (Livermore 1995 ; Talarmin *et al.*, 1996) :

- ❖ Phénotype pénicillinase : souches résistantes ou modérément résistantes à la piperacilline, au céfotaxime et à l'aztréonam ;
- ❖ Phénotype céphalosporinase haut niveau : souches résistantes à la Piperacilline, à la céfotaxime, à l'aztréonam et à la céftazidime ;
- ❖ Phénotype céphalosporinase bas niveau : souches résistantes à la céfotaxime.

II-2-6- Détermination de l'index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) dans les sites d'échantillonnage

L'index MRA est un indicateur de la multirésistance aux antibiotiques. 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 (puits et effluents hospitaliers). Ce calcul a pris en compte le nombre de souches de *P. aeruginosa* isolées dans chaque site, selon les recommandations de Shal *et al.* (2002) et Krumperman (1983). Brièvement, l'index MRA d'un site d'échantillonnage est défini par l'équation suivante :

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

où **a** est la somme des scores des résistances 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=19 dans cette étude),

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

Le calcul de l'index MRA dans les sites d'échantillonnage permet d'apprécier le niveau de la multirésistance dans chaque site. Il sert à évaluer également le risque de transmission de la résistance aux populations consommatrices des eaux de puits contaminées. Il est admis que les sites ayant un Index MRA $\geq 0,2$ présentent un risque de contamination élevé de la

résistance (Shal *et al.*, 2002). L'Index MAR permet enfin de comparer les différents sites et d'apprécier la distribution spatiale de la résistance dans les deux villes.

II-2-7- Relations entre les facteurs abiotiques et les abondances cellulaires de *P. aeruginosa*

Le but de cette analyse était de rechercher les facteurs de variation des abondances cellulaires dans les puits. Les facteurs abiotiques considérés ont été les facteurs physicochimiques, hydrologiques et météorologique. Le test statistique appliqué à cet effet a été le test de corrélation « r » de Spearman. Les comparaisons des moyennes des données obtenues ont été réalisées par le test H de Kruskal Wallis et le test U de Mann Whitney. Toutes ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 20.0.

II-2-8- Hiérarchisation des facteurs abiotiques

La hiérarchisation avait pour objectif de ressortir de manière précise quel (s) facteur (s) abiotique (s) influençait (ent) davantage les variations des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans les puits. Elle a été réalisée en exprimant le pourcentage et en classant dans l'ordre hiérarchique décroissant la moyenne de la somme des carrés de chaque facteur du test d'ANOVA (analyse des variances) à plusieurs facteurs, à l'aide du logiciel R.

II-2-9- Comparaison des prévalences de résistantes aux antibiotiques entre les souches de *P. aeruginosa* isolées des puits proches des hôpitaux (PPH) et les souches isolées des puits excentrés des hôpitaux (PEH)

La comparaison des prévalences de résistance entre les PPH et les PEH a permis de vérifier si la proximité des puits aux hôpitaux avait une incidence significative sur les prévalences de résistance y enregistrées. Elle a été réalisée au moyen du test de Fisher grâce au logiciel SPSS 20.0.

II-2-10- Corrélation entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* des PPH et les abondances cellulaires des effluents hospitaliers

Le degré de liaison entre les abondances de *P. aeruginosa* isolé des PPH et les abondances cellulaires enregistrées dans les effluents hospitaliers a été recherché afin de déterminer si les charges en *P. aeruginosa* dans les PPH étaient influencées par les apports des effluents hospitaliers. Ces corrélations ont également permis de confirmer ou non le lien éventuel pouvant exister entre les résistances des souches bactériennes dans les PPH et les résistances des souches originaires des effluents hospitaliers.

II-2-11- Relations entre la résistance aux antibiotiques et les facteurs abiotiques

Pour rechercher le degré de liaison entre la résistance aux antibiotiques et les facteurs abiotiques, un test de régression des diamètres d'inhibition des antibiotiques par les variables abiotiques a été réalisé au moyen du logiciel XLSTAT 2007. Le modèle d'équation de régression défini était $Y = a_0 + a_1EC + a_2pH + a_3DO + a_4OM$ où Y représente la variable dépendante (diamètre de la zone d'inhibition de l'antibiotique). Les variables explicatives sont **EC** (conductivité électrique), **pH**, **DO** (oxygène dissous) et **OM** (matière organique) mesurées dans les puits. Dans ce test, les valeurs de R^2 ont été déterminées pour estimer le pourcentage de variation des diamètres d'inhibition des antibiotiques pouvant être expliqué par les changements des variables explicatives dans leur ensemble. L'impact individuel de chaque facteur abiotique sur les diamètres d'inhibition a été évalué à l'aide des pentes a_1 , a_2 , ..., a_4 . Elles montrent comment Y varie pour une augmentation d'une unité du facteur abiotique correspondant. a_0 représente la valeur de l'ordonnée à l'origine. Tous les tests statistiques étaient considérés significatifs pour une p -value $< 0,05$.

CHAPITRE III – RESULTATS ET DISCUSSION

III-1- RESULTATS

III-1-1- Variation des paramètres physicochimiques des eaux de puits

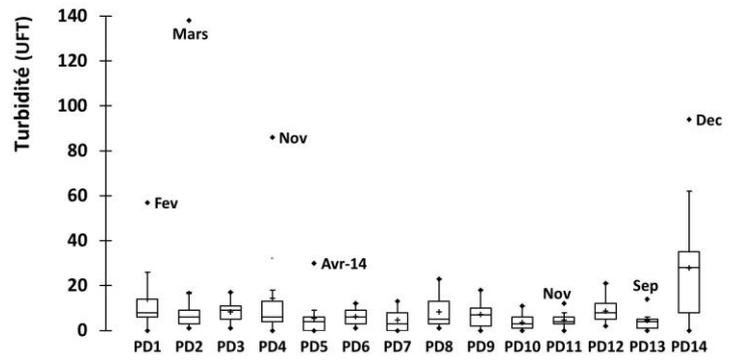
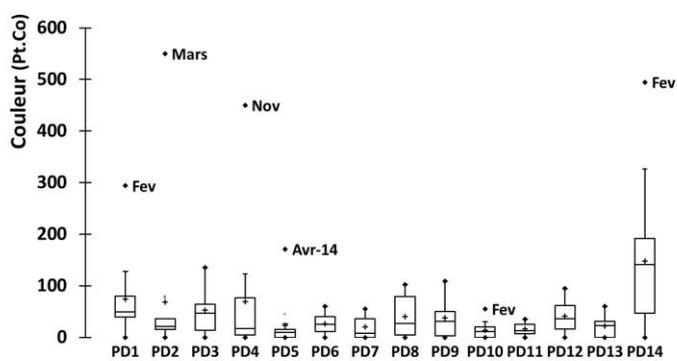
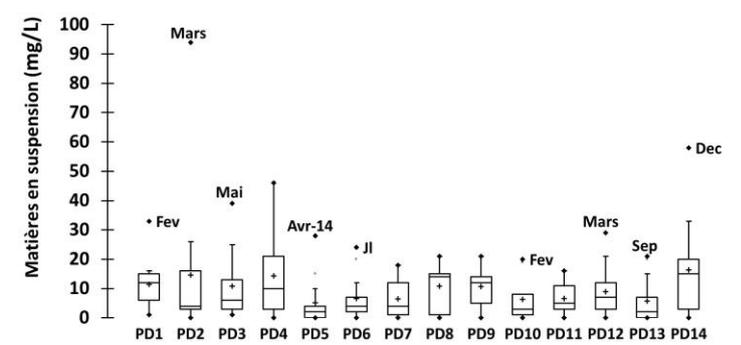
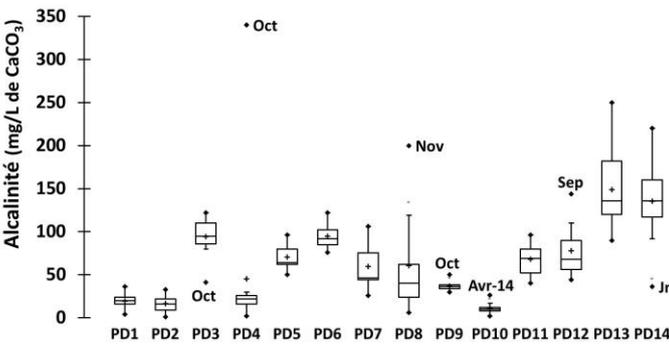
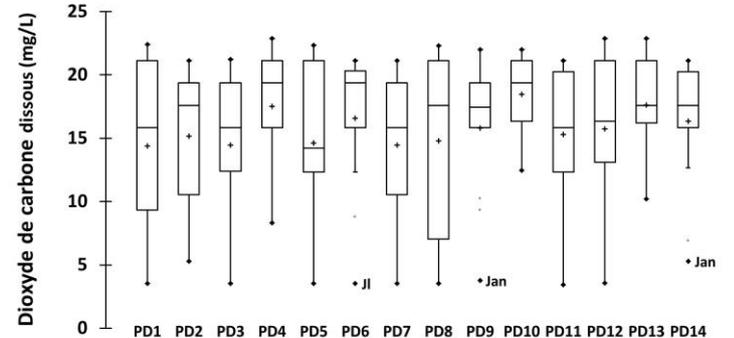
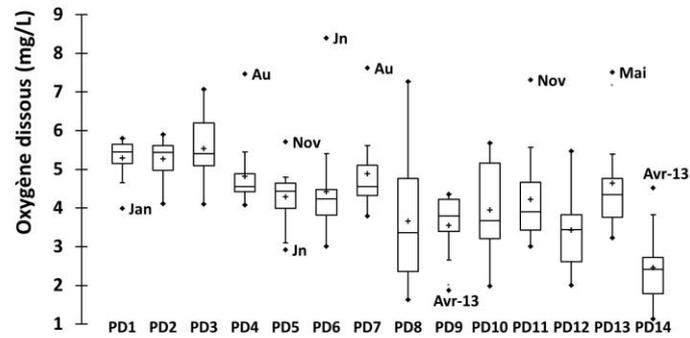
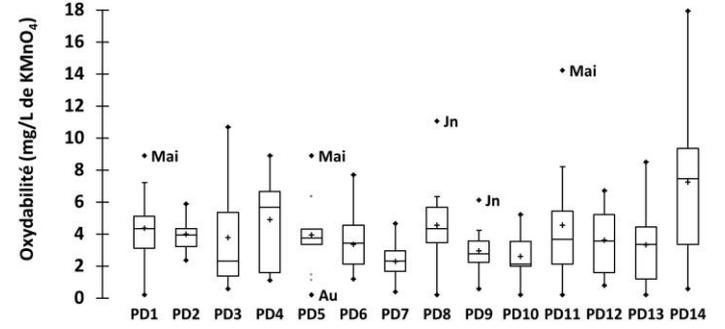
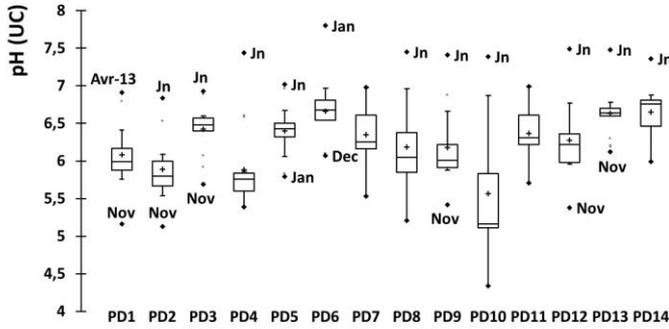
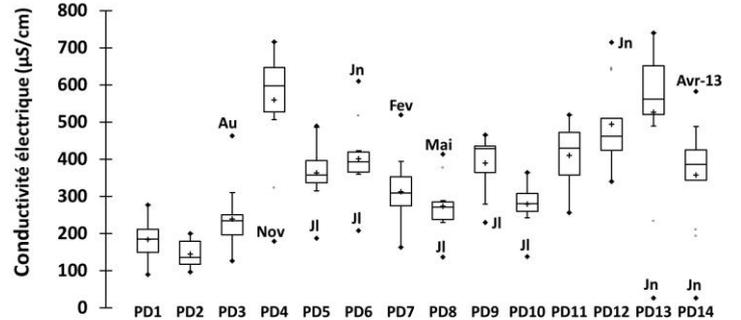
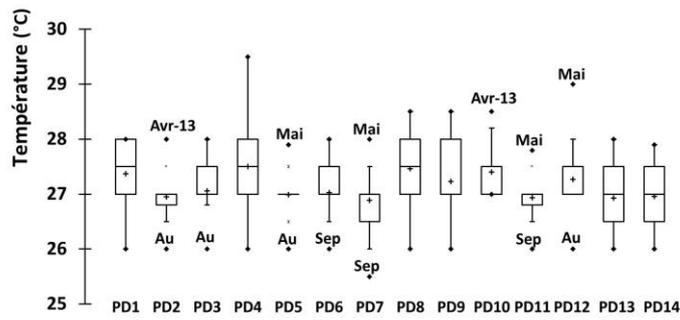
Les paramètres physicochimiques des eaux de puits de Douala et Yaoundé ont été mesurés à la fréquence mensuelle. Les données physicochimiques enregistrées dans chaque puits sont représentées graphiquement aux figures 12 et 13 sous forme de boîtes à moustaches où la valeur du 1^{er} quartile Q1 (25% des effectifs), correspond au trait inférieur de la boîte ; la valeur du 2^{ème} quartile Q2 ou valeur médiane (50% des effectifs), est représentée par un trait horizontal à l'intérieur de la boîte ; la valeur du 3^{ème} quartile Q3 (75% des effectifs), correspond au trait supérieur de la boîte. Les deux barres verticales de part et d'autre de la boîte délimitent les valeurs dites adjacentes et représentent les valeurs minimales et maximales. Le signe + à l'intérieur de la boîte représente la valeur moyenne. Les valeurs extrêmes, atypiques (plus petite que 10% et plus grandes que 90% des effectifs) situées au-delà des valeurs adjacentes sont individualisées. Elles sont représentées par des marqueurs (points noirs).

III-1-1-1- Température de l'eau

Les températures moyennes ont oscillé entre $26,88 \pm 0,74$ et $27,46 \pm 0,72^{\circ}\text{C}$ dans l'ensemble des puits de Douala (Figure 12). Les eaux souterraines de Douala se caractérisent par une relative stabilité thermique. Les écarts saisonniers dépassent rarement $1,5^{\circ}\text{C}$ en moyenne. Toutefois les relevés thermiques ponctuels effectués au niveau des puits ont montré des écarts parfois importants : $25,5^{\circ}\text{C}$ au puits PD7 en Août et 29°C en PD12 en Mai. Dans les eaux souterraines de Yaoundé, les variations thermiques ont été également atténuées. L'analyse des valeurs moyennes a montré une très faible variation comprise entre $24,11 \pm 0,55$ et $25,15 \pm 0,63^{\circ}\text{C}$ (Figure 13). On peut toutefois observer des écarts thermiques ponctuels de l'ordre de 3°C entre les puits. La température de l'eau est significativement plus élevée ($p < 0,05$) dans les puits de Douala que dans les puits de Yaoundé.

III-1-1-2- Potentiel d'Hydrogène

Le potentiel d'Hydrogène (pH) indique le caractère acide ou basique de l'eau. Les valeurs moyennes annuelles de ce paramètre ont été comprises entre $5,57 \pm 0,87$ et $6,66 \pm 0,46$ dans l'ensemble des puits de la ville de Douala (Figure 12). Les eaux des puits de Douala sont acides. Dans les eaux souterraines de Yaoundé, les valeurs moyennes du pH ont varié de $5,13 \pm 0,71$ à $6,97 \pm 0,23$ (Figure 13). Ces eaux ont également un caractère acide.



Puits

Puits

Figure 12 : Variation spatiale des valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux de puits dans la ville de Douala.

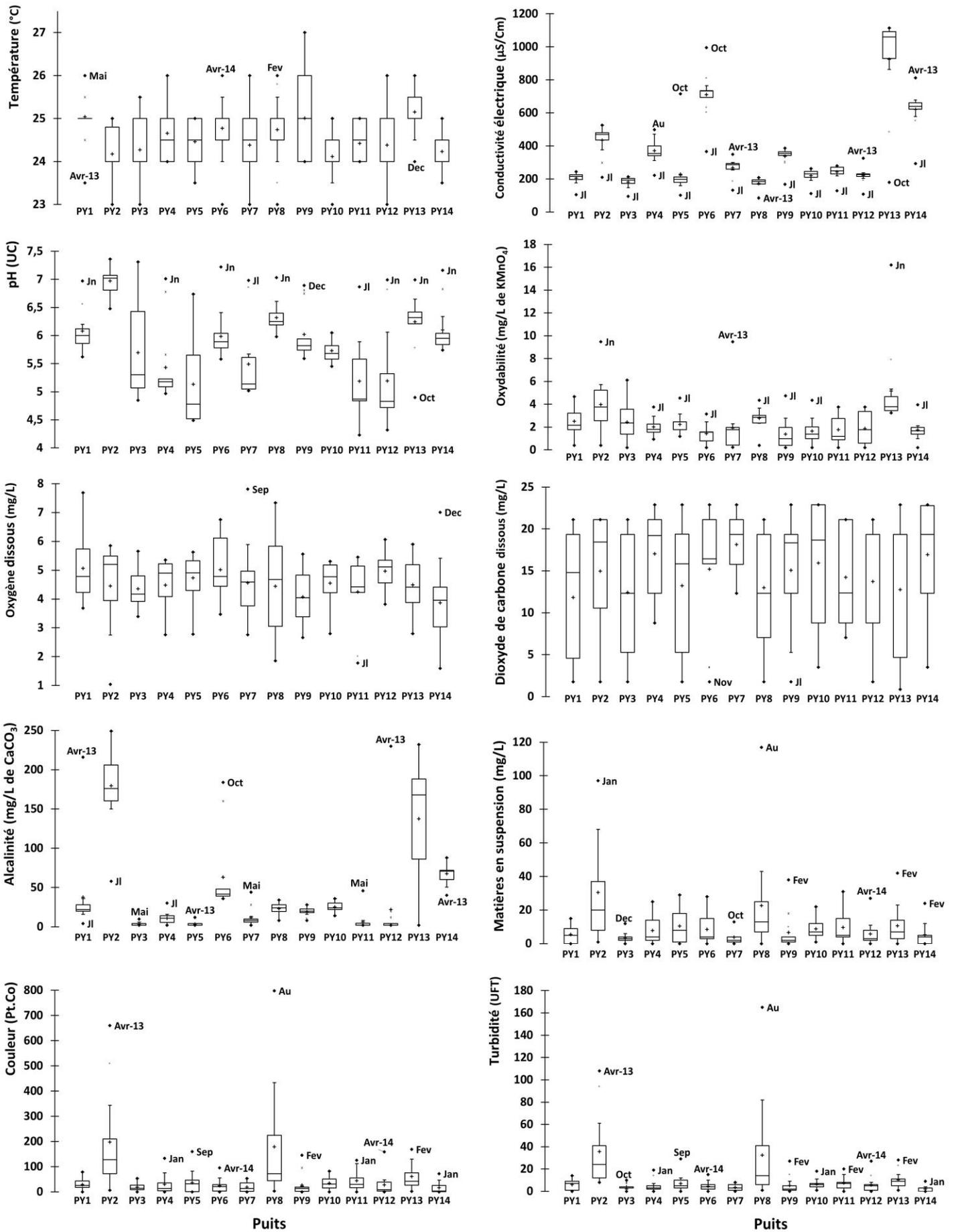


Figure 13 : Variation spatiale des valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux de puits dans la ville de Yaoundé.

III-1-1-3- Conductivité électrique

A Douala, les eaux souterraines ont présenté des conductivités électriques les plus faibles dans le puits PD2 ($145,38 \pm 34,88 \mu\text{s/cm}$) et les plus élevées dans les puits PD13 ($529,93 \pm 185,13 \mu\text{s/cm}$) et PD4 ($559,69 \pm 153,51 \mu\text{s/cm}$) (Figure 12). Ces valeurs indiquent que les eaux souterraines de Douala évoluent d'un degré de minéralisation très faible à un degré de minéralisation fort (Rodier 2009). A Yaoundé, la conductivité électrique moyenne a été comprise entre $172,46 \pm 39,85 \mu\text{s/cm}$ dans le puits PY8 et $923,53 \pm 280,18 \mu\text{s/cm}$ dans le puits PY13 (Figure 13). Environ 9 puits sur 14 prospectés dans cette ville ont présenté un degré de minéralisation moyen, et 3 puits ont présenté un degré de minéralisation élevée.

III-1-1-4- Les matières organiques (Demande chimique en oxygène ou oxydabilité)

A Douala, les concentrations en matières organiques ont varié de $2 \pm 1,2$ à $7,24 \pm 4,8$ mg/l de KMnO_4 (Figure 12). La teneur la plus élevée a été enregistrée dans le puits PD14 où la concentration en oxygène dissous a été également la plus faible. En outre, la teneur la plus faible en matière organique a été obtenue dans le puits PD7 où l'oxygénation a été élevée. L'évolution de l'oxygène dissous et des matières organiques montre une relation hyperbolique entre ces paramètres dans les puits PD7 et PD14. A Yaoundé, près de 85% des puits prospectés ont présenté des concentrations en matière organique inférieures à 3 mg/l. La plus faible concentration en matière organique a été enregistrée au puits PY9 ($1,4 \pm 1,3$ mg/l de KMnO_4). Le puits PY13 situé au quartier Tsinga-élobi s'est distingué des autres puits par une charge en matière organique plus élevée atteignant $5,16 \pm 3,54$ mg/l de KMnO_4 (Figure 13). La relation entre les teneurs en matière organique et l'oxygène dissous ne présente pas de caractère hyperbolique dans les puits de Yaoundé.

III-1-1-5- Oxygène dissous

Les teneurs en oxygène dissous ont varié d'une station à l'autre. Dans la région de Douala, les eaux du puits PD3 (quartier Ndogbong) ont été relativement plus oxygénées. Une teneur plus élevée de $6,5 \pm 0,8$ mg/l y a été enregistrée soit $77,86 \pm 10,40\%$ de saturation (Figure 12). Les eaux ont été relativement moins oxygénées au puits PD14 (quartier Bonamoussadi) où la teneur en oxygène a atteint $2,5 \pm 1$ mg/l soit $32,74 \pm 12,97\%$ de saturation. L'oxygénation des eaux de puits de Douala semble être normale dans leur ensemble. A Yaoundé, la concentration en oxygène dissous s'est située autour d'une valeur de $5 \pm 1,1$ mg/l dans le puits PY1 localisé au quartier Bastos. Au puits PY14 (Ekounou), la teneur en oxygène a été plus faible et est restée inférieure à 4 mg/l en moyenne (Figure 13). La majorité des puits prospectés dans la ville de Yaoundé ont un pourcentage de saturation d'environ 65%.

III-1-1-6- Dioxyde de carbone dissous (CO₂)

Dans les eaux souterraines de Douala, les teneurs moyennes en CO₂ dissous ont fluctué d'un site à l'autre : 14,88 ±6,74 mg/l au puits PD1 et 17,63 ± 4,34 mg/l au puits PD13 soit une amplitude de variation d'environ 3 mg/l (Figure 12). Dans les eaux souterraines de Yaoundé, l'amplitude de variation en CO₂ dissous a été relativement plus importante que dans les puits de Douala ; elle y a atteint une valeur de 7 mg/l. Les concentrations de cette variable chimique ont été comprises entre 11,83 ±7,56 mg/l dans le puits PY1 et 18,15 ±3,63 mg/l dans le puits PY7 (Figure 13).

III-1-1-7- Alcalinité

Les valeurs de l'alcalinité ont été sujettes à d'importantes variations stationnelles dans la région de Douala : 11,1 ±7mg/l CaCO₃ dans le puits PD10 et 139 ±46 mg/l CaCO₃ dans le puits PD13 (Figure 12). Dans les eaux souterraines de Yaoundé, l'alcalinité a été comprise entre 3,4 ±2,7mg/l CaCO₃ au puits PY11 et 147,6 ±77,7 mg/l CaCO₃ au puits PY13 (Figure 13). Les eaux souterraines de Yaoundé sont faiblement alcalinisées ($p \leq 0,05$) comparativement aux eaux souterraines de Douala.

III-1-1-8- Matières en suspension (MES)

Dans la ville de Douala, les concentrations en MES ont varié de 5,15 ± 8,17 mg/l dans le puits PD5 (Ndogpassi) à 16,3 ± 16,36 mg/l dans le puits PD14 (Bonamoussadi) (Figure 12). A Yaoundé, les eaux de puits ne sont pas plus chargées en MES. A Yaoundé elles ont oscillé entre 3,31 ±3,15 mg/l dans le puits PY3 et 30,46 ±29 mg/l dans le puits PY2 (Figure 13). Les eaux de puits de Yaoundé sont relativement plus chargées en MES que les puits de Douala ($p < 0,05$). Dans l'ensemble des puits des deux villes, les MES ont souvent été rares durant les campagnes. Les valeurs des écart-types à la moyenne ont été grandes.

III-1-1-9- Couleur

A Douala, la valeur la plus élevée de la couleur de l'eau soit 147,61 ±137,39 Pt.Co, a été enregistrée au puits PD14 situé au quartier Bonamoussadi (figure 12). Sa valeur la plus faible de 17 ±2 Pt.Co a été notée au puits PD11 du quartier Mboppi. A Yaoundé les valeurs de la couleur de l'eau ont fluctué d'un puits à l'autre. Dans le puits PY2 situé au quartier Ngoussou, la couleur de l'eau a été atteint la valeur la plus élevée soit 197,54 ±193,78 Pt.Co. Sa valeur la plus faible de 16,69 ±23,85 Pt.Co a été enregistrée dans le puits PY14 situé au quartier Ekounou (Figure 13). Dans les deux villes, les écart-types de la couleur de l'eau ont été importants.

III-1-1-10- Turbidité

La turbidité des eaux souterraines de Douala a fluctué entre $3,6 \pm 3,3$ (PD10) et $27,9 \pm 26,4$ FTU (PD14) (Figure 12). Les puits de Douala sont moins troubles dans leur ensemble. La valeur plus élevée de la turbidité a été enregistrée au puits PD14 où les MES ont été également plus concentrées. A Yaoundé, la turbidité moyenne a varié d'un puits à l'autre. Elle a été plus faible de $2,1 \pm 3,1$ FTU au puits PY14 et plus élevée de $35,5 \pm 32,6$ FTU au puits PY2. Les valeurs plus élevées de la turbidité et des MES ont été enregistrées au même site, le puits PY2 (Figure 13). Les écart-types calculés sur la moyenne de la turbidité sont élevés dans l'ensemble des puits des deux régions.

III-1-2- Variation des paramètres hydrologiques des puits

Les facteurs hydrologiques considérés dans cette étude ont été l'épaisseur de la colonne de l'eau dans le puits ainsi que la profondeur totale du puits. Les valeurs de ces paramètres obtenus dans les deux villes sont présentées dans la figure 14.

III-1-2-1- Epaisseur de la colonne d'eau

Dans les puits de Douala, l'épaisseur de la colonne d'eau a varié d'un site à l'autre allant de $87,25 \pm 16,61$ cm au puits PD7 à $186,51 \pm 12,75$ cm au puits PD14 (Figure 14A). L'amplitude de variation a été très marquée au puits PD13. Dans ce puits, l'écart entre la valeur la plus grande et la valeur la plus petite a été de 49,9 cm. L'amplitude de variation a été plus faible au puits PD9 où l'écart entre la grande valeur et la petite valeur a été de 23,8 cm. A Yaoundé, l'épaisseur de la colonne de l'eau a fluctué d'un puits à l'autre passant de $90,31 \pm 5,78$ cm dans le puits PY5 à $215,36 \pm 6,71$ cm dans le puits PY8 (Figure 14C). La plus grande amplitude de variation n'a guère dépassé 13,5 cm (PY3). Dans l'ensemble l'épaisseur de la colonne d'eau a été relativement plus élevée dans les puits de Yaoundé. Mais les plus grandes amplitudes de variation ont été observées dans les puits de Douala.

III-1-2-2- Profondeur totale des puits

La profondeur totale des puits a varié de 4,9 à 8,7 m dans la ville de Douala, soit une profondeur moyenne estimée à environ 5,91 m (Figure 14B). La plus petite profondeur a été noté au puits PD7 tandis que la plus grande profondeur a été enregistrée au puits PD4. A Yaoundé, elle a été de 2 m au puits PY5 et de 13,3 m au puits PY11 soit une profondeur moyenne de 8 m (Figure 14D). Les puits prospectés à Yaoundé ont été significativement ($p < 0,05$) plus profonds que ceux de Douala.

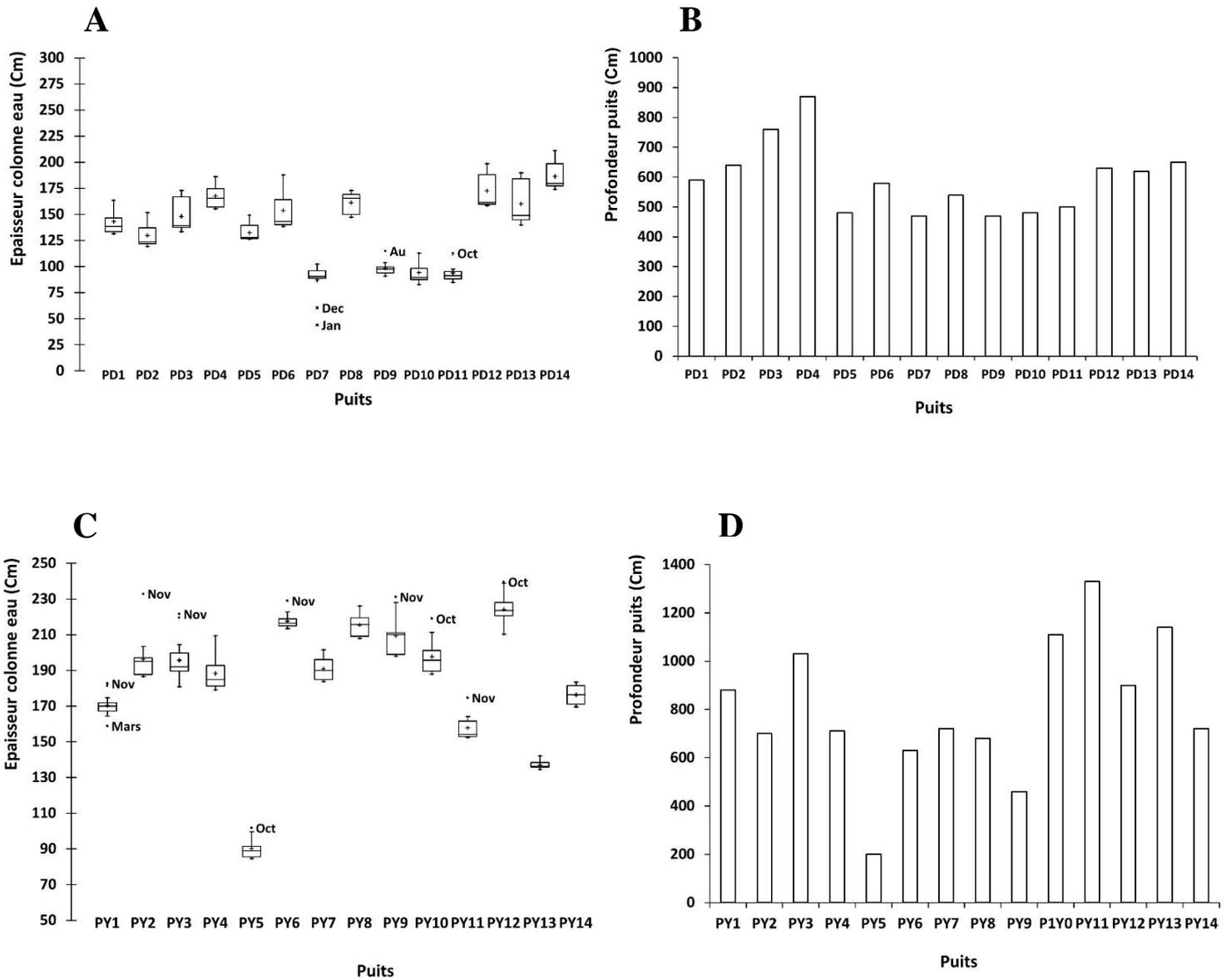


Figure 14 : Variations des paramètres hydrologiques. **A, B :** puits de Douala. **C, D :** Puits de Yaoundé.

III-1-3- Variation des paramètres météorologiques des villes de Douala et Yaoundé

Les relevés météorologiques mensuels obtenus dans les villes de Douala et Yaoundé sont illustrés à la figure 15.

III-1-3-1- Précipitations

Les précipitations enregistrées dans la ville de Douala ont atteint 3043 mm de pluie en un an (Figure 15A). Le suivi des précipitations a permis de distinguer deux périodes : une longue période qui dure 8 mois (Mars à Novembre) où la pluviométrie est comprise entre 228 et 446 mm et une courte période d'environ 4 mois (Novembre à Février) où la pluviométrie

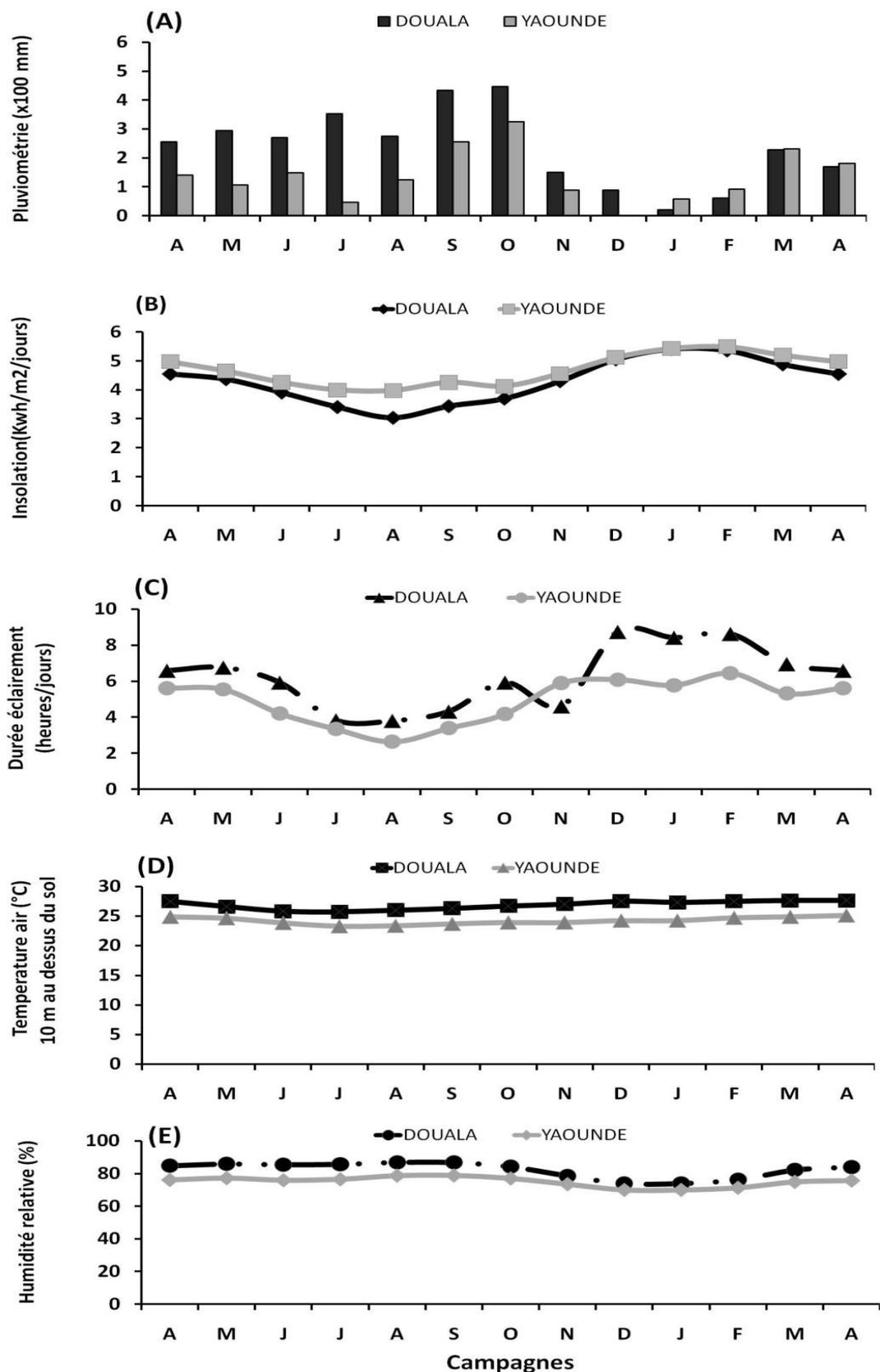


Figure 15 : Variations mensuelles des paramètres météorologiques mesurées dans les villes de Douala et Yaoundé de Avril 2013 à Avril 2014 : (A) pluviométrie, (B) insolation, (C) durée d'éclairement, (D) température de l'air, (E) humidité relative de l'air. A : Avril-2013, M : Mai, J : Juin, J : Juillet, A : Août, S : Septembre, O : Octobre, N : Novembre, D : Décembre, J : Janvier, F : Février, M : Mars, A : Avril-2014

varie entre 19,8 et 89 mm. Il en ressort que le climat de Douala est très pluvieux. Les pluies y ont été enregistrées durant les 13 mois d'étude. Dans la ville de Yaoundé, les précipitations enregistrées sur les 13 mois d'étude ont été 1793 mm de pluies. Les plus faibles précipitations ont été observées au mois de Juillet (46,4 mm). Aucune précipitation n'a été enregistrée au mois de Décembre au cours de cette étude. Les grandes pluies ont été cependant observées aux mois de Septembre et Octobre où la pluviométrie a atteint la valeur de 324,6 mm.

III-1-3-2- Insolation et durée d'éclairement

L'insolation détermine l'intensité du rayonnement solaire mesurée à la surface de la terre après sa traversée atmosphérique. A Douala, l'insolation mensuelle a oscillé entre 3,04 et 5,41 kWh/m²/jour (Figure 15B). La plus faible valeur a été enregistrée au mois d'Août et la plus grande valeur au mois de Février. A Yaoundé, les valeurs de l'insolation ont été comprises entre 3,98 et 5,49 kWh/m²/jour. La plus faible valeur a été observée au mois de Juillet tandis que la valeur la plus grande a été enregistrée au mois de Février. Dans les deux villes, l'évolution temporelle de l'insolation présente des similitudes (Figure 15B). La durée journalière de l'éclairement a fluctué d'un mois à l'autre quelle que soit la région d'étude (Figure 15C). A Douala, elle est passée de 3,8 heures/jour au mois d'Août à 8,7 heures/jour au mois de Décembre. A Yaoundé, elle a été comprise entre 2,6 heures/jour au mois d'Août et 6,09 heures/jour au mois de Décembre. La durée d'éclairement à Douala a été significativement plus élevée ($p < 0,05$) que celle mesurée à Yaoundé.

III-1-3-3- Température de l'air et humidité relative

Les valeurs mensuelles de la température de l'air mesurées à 10 m au dessus du sol ont légèrement varié d'un mois à l'autre dans les deux villes (Figure 15D). A Douala, elles sont passées de 25,7 °C au mois de Juillet à 27,6 °C aux mois de Mars et Avril. Dans la ville de Yaoundé, elles ont oscillé entre 23,3 °C au mois de Juillet et 25,1°C au mois d'Avril. Dans les deux régions, le sens de variation de la température de l'air a présenté des similitudes. Mais les valeurs de ce paramètre sont significativement plus élevées à Douala qu'à Yaoundé ($p < 0,05$). L'humidité relative de l'air a également été sujette à des variations mensuelles. Sa plus faible valeur de 73,9% a été enregistrée en Décembre et Janvier tandis que sa plus grande valeur soit 86,9% a été observée en Août dans la région de Douala (Figure 15E). A Yaoundé, l'humidité relative est passée de 69,9% aux mois de Décembre et Janvier à 78,7% au mois de Septembre. Malgré les similitudes observées dans la variation temporelle de ce paramètre dans les deux villes, l'air de Douala est significativement plus humide ($p < 0,05$) que l'air de Yaoundé.

III-1-4- Variation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa*

Après avoir isolé les cellules de *P. aeruginosa*, leurs abondances ont été déterminées dans les puits et effluents hospitaliers par filtration. Les abondances cellulaires obtenues à chaque campagne sont présentées aux annexes V et VI. La figure 16 illustre les variations des densités cellulaires en fonction des sites d'échantillonnage. Elles ont été présentées sous forme de boîtes à moustaches où la valeur du 1^{er} quartile Q1 (25% des effectifs), correspond au trait inférieur de la boîte ; la valeur du 2^{ème} quartile Q2 ou valeur médiane (50% des effectifs), est représentée par un trait horizontal à l'intérieur de la boîte ; la valeur du 3^{ème} quartile Q3 (75% des effectifs), correspond au trait supérieur de la boîte. Les deux barres verticales de part et d'autre de la boîte délimitent les valeurs dites adjacentes et représentent les valeurs minimales et maximales. Le signe + à l'intérieur de la boîte représente la valeur moyenne. Les valeurs extrêmes, atypiques (plus petite que 10% et plus grandes que 90% des effectifs) situées au-delà des valeurs adjacentes sont individualisées. Elles sont représentées par des marqueurs (étoiles et cercles).

III-1-4-1- Variation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans les puits de Douala

A Douala l'abondance cellulaire ponctuelle la plus élevée, soit 218 UFC/100ml, a été enregistrée au mois d'Avril (année 2013) dans le puits PD1 (Tableau V). La plus faible abondance cellulaire de 1 UFC/100 ml a été enregistrée dans la plupart des puits. Le suivi des abondances a souvent montré une rareté de *P. aeruginosa* dans les puits durant les campagnes à Douala. L'exception a été faite à la campagne de Juillet où la régularité du microorganisme a été vérifiée dans l'ensemble des puits. L'examen des valeurs moyennes des abondances a montré que le puits PD2 situé au quartier Ndogbong a présenté la charge bactérienne la plus faible soit $3,92 \pm 4,1$ UFC/100 ml, tandis que le puits PD13 situé au quartier New-Bell a présenté la charge bactérienne la plus élevée soit $29,3 \pm 43,3$ UFC/100 ml. Les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* ont été sujettes à des fluctuations spatiotemporelles à Douala (Figure 16A).

III-1-4-2- Variation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans les puits de Yaoundé

Dans les puits de Yaoundé, les concentrations cellulaires ponctuelles ont atteint 210 UFC/100 ml au puits PY1 en Avril (année 2013) (Tableau V). La plus faible concentration cellulaire de 1 UFC/100 ml a été observée dans la plupart des puits. *P. aeruginosa* a souvent été rare durant les campagnes à l'exception du mois d'Août où la régularité du germe a été

Tableau V : Variation des abondances cellulaires ponctuelles de *Pseudomonas aeruginosa* (en UFC/100 ml) suivants les mois de campagnes dans les puits des villes de Douala et Yaoundé (de Avril 2013 à Avril 2014)

Puits	Campagnes												
	Avril-13	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril-14
Douala													
PD1	7	5	1	4	0	7	8	2	2	19	5	35	218
PD2	7	6	0	15	3	0	2	4	1	6	0	4	3
PD3	20	16	0	150	30	0	2	1	11	0	0	81	13
PD4	1	5	2	35	8	4	0	5	167	19	5	0	12
PD5	0	1	6	100	0	0	14	5	7	2	5	2	4
PD6	42	1	1	50	8	0	2	9	6	0	0	1	5
PD7	0	3	0	2	4	13	2	24	10	2	3	31	6
PD8	0	0	15	84	0	0	9	1	0	0	0	1	12
PD9	0	2	0	200	7	4	2	2	3	3	5	4	36
PD10	174	8	3	24	40	11	45	1	13	2	2	0	26
PD11	25	1	1	89	0	0	8	1	25	7	3	3	5
PD12	0	15	1	12	2	0	0	0	14	0	3	14	5
PD13	54	1	1	73	11	2	0	29	153	10	5	25	17
PD14	0	0	0	63	0	9	17	1	0	2	2	0	0
Yaoundé													
PY1	0	0	29	1	41	2	2	1	0	4	0	2	210
PY2	4	0	10	0	3	3	17	7	0	58	2	0	8
PY3	14	8	1	7	13	11	1	0	0	0	0	0	10
PY4	5	35	0	13	4	3	1	0	0	8	1	0	0
PY5	20	48	30	10	15	6	22	2	0	0	40	10	10
PY6	1	2	20	3	25	17	8	2	4	12	40	10	50
PY7	3	15	150	1	12	3	12	2	3	0	6	0	0
PY8	0	45	30	0	5	0	90	2	0	2	0	2	8
PY9	0	99	8	6	75	0	8	2	0	0	0	206	22
PY10	14	1	25	2	8	1	0	2	0	0	1	0	28
PY11	6	3	0	0	39	7	1	2	0	0	0	4	10
PY12	0	6	8	8	18	5	1	0	4	0	14	0	6
PY13	1	1	0	0	8	6	8	2	0	0	0	0	34
PY14	0	0	0	3	60	11	0	0	0	0	6	0	40

Tableau VI : Variation des abondances cellulaires ponctuelles de *Pseudomonas aeruginosa* (en UFC/100 ml) suivants les mois de campagnes dans les effluents hospitaliers des villes de Douala et Yaoundé (de Avril 2013 à Avril 2014)

Effluents hospitaliers	Campagnes												
	Avril-13	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril-14
HG Douala	29	16	12	150	30	19	11	9	2	26	21	81	3
HLQ Douala	44	12	6	52	125	7	11	29	23	198	8	128	28
HG Yaoundé	23	9	62	2	19	92	126	11	8	20	8	9	21
CHU Yaoundé	14	11	25	29	48	3	12	26	10	4	7	30	28

HG Douala : Hôpital Général de Douala, HLQ Douala : Hôpital Laquintinie de Douala, HG Yaoundé : Hôpital Général de Yaoundé, CHU Yaoundé : Centre Hospitalier Universitaire de Yaoundé.

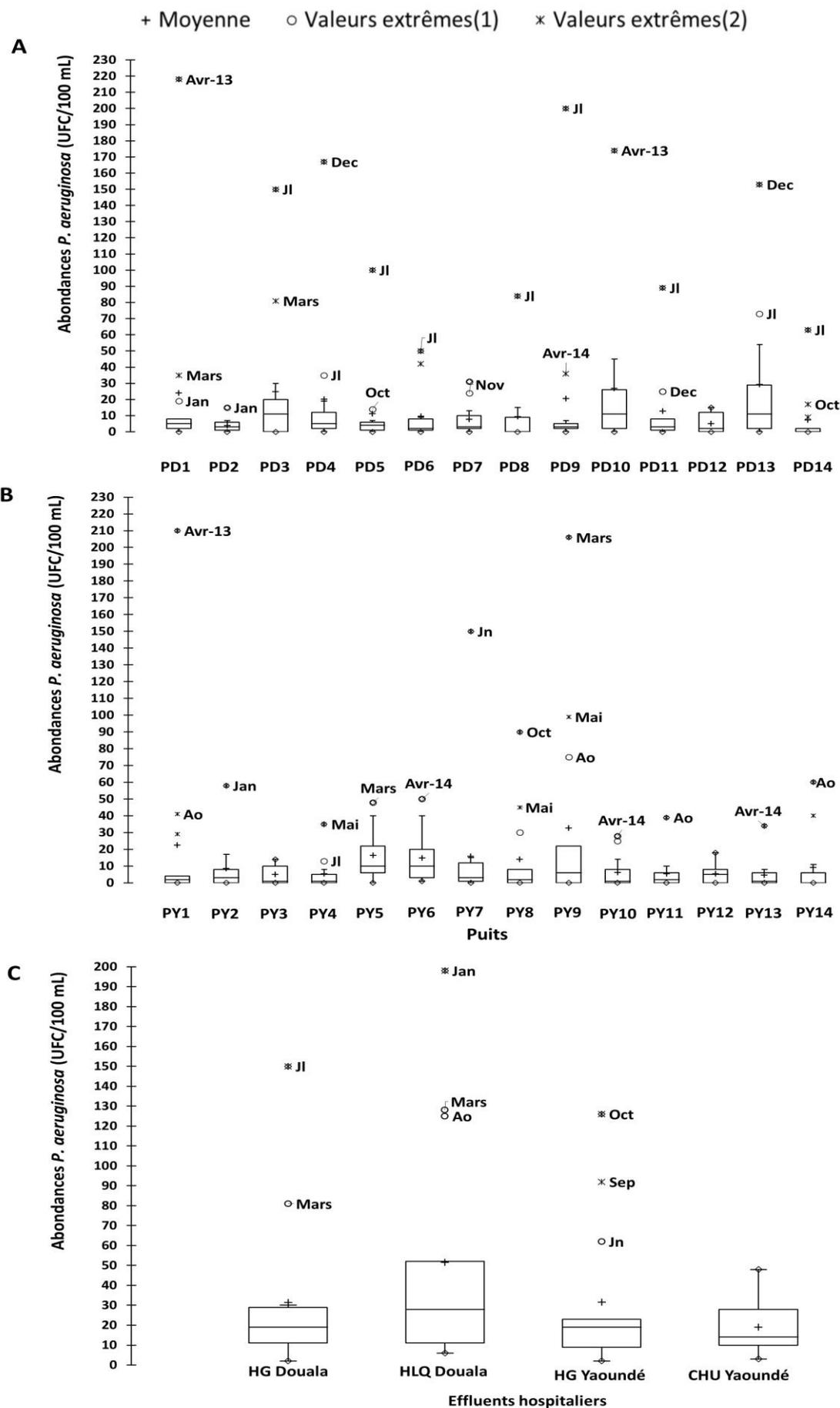


Figure 16 : Variation des abondances cellulaires moyennes de *P. aeruginosa*. (A) : dans les puits de Douala, (B) : de Yaoundé, (C) : dans les effluents hospitaliers des deux villes. **HG** : Hôpital Général, **HLQ** : Hôpital Laquintinie, **CHU** : Centre Hospitalier Universitaire.

observée. L'analyse des abondances moyennes montre que la pollution microbienne a été plus faible dans le site PY7 ($4,6 \pm 9,3$ UFC/100 ml) situé au quartier Obili. Elle a été plus élevée au site PY9 ($29,3 \pm 60,9$ UFC/100 ml) situé dans le même quartier. La variabilité spatiotemporelle des concentrations cellulaires a été observée dans les puits de Yaoundé. La comparaison des abondances cellulaires dans les puits des deux villes ne montre aucune différence significative ($p > 0,05$).

III-1-4-3- Variation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers de Douala et Yaoundé

Les densités cellulaires ponctuelles de *P. aeruginosa* ont varié de 2 à 150 UFC/100 mL, de 6 à 198 UFC/100 mL, de 2 à 126 UFC/100 mL et de 7 à 48 UFC/100 mL respectivement dans les effluents de l'hôpital Général de Douala, hôpital Laquintinie de Douala, hôpital Général de Yaoundé et du CHU de Yaoundé (Tableau VI). L'abondance moyenne la plus élevée a été observée dans l'effluent de l'hôpital Laquintinie (57 ± 41 UFC/100 mL), tandis que l'abondance la plus faible a été obtenue dans l'effluent du CHU de Yaoundé (19 ± 13 UFC/100 mL) (Figure 16C). Contrairement aux eaux de puits où *P. aeruginosa* a souvent été rare, les effluents hospitaliers se sont distingués par une régularité du germe durant les campagnes d'étude.

III-1-5- Corrélation établie entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* et les facteurs abiotiques

III-1-5-1- Corrélation entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* et les facteurs météorologiques et hydrologiques

Le degré de liaison entre les variations des abondances de *P. aeruginosa* et les fluctuations des paramètres météorologiques et hydrologiques, a été recherchée au moyen du test de corrélation « r » de Spearman. Les résultats sont présentés dans les tableaux VII et VIII. Il en ressort que ces relations diffèrent suivant les puits, aussi bien à Douala qu'à Yaoundé. Dans la région de Douala, la pluviométrie a été positivement et significativement corrélée ($p < 0,05$) aux abondances cellulaires de *P. aeruginosa* aux puits PD7, PD8 et PD9 (Tableau VII). Cette liaison positive a été également observée entre l'épaisseur de la colonne d'eau et les abondances cellulaires aux puits PD7, PD9 et PD14.

Tableau VII : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les abondances de *P. aeruginosa* isolées des puits et les paramètres météorologiques et hydrologiques à Douala

Paramètres considérés	Puits échantillonnés													
	PD1	PD2	PD3	PD4	PD5	PD6	PD7	PD8	PD9	PD10	PD11	PD12	PD13	PD14
Pluviométrie	-0,12	0,308	0,298	-0,158	0,401	-0,189	0,673*	0,587*	0,641*	0,128	-0,39	-0,059	-0,385	0,278
Insolation	-0,34	-0,345	-0,282	0,329	0,261	-0,401	0,385	-0,356	-0,129	-0,371	0,13	0,162	0,179	-0,243
Durée éclaircissement	0,321	0	-0,24	0,326	-0,173	-0,294	-0,234	-0,368	-0,174	-0,219	0,111	0,354	0,088	-0,309
Temp. de l'air	0,173	-0,111	-0,024	-0,311	0,161	0,042	0,407	-0,201	0,151	0,336	0,151	-0,484	-0,019	-0,144
Humidité relative	-0,29	-0,311	-0,158	0,811**	0,312	0,133	0,211	0,429	0	0,015	0,532*	0,483	0,432	0,423
Epaisseur colonne eau	0,162	0,402	-0,133	0,132	0,201	-0,219	0,606*	0,481	0,609*	0,035	-0,187	-0,179	-0,396	0,467*

Tableau VIII : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les abondances de *P. aeruginosa* isolées des puits et les paramètres météorologiques et hydrologiques à Yaoundé

Paramètres considérés	Puits échantillonnés													
	PY1	PY2	PY3	PY4	PY5	PY6	PY7	PY8	PY9	PY10	PY11	PY12	PY13	PY14
Pluviométrie	0,284	0,064	0,385	0,319	0,673*	0,292	0,391	0,442	0,541*	0,202	0,560*	-0,232	0,536*	0,135
Insolation	-0,40	-0,071	-0,546*	-0,405	-0,155	0,088	-0,306	0,012	-0,071	-0,108	-0,071	-0,546	-0,155	0,088
Durée éclaircissement	-0,07	0,036	-0,584*	-0,411	-0,186	-0,083	-0,211	-0,306	-0,191	-0,219	0,036	-0,484	-0,186	-0,083
Temp. de l'air	-0,29	0,057	-0,192	-0,09	-0,189	-0,123	-0,222	0,012	-0,021	0,332	0,235	0,242	0,113	-0,485
Humidité relative	0,216	0,283	-0,33	0,291	0,039	0,05	0,281	0,053	0,319	0,086	-0,399	-0,089	-0,405	0,118
Epaisseur colonne eau	0,191	0,338	0,349	0,111	0,582*	-0,153	0,09	0,218	0,532*	0,012	-0,138	0,017	0,293	-0,063

ddl = 13-1 = 12, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$

Il est à noter que les corrélations positives entre la pluviométrie et les abondances cellulaires d'une part, et entre l'épaisseur de la colonne d'eau et les concentrations cellulaires d'autre part ont été plus fortes dans les puits de faible profondeur notamment PD7 et PD9. Aucune corrélation significative ($p > 0,05$) n'a été obtenue entre l'insolation et les abondances de *P. aeruginosa*. La même observation a été faite avec la durée d'éclairement. La corrélation entre la température de l'air et les abondances de *P. aeruginosa* n'a pas été significative dans l'ensemble des puits prospectés ($p > 0,05$). Dans les puits PD4 et PD11, l'humidité de l'air a été positivement corrélée ($p < 0,05$) aux concentrations cellulaires (Tableau VII).

Dans les eaux souterraines de Yaoundé, la pluviométrie et les abondances de *P. aeruginosa* ont été significativement et positivement corrélées ($p < 0,05$) au niveau des sites PY5 et PY9 (Tableau VIII). Ces deux puits sont les moins profonds de l'ensemble des puits prospectés (PY5 = 2m ; PY9 = 5m). Dans ces mêmes puits, les variations de l'épaisseur de la colonne d'eau ont été positivement corrélées ($p < 0,05$) à celles des abondances bactériennes. Par ailleurs, la liaison entre les abondances de *P. aeruginosa* et l'insolation a été faible ($p > 0,05$) dans l'ensemble des puits. Le même résultat a été obtenu avec la durée d'éclairement à l'exception du puits PY3 où les abondances cellulaires ont été négativement corrélées à l'insolation et à la durée d'éclairement ($p < 0,05$). Notons qu'aucune liaison significative entre la température de l'air et les abondances de *P. aeruginosa* d'une part, et d'autre part entre l'humidité relative de l'air et les abondances cellulaires n'a été observée dans l'ensemble des puits à Yaoundé ($p > 0,05$) (Tableau VIII).

III-1-5-2- Corrélation entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* et les paramètres physicochimiques

Le test de corrélation « r » de Spearman a été réalisé entre les abondances de *P. aeruginosa* et les facteurs physicochimiques afin de rechercher d'éventuelles liaisons. Il apparaît que la liaison entre ces variables diffère selon le puits quelle que soit la région d'étude comme indiqué dans les tableaux IX et X. Une liaison significative et négative ($p < 0,05$) a été notée entre la conductivité électrique et les abondances cellulaires aux puits PD1, PD8 et PD10 à Douala (Tableau VII). Dans les puits PD1, PD2 et PD10, une liaison significative et positive ($p < 0,05$) a été enregistrée entre les teneurs en matières organiques et la prolifération de *P. aeruginosa*. Il ressort du tableau IX qu'aucune corrélation significative ($p > 0,05$) n'a été notée entre les densités microbiennes et les paramètres tels que la température de l'eau, l'oxygène dissous, le pH et les MES (Tableau IX).

Tableau IX : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les abondances de *P. aeruginosa* isolé des puits et les paramètres physicochimiques des eaux de puits à Douala

Paramètres considérés	Puits échantillonnés													
	PD1	PD2	PD3	PD4	PD5	PD6	PD7	PD8	PD9	PD10	PD11	PD12	PD13	PD14
Temp. eau	-0,235	-0,07	-0,141	0,011	-0,191	-0,401	0,218	-0,127	-0,2	0,018	0,207	0,369	-0,048	-0,096
CE	-0,561*	-0,302	0,22	0,039	-0,231	0,291	0,274	-0,65*	-0,235	-0,563*	-0,214	-0,362	0,25	-0,114
pH	-0,405	-0,311	-0,018	0,089	-0,301	0,306	0,192	0,284	-0,25	0,039	0,301	-0,299	-0,124	-0,261
O ₂ dissous	0,182	0,205	-0,081	0,398	0,311	0,198	0,427	0,275	-0,175	-0,312	-0,474	-0,215	0,019	-0,159
MO	0,681**	0,608*	-0,073	-0,107	0,291	-0,384	0,391	0,176	-0,173	0,551*	0,036	0,053	-0,014	-0,261
CO ₂ dissous	0,219	-0,104	-0,29	-0,201	0,306	0,012	-0,407	0,286	-0,122	0,018	-0,422	0,057	-0,27	-0,012
MES	0,517	0,219	0,134	0,18	0,291	0,031	0,511	0,432	0,128	0,391	0,225	0,034	-0,001	0,078
Couleur	0,561*	0,052	0,305	-0,231	0,012	0,281	0,319	0,029	0,084	0,103	0,194	0,430	0,291	0,013

Tableau X : Coefficients de corrélation « r » de Spearman entre les abondances de *P. aeruginosa* isolé des puits et les paramètres physicochimiques des eaux de puits à Yaoundé

Paramètres considérés	Puits échantillonnés													
	PY1	PY2	PY3	PY4	PY5	PY6	PY7	PY8	PY9	PY10	PY11	PY12	PY13	PY14
Temp. eau	-0,21	-0,147	-0,015	-0,206	-0,183	0,375	-0,01	-0,09	-0,09	0,308	-0,295	0,235	-0,039	-0,043
CE	-0,20	0,025	-0,419	-0,56*	0,014	-0,298	-0,29	-0,29	-0,09	0,017	-0,408	-0,389	-0,104	-0,2
pH	-0,08	-0,191	-0,071	-0,074	0,139	-0,237	-0,04	-0,31	0,004	0,002	-0,226	-0,089	-0,125	-0,259
O ₂ dissous	0,401	0,477	0,072	0,109	0,011	0,634*	0,301	0,204	0,281	0,607*	-0,034	-0,193	-0,064	-0,034
MO	0,074	0,425	0,573*	0,403	-0,049	-0,178	0,051	0,098	0,203	0,429	0,557*	0,031	-0,42	0,283
CO ₂ dissous	0,004	-0,017	0,226	0,091	0,457	0,087	0,023	0,401	0,182	-0,024	0,684**	0,434	0,555*	0,449
MES	0,321	0,553*	-0,338	0,051	0,641*	0,403	0,053	0,405	0,205	0,234	-0,091	0,083	-0,232	-0,026
Couleur	0,032	0,123	-0,539*	0,201	0,091	-0,081	0,091	-0,40	0,067	0,127	0,307	-0,096	0,292	0,026

ddl = 13-1 = 12, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, CE : conductivité électrique, MO : matières organiques, MES : matières en suspension

Dans les eaux de puits (PY6, PY10) de Yaoundé, une corrélation positive ($p < 0,05$) a été observée entre l'oxygène dissous et les abondances de *P. aeruginosa* (Tableau X). Cette liaison positive a été notée également entre les teneurs en matière organique et les abondances bactériennes, aux puits PY3 et PY11. Dans les eaux des puits PY2 et PY5, les concentrations en MES ont été positivement liées à la démographie de *P. aeruginosa* ($p < 0,05$). Les puits de Yaoundé se distinguent de ceux de Douala par la liaison positive ($p < 0,05$) entre les variations du CO₂ dissous et celles des abondances cellulaires. Cette corrélation a été en effet observée dans les puits PY11 et PY13. En outre, la liaison entre la conductivité électrique et les abondances cellulaires a été faible dans l'ensemble des puits à l'exception du site PY4 où ces deux variables ont été significativement corrélées ($p < 0,05$). Aucune corrélation significative ($p > 0,05$) n'a été enregistrée entre les densités microbiennes, la température de l'eau et le pH (Tableau X).

III-1-6- Hiérarchisation de l'influence des facteurs abiotiques établie sur les variations des abondances cellulaires de *P. aeruginosa*

La hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique d'abondance de *P. aeruginosa* a été exprimée en pourcentages des sommes des carrés de chaque facteur ANOVA à plusieurs facteurs. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XI. Il apparaît qu'à Douala, le dioxygène dissous, la conductivité électrique et l'alcalinité de l'eau sont les facteurs abiotiques ayant les plus grands pourcentages des sommes des carrés, respectivement de 49,93%, 35,5% et 20%. Le plus faible pourcentage des sommes des carrés, 0,29%, a été obtenu avec la température de l'air.

Dans les puits de Yaoundé, les pourcentages des sommes des carrés les plus élevés ont été obtenus avec le dioxyde de carbone dissous (66,61%), suivi des MES (41,35%) et de l'oxygène dissous (19,21%). La durée d'éclairement a eu le plus faible pourcentage des sommes des carrés (0,86%). Les résultats du tableau XI montrent qu'en additionnant les pourcentages des sommes des carrés des facteurs abiotiques classés par groupes (physicochimique, météorologique ou hydrologique), les pourcentages les plus élevés correspondent aux paramètres physicochimiques, suivi des paramètres météorologiques et des paramètres hydrologiques (tableau XI).

Tableau XI : Hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur les variations des abondances de *P. aeruginosa* dans les puits de Douala et Yaoundé.

Facteurs abiotiques considérés	Pourcentage (%) des sommes des carrés	
	Puits de Douala	Puits de Yaoundé
Conductivité électrique	35,53	0,77
CO ₂ dissous	7,11	66,61
O ₂ dissous	49,93	19,21
MES	9,5	41,35
Alcalinité	20,01	7,1
pH	7,22	8,74
Couleur	5,9	1,86
Matières organiques	2,33	1,34
Température de l'eau	8,63	12,25
Pluviométrie	0,85	7,1
Humidité relative	1,06	6,34
Température de l'air	0,29	1,28
Insolation	6,82	2,89
Durée éclaircissement	2,77	0,86
Profondeur du puits	0,96	9,91
Épaisseur colonne eau	4,94	1,35

III-1-7- Résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* isolé des puits de Douala et de Yaoundé

La résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* a été évaluée sur un total de 311 souches isolées des puits de Douala, et de 312 souches isolées des puits de Yaoundé. Pour valider le test d'antibiogramme, un contrôle de qualité interne a été organisé à l'aide de la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Les diamètres d'inhibition des antibiotiques obtenus avec la souche de référence ont été compris dans les limites acceptables fixées par le CA-SFM/EUCAST comme indiqué au tableau XII. Ce qui a permis de valider le test.

Tableau XII : Diamètres d'inhibition (mm) obtenues avec la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785

Antibiotiques testés	Charge du disque (µg)	Diamètre d'inhibition (mm)	
		Valeurs obtenues	Limites acceptables
Amikacine	30	23,5	18-26
Artréonam	30	24	23-29
Céfépime	30	28,5	24-30
Ceftazidime	30	29	25,5-31,5
Ciprofloxacine	5	30	25-33
Gentamicine	15	18,5	15,5-22,5
Imipénème	10	25,5	20-28
Piperacilline-Tazobactam	75-10	27,5	24-31
Ticarcilline-Clavulanate	75-10	26	20-28

La figure 17 présente les proportions des souches résistantes (R), sensibles (S) et intermédiaires (I) isolées de l'ensemble des puits de Douala et de Yaoundé. A Douala, toutes les souches isolées ont exprimé une résistance à la céfotaxime et à la kanamycine (Figure 17A). Des fréquences de résistance variées ont été observées vis-à-vis de plusieurs antibiotiques notamment la fosfomycine (77,88%), l'aztréonam (14,47%), la ceftazidime (14,15%), la piperacilline (11,25%) et la gentamicine (11,22%). Les plus faibles fréquences de résistance ont été obtenues avec la cefsulodine (2,88%) et l'ofloxacine (5,44%). S'agissant de la résistance aux associations d'antibiotiques, il apparaît que 11,25% des souches de *P. aeruginosa* sensibles à la combinaison piperacilline/tazobactam ont résisté à la piperacilline. En outre, près de 9,3% des souches ayant exprimé une résistance à l'association ticarcilline/clavulanate ont été sensibles à la ticarcilline. Parmi les 19 antibiotiques testés sur les isolats de *P. aeruginosa*, ceux ayant exercé la plus forte activité antimicrobienne (100% de sensibilité) ont été l'imipénème, la colistine, la ciprofloxacine, méropénème et la piperacilline/tazobactam. Pour ce qui est des phénotypes intermédiaires, les fréquences les plus élevées ont été obtenues avec l'aztréonam (85,53%) suivi de l'ofloxacine (48,39%) (Figure 17A).

Dans les eaux souterraines de Yaoundé, toutes les souches de *P. aeruginosa* ont résisté à la céfotaxime et à la kanamycine (Figure 17B). Ces souches ont exprimé des résistances relativement élevées vis-à-vis de la fosfomycine (90,09%), ofloxacine (30%), piperacilline (22%), ticarcilline (15,84%), ceftazidime (11,2%), ticarcilline/clavunate (10,89%) et de

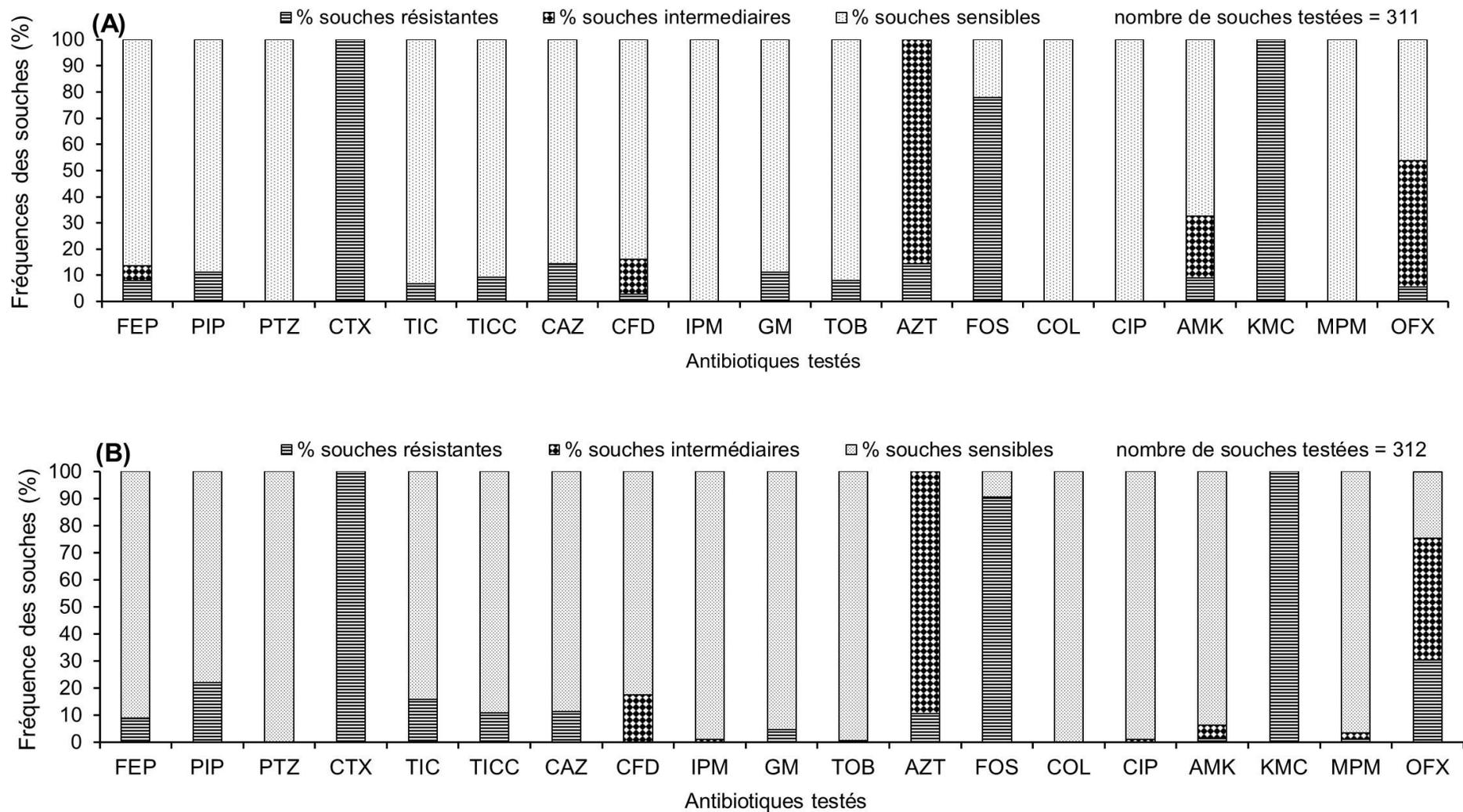


Figure 17 : Fréquences des souches R, S, et I de *P. aeruginosa* isolées des eaux de puits de Douala (A) et Yaoundé (B). FEP Céfépime, PIP pipéracilline, PTZ Pipéracilline/Tazobactame, CTX Céfotaxime, TIC Ticarcilline, TICC Ticarcilline/Clavulanate, CAZ Ceftazidime, CFD Cefsulodine, IMP Imipénème, GM Gentamicine, TOB Tobramycine, AZT Aztréoname, FOS Fosfomycine, COL Colistine, CIP Ciprofloxacine, AMK Amikacine, KMC Kanamycine, MPM Méropénème, OFX Ofloxacine

l'aztréonam (10,58%). Les plus faibles fréquences de résistance ont été obtenues vis-à-vis de la tobramycine (0,6%) et de l'amikacine (1,3%). En ce qui concerne la susceptibilité aux combinaisons d'antibiotiques, environ 22% des souches ont été sensibles à l'association pipéracilline/tazobactam et résistantes à la pipéracilline d'une part, d'autre part 10,9% des souches testées ont exprimé une résistance à l'association ticarcilline/clavulanate et une sensibilité à la ticarcilline. Les antibiotiques ayant exercé la plus forte activité antimicrobienne ont été la colistine (100%), pipéracilline/tazobactam (100%), tobramycine (99,4%), imipénème (99,01%), ciprofloxacine (99,1%), méropénème (96,7%) et l'amikacine (93,75%). L'expression du phénotype intermédiaire a été observée vis-à-vis de l'aztréonam (89,42%) et de l'ofloxacine (44,48%) essentiellement (Figure 17B).

Il a été noté quelques différences des fréquences de résistance entre les deux régions d'étude. Les souches collectées à Douala ont été relativement plus résistantes aux Aminoglycosides (gentamicine, amikacine, tobramycine) que les souches isolées à Yaoundé.

Certaines de ces souches ont exprimé une résistance vis-à-vis de la cefsulodine (2,88%) tandis qu'à Yaoundé aucun isolat n'a résisté à cet antibiotique. Les souches isolées des puits de Yaoundé ont été deux fois plus résistantes à la pipéracilline et à la ticarcilline/clavulanate par rapport aux souches isolées à Douala (22% vs 11,25%, et 15,84% vs 6,73%, respectivement). En outre, les isolats de Yaoundé ont été plus résistantes à l'ofloxacine (30,36%) comparativement aux isolats de Douala (5,44% de résistance).

III-1-8- Fréquences des résistances de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, et dans les puits proches de hôpitaux (PPH) ainsi que dans les puits excentrés des hôpitaux (PEH)

Les puits étudiés ont été répartis en puits proches des hôpitaux (PPH) (6 puits) et en puits excentrés des hôpitaux (PEH) (8 puits). Les fréquences des résistances ont été évaluées dans ces deux types de puits. De même dans les effluents hospitaliers les fréquences des résistances ont été déterminées. Le but étant de comparer les fréquences de résistance entre ces différents sites d'échantillonnage. La figure 18 présente ainsi les fréquences des résistances de *P. aeruginosa*, obtenues.

Il en ressort qu'à Douala, aucune souche de *P. aeruginosa* n'a résisté à la colistine, aussi bien dans les effluents hospitaliers que dans les PPH et les PEH (Figure 18A). La totalité des souches a été sensible à la ciprofloxacine, à l'imipénème ainsi qu'à la pipéracilline/tazobactam dans les PPH et les PEH. Cependant, quelques résistances vis-à-vis de ces antibiotiques ont été obtenues dans les effluents hospitaliers. Les souches de *P.*

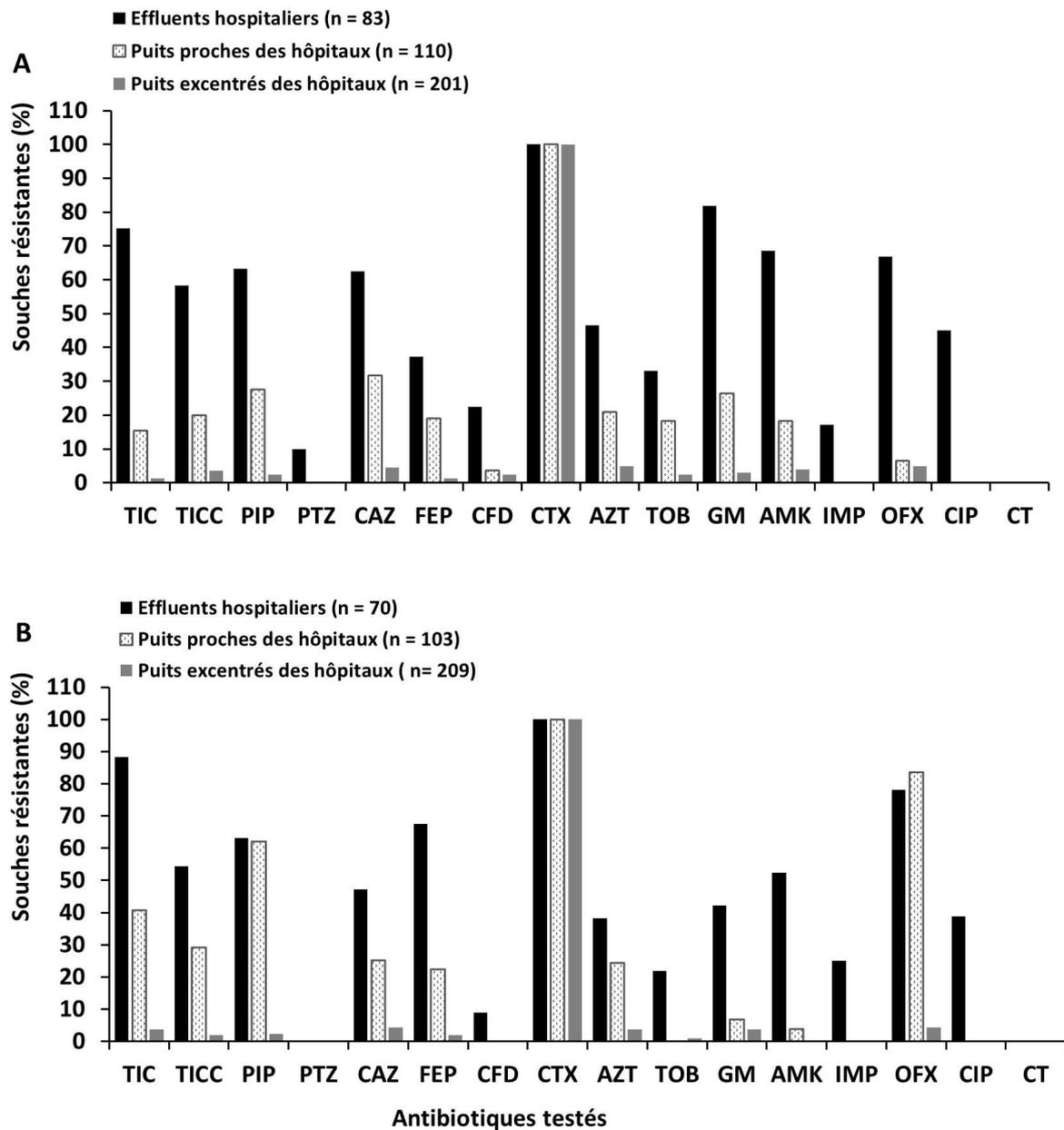


Figure 18 : Fréquences des résistances de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, les puits proches et les puits excentrés des hôpitaux. **A :** dans la ville de Douala, **B :** dans la ville de Yaoundé. **TIC** Ticarcilline, **TICC** Ticarcilline/Clavulanate, **PIP** pipéracilline, **PTZ** Pipéracilline/Tazobactame, **CAZ** Ceftazidime, **FEP** Céfépime, **CFD** Cefsulodine, **CTX** Céfotaxime, **AZT** Aztréoname, **TOB** Tobramycine, **GM** Gentamicine, **AMK** Amikacine, **IMP** Imipénème, **OFX** Ofloxacine, **CIP** Ciprofloxacine, **COL** Colistine.

aeruginosa ont exprimé une résistance naturelle contre la céfotaxime dans tous les sites d'échantillonnage. Dans les effluents hospitaliers de Douala, les fréquences des résistances supérieures à 50% des souches ont été observées vis-à-vis de sept antibiotiques : la ticarcilline (75,2%), ticarcilline/clavulanate (58,3%), pipéracilline (63,2%), ceftazidime (62,4%),

gentamicine (81,9%), amikacine (68,6) et l'ofloxacine (66,8%) (figure 18A). Dans les PPH, les fréquences des résistances vis-à-vis de ces antibiotiques ont été de 15,5% (ticarcilline), 20% (ticarcilline/clavulanate), 27,5% (pipéracilline), 31,8% (ceftazidime), 26,4% (gentamicine), 18,2% (amikacine) et 6,4% (ofloxacine). L'examen de la résistance acquise de *P. aeruginosa* dans les PEH a montré des fréquences des résistance relativement plus faibles 1,2% (ticarcilline), 3,5% (ticarcilline/clavulanate), 2,5% (pipéracilline), 4,5% (ceftazidime), 2,98% (gentamicine), 3,98% (amikacine), et 4,97% (ofloxacine) (Figure 18A).

A Yaoundé, toutes les souches de *P. aeruginosa* ont été sensibles à la colistine et à la pipéracilline/tazobactam aussi bien dans les effluents hospitaliers que dans les PPH et les PEH (Figure 18B). Elles ont exprimé une résistance naturelle vis-à-vis de la céfotaxime. A l'exception des souches des effluents hospitaliers, toutes les autres souches ont été sensibles à la ciprofloxacine, à l'imipénème et la cefsulodine dans les PPH et les PEH. L'examen de la résistance acquise montre des prévalences de résistance supérieures à 50% des souches enregistrées dans les effluents hospitaliers vis-à-vis de 6 antibiotiques notamment la ticarcilline (82,2%), la ticarcilline/clavulanate (54,3%), la pipéracilline (63,2%), la céfépime (67,6%), l'amikacine (52,3%) et l'ofloxacine (78,2%) (Figure 18B). Ces prévalences ont été relativement élevées par rapport à celles enregistrées dans les PPH où les proportions des souches résistantes supérieures à 50% n'ont été observées que vis-à-vis de deux antibiotiques dont la pipéracilline (62,13%) et l'ofloxacine (83,49%). Dans les PEH, la plus grande fréquence des résistances de 4,3% a été obtenue avec la ceftazidime et l'ofloxacine (Figure 18B).

III-1-9- Fréquences de quelques phénotypes de résistance exprimés par *P. aeruginosa* dans les PPH, les PEH et les effluents hospitaliers

III-1-9-1- Phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les prévalences des phénotypes de résistance aux β -lactamines apparaissent à la figure 19. Il en ressort que plusieurs souches de *P. aeruginosa* ont exprimé 3 phénotypes : pénicillinase, céphalosporinase haut niveau et céphalosporinase bas niveau de production essentiellement. Il s'agit des enzymes d'hydrolyse d'antibiotique qui confèrent aux bactéries des moyens d'éliminer efficacement les β -lactamines. Dans les effluents hospitaliers de Douala, les prévalences de ces phénotypes ont été de 33,47% ; 20,48% et 2,4% respectivement pour la pénicillinase, la céphalosporinase haut niveau et la céphalosporinase bas niveau. Dans les PPH ces prévalences ont atteint respectivement 24,54% ; 17,27% et 3,63% ; tandis que

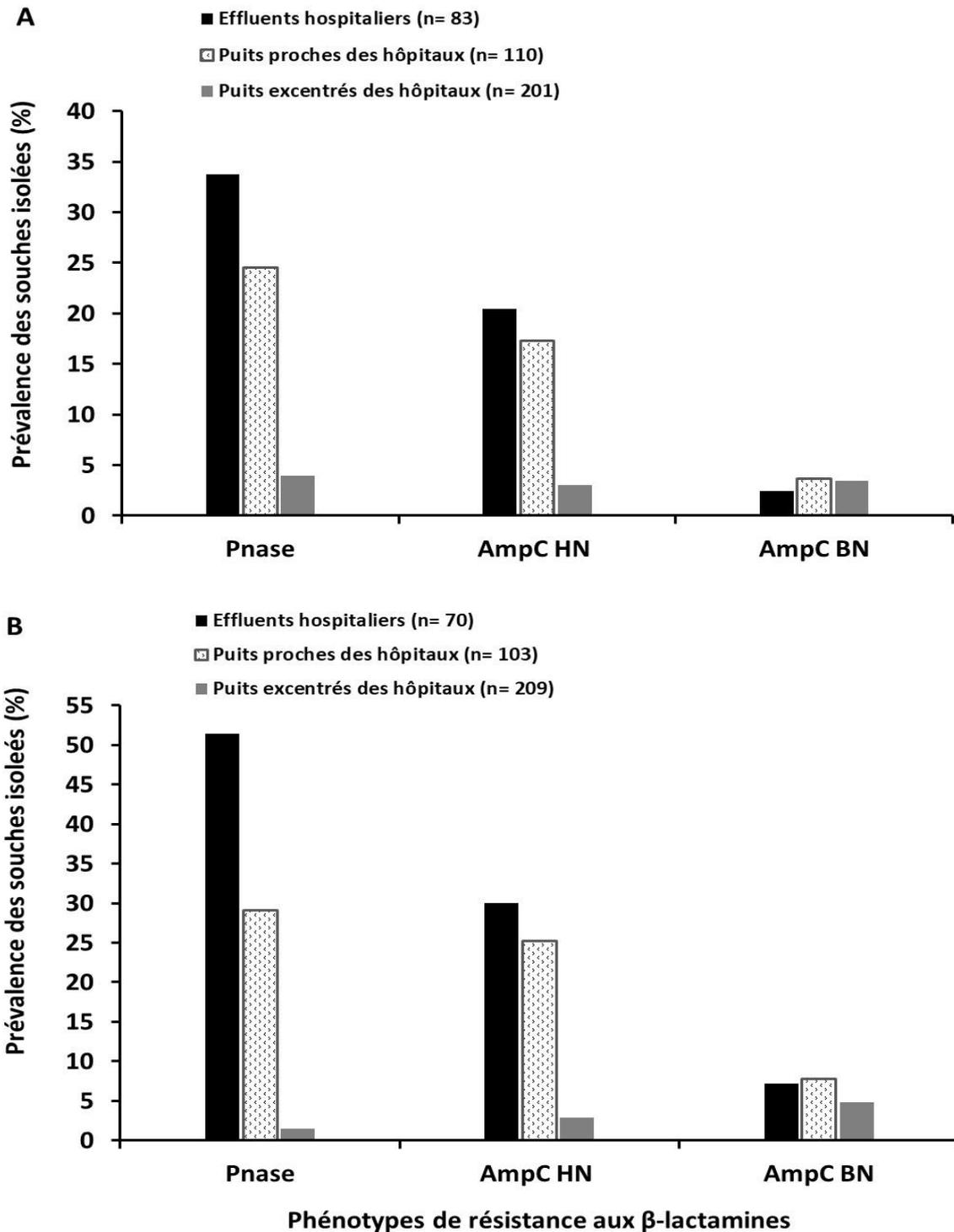


Figure 19 : Fréquences de quelques phénotypes de résistance aux β -lactamines par *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, les puits proches des hôpitaux et les puits excentrés des hôpitaux. **A** : dans la ville de Douala, **B** : dans la ville de Yaoundé. **Pnase** : phénotype pénicillinase ; **AmpC HN** : phénotype céphalosporinase haut niveau ; **AmpC BN** : phénotype céphalosporinase bas niveau.

dans les PEH elles ont été relativement plus faibles et ont atteint 3,98% ; 2,98% et 3,48% respectivement pour ces trois phénotypes (Figure 19A).

Dans les effluents hospitaliers de Yaoundé, les prévalences de ces phénotypes de résistance ont atteint 51,42% pour la pénicillinase, 30% pour la céphalosporinase haut niveau et 7,14% pour la céphalosporinase bas niveau (Figure 19B). Une baisse de ces prévalences a été observée dans les PPH où elles ont atteint 29,12% ; 25,24% et 7,76% pour la pénicillinase, la céphalosporinase haut niveau et la céphalosporinase bas niveau respectivement. Dans le cas des PEH, ces prévalences ont atteint les niveaux plus bas soit 1,43% ; 2,87% et 4,78%, respectivement pour ces trois phénotypes (Figure 19B).

III-1-9-2- Phénotypes de résistance aux Aminoglycosides

Le principal phénotype de résistance aux Aminoglycosides exprimé par les souches de *P. aeruginosa* a été Gen^R- Kan^R (souche résistante à la gentamycine et à la kanamycine), obtenu dans la ville de Douala. Sa fréquence a été plus élevée dans les effluents hospitaliers (78,4%) suivi des PPH (42,7%) et des PEH (23,8%) (Figure 20). A Yaoundé, le phénotype de résistance exprimé par la plupart des souches a été Gen^R-Ami^R. Ce phénotype a été fréquent dans les effluents hospitaliers (72,8%) et un peu moins dans les PEH (22,6%) (figure 20B). Dans les deux villes, plusieurs souches de *P. aeruginosa* ont exceptionnellement exprimé le phénotype Gen^R-Ami^R-Tob^R-Kan^R. Il s'agit d'une totorésistance aux 4 Aminoglycosides utilisés dans cette étude. Sa prévalence a été plus élevée à Douala où elle a atteint 49,6% dans les effluents hospitaliers, 29,3% dans les PPH et 12,46% dans les PEH (figure 20A). A Yaoundé, sa prévalence s'est située autour de 29,6% ; 12,23% et 10,34% dans les effluents hospitaliers, les PPH et les PEH respectivement (figure 20B).

III-1-9-3- Phénotypes de résistance aux Fluoroquinolones

Les Fluoroquinolones testés sur les souches de *P. aeruginosa* ont été la ciprofloxacine et l'ofloxacine. Aucune souche n'a exprimé le phénotype OFX^R-CIP^R correspondant à la totorésistance à ces Fluoroquinolones aussi bien dans les PPH que dans les PEH. Le principal phénotype de résistance observé dans ces puits a été OFX^R-CIP^S. Ses prévalences ont été de 83,49% à Douala et 6,4% à Yaoundé comme l'indique la figure 18. Dans les effluents hospitaliers par contre, le phénotype de totorésistance OFX^R-CIP^R a été identifié. Sa fréquence a été de 39% dans les effluents hospitaliers de Douala et de 22,3% dans les effluents hospitaliers de Yaoundé (Figure 21).

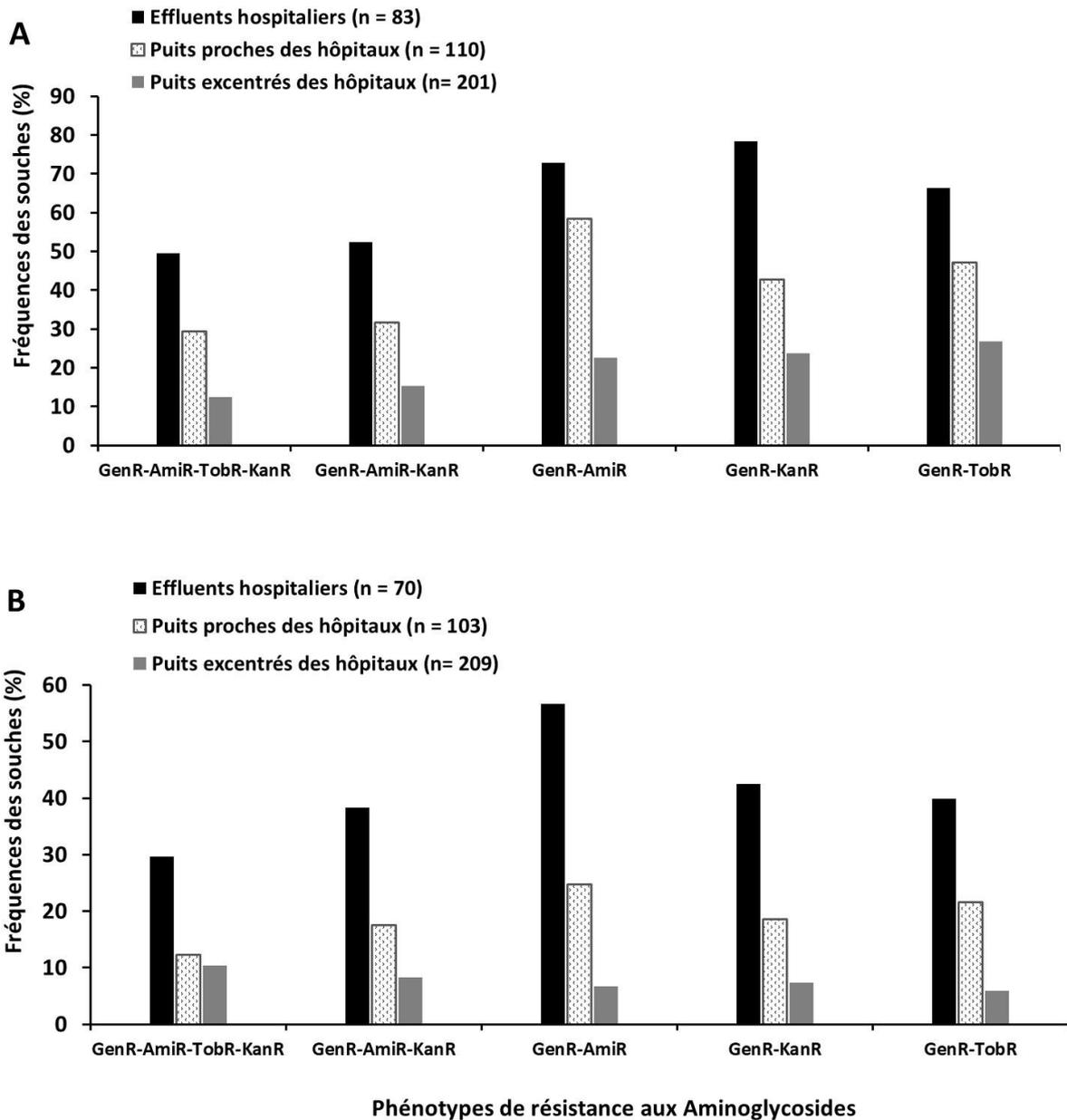


Figure 20 : Fréquences de quelques phénotypes de résistance aux Aminoglycosides de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, les puits proches des hôpitaux et les puits excentrés des hôpitaux. **A** : dans la ville de Douala, **B** : dans la ville de Yaoundé. **Gen^R-Ami^R-Tob^R-Kan^R** : souche résistante (R) à la fois à la gentamycine, amikacine, tobramycine et à la kanamycine.

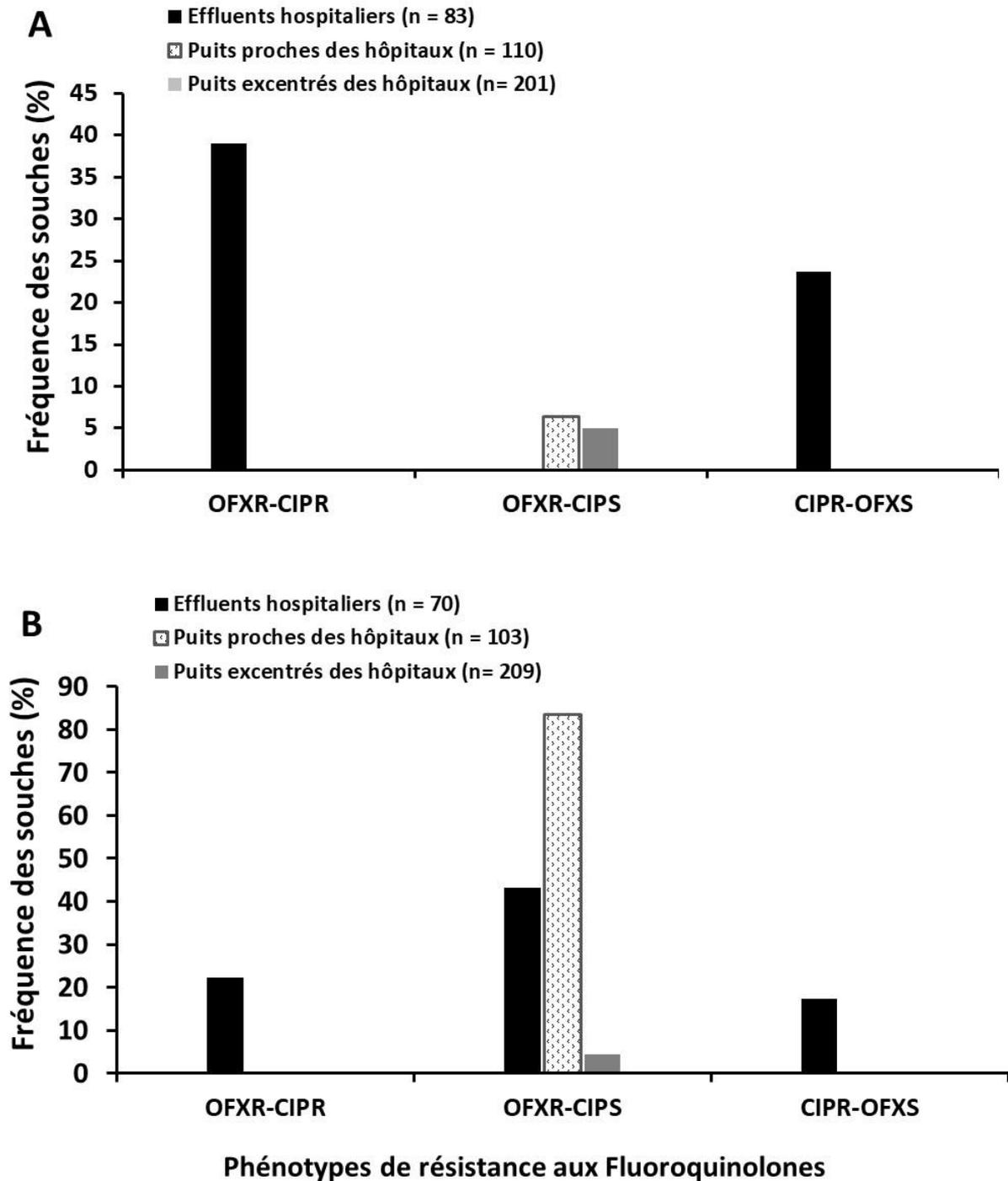


Figure 21 : Fréquences de quelques phénotypes de résistance aux Fluoroquinolones de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, les puits proches des hôpitaux et les puits excentrés des hôpitaux. **A** : dans la ville de Douala, **B** : dans la ville de Yaoundé. **OFX^R-CIP^S** : souche résistante (R) à l’Ofloxaciné et sensible (S) à Ciprofloxacine.

III-1-10- Multirésistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* dans les PPH, les PEH et les effluents hospitaliers

Les souches de *P. aeruginosa* ayant résisté à plusieurs antibiotiques (souches multirésistantes) ont été détectées dans les puits et dans les effluents hospitaliers des deux villes. La multirésistance correspond à une résistance à au moins 3 antibiotiques apparentés ou non.

Toutes les souches de *P. aeruginosa* ont résisté à 5 antibiotiques ou plus dans les effluents hospitaliers et les PPH, aussi bien à Douala qu'à Yaoundé comme illustré dans la figure 22. Ce niveau de multirésistance a baissé dans les PEH où la prévalence a atteint 63,26% à Douala et 52,8% à Yaoundé respectivement. Il est à noter que des prévalences de multirésistance à 8 antibiotiques sont restées élevées dans ces eaux. Elles ont atteint 68,37% ; 42,8% et 17,35% respectivement dans les effluents hospitaliers, les PPH et les PEH à Douala. A Yaoundé ces fréquences ont atteint 51,3% ; 23,1% et 9% respectivement dans ces trois types de sites.

Certaines souches de *P. aeruginosa* ont exprimé une multirésistance à 10 antibiotiques ou plus exceptionnellement. Ce niveau de multirésistance a été exprimé à des fréquences de 26,7% et de 9,6% respectivement dans les effluents hospitaliers et les PPH de Douala. Toutefois il n'a pas été exprimé dans les PEH. À Yaoundé par contre il a été exprimé dans les PEH à une fréquence d'environ 6,3%. La fréquence a ensuite augmenté dans les effluents hospitaliers (16,8%) suivis des PPH (11,6%) (Figure 22).

Pour tous les niveaux de multirésistance obtenus, les prévalences ont souvent été plus élevées dans les effluents hospitaliers et les PPH, et plus faibles dans les PEH (Figure 22).

III-1-11- Index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) des PPH, des PEH et des effluents hospitaliers

L'index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) a été calculé dans chaque puits et effluents hospitalier pour évaluer le niveau des résistances dans ces sites. Les résultats sont présentés dans les tableaux XIII et XIV. Il en ressort que l'index MRA a varié d'un puits à l'autre. Dans les puits de Douala, il a varié de 0,2 à 0,79 sur une échelle établie de 0 à 1. Sur l'ensemble des 14 puits prospectés dans cette ville, 5 ont affiché un index MAR supérieur à 0,5. Il s'agissait pour la plupart des PPH (tableau XIII). Dans les PEH par contre, l'index MRA a été plus faible. Ses valeurs y ont été comprises entre 0,2 et 0,48. En comparaison aux index MRA des puits, les index MRA des effluents hospitaliers ont été plus élevés. Ils ont atteint 0,74 et 0,83 respectivement dans l'effluent de l'hôpital Général et l'effluent de l'hôpital Laquintinie (tableau XIII).

A Yaoundé, l'index MRA des puits s'est situé entre 0,1 et 0,68. Cinq (5) des 14 puits prospectés ont présenté un index MRA supérieur à 0,5. Il s'agissait des PPH essentiellement. Globalement, l'index MRA a été plus élevé dans les effluents hospitaliers (0,57 à 0,74) suivis des PPH (0,47 à 0,68) et des PEH (0,1 à 0,47) (tableau XIV). Bien que l'index MRA soit fonction des abondances bactériennes, la relation entre ces deux paramètres n'a pas toujours été linéaire dans les eaux analysées.

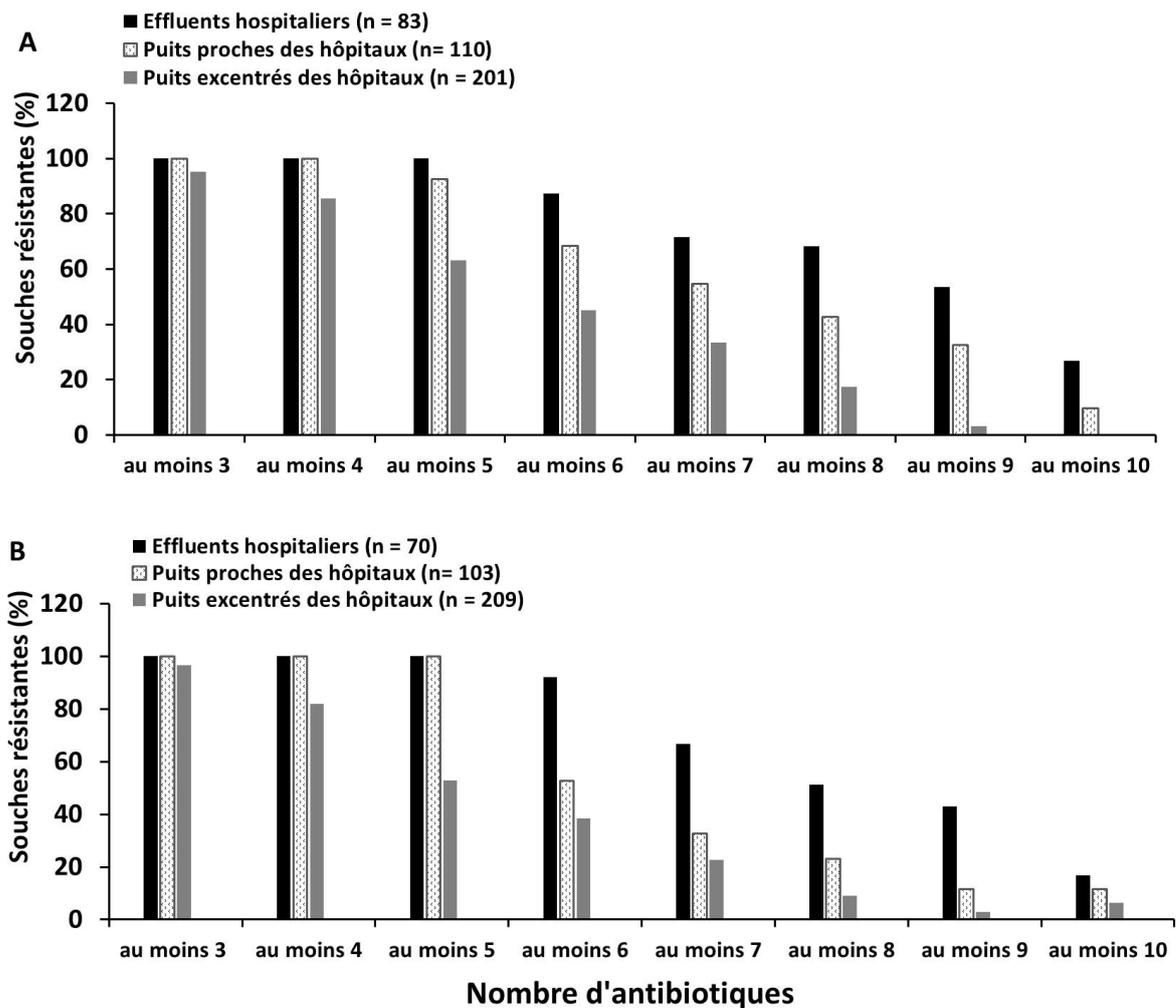


Figure 22 : Fréquences des souches multirésistantes de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers, les puits proches des hôpitaux et les puits excentrés des hôpitaux. **A** : dans la ville de Douala, **B** : dans la ville de Yaoundé.

Tableau XIII : Index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) des souches de *P. aeruginosa* isolées dans les effluents hospitaliers et les puits de Douala (nombre d'antibiotiques = 19).

Sites d'échantillonnage	Codes	Nombre d'isolats testés	Scores sommés de la résistance	Index MAR
Effluent de l'hôpital Général	EGD	34	415	0,74
Effluent de l'hôpital Laquintinie	EHL	49	546	0,83
	Total	83		---
Puits proches de l'hôpital Général	PD1	22	420	0,79
	PD2	20	471	0,67
	PD3	18	339	0,66
Puits proches de l'hôpital Laquintinie	PD6	19	417	0,61
	PD7	17	320	0,51
	PD8	14	182	0,48
Puits excentrés des hôpitaux	PD4	14	43	0,28
	PD5	28	109	0,32
	PD9	27	68	0,21
	PD10	25	114	0,4
	PD11	26	103	0,34
	PD12	24	34	0,2
	PD13	36	228	0,48
	PD14	21	92	0,44
	Total	311		---

Tableau XIV : Index de la multirésistance aux antibiotiques (MRA) des souches de *P. aeruginosa* isolées dans les effluents hospitaliers et les puits de Yaoundé (nombre d'antibiotiques = 19).

Sites d'échantillonnage	Codes	Nombres d'isolats testés	Scores sommés de la résistance	Index MRA
Effluent de l'hôpital Général	EGY	40	504	0,74
Effluent du CHU	ECHU	29	322	0,57
	Total	70		---
Puits proches de l'hôpital Général	PY2	21	465	0,68
	PY3	19	255	0,56
	PY4	18	284	0,65
Puits proches du CHU	PY7	16	494	0,53
	PY8	16	318	0,62
	PY9	13	223	0,47
Puits excentrés des hôpitaux	PY1	38	112	0,23
	PY5	22	80	0,35
	PY6	24	32	0,12
	PY10	35	223	0,47
	PY11	21	52	0,25
	PY12	27	100	0,31
	PD13	19	61	0,23
	PD14	23	34	0,1
	Total	312		---

III-1-12- Analyse comparée des fréquences des résistances aux antibiotiques de *P. aeruginosa* entre les PPH et les PEH

La comparaison des fréquences des souches résistantes entre les PPH et PEH a été faite par le test de Fisher. Les résultats sont consignés dans les tableaux XV et XVI.

A Douala, les fréquences des résistances dans les PPH ont été significativement plus élevées ($p < 0,05$) que celles enregistrées dans les PEH. Cette différence a été constatée vis-à-

vis de 9 antibiotiques notamment la ticarcilline (15,5% vs 1,2%, respectivement), la ticarcilline/clavulanate (20% vs 3,5%, respectivement), la pipéracilline (27,5% vs 2,5%, respectivement), la ceftazidime (31,8% vs 4,5%, respectivement), la céfépime (19,1% vs 1,2%, respectivement), la tobramycine (18,2% vs 2,5%, respectivement), la gentamicine (26,4% vs 2,98%, respectivement), l'aztréonam (21% vs 4,9%, respectivement) et l'amikacine (18,2% vs 3,98%, respectivement) (Tableau XV). Aucune différence significative ($p>0,05$) n'a été observée entre les PPH et PEH pour ce qui est des Fluoroquinolones, de l'imipénème, de la cefsulodine. La comparaison des prévalences des phénotypes de résistance a été également faite entre les PPH et les PEH. Il apparaît que des différences significatives existent entre ces deux types de puits pour ce qui est des phénotypes pénicillinases (24,54% vs 3,98%, respectivement) et céphalosporinase haut niveau (17,27% vs 2,98%, respectivement) (Tableau XVI).

Tableau XV : Comparaison des fréquences des résistances de *P. aeruginosa* entre les PPH et les PEH à Douala.

Antibiotiques et phénotypes de résistance aux β -lactamines	Nombre de souches résistantes / nombre total de souches testées (%)		P -value
	PPH	PEH	
Ticarcilline/clavulanate	22/110 (20)	4/201 (3,5)	0,0062 ^a
Ticarcilline	17/110 (15,5)	7/201 (1,2)	0,0053 ^a
Pipéracilline	30/110 (27,5)	5/201 (2,5)	0,0004 ^a
Pipéracilline/Tazobactam	0/110 (0)	0/201 (0)	-
Ceftazidime	35/110 (31,8)	9/201 (4,5)	0,0005 ^a
Céfépime	21/110 (19,1)	4/201 (1,2)	0,0075 ^a
Cefsulodine	4/110 (3,63)	5/201 (2,5)	0,94
Céfotaxime	110/110 (100)	201/201 (100)	-
Aztréonam	23/110 (21)	10/201 (4,9)	0,05 ^a
Tobramycine	20/110 (18,2)	5/201 (2,5)	0,0041 ^a
Gentamicine	29/110 (26,4)	6/201 (2,98)	0,0035 ^a
Amikacine	20/110 (18,2)	8/201 (3,98)	0,0021 ^a
Imipénème	0/110 (3,1)	0/201 (0)	
Ofloxacine	7/110 (6,4)	10/201 (4,97)	0,76
Ciprofloxacine	0/110 (0)	0/201 (0)	
Colistine	0/110 (0)	0/201 (0)	-
Pénicillinase	27/110 (24,54)	8/201 (3,98)	0,0017 ^a
AmpC haut niveau	19 /110 (17,27)	6/201 (2,98)	0,0029 ^a
AmpC bas niveau	4/110 (3,63)	7/201 (3,48)	0,93

^a significatif

A Yaoundé, les fréquences des résistances ont été significativement plus élevées ($p \leq 0,05$) dans les PPH comparativement aux PEH pour les antibiotiques tels que la ticarcilline (40,77% vs 3,82%, respectivement), ticarcilline/clavulanate (29,12% vs 1,91%, respectivement), pipéracilline (62,13% vs 2,39%, respectivement), ceftazidime (25,24% vs 4,3%, respectivement), céfépime (22,33% vs 1,91%, respectivement), aztréonam (24,27% vs 3,82%, respectivement) et l'ofloxacin (83,49% vs 4,3%, respectivement) (Tableau XVI). Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre les PPH et les PEH pour les Aminoglycosides, l'imipénème et la ciprofloxacine (Tableau XVI). Les prévalences des phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été significativement plus élevées dans les PPH que dans les PEH. C'est le cas notamment du phénotype pénicillinase (29,12% vs 1,43%, respectivement) et du phénotype céphalosporinase haut niveau (25,4% vs 2,87%, respectivement) (Tableau XVI).

Tableau XVI : Comparaison des fréquences des résistances de *P. aeruginosa* entre les PPH et les PEH à Yaoundé.

Antibiotiques et phénotypes de résistance aux β -lactamines	Nombre de souches résistantes / nombre total de souches testées (%)		<i>P</i> -value
	PPH	PEH	
Ticarcilline/clavulanate	30/103 (29,12)	4/209 (1,91)	0,0006 ^a
Ticarcilline	42/103 (40,77)	8/209 (3,82)	0,00043 ^a
Pipéracilline	63/103 (62,13)	5/209 (2,39)	0,00037 ^a
Pipéracilline/Tazobactam	0/103 (0)	0/209 (0)	-
Ceftazidime	26/103 (25,24)	9/209 (4,3)	0,0082 ^a
Céfépime	23/103 (22,33)	4/209 (1,91)	0,0074 ^a
Cefsulodine	0/103 (0)	0/209 (0)	-
Céfotaxime	103/103 (100)	209/209 (100)	-
Aztréonam	25/103 (24,27)	8/209 (3,82)	0,0046 ^a
Tobramycine	0/103 (0)	2/209 (1)	0,98
Gentamicine	7/103 (6,79)	8/209 (3,82)	0,81
Amikacine	4/103 (3,88)	0/209 (0)	0,77
Imipénème	9/103 (0)	0/209 (0)	0,86
Ofloxacin	86/103 (83,49)	9/209 (4,3)	0,00092 ^a
Ciprofloxacine	0/103 (0)	0/209 (0)	-
Colistine	0/103 (0)	0/209 (0)	-
Pénicillinase	30/103 (29,12)	3/209 (1,43)	0,00055 ^a
AmpC haut niveau	26/103 (25,4)	6/209 (2,87)	0,0062 ^a
AmpC bas niveau	8/103 (7,76)	10/209 (4,78)	0,89

^a significatif

III-1-13- Corrélation établie entre les abondances cellulaires de *Pseudomonas aeruginosa* des PPH et des effluents hospitaliers

Dans la ville de Douala, des corrélations significatives et positives ($p < 0,05$) ont été observées entre les abondances cellulaires des puits proches de l'hôpital Laquintinie (PD7 et PD8) et, les abondances cellulaires d'effluent du même hôpital comme indiqué dans le tableau XVII. Aucune corrélation significative ($p > 0,05$) n'a été obtenue entre les abondances cellulaires des puits proches de l'Hôpital Général de Douala et les abondances cellulaires d'effluents produits par ce centre hospitalier (Tableau XVII).

Tableau XVII : Corrélation entre les abondances cellulaires des PPH et des effluents hospitaliers à Douala.

	Puits proches de l'hôpital Général de Douala		
	PD1	PD2	PD3
Effluent de l'hôpital Général de Douala	0,04	0,47	0,48

	Puits proches de l'hôpital Laquintinie de Douala		
	PD6	PD7	PD8
Effluent de l'hôpital Laquintinie de Douala	0,35	0,73**	0,57*

ddl = 13-1 = 12 ; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$

Tableau XVIII : Corrélation entre les abondances cellulaires des PPH et des effluents hospitaliers à Yaoundé.

	Puits proches de l'hôpital Général de Yaoundé		
	PY2	PY3	PY4
Effluent de l'hôpital Général de Yaoundé	0,75**	0,4	-0,11

	Puits proches du CHU de Yaoundé		
	PY7	PY8	PY9
Effluent du CHU de Yaoundé	-0,14	0,25	0,69*

ddl = 13-1 = 12 ; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$

L'analyse du tableau XVIII montre que dans la ville de Yaoundé, une corrélation significative et positive ($p < 0,05$) a été observée entre les abondances d'un seul puits proche de l'hôpital Général (PY2) et les abondances d'effluent. La même corrélation positive et significative ($p < 0,05$) a été obtenue entre un seul puits proche du CHU (PY9) et les abondances d'effluent. Par ailleurs, aucune corrélation significative ($p > 0,05$) n'a été notée entre les abondances cellulaires de deux puits (PY3, PY4) proches de l'Hôpital Général et les

abondances cellulaires d'effluent. Cette absence de corrélation significative a également été observée entre les abondances de deux puits (PY7, PY8) proches du CHU et les abondances d'effluent émis par ce centre hospitalier (Tableau XVIII).

III-1-14- Relations établies entre les résistances aux antibiotiques et les facteurs abiotiques

Les relations entre les facteurs abiotiques et les diamètres d'inhibition des antibiotiques ont été recherchées afin de vérifier l'influence éventuelle des facteurs abiotiques des biotopes des souches isolées sur la résistance aux antibiotiques. Le test statistique requis a été celui des régressions multiples. Les équations obtenues ont été reportées dans les tableaux XIX et XX. Pour les souches de *P. aeruginosa* isolées des puits de Yaoundé, les valeurs de R^2 qui donnent les pourcentages de variation des diamètres d'inhibition expliquée par les facteurs abiotiques, ont oscillé entre 0,7% et 4,1% ($p \leq 0,05$) (Tableau XIX). Les faibles valeurs de R^2 ont été obtenues avec l'ofloxacine, le méropénème, l'amikacine, l'imipénème et la ceftazidime. Les équations de régression pour lesquelles les valeurs de R^2 étaient plus grandes ont été obtenues avec la ticarcilline. L'examen des pentes spécifiques assignées à chaque paramètre physicochimique montre que le pH des eaux a été le facteur abiotique ayant les pentes les plus raides variant de 0,7 à 1,8 (Tableau XIX). Ces pentes indiquent comment les diamètres d'inhibitions des antibiotiques varient avec le pH. Les pentes de la conductivité électrique ont varié entre 0,00005 et 0,002 tandis que celles de l'oxygène dissous a oscillé entre 0,006 et 0,4. Les pentes assignées à la matière organique ont fluctué entre 0,01 et 0,3 ($p < 0,05$).

Pour les souches de *P. aeruginosa* isolées des puits de Douala, environ 2,5% à 4,8% de la variance des diamètres d'inhibition des antibiotiques a été expliqué par les fluctuations des valeurs des facteurs abiotiques ($p < 0,05$), au regard des valeurs de R^2 (Tableau XX). Les faibles valeurs de R^2 ont été observées avec l'ofloxacine et la fosfomycine tandis que les fortes valeurs de R^2 ont été obtenues avec la ceftazidime. Les pentes attribuées à chaque facteur abiotique ont oscillé entre 0,1 et 4,8 pour le pH, 0,002 et 0,005 pour la conductivité électrique, 0,3 et 0,5 pour l'oxygène dissous et entre 0,003 et 0,2 pour la matière organique (Tableau XX).

Tableau XIX : Relations entre les résistances aux antibiotiques et les facteurs abiotiques des eaux de puits à Yaoundé.

Y	Equations de régression	R ²	p
Diamètres d'inhibition des antibiotiques			
FEP =	$27 - 0,002EC - 1,4pH - 0,2DO - 0,1OM$	0,014	0,045
PIP =	$27 - 0,001EC - 1,4pH - 0,2DO - 0,3OM$	0,014	0,041
PTZ =	$25 - 0,003EC - 0,7pH - 0,004DO - 0,04OM$	0,011	0,083
TIC =	$21 - 0,0008EC - 1,1pH - 0,006DO - 0,2OM$	0,041	0,049
TICC =	$21 - 0,00005EC - 1,1pH + 0,2DO - 0,08OM$	0,009	0,064
CAZ =	$27 + 0,0004EC - 1,5pH - 0,1DO - 0,04OM$	0,007	0,032
CFD =	$26 + 0,0008EC - 1,6pH + 0,01DO - 0,02OM$	0,010	0,031
IMP =	$27 - 0,0001EC - 1,3pH - 0,4DO + 0,04OM$	0,007	0,044
GM =	$22 - 0,0003EC - 1,3pH - 0,05DO + 0,06OM$	0,010	0,021
TOB =	$20 - 0,0001EC - 1,2pH + 0,01DO + 0,04OM$	0,008	0,039
FOS =	$7.6 - 0,0007EC - 0,8pH + 0,07DO - 0,1OM$	0,009	0,069
CIP =	$33 - 0,001EC - 1,8pH - 0,1DO - 0,07OM$	0,009	0,029
AMK =	$22 + 0,0002EC - 1,2pH + 0,02DO - 0,01OM$	0,007	0,047
MPM =	$31 - 0,001EC - 1,4pH - 0,3DO - 0,04OM$	0,007	0,026
OFX =	$23 - 0,001EC - 1,07pH - 0,1DO + 0,05OM$	0,007	0,058

Observations = 182; $p < 0,05$. FEP: céfépime, PIP: pipéracilline, TIC: ticarcilline, TICC: ticarcilline/clavulanate, CAZ: ceftazidime, CFD: cefsulodine, IMP: imipénème, GM: gentamicine, TOB: tobramycine, FOS: fosfomycine, CIP: ciprofloxacine, AMK: amikacine, MPM: méropénème, OFX: ofloxacine, EC: conductivité électrique, DO: oxygène dissous, OM: matière organique.

Dans les deux régions d'étude, moins de 5% des variations des facteurs abiotiques considérés expliquent la variance des diamètres d'inhibition des antibiotiques ($p < 0,05$). Le pH de l'eau semble être le paramètre susceptible d'impacter significativement ($p < 0,05$) les variations des diamètres d'inhibition au regard des pentes des équations de régression. Les pentes du pH ont été relativement plus raides dans les puits de Douala par rapport à ceux de Yaoundé.

Tableau XX : Régression multiple des diamètres d'inhibition des antibiotiques par les facteurs abiotiques des eaux de puits à Douala.

Y	Equations de régression	R ²	p
Diamètres d'inhibition des antibiotiques			
FEP =	40 + 0,005EC - 3,7pH + 0,4DO - 0,1OM	0,043	0,049
PIP =	41 + 0,003EC - 3,6pH + 0,4DO + 0,003OM	0,031	0,044
PTZ =	38 + 0,004EC - 3,2pH + 0,3DO + 0,03OM	0,032	0,035
TIC =	36 + 0,003EC - 3,4pH + 0,4DO - 0,005OM	0,041	0,0521
TICC =	31 + 0,003EC - 2,8pH + 0,3DO - 0,02OM	0,036	0,0510
CAZ =	43 + 0,005EC - 4,1pH + 0,3DO - 0,2OM	0,048	0,0083
CFD =	39 + 0,005EC - 3,5pH + 0,3DO - 0,07OM	0,035	0,0246
IMP =	41 + 0,003EC - 3,7pH + 0,5DO - 0,1OM	0,038	0,047
GM =	26 + 0,002EC - 2,4pH + 0,4DO + 0,01OM	0,034	0,0610
TOB =	27 + 0,002EC - 2,1pH + 0,3DO + 0,008OM	0,031	0,073
FOS =	4.8 + 0,003EC - 0,1pH + 0,6DO - 0,06OM	0,025	0,0501
CIP =	53 + 0,004EC - 4,8pH + 0,5DO - 0,03OM	0,037	0,0405
AMK =	25 + 0,003EC - 2,3pH + 0,6DO + 0,05OM	0,037	0,0509
MPM =	54 + 0,003EC - 4,7pH + 0,3DO - 0,07OM	0,034	0,0332
OFX =	33 + 0,003EC - 2,8pH + 0,3DO - 0,07OM	0,025	0,061

Observations = 182 ; $p < 0,05$. FEP : céfépime, PIP : pipéracilline, TIC : ticarcilline, TICC : ticarcilline/clavulanate, CAZ : ceftazidime, CFD : cefsulodine, IMP : imipénème, GM : gentamicine, TOB : tobramycine, FOS : fosfomycine, CIP : ciprofloxacine, AMK : amikacine, MPM : méropénème, OFX : ofloxacine, EC : conductivité électrique, DO : oxygène dissous, OM : matière organique.

III-2- DISCUSSION

III-2-1- Variation des facteurs météorologiques

III-2-1-1- Précipitations

Les connaissances sur le climat d'une région sont importantes car il constitue le facteur de pédogénèse qui détermine les propriétés d'un sol et par conséquent les processus d'infiltration des eaux de ruissellement et de contamination des nappes phréatiques. Ces

processus peuvent déterminer ultérieurement l'évolution des propriétés physicochimiques des eaux souterraines (Njitchoua *et al.*, 1997 ; Pitt *et al.*, 1999). Le climat de Douala est relativement très pluvieux. Les précipitations annuelles mesurées dans cette localité ont atteint 3043 mm. Les pluies y ont été enregistrées tout le long de l'année avec un maximum de 446 mm au mois d'Octobre 2014. Il s'agit d'un climat de type équatorial humide, soumis à l'influence de la proximité avec la mer et le mont Cameroun (4100 m d'altitude) (Suchel, 1988). A Yaoundé les pluies ont été moins régulières mais ont présenté une forte variabilité. Les variations mensuelles des précipitations ont laissé apparaître quatre saisons, une grande saison sèche (Décembre-Février : 140 mm), une petite saison des pluies (Mars-Mai : 600 mm), une petite saison sèche (Juin-Août : 243 mm) et une grande saison des pluies (Septembre-October : 810 mm). Il s'agit d'un climat tropical subéquatorial de type yaoundéen ainsi qualifié par Suchel (1988).

III-2-1-2- Température de l'air, humidité relative et ensoleillement

L'air de la ville de Douala a été relativement plus chaud que l'air de Yaoundé (27°C contre 24°C, respectivement). Cette différence serait liée à l'altitude des deux régions. En effet, Douala et Yaoundé sont situés respectivement à 25 m et 723 m au dessus du niveau de la mer. Etant donné que la température de l'air diminue généralement avec l'altitude (Suchel, 1988), l'air devrait être plus froid à Yaoundé et plus à Douala. Les relevés de l'humidité de l'air ont montré que la ville de Douala est plus humide que la ville de Yaoundé (83% contre 73%, respectivement). Cette différence serait liée aux fortes températures de l'air enregistrées dans la ville de Douala. Dans cette ville en effet, la proximité de la mer, associée aux grandes températures de l'air, amplifie le processus d'évaporation à l'origine de ces fortes humidités. Selon Tyler *et al.* (1993), les variations de la température de l'air et de l'humidité relative sont déterminantes pour la structure d'un sol. Ces paramètres pourraient ainsi influencer les processus d'infiltration des eaux de surface dans le sol, et de contamination des nappes phréatiques.

Les données de cette étude indiquent que les deux villes ont reçu à peu près la même insolation durant toute l'année, soit en moyenne 5 kWh/m²/jour. Cependant elles ont différé significativement ($p < 0,05$) par la durée d'éclairement. La ville de Douala a été plus ensoleillée que celle de Yaoundé (6,23 heures/jour contre 4,92 heures/jour, respectivement). Cette différence serait attribuable aux différences de position géographique des deux villes. Elle serait aussi en partie liée aux différences climatiques. En effet, selon Suchel (1988), la

durée d'insolation dans une région dépend de sa latitude. Elle peut aussi fluctuer en fonction de la couverture nuageuse.

III-2-2- Variation des paramètres physicochimiques des eaux de puits

III-2-2-1- Température et pH

La température moyenne des eaux de puits de Douala a varié de 26,88 à 27,46°C. Elle a été comprise entre 24,11 et 25,15°C à Yaoundé. Selon Chippaux *et al.* (2007), une température de l'eau comprise entre 25 et 28°C serait idéale pour la productivité microbienne. La mesure de ce paramètre est nécessaire, car il influence le métabolisme des organismes aquatiques. Il affecte les propriétés physiques et chimiques de l'eau, en particulier sa densité, sa viscosité, la solubilité de ses gaz et la vitesse des réactions chimiques et biochimiques (Belghiti *et al.*, 2013). La différence de température des eaux de puits entre les deux villes pourrait être liée à la différence de température de l'air et de profondeur des puits. La profondeur moyenne des puits à Douala a été de 5,91 m, tandis qu'à Yaoundé elle a atteint 8 m. La faible profondeur des puits de Douala exposerait d'avantage les eaux à l'influence de la température de l'air dont les valeurs ont été également plus élevées dans cette ville (27°C).

En outre, les eaux souterraines de Douala et Yaoundé ont présenté régulièrement un caractère acide (< à 7). Ce résultat se rapproche de ceux obtenus par Nola *et al.* (2001) et Nougang *et al.* (2011) qui ont investigué la qualité des eaux de puits de Douala et de Yaoundé. Ils ont établi que l'acidité de ces eaux était stable durant un cycle saisonnier complet. L'acidité constante de ces eaux souterraines serait liée à la minéralogie de la roche réservoir qui héberge la nappe phréatique. Dans la région de Douala, le substratum rocheux est riche en minéraux siliceux, tandis qu'à Yaoundé il est riche en minéraux silicatés (Yongue-Fouateu, 1986 ; Takem *et al.*, 2010). Ces minéraux sont de nature acide. Toutefois, il a été établi que l'acidité des eaux souterraines en zones urbaines comme Douala et Yaoundé, peut résulter de l'expression d'une pollution organique (Nola *et al.*, 2001 ; Nougang *et al.*, 2011). Les matières organiques susceptibles d'être fermentées en composés acides par les microorganismes, proviendraient de l'infiltration des eaux usées domestiques, agricoles, industrielles et même des eaux de ruissellement météoritiques qui ont une charge organique élevée (Rodier, 2009).

III-2-2-2- Conductivité électrique

La conductivité électrique indique le degré de minéralisation de l'eau. Elle peut constituer un indicateur de pollution organique des eaux naturelles (Rodier *et al.*, 2009). Les

eaux souterraines de Douala et de Yaoundé évoluent de très faiblement minéralisées à fortement minéralisées. Leur conductivité électrique n'y a pas excédé 1000 $\mu\text{s/cm}$. Ces valeurs sont relativement faibles lorsqu'on les compare à celles obtenues par Nougang *et al.* (2011) qui soulignaient des fortes conductivités électriques dans les eaux de puits de Douala, atteignant parfois 2000 $\mu\text{s/cm}$. Dans d'autres régions du pays notamment la partie septentrionale, les eaux souterraines sont d'avantage minéralisées et leur conductivité électrique a parfois atteint 2160 $\mu\text{s/cm}$ (Djaouda *et al.*, 2015). En effet, la minéralisation des eaux souterraines est en grande partie déterminée par l'hydrolyse des minéraux de la roche qui héberge la nappe. Elle dépend également de la solubilité des minéraux dans l'eau, elle-même tributaire de la température de l'eau (Rodier *et al.*, 2009). Les différences spatiales de la conductivité électrique observées seraient donc attribuables aux variations de la solubilité des minéraux dans l'eau. Cependant les fortes valeurs ponctuelles de la conductivité électrique souvent observées pourraient résulter d'une pollution organique localisée de l'aquifère, d'une part. D'autre part, les apports directs en minéraux exogènes lors de l'infiltration des eaux de ruissellement anthropiques ou météoritiques, contribueraient aussi à la variabilité de la conductivité électrique dans les eaux. L'influence de ce dernier facteur est tributaire de l'hétérogénéité spatiale des sols (Kopa Njueya *et al.*, 2012).

III-2-2-3- Dioxyde de carbone (CO₂) dissous

Les teneurs en CO₂ dissous obtenues dans cette étude se rapprochent de celles mesurées par Nougang *et al.* (2011) dans les eaux souterraines de Douala. Elles restent cependant inférieures à celles mesurées par Djaouda *et al.* (2015) dans la partie septentrionale du pays. En effet, la solubilité du dioxyde de carbone dans l'eau dépend de la pression partielle du gaz dans l'atmosphère, de la température de l'eau (la solubilité décroît avec l'élévation de la température) et de la concentration en sels dissous dans l'eau, celle-ci réduisant la solubilité des gaz (Rodier, 2009). Ces facteurs évoluent dans l'espace et dans le temps, ce qui expliquerait les différences de concentration en CO₂ dissous rapportées par d'autres auteurs (Rodier, 2009).

III-2-2-4- Oxygène dissous (O₂) et matières organiques

Les concentrations en oxygène dissous se sont situées autour de 4 à 6 mg/l dans la plupart des puits prospectés à Douala et Yaoundé. Ces valeurs indiquent que ces eaux souterraines sont normalement oxygénées dans leur ensemble (Santosh *et al.*, 2008). Les

teneurs en O₂ dissous ont été sujettes à des variations spatiales dans les deux régions d'étude. Selon Rodier (2009) la solubilité de l'oxygène dans l'eau varie avec la température, la pression atmosphérique et la concentration en sels dissous. Dans certains puits où la concentration en oxygène dissous a été plus faible (< à 3 mg/l), la charge en matières organiques y a été très élevée. C'est le cas du puits PD14 de Douala où il a été enregistré une charge organique de 7 mg/l. A l'inverse dans d'autres puits plus oxygénés (> 4 mg/l) (PD3), la charge en matières organiques a été très faible (2 mg/l). Ces observations suggèrent que dans quelques puits de Douala, les concentrations en oxygène dissous et en matière organique seraient hyperboliquement liées. D'après Chapelle *et al.* (2011), les concentrations relatives en oxygène dissous et en matière organique peuvent être affectées par le métabolisme microbien hétérotrophe consommateur de l'oxygène dissous de l'eau. La nature de la relation entre ces deux paramètres dépendrait aussi de la région d'étude et de la biodisponibilité de la matière organique.

A Yaoundé aucune relation hyperbolique n'a été observée entre l'oxygène dissous et la matière organique dans l'ensemble des puits prospectés. Il en est de même pour les eaux souterraines de la région septentrionale comme rapportés par Djaouda *et al.* (2015). Dans ce cas, la concentration en matières organiques dans les eaux souterraines serait influencée par des processus autres que le métabolisme microbien. Foulquier *et al.* (2010) ont montré que la variabilité de la concentration en matière organique dans les eaux souterraines peut être associée à la recharge de la nappe phréatique lors de l'infiltration des eaux superficielles chargées en matières organiques.

III-2-2-5- Alcalinité

L'alcalinité mesure la capacité de l'eau à neutraliser les acides et à résister aux changements du pH. Elle est déterminée par les teneurs en ions bicarbonate (HCO₃⁻), carbonate (CO₃²⁻) et hydroxyde (OH⁻) dans l'eau. Cette étude a relevé que l'alcalinité a été comprise entre 11,1 et 149 mg/l CaCO₃ dans les puits de Douala et entre 3,4 et 137,6 mg/l CaCO₃ dans les puits de Yaoundé. Ces résultats suggèrent que ces eaux souterraines sont faiblement tamponnées et sensibles aux variations du pH puisque leur alcalinité reste inférieure à 150 mg/l CaCO₃ (Muthukumaravel, 2010). La relative faible alcalinité observée dans l'ensemble des puits s'expliquerait par l'acidité naturelle de ces eaux souterraines en relation avec la géochimie des roches qui hébergent la nappe. Ce travail a mis en évidence quelques variations spatiales de l'alcalinité dans les deux régions. Ces variations pourraient

résulter d'une différence de contamination des puits, par les latrines à ciel ouvert ou par des activités agricoles locales. Ces observations avaient déjà été faites par Nougang *et al.* (2012) qui ont établi un lien entre la hausse de l'alcalinité et les apports des effluents urbains (phosphates, ammoniac et matière organique) et industriels (acides ou alcalins) dans la nappe phréatique.

III-2-2-6- Matières en suspension (MES), turbidité et couleur de l'eau

Les eaux souterraines de Douala ont été relativement peu chargées en MES (5,15-16,3 mg/l) par rapport aux eaux souterraines de Yaoundé (3,31-30,46 mg/l). Les MES représentent les éléments solides non dissous dans l'eau. Elles ont une incidence sur la composition chimique des eaux car leur surface peut concentrer certains produits dissous par des phénomènes d'adsorption ou d'échange d'ions (Rodier, 2009). De plus, la plupart des microorganismes de l'eau peuvent se fixer à leur surface. Les variations spatiales des MES observées dans cette étude résulteraient des apports externes de particules de l'air transportées par les vents. L'importance de ces apports est fonction de la présence ou non des couvercles recouvrant les puits et de la hauteur des margelles protectrices. Le décrochage des particules d'argile sur la paroi rocheuse des puits lors des puisages d'eau pourrait aussi faire varier les concentrations en MES dans l'eau. Ce décrochage peut augmenter avec la fréquence de puisage de l'eau par les usagers. Une forte concentration en MES peut engendrer des impacts négatifs dans le milieu en augmentant la turbidité. Ce dernier paramètre est un indicateur de la transparence de l'eau (Rodier, 2009).

Les eaux souterraines de Douala ont été relativement moins troubles (3,6-27,9 FTU) que celles de Yaoundé (2,1-35,5 FTU). Cette différence épouse le contraste observé entre les puits des deux régions pour les MES.

S'agissant de la couleur de l'eau, ses valeurs ont oscillé entre 17 et 147 Pt. Co dans les puits de Douala, et entre 16,69 et 197,57 Pt.Co dans les puits de Yaoundé. Il est à noter que les écart-types à la moyenne de ces trois paramètres physiques ont été particulièrement élevés. Ceci pourrait s'expliquer par leur forte variabilité temporelle. Cette variabilité temporelle pourrait avoir été influencée par la variabilité de la pluviométrie. En effet lors des grandes pluies, l'infiltration vers la nappe phréatique des eaux de ruissellement chargées en particules solides et en colloïdes s'intensifie. Ce qui contribue à accroître la couleur de l'eau, ainsi que les charges en MES et la turbidité (Rodier, 2009). Inversement lors des faibles précipitations ces infiltrations diminuent et les valeurs de ces trois paramètres décroissent dans les puits.

III-2-3- Variation des facteurs hydrologiques des puits

Les puits de la ville de Douala ont été relativement moins profonds par rapport à ceux de Yaoundé (5,91 m contre 8 m, respectivement). Le niveau de la nappe phréatique a été cependant plus proche de la surface du sol à Douala. Ce rapprochement peut favoriser la recharge de la nappe phréatique par l'infiltration des eaux de ruissellement d'origine météorique (Kopa Njueya *et al.*, 2012). Ceci expliquerait alors les fortes amplitudes de variations de l'épaisseur de l'eau observées dans les puits de Douala. En effet, les relevés hydrologiques ont montré un écart important de 50 cm entre la plus grande valeur de l'épaisseur de l'eau et sa plus petite valeur dans certains puits à Douala. À Yaoundé par contre, l'amplitude de variation la plus élevée a été de seulement 13,5 cm. En plus du rapprochement de la nappe d'eau souterraine de la surface, les facteurs tels que la texture sableuse (perméable) du sol, les fortes précipitations enregistrées à Douala (3043 mm) et l'hydrodynamique (mouvements de l'eau) souterrain de la région pourraient accélérer la recharge de la nappe phréatique et générer des écarts de valeurs de l'épaisseur de l'eau, par rapport aux périodes moins pluvieuses (Mboumi *et al.*, 2011). A Yaoundé par contre, les relatives faibles précipitations (1793 mm) et les grandes profondeurs des puits réduiraient l'influence des infiltrations sur la recharge de la nappe phréatique. Ce qui expliquerait alors les faibles amplitudes de variation de l'épaisseur de l'eau observée dans cette région (Tabue *et al.*, 2011).

III-2-4- Variation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* dans les eaux souterraines et risque sanitaire

Cette étude s'est limitée à l'analyse des abondances cellulaires et des facteurs de variation. Il apparaît que les abondances plus élevées, 210 et 218 UFC/100 ml, ont été obtenues respectivement dans les puits de Douala (PD1) et de Yaoundé (PY1) au mois d'Avril 2013. L'abondance la plus faible, 1 UFC/100 ml, a été enregistrée dans la plupart des puits. Ces résultats montrent que le risque sanitaire lié à *P. aeruginosa* est réel dans ces eaux souterraines.

Il est établi que la dose infectieuse de ce germe varie selon le mode de transmission. Par voie orale, elle serait de l'ordre de 10^{10} UFC chez l'homme ; par inhalation, la DL_{50} est estimée à $2,7 \cdot 10^7$ UFC chez la souris et probablement à une valeur supérieure chez l'homme (Mena et Gerba, 2009). Par voie cutanée, les infections à l'exemple de l'otite externe, la conjonctivite et la folliculite (inflammation des follicules du tégument), peuvent survenir suite à un bain avec une eau peu contaminée de 1 à 4 UFC /100ml (van Asperen *et al.*, 2015).

Toute fois, aucune infection à *Pseudomonas aeruginosa* n'a été signalée dans les travaux de Mena et Gerba après des baignades en eau contenant jusqu'à 10^6 UFC /100ml (Mena et Gerba, 2009). En considérant les abondances cellulaires obtenues dans les eaux souterraines dans cette étude, le risque sanitaire lié à *P. aeruginosa* serait plus élevé lors d'une contamination par voie cutanée. Cette situation est d'autant plus préoccupante qu'une part des populations de Douala et Yaoundé ne dispose que de ces eaux souterraines comme source d'approvisionnement en eau de bain, de vaisselle et de lessive.

Rusin *et al.* (1997) ont montré que même avec des abondances cellulaires équivalentes à celles obtenues dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé (210 et 218 UFC/100 ml, respectivement), il existe une probabilité de colonisation du tube digestif par voie orale. Ce risque serait de $3,4 \times 10^{-6}$ pour une consommation de 2l/jr ou de 10^{-6} pour une consommation de 600 ml/jr, et pourrait même augmenter lors d'une prescription de médicament antibiotique (Rusin *et al.*, 1997). Ceci a été démontré expérimentalement sur modèle souris où cinq antibiotiques testés qui ont diminué la résistance à la colonisation d'environ 50% après ingestion de 10^8 *P. aeruginosa*, la streptomycine étant l'antibiotique qui semble entraîner la colonisation la plus importante (Hentges *et al.*, 2003). Avec le même modèle, après sensibilisation par ingestion d'antibiotiques (streptomycine et pénicilline) et administration de 10^9 bactéries/100ml d'eau pendant 5 jours, la dissémination dans les organes est très largement augmentée par l'administration de cytostatiques (ex cyclophosphamide) comme cela doit se produire durant le traitement du patient cancéreux (Koh *et al.*, 2005).

Dans les deux villes, les abondances de *P. aeruginosa* ont été soumises à des variations spatiotemporelles. Ces variations ont été également mises en évidence par Nola *et al.* (2001) qui ont établi l'existence d'un lien entre les dynamiques d'abondance cellulaires et les facteurs abiotiques du milieu. Durant plusieurs campagnes, ce germe a été rare à l'exception du mois de Juillet (à Douala) et d'Août (à Yaoundé) où il a été isolé dans tous les puits. Ces variations temporelles des abondances cellulaires suggèrent que le risque sanitaire lié à *P. aeruginosa* est non permanent dans ces puits. La rareté de ce germe pourrait s'expliquer par le traitement occasionnel des eaux de puits au chlore souvent appliqué par les propriétaires.

III-2-5- Relations établie entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* et les facteurs abiotiques

III-2-5-1- Relations entre les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* isolé des puits et les facteurs météorologiques et hydrologiques

Dans les deux villes, les variations de la pluviométrie et de l'épaisseur de la colonne d'eau ont été significativement et positivement corrélées aux abondances cellulaires de *P. aeruginosa* ($p < 0,05$). La corrélation entre ces paramètres a été plus marquée dans les puits de faible profondeur (PD7 et PD9 à Douala ; PY5 et PY9 à Yaoundé). Cette liaison suggère que l'augmentation de la pluviométrie ou de l'épaisseur de la colonne d'eau favoriserait une hausse significative des abondances cellulaires. En effet par temps de pluies, les eaux de ruissellement se chargent de bactéries du sol et des eaux usées dans les régions où l'assainissement est faible ou inexistant, et s'infiltrent dans le sol pour recharger la nappe sous-jacente. Cette infiltration peut multiplier la charge bactérienne des eaux souterraines d'un facteur de 100 durant les précipitations (Gagliardi et Karns, 2000 ; Curriero *et al.* 2001). Il a été rapporté que les espèces du genre *Pseudomonas* sont très abondantes dans les eaux de ruissellement urbaines et que leur potentiel de contamination des eaux souterraines est élevé (Pitt *et al.*, 1994). Lorsque les puits sont de faible profondeur, l'infiltration des eaux de ruissellement recharge facilement l'aquifère qui devient ainsi plus vulnérable à une pollution microbiologique (Kopa Njueya *et al.*, 2012).

Les corrélations significatives ($p < 0,05$) entre la pluviométrie et les abondances cellulaires n'ont été observées que dans très peu de puits (3 puits/14, dans les deux villes). Ce résultat est surprenant notamment dans la ville de Douala dotée d'un sol sableux et d'une pluviométrie élevée (>3000 mm/an). Ces attributs devraient en effet favoriser les infiltrations des eaux de ruissellement et conduire à plus de corrélations significatives entre la pluviométrie et les abondances cellulaires. Plusieurs facteurs peuvent limiter la migration de *P. aeruginosa* vers la nappe souterraine même en cas de fortes précipitations. Le phénomène d'adsorption de *P. aeruginosa* aux particules du sol constitue un facteur important qui affecte la rétention du germe dans le sol et limite de ce fait la contamination de l'aquifère par temps de pluies (Kwon *et al.*, 2013). D'autre part, les sols des deux villes étudiées sont des sols urbains très compactés du fait des constructions et des passages répétés des véhicules. La compaction des sols accroît leur robustesse et réduit leur porosité, ce qui limite le taux d'infiltration des eaux de ruissellement vers la nappe (Pitt *et al.*, 2002).

La corrélation entre le rayonnement solaire et les abondances de *P. aeruginosa* n'a pas été significative dans l'ensemble des puits prospectés ($p > 0,05$). L'adaptation de *P. aeruginosa* au rayonnement solaire a été signalée par plusieurs auteurs. Wolfe (2006) indique que *P. aeruginosa* est plus résistant aux rayonnements UV que plusieurs autres bactéries (*E. coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp.*, *Vibrio cholerae*). Cette grande résistance serait liée à la présence d'un système de réparation de l'ADN à l'obscurité dans lequel plusieurs gènes sont impliqués à l'exemple du gène *recA*. Son expression augmente 2 à 6 heures après la fin d'une exposition au soleil à des doses comprises entre 100 à 600 J/m² (Wolfe, 2006).

Il apparaît dans cette étude les variations de la température de l'air n'influenceraient pas significativement ($p > 0,05$) les fluctuations des abondances cellulaires dans l'ensemble des puits des deux villes. La température de l'air exerce pourtant une influence significative sur la température du sol, affectant ainsi l'obstruction des pores d'infiltration (Tyler *et al.*, 1993). Cette obstruction devrait entraîner une réduction de la perméabilité du sol et une diminution du transfert des bactéries vers la nappe souterraine (McCray *et al.*, 2000).

L'absence sur la dynamique d'abondance, de l'impact significatif de certains facteurs météorologiques pourtant indiqué par certains auteurs soit pour *P. aeruginosa* ou pour d'autres espèces microbiennes, pourrait être liée aux facteurs de confusion qui masquent ou diluent cet impact.

III-2-5-2- Relation entre les abondances de *P. aeruginosa* isolé des puits et les facteurs physicochimiques

La conductivité électrique et les abondances de *P. aeruginosa* ont été significativement et négativement corrélées dans les puits des deux villes ($p < 0,05$). Cela suggère que l'augmentation de la conductivité électrique de l'eau favoriserait la réduction des abondances cellulaires. La conductivité électrique de l'eau dépend en partie de sa concentration en ions dissous (Rodier *et al.*, 2009). Selon Serrano *et al.* (2012), l'activité enzymatique de *P. aeruginosa* peut être fortement altérée par la composition cationique de l'eau. Ce qui pourrait expliquer l'effet direct de la conductivité électrique sur sa survie.

L'accroissement des abondances de *P. aeruginosa* a été favorisée par la hausse des teneurs en matière organique, en oxygène dissous et en dioxyde de carbone dissous ($p < 0,05$). Cela se justifierait par le métabolisme hétérotrophe strictement respiratoire de ce germe. Il est capable de mobiliser une très grande variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie (acides aminés, acides carboxyliques, sucres et acides aromatiques

(Weihui et Shouguang, 2015). Une étude menée avec différents types de substrats carbonés a montré que 20 µg de carbone par litre suffisent à stimuler la croissance de *Pseudomonas* spp. dans des eaux d'alimentation à température ambiante (Van der Kooij *et al.*, 2003). Cette concentration est bien inférieure à celles relevées dans cette étude (2 à 7 mg/l). *P. aeruginosa* métabolise les substrats organiques en présence du dioxygène qui joue le rôle du dernier accepteur des électrons et des protons H⁺. En outre, les études antérieures ont montré que la disponibilité en CO₂ dissous est indispensable à la survie de cette bactérie dans les eaux naturelles (Shalaka *et al.*, 2013). Sa présence contribue au maintien de l'équilibre intracellulaire CO₂/HCO₃⁻ particulièrement déterminant pour les réactions de biosynthèse chez cette espèce. Elle exhibe dès lors trois enzymes fonctionnelles de type β-anhydrase carbonique qui catalysent l'hydratation réversible du CO₂ en HCO₃⁻ (Shalaka *et al.*, 2013).

III-2-6- Hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique d'abondance de *P. aeruginosa* isolé des puits

La hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques sur la dynamique d'abondance cellulaire a été exprimée par les pourcentages des sommes des carrés. Il en ressort que l'oxygène dissous est le paramètre ayant le plus grand pourcentage soit 49,93% suivi de la conductivité électrique (35,5%) et de l'alcalinité (20%) dans les puits de Douala. Cela signifie que les variations des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* seraient impactées essentiellement par ces trois facteurs respectifs.

Dans les eaux de puits de Yaoundé, les variations des abondances cellulaires de *P. aeruginosa* ont été contrôlées principalement par le dioxyde de carbone dissous (66,61%) suivi des MES (41,35%) et de l'oxygène dissous (19,21%). La hiérarchisation établie dans les puits des deux villes est similaire. Elle montre que les abondances cellulaires ont été impactées principalement par les paramètres physicochimiques de l'eau. Les paramètres météorologiques (<13%) et hydrologiques (<12%) ont exercé un impact relativement plus faible. L'influence des paramètres physicochimiques sur la dynamique d'abondance de *P. aeruginosa* s'expliquerait par l'impact direct qu'ils exercent sur l'activité enzymatique et le métabolisme du germe (Domenech *et al.*, 2011 ; Serrano *et al.*, 2012). Selon Goldscheider (2013), l'impact des paramètres physicochimiques sur la survie des microorganismes dans l'environnement est permanent. Cet impact est parfois multiforme en raison de la diversité des facteurs physicochimiques. Il peut résulter parfois d'une synergie de l'influence de plusieurs facteurs abiotiques sur la bactérie (Goldscheider, 2013).

III-2-7- Emergence des souches de *P. aeruginosa* résistantes aux antibiotiques dans les puits de Douala et Yaoundé

III-2-7-1- Résistance naturelle

Au cours de ce travail, la susceptibilité aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* a été évaluée dans les eaux de puits de Douala et Yaoundé. Il apparait que toutes les souches ont résisté à la céfotaxime et à la kanamycine (Figure 17). Il s'agit de la résistance naturelle. Se dit d'une résistance exprimée par l'ensemble des souches de l'espèce bactérienne en dehors de tous processus d'adaptation. Chez *P. aeruginosa*, le spectre de la résistance naturelle est très large (CA-SFM, 2014). Il englobe plusieurs autres antibiotiques en dehors de la céfotaxime et de la kanamycine. Ces antibiotiques sont pour la plupart non apparentés et agissent selon des modes d'action différents. Ce sont les Aminopénicillines, les Céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, la céfixime, le céfuroxime, le ceftriaxone, l'ertapénème, les tétracyclines, le chloramphénicol, le triméthoprim et les Quinolones (CA-SFM, 2014). Selon Lister *et al.* (2009), la multirésistance naturelle observée chez *P. aeruginosa* est liée à la surexpression des mécanismes de résistance tels que la faible perméabilité membranaire aux antibiotiques et le développement des systèmes d'efflux actifs qui refoulent les antibiotiques vers l'extérieur.

III-2-7-2- Résistance acquise aux Céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G)

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que les souches de *P. aeruginosa* ont exprimé des résistances acquises vis-à-vis d'un grand nombre d'antibiotiques. La résistance acquise est celle exprimée par certaines souches de *P. aeruginosa* à la suite d'une adaptation aux antibiotiques auxquelles elles sont normalement sensibles, ou en réponse aux stress environnementaux par des mécanismes moléculaires croisés (également impliqués dans la résistance aux antibiotiques). La fréquence de résistance acquise aux Céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) notamment la ceftazidime a été de 14,15% et de 11,2% respectivement vis-à-vis des souches isolées dans les puits de Douala et Yaoundé (Figure 14). Ces résultats se rapprochent de ceux de Devarajan *et al.* (2017) qui ont rapporté une prévalence de 16% des souches de *Pseudomonas* spp. résistantes à la ceftazidime dans l'environnement aquatique de la République Démocratique du Congo (RDC). Des fréquences de résistance plus élevées ont été cependant signalées vis-à-vis des souches isolées dans les eaux souterraines du Pakistan (34%) (Ulla *et al.*, 2012). Les niveaux de résistance plus inquiétants ont été enregistrés au Nigéria et au Bangladesh où 100% des souches de *P. aeruginosa* isolées des rivières polluées ont résisté aux C3G (Ayandiral *et al.*, 2014 ; Nasreen *et al.*, 2015).

III-2-7-3- Résistance acquise aux Céphalosporines de 4^{ème} génération (C4G)

S'agissant de la résistance aux Céphalosporines de 4^{ème} génération (C4G) notamment la céfépime, les prévalences ont été d'environ 8% dans les eaux souterraines de Douala et de Yaoundé (Figure 17). Les souches de *P. aeruginosa* semblent être de ce fait plus sensibles aux C4G qu'aux C3G. Cette différence pourrait s'expliquer par l'apparition postérieure des C4G qui sont des nouvelles molécules relativement plus efficaces que les C3G plus anciennes. Il est en effet admis que la résistance acquise peut augmenter avec la durée d'usage de l'antibiotique (CASFM, 2014). Dans plusieurs milieux aquatiques des pays en développement, les prévalences de résistance aux C4G ont été plus élevées que celles obtenues dans la présente étude. Devarajan *et al.*, (2017) ont enregistré des prévalences de résistance de l'ordre de 30% contre la céfépime dans l'environnement aquatique de la RDC. Ulla *et al.* (2012) ont rapporté quant à eux des prévalences de résistance d'environ 37% dans les eaux souterraines du Pakistan (Ulla *et al.*, 2012). Ces prévalences sont passées de 18,4% à 70% vis-à-vis des souches bactériennes isolées respectivement dans les effluents hospitaliers du Nigéria et municipaux d'Afrique du Sud (Odjadjare *et al.*, 2012 ; Eyo *et al.*, 2015).

III-2-7-4- Résistance acquise aux Aminoglycosides

Les prévalences de résistance aux Aminoglycosides ont été observées essentiellement dans les puits de Douala où elles ont atteint 11,22% vis-à-vis de la gentamicine ; 8,1% contre la tobramycine et 9% contre l'amykacine (Figure 17). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Ulla *et al.* (2012) dans les eaux souterraines du Pakistan où 16% des souches de *P. aeruginosa* résistaient à la gentamicine, 2% à la tobramycine et 4% à l'amikacine. Cependant des prévalences de résistance encore plus élevées ont été notées dans les effluents hospitaliers au Nigéria où 27,2% des souches ont résisté à l'amikacine ; 24,3% à la tobramycine et 35,2% à la gentamicine (Eyo *et al.*, 2015). La gentamicine est le principal Aminoglycoside utilisé contre les infections dues à *P. aeruginosa*. La résistance à cet antibiotique dans les eaux naturelles peut poser un problème thérapeutique majeur en cas d'usage d'une eau contaminée par ces souches. Les résultats de cette étude montrent que ce problème est d'actualité dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé. Il doit encore être appréhendé avec plus d'attention dans les eaux souterraines du Kenya et dans les rivières polluées au Nigéria où toutes les souches de *P. aeruginosa* ont exprimé une résistance à la gentamicine (Wawome, 2013 ; Ayandiral *et al.*, 2014).

III-2-7-5- Résistance acquise aux associations d'antibiotiques

Les résultats de la susceptibilité aux associations d'antibiotiques ont révélé qu'environ 11,25% des souches de *P. aeruginosa* isolées des puits de Douala et 22% isolées des puits de Yaoundé ont été sensibles à la combinaison pipéracilline/tazobactam et résistantes à la pipéracilline (Figure 17). Ce résultat est lié au fait que le tazobactam est un inhibiteur de β -lactamase. L'association d'antibiotiques pipéracilline/tazobactam devrait donc avoir une activité bactéricide plus importante que celle de la pipéracilline testée individuellement sur les souches productrices de β -lactamase (CA-SFM/EUCAST, 2016). Cependant, l'acide clavulanique agit également comme un inhibiteur de β -lactamase, et pourtant 9,3% des souches de *P. aeruginosa* à Douala et 10,9% à Yaoundé ont exprimé une résistance à l'association ticarcilline/clavulanate et une sensibilité à la ticarcilline. Cette résistance serait liée à la production de l'enzyme d'hydrolyse céphalosporinase induite par l'acide clavulanique (Cavallo *et al.*, 2007 ; CA-SFM/EUCAST, 2016).

III-2-7-6- Proportions des souches sensibles

Les souches de *P. aeruginosa* ont été particulièrement sensibles aux Carbapénèmes (imipénème, méropénème), ciprofloxacine, pipéracilline/tazobactam, et à la colistine (Figure 17). Le taux de sensibilité vis-à-vis de ces antibiotiques s'est situé autour de 95 à 100%. Plusieurs auteurs ont en effet rapporté que les souches environnementales de *P. aeruginosa* sont très sensibles à ces classes d'antibiotiques mais à des fréquences variables. Devarajan *et al.* (2017) ont montré que toutes les souches de *Pseudomonas* spp. isolées de l'environnement aquatique de la RDC étaient sensibles à l'imipénème, alors que seulement 60% d'entre elles exprimaient une sensibilité au méropénème. Dans les effluents hospitaliers du Nigéria, la sensibilité des souches de *P. aeruginosa* à l'imipénème, méropénème et au doripénème, a été de 100% (Eyo *et al.*, 2015). La haute sensibilité de *P. aeruginosa* aux Fluoroquinolones obtenue dans cette étude, corrobore aux travaux de plusieurs auteurs. Les investigations de Ulla *et al.* (2012) et de Akoachere *et al.* (2013) ont mis en évidence une totosensibilité des souches de *P. aeruginosa* vis-à-vis de la ciprofloxacine dans les eaux souterraines du Pakistan et de Douala. Cependant, cette sensibilité a diminué dans l'environnement aquatique de la RDC où 50% des souches de *Pseudomonas* spp. ont été sensibles à l'ofloxacine et 70% à la norfloxacine (Devarajan *et al.*, 2017).

III-2-8- Phénotypes de résistance aux β -lactamines dans les eaux souterraines

Plusieurs souches de *P. aeruginosa* isolées des eaux souterraines de Douala et Yaoundé ont exprimé trois phénotypes de résistance aux β -lactamines, la pénicillinase (3,98-

25,54% à Douala ; 1,43-29,12% à Yaoundé), la céphalosporinase haut niveau (2,98-17,27% à Douala ; 2,87-25,24% à Yaoundé) et la céphalosporinase bas niveau (3,48-3,63% à Douala ; 4,78-7,76% à Yaoundé) (Figure 19 A et B). Ces enzymes sont des β -lactamases qui hydrolysent les antibiotiques de la famille des β -lactamines entraînant ainsi des résistances à cette classe de molécules. Kamga *et al.* (2015) ont recherché la production de plusieurs β -lactamases chez les souches d'origine clinique de *P. aeruginosa*. Ils ont noté l'expression de 3 enzymes notamment la pénicillinase haut niveau (11,8%), la pénicillinase bas niveau (14,7%) et la céphalosporinase hyperproduite (5,9%). Dans les eaux de surface du Bangladesh, la plupart des souches de *P. aeruginosa* ont exprimé l'enzyme céphalosporinase (AmpC) appartenant à la classe C d'Ambler (Nasreen *et al.*, 2015). Les données de la littérature sur la production des β -lactamases par les souches environnementales sont parcellaires en Afrique (Sosa *et al.*, 2010). Dans l'environnement aquatique de la RDC, les β -lactamases dites à spectre élargi (BLSE) ont été décelées chez *P. aeruginosa* spp. Il s'agissait de la VIM-1 (61%), CTX-M (35%) et de la SHV (4%) (Devarajan *et al.*, 2017). Cependant, les moyens d'analyse limités dans la présente étude n'ont pas permis une recherche approfondie de ce type de β -lactamases au moyen de la biologie moléculaire.

III-2-9- Multirésistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques dans les eaux souterraines

Cette étude a permis de déceler la présence des souches multirésistantes de *P. aeruginosa* dans les eaux souterraines. Environ 17,3-42,8% des souches à Douala et 9-23% à Yaoundé ont résisté à 8 antibiotiques non apparentés (Figure 22). Bien que cette multirésistance soit très inquiétante, elle reste tout de même inférieure à celle rapportée par Devarajan *et al.* (2017), qui ont noté des multirésistances vis-à-vis de 16 antibiotiques différents, dans l'environnement aquatique de la RDC. En outre, les eaux souterraines de Douala et Yaoundé hébergent des souches de *P. aeruginosa* aux profils de résistance préoccupants, en particulier le profil Pip^R-Ctx^R-Azt^R-Caz^R qui correspond au phénotype pénicillinase et le profil Gen^R-Amk^R-Tob^R-Kan^R qui signifie une totorésistance aux Aminoglycosides testés (Figures 14 et 15). Des profils aussi inquiétants ont été signalés par Akoachere *et al.* (2013) dans les eaux souterraines de Douala. Ils ont observé que toutes les souches de *P. aeruginosa* exprimaient le profil Dox^R-Cot^R-Te^R-Amp^R (Doxycycline, Cotrimoxazole, Tétracycline, Ampicilline). Il est à noter que la multirésistance des souches environnementales ne se limite pas seulement à la sous-région d'Afrique Centrale. Elle s'étend à plusieurs autres sous-régions notamment en l'Afrique de l'Est. Dans les eaux souterraines du Kenya, plusieurs souches de *P. aeruginosa* ont exprimé un profil de

multirésistance de type Amp^R-Cot^R-S^R-K^R-Gm^R (Ampicilline, Cotrimoxasole, Streptomycine, Kanamycine, Gentamicine) (Wahome, 2013). En Afrique du Sud, ces souches ont exprimé des profils encore plus inquiétants de type Amp^R-Ctx^R-Cep^R-Fep^R-Nal^R-Oxa^R-Pen^R-Rif^R-Smx^R-Tet^R-Van^R (Ampicilline, Céfotaxime, Cefpirome, Céfépime, Acide nalidixique, Oxacilline, Penicilline G, Rifampicine, Sulfamethoxazole, Tétracycline, Vancomycine), dans les effluents municipaux (Odjadjare *et al.*, 2012). Dans les rivières polluées d'Afrique de l'Ouest notamment au Nigéria, le profil de la multirésistance s'est davantage rapproché de celui observé en Afrique du Sud. Il s'agissait de Amx^R-Aug^R-Gm^R-Cro^R-Nit^R-Cot^R-Ofx^R-Cip^R-Tet^R-Pef^R (Amoxicilline, Augmentin, Gentamicine, Ceftriaxone, Nitroxoline, Cotrimoxasole, Ofloxacine, Ciprofloxacine, Tétracycline, Péfloxacine) (Ayandiral *et al.*, 2014).

Ces observations montrent que l'émergence des bactéries multirésistantes dans les eaux naturelles ne constitue plus seulement un problème local, mais un problème généralisé qui doit être examiné au niveau Africain voir au delà. L'Afrique est l'une des régions où l'usage irrationnel et non contrôlé des antibiotiques parfois de qualité inférieure aux normes est récurrent. Mais encore l'absence de législation stricte sur l'usage rationnelle des antibiotiques dans ces pays africains, vient augmenter une consommation inadaptée de ces molécules (Moritz van Vuuren, 2001). Ce sont autant de facteurs jouant directement ou indirectement un rôle dans l'émergence et la dissémination des bactéries multirésistantes (OMS, 2011). Ces bactéries pourront ensuite diffuser et contaminer les eaux naturelles (Levi, 2006 ; Baquero, 2008 ; Kümmerer, 2009).

III-2-10- Comparaison des prévalences des souches résistantes de *P. aeruginosa* entre les PPH et les PEH

Dans chacune des deux villes, 6 puits proches des hôpitaux (PPH) et 8 puits excentrés des hôpitaux (PEH) ont été choisis. La comparaison des prévalences de résistance entre ces deux types de puits a montré des différences significatives ($p < 0,05$). A Douala, les prévalences de résistance à la ticarcilline, ticarcilline/clavulanate, pipéracilline, ceftazidime, céfépime, aztréonam, tobramycine, gentamicine, et à l'amikacine, ainsi que les index MRA ont été significativement plus élevés dans les PPH que dans les PEH ($p < 0,05$). Le même résultat a été obtenu à Yaoundé vis-à-vis des antibiotiques tels que la ticarcilline, ticarcilline/clavulanate, piperacilline, ceftazidime, céfépime, aztréonam et ofloxacine. Ces antibiotiques sont pour la plupart utilisés dans les hôpitaux des deux villes pour le traitement des infections chez les patients à l'exception de la céfépime, aztreonam et de la tobramycine

qui sont parfois rares dans la pharmacie. Le fait que les prévalences de résistance et les index MRA soient plus élevés dans les PPH pourrait être lié à leur vulnérabilité à une contamination par les effluents hospitaliers. Ces effluents constituent des réservoirs des bactéries résistantes aux antibiotiques. En effet, les prévalences des souches bactériennes résistantes dans les effluents hospitaliers ont atteint parfois 88% vis-à-vis de plusieurs antibiotiques. Leur index MRA a atteint parfois 0,83 sur une échelle de 0 à 1. Les infiltrations de ces effluents vers les PPH pourraient donc être à l'origine des transferts des bactéries résistantes dans les puits. Des corrélations significatives et positives ($p < 0,05$) ont été observées entre les abondances cellulaires de certains puits proches des hôpitaux et les abondances cellulaires d'effluents hospitaliers. Ceci signifie que l'augmentation des densités de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers favoriserait significativement leur hausse dans les puits proches des hôpitaux. Ce résultat conforterait l'hypothèse d'un transfert des souches résistantes de *P. aeruginosa* des effluents hospitaliers vers certains puits proches des hôpitaux. Selon Sui *et al.* (2015), ce transfert peut être amplifié par les précipitations, l'irrigation et toute autre activité humaine.

Les transferts des bactéries résistantes vers les eaux naturelles ont été mis en évidence également par Fuentesfria *et al.* (2011). Ils ont examiné l'antibiorésistance de *P. aeruginosa* dans les effluents hospitaliers ainsi que dans les eaux de surface urbaines environnantes. Ils ont montré que les deux écosystèmes étaient génétiquement liés. Ce qui suggère que les souches multirésistantes de *P. aeruginosa* isolées des eaux de surface, proviendraient des effluents hospitaliers (Fuentesfria *et al.*, 2011). Même si ce lien génétique n'a pas été recherché dans la présente étude, les fortes prévalences de résistance et des index MRA observés dans les PPH par rapport aux PEH, constituent un indicateur important de l'impact des effluents hospitaliers sur l'émergence des résistances dans ces puits.

Cependant des corrélations significatives et positives entre les puits proches des hôpitaux et les effluents hospitaliers n'ont pas été observées dans tous les cas, aussi bien à Douala qu'à Yaoundé. Cela signifierait que le transfert de la bactérie *P. aeruginosa* vers les puits proches des hôpitaux ne serait pas systématiquement influencé par les effluents hospitaliers. Ces transferts seraient masqués par des facteurs de confusion qui n'ont pas permis d'obtenir des corrélations positives.

Kümmerer (2009) a montré que même en absence de transfert des bactéries vers les eaux naturelles, les effluents hospitaliers peuvent toujours transférer les résistances dans l'environnement, par les apports de résidus d'antibiotiques. Ces résidus d'antibiotiques ont en

effet la capacité de sélectionner dans les eaux naturelles des souches bactériennes résistantes, qui étaient initialement sensibles (Levi, 2006 ; Baquero, 2008).

Les résistances dans les PPH ont pour la plupart été observées vis-à-vis des antibiotiques utilisés lors du traitement des infections à *P. aeruginosa*, dans les hôpitaux de Douala et Yaoundé. Il s'agit notamment de la ticarcilline, ticarcilline/clavulanate, pipéracilline, ceftazidime, céfépime, aztréonam et de l'ofloxacine (Ateba *et al.*, 2013 ; Kamga *et al.*, 2015). L'usage intensif de ces antibiotiques favorise la résistance de certaines souches de *P. aeruginosa*. Ces souches gagneraient ensuite les effluents hospitaliers et s'infiltreraient dans le sol pour contaminer les eaux souterraines environnantes (Kümmerer, 2009). Toutefois, quelques souches résistantes ont été observées dans les PEH vis-à-vis de ces mêmes antibiotiques, mais à des fréquences plus faibles. Ce résultat peut être surprenant puisque ces résistances émergent des environnements où la pression de sélection des antibiotiques est faible. Selon Macfarlane *et al.* (2000), les souches bactériennes exprimant des résistances acquises peuvent proliférer dans des environnements dépourvus d'antibiotiques. Ce qui suggère selon ces auteurs que les conditions environnementales peuvent influencer la résistance des bactéries aux antibiotiques.

III-2-11- Relations entre la résistance aux antibiotiques et les facteurs abiotiques du milieu

Durant cette étude, l'analyse des paramètres physicochimiques des eaux souterraines de Douala et Yaoundé a montré que les concentrations en oxygène dissous (2,5 à 6,5 mg/l à Douala ; 4 à 5 mg/l à Yaoundé) correspondent à des niveaux d'oxygénation moins stressant pour *P. aeruginosa* (Ghotaslou & Behnaz, 2013). Le test de régression multiple a révélé également que le pourcentage de variation des diamètres d'inhibition des antibiotiques testés pouvant être expliqué par les variations des paramètres physicochimiques, oscille entre 0,7% et 4,1% ($p < 0,05$) à Yaoundé et entre 2,5% et 4,8% à Douala. La relation entre la sensibilité aux antibiotiques et les facteurs abiotiques serait faible dans l'ensemble des puits des deux villes. Ceci expliquerait en partie les faibles prévalences de résistance observées dans les PEH. Les raisons de cette faible relation seraient liées à l'ordre de grandeur des paramètres physicochimiques mesurés dans les eaux souterraines. En effet, il est établi que le stress constitue le principal facteur environnemental affectant significativement *P. aeruginosa* (Poole, 2012b).

Le stress sélectionne chez la bactérie des mécanismes moléculaires d'adaptation également impliqués dans la résistance aux antibiotiques (Macfarlane *et al.*, 2000 ; Johnson *et*

al., 2012). Cependant, lorsque la magnitude du paramètre physicochimique n'est pas suffisante pour induire le stress bactérien, son impact sur l'antibiorésistance est minimal. Selon Ghotaslou et Behnaz (2013), une déplétion en oxygène de 0% à 1% (< 2 mg/l) pourrait induire un stress anoxique chez *P. aeruginosa* affectant sa sensibilité aux antibiotiques. Ces auteurs révèlent qu'une variation de la pression en oxygène contribue à accroître la résistance en condition d'hypoxie (1%) vis-à-vis de la pénicilline, de la tobramycine et des carbapénèmes ; tandis que les valeurs des diamètres d'inhibition des antibiotiques restent inchangées en condition d'oxygénation normale 21% (4-7 mg/l). Durant cette étude, les concentrations des eaux en oxygène ont été supérieures à 2mg/l, ce qui est insuffisant pour générer un stress anoxique. En outre, les concentrations en matières organiques dissoutes obtenues (2 à 7,24 mg/l à Douala ; 1,4 à 5,16 mg/l à Yaoundé) étaient différentes de celles souvent rencontrées dans les eaux oligotrophes (<1mg/l) où la limitation en nutriments organiques génère le stress nutritif. Selon Nguyen *et al.* (2011), la limitation en nutriments organiques impacte la résistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* en activant la réponse dite rigoureuse au stress. Cette réponse favorise la résistance du germe à la gentamicine, au méropénème et à l'ofloxacine. Les eaux souterraines prospectées à Douala et Yaoundé semblent être suffisamment chargées en matières organiques. Cette condition environnementale réduirait significativement l'impact du stress nutritif contre *P. aeruginosa*.

Les facteurs intrinsèques liées à l'espèce *P. aeruginosa* pourraient expliquer également la faible relation entre les facteurs abiotiques et la résistance aux antibiotiques. En effet, le séquençage du génome de *P. aeruginosa* a révélé qu'une large fraction (environ 10%) du génome correspond aux gènes de régulation, ce qui explique sa haute versatilité métabolique (Mathee *et al.*, 2008 ; Stover *et al.*, 2000). Il peut dégrader plusieurs composés distincts tels que les alcools, les acides gras, les sucres, les acides di- et tri-carboxyliques, les composés aromatiques, les amines et les acides aminés qui peuvent être utilisés comme sources de carbone. *P. aeruginosa* est doté à la fois d'un métabolisme aérobie et anaérobie. Il est capable d'effectuer un métabolisme anaérobie par conversion des nitrates en nitrites. Cette grande polyvalence métabolique pourrait contribuer à soustraire *P. aeruginosa* du stress généré par les conditions non optimales de l'environnement (Schreiber *et al.*, 2007).

L'analyse des pentes des équations de régression a permis d'apprécier l'impact individuel de chaque facteur abiotique sur les variations des diamètres d'inhibition des antibiotiques. Dans les deux villes, des pentes significatives ($p < 0,05$) ont été obtenues avec le pH uniquement. Cela signifie que le pH est le paramètre ayant impacté significativement les

diamètres d'inhibition des antibiotiques. En effet, les valeurs du pH ont varié de 5,5 à 6,6 dans les eaux souterraines de Douala, et de 5,1 à 6,9 dans les eaux souterraines de Yaoundé. Ces valeurs sont susceptibles de générer un stress acide et promouvoir la résistance aux antibiotiques. Des études antérieures ont montré que le transport membranaire de plusieurs antibiotiques est fonction de la différence transmembranaire en ion H⁺. Ce qui expliquerait l'impact que pourrait avoir le pH sur la résistance aux Aminoglycosides (Eisenberg *et al.*, 1984 ; Fraimow *et al.*, 1991). Selon Moriaty *et al.* (2007), l'effet bactéricide de la tobramycine vis-à-vis de *P. aeruginosa* décroît lorsque la bactérie est cultivée en condition acide, tandis que la sensibilité à la ceftazidime n'est pas influencée par le pH dans cette condition. En outre, l'influence du pH sur la résistance acquise aux Aminoglycosides tels que l'amikacine et la néticilline a été examinée par Xiong *et al.* (1996). Ces auteurs ont montré que l'effet bactéricide des Aminoglycosides dépendait de leurs concentrations à pH 7,4. A pH 6,5, l'activité bactéricide de l'amikacine et de la néticilline était très faible par rapport à celle observée à pH 7,4. A pH 5,5, l'amikacine et la néticilline n'avaient plus d'effet bactéricide sur *P. aeruginosa*.

III-2-12- Implications de la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé

Dans les villes de Douala et Yaoundé où l'accès à l'eau potable et l'assainissement sont limités, l'émergence des bactéries multirésistantes dans les eaux naturelles constitue un double risque écologique et sanitaire. Les eaux souterraines de Douala et Yaoundé constitueraient des réservoirs des déterminants génétiques directement impliqués dans la résistance aux antibiotiques. Ils sont plus couramment nommés sous le terme de « résistome » (Wright, 2007 ; Allen *et al.*, 2010). La transmission de ce résistome vers d'autres espèces de la flore bactérienne par conjugaison, constituerait un moyen de dispersion de la résistance dans l'environnement (Kummerer, 2004). Cette dispersion favoriserait la transmission de la résistance à l'homme et aux animaux consommateurs de ces eaux. Ceci pourrait finalement déclencher l'émergence des maladies hydriques particulièrement résistantes au traitement, avec comme conséquence la hausse du taux de morbidité ou de mortalité chez les sujets infectés (CDCPUS, 2013 ; WHO, 2014).

CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Compte tenu des dangers potentiels que représente *P. aeruginosa* et de la forte dépendance des populations vis-à-vis des eaux souterraines à Douala et Yaoundé, il était nécessaire d'étudier les variations des abondances de ce germe et sa résistance aux antibiotiques. Cette étude a également évalué l'impact des effluents hospitaliers et des facteurs abiotiques sur l'émergence des souches résistantes dans ces eaux.

Il en ressort que les abondances cellulaires les plus élevées ont atteint 210 et 218 UFC/100 ml respectivement dans les eaux souterraines de Douala et Yaoundé. Le risque sanitaire lié à *P. aeruginosa* est réel dans ces eaux. Les abondances cellulaires de *P. aeruginosa* ont été sujettes à des variations spatiotemporelles. Des corrélations significatives ($p < 0,05$) avec les variations des facteurs abiotiques ont été notées. L'accroissement de la pluviométrie, de l'épaisseur de la colonne d'eau, des matières organiques dissoutes, et du dioxygène dissous, ont favorisé significativement ($p < 0,05$) l'augmentation des abondances cellulaires de *P. aeruginosa*. L'augmentation de la conductivité électrique a entraîné une réduction significative ($p < 0,05$) des abondances bactériennes. La hiérarchisation de l'impact des facteurs abiotiques a montré que la conductivité électrique, l'oxygène et le dioxyde de carbone dissous ont davantage impacté la dynamique d'abondance cellulaire.

Les souches de *P. aeruginosa* isolées des eaux souterraines de Douala et Yaoundé ont exprimé des résistances acquises vis-à-vis des antibiotiques auxquelles elles sont normalement sensibles. Les fréquences des résistances ont globalement atteint 30% contre l'ofloxacin, 22% contre la pipéracilline, 15,84% contre la ticarcilline, 14,15% vis-à-vis de la ceftazidime et 11,22% contre la gentamicine. De telles résistances peuvent considérablement réduire les options thérapeutiques en cas d'infection d'origine hydrique et augmenter le taux de morbidité chez les enfants et les adultes immunodéprimés infectés.

Dans les effluents hospitaliers, les prévalences de résistance ont été plus élevées. Elles ont atteint 78,2% contre l'ofloxacin, 63,2% contre la pipéracilline, 88,2% contre la ticarcilline, 62,4% contre la ceftazidime et 81,9% contre la gentamicine. Par ailleurs, les prévalences de résistance et les index (MRA) ont été significativement ($p < 0,05$) plus élevés dans les puits proches des hôpitaux (PPH) que dans les puits excentrés des hôpitaux (PEH). Les effluents hospitaliers pourraient jouer un rôle important dans le transfert des bactéries résistantes dans les PPH lors de leur infiltration dans le sol.

Dans les PEH, quelques souches résistantes ont été enregistrées, mais à des fréquences plus faibles. Ces résistances seraient liées à l'impact des facteurs abiotiques sur les variations des diamètres d'inhibition des antibiotiques. Cet impact a été faible, il n'a pas dépassé 5%.

Cette faible relation serait liée aux ordres de grandeur des paramètres physicochimiques qui seraient moins stressants pour *P. aeruginosa*, et affecteraient peu sa résistance aux antibiotiques. Seul le pH semble avoir exercé un impact sur les variations des diamètres d'inhibition des antibiotiques. Ceci serait en rapport avec le stress acide que génère ce paramètre sur *P. aeruginosa*.

RECOMMANDATIONS

La présence des souches multirésistantes de *P. aeruginosa* dans les eaux souterraines pourrait causer des maladies hydriques résistantes au traitement par les antibiotiques, et augmenter le taux de morbidité chez les sujets infectés. Dans l'avenir, les solutions à ces problèmes de résistance dans l'environnement ne résideront pas uniquement dans la recherche des nouvelles molécules actives sur cette bactérie, mais dans la prévention contre la diffusion de ce pathogène résistant dans les eaux naturelles. Cette lutte peut être basée sur :

- l'arrêt du rejet des antibiotiques périmés dans la nature par les firmes pharmaceutiques, afin de réduire la sélection des souches résistantes dans les eaux naturelles ;
- la mise en place d'un réseau de surveillance des résistances dans les centres hospitaliers et dans les eaux naturelles ;
- la surveillance de la qualité physicochimique des eaux souterraines, en particulier l'acidité de l'eau susceptible de favoriser l'émergence des souches résistantes ;
- la restriction de l'usage des eaux de puits proches des hôpitaux ;
- l'application sérieuse des mesures d'assainissement, afin de réduire la vulnérabilité des eaux souterraines aux effluents hospitaliers.

PERSPECTIVES

Afin d'approfondir les connaissances sur la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes environnementales, il serait judicieux :

- de recourir aux techniques de biologie moléculaire afin de rechercher les gènes de résistance précis, notamment les β -lactamases à spectre étendu et les métallo β -lactamases, qui sont d'un grand intérêt épidémiologique;
- d'étendre cette recherche aux Entérobactéries d'intérêt sanitaire tels que *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhii*;
- d'évaluer l'influence de la structure du sol sur l'infiltration des effluents hospitaliers à Douala et Yaoundé ;

- de rechercher les liens génétiques entre les effluents hospitaliers et les eaux souterraines proches des hôpitaux ;
- 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 ;
- des travaux similaires se poursuivront sur d'autres systèmes aquatiques tels que les lacs et les cours d'eau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abomo Meva'a D., Abessolo Nguema J. R., Begoumenie B., Ba'ana Etoundi M. L., Manga Engama E., Fotso J., et Nkouandou Njiemessa M. 2013. **Migrations internes au Cameroun : Contrainte ou moteur du développement urbain et sanitaire ?** L'Observatoire ACP sur les migrations, rapport de recherche ACPOBS/2013/POB13.
- Adarsh V.K., Mishra M., Chowdhury S., Sudarshan M., Thakur A.R., Ray Chaudhuri S. 2007. Studies on metal microbe interaction of three bacterial isolates from east Calcutta wetland. *Journal of Biological Sciences*, 7(2): 80-88.
- Aendekerck S., Ghysels B., Cornelis P., Baysse C. 2002. Characterization of a new efflux pump, MexGHI-OpmD, from *Pseudomonas aeruginosa* that confers resistance to vanadium. *Microbiology*, 148: 2371–2381.
- AHA: American Hospital Association. *Hospital Statistics*. Chicago, 1986, 250 p.
- Ahn Y.B., Beaudette L.A., Lee H., Trevors J.T. 2001. Survival of a GFP-labelled polychlorinated biphenyl degrading psychrotolerant *Pseudomonas* spp. in 4 and 22°C soil microcosms. *Microbial Ecology*, 42(4): 614-623.
- Akoachere J.F., Tatah K., Lundi-Anne O. & Thomas N. M. 2013. Assessment of the relationship between bacteriological quality of dug-wells, hygiene behaviour and well characteristics in two cholera endemic localities in Douala, Cameroon. *BMC Public Health*, 13:692.
- Albrich W.C., Angstwurm M., Bader L. & Gärtner R. 1999. Drug resistance in intensive care units. *Infection*, 27: 19–23.
- Allan B., Linseman M., MacDonald L.A., Lam J.S. and Kropinski A.M. 1988. Heat shock response of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 170(8): 3668– 3674.
- Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., and Handelsman J. 2010. Call for the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Review of Microbiology*, 8: 251-259.
- Alonso A.E., Campanario and Martinez J.L. 2009. Emergence of multidrug-resistant mutants is increased under antibiotic selective pressure in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 145: 2857-62.
- APHA: American Public Health Association. 2012. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th edn, /American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Arana I., Muela A., Iriberry J., Egea L., Barcina I. 2010. Role of hydrogen peroxide in loss of culturability mediated by visible light in *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia*

- coli* in a freshwater ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 3903-3907.
- Araújo C., Torres C., Silva N., Carneiro C., Gonçalves A., Radhouani H., Correia S., da Costa P.M., Paccheco R., Zarazaga M. et al., 2010. Vancomycin-resistant enterococci from Portuguese wastewater treatment plants. *Journal of Basic Microbiology*, 50: 605–609.
- Ateba N.S., Ngaba G.P., Ebongue C.O., Ngassongo R.O., Tsiagadigui J.G. Behiya G., Nguépi E. & Adiogo D. 2013. Susceptibility to Colistin of Multi-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in Douala Laquintinie Hospital, Cameroon. *African Journal of Pathology and Microbiology*, 2: 4 p.
- Ayandiran T.A., Ayandele A.A., Dahunsi S.O., Ajala O.O. 2014. Microbial assessment and prevalence of antibiotic resistance in polluted Oluwa River, Nigeria. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40: 291–299.
- Bachelier G. 1959. Etude pédologique des sols de Yaoundé. Contribution à l'étude de la pédogenèse des sols ferrallitiques. *Agronomie Tropicale*, 19 : 279-305.
- Banton O. et Bangoy L.M. 1997. **Hydrogéologie, multiscience environnementale des eaux souterraines**, Sainte-Foy : PUQ/AUPELF. Ed. Québec 460 p.
- Baquero F., Martínez J.-L., Cantón R. 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion of Biotechnology*, 19: 1-6.
- Belghiti M.L., Chahlaoui A., Bengoun D. 2013. Caractéristiques physicochimiques des eaux de certains puits utilisés comme source d'eau potable en milieu rural dans la région de Meknes (Maroc). *ScienceLib Ed Mersenne*, 5 : 115-130.
- Biokar Diagnostic. **Isolement et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux**. Support photo, Référence : BK165HA, BM14508. www.biokar-diagnostics.fr (visité le 26 Septembre 2014).
- Biswas A.K. 2012. Environmental impact assessment for groundwater management. *Journal of Water Resources Development*, 8: 113-117.
- Böhlke J. K. 2002. Groundwater recharge and agricultural contamination. *Hydrogeology Journal*, 10:153–179.
- Bonomo R.A., Szabo D. 2006. Mechanisms of multidrug resistant in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*, 43(2) : 49-56.

- Borella P., Montagna M.T. et al. 2003. Relationship between mineral content of domestic hot water and microbial contamination. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 17: 37-43.
- Borgmann-Strahsen R. 2003. Comparative assessment of different biocides in swimming pool water. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51: 291-297.
- Borriello G., Werner E., Roe F., Kim A.M., Ehrlich G.D. & Stewart P.S. 2004. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(7): 2659–2664.
- Bowman L.A., McLean S., Poole R.K. & Fukuto J.M. 2011. The diversity of microbial responses to nitric oxide and agents of nitrosative stress: close cousins but not identical twins. *Advance in Microbial Physiology*, 59 : 135–219.
- Branchet Perrine. 2018. **Caractérisation de l’impact des activités humaines sur la qualité de la ressource en eau en milieu urbain sub-saharien : étude de la contamination du bassin versant de la Méfou (Région Centre du Cameroun) par les pesticides et les résidus pharmaceutiques.** Thèse, Ecole des Mines Alès, France.
- Bryan L.E., & Kwan S. 1983. Roles of ribosomal binding, membrane potential, and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 23 :835–845.
- BUCREP/ Bureau Central des Recensements et des Etudes de Populations. 2010. **Livre « Rapport de Présentation ».**
- Carpentier J.P., Morillon M., Petrognani R. & Cavallo J.D. 2003. **Infections à bacille pyocyanique.** Encycl méd Chir (Elsevier SAS), Maladies infectieuses, 8-025-B-50 ,23p.
- CA-SFM / EUCAST/ Comité de l’Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie / European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2014. **Recommandations.** The Clinical breakpoints—bacteria (v5.0). http://www.eucast.org/clinical_breakpoints.
- CA-SFM / EUCAST : Comité de l’Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie/ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2016. **Recommandations sur la pratique de l’antibiogramme.** Volume.2.0 Juillet.

- Cassidy M.B., Leung K.T., Lee H., Trevors J.T. 1997. Survival of *lac-lux* marked *Pseudomonas aeruginosa* UG2Lr cells encapsulated in κ -carrageenan and alginate. *Journal of Microbiological Methods*, 23(3): 281-290.
- Cavallo J.D., Hocquet D., Plesia P., Fabre R., Roussel-Delvallez M. 2007. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*, 59(5): 1021-1024.
- CDCPUS: Centers for Disease Control and Prevention US. 2013. **Antibiotic resistance threats in the United States**. Atlanta: US Centers for Disease Control and Prevention.
- Chapelle F.H., Bradley P.M., McMahon P.B., Kaiser K. & Ron B. 2011. **Dissolved Oxygen as an Indicator of Bioavailable Dissolved Organic Carbon in Groundwater**. Ground Water. U.S Government work, p.12.
- Chapman J.S. 2003. Disinfectant resistance mechanisms, cross resistance, and co-resistance. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51: 271–276.
- Chatterji D. and Ojha A.K. 2001. Revisiting the stringent response, ppGpp and starvation signaling. *Current Opinion in Microbiology*, 4(2): 160–165.
- Chen H., Hu J., Chen P.R., Lan L., Li Z., Hicks L.M. et al. 2008. The *Pseudomonas aeruginosa* multidrug efflux regulator MexR uses an oxidation-sensing mechanism. *Proceeding of the National. Academy of Sciences U.S.A.*, 105(36): 13586–13591.
- Chippaux J-P., Pernot C., Jouanneau D., Ciornei G., Moulin-Esnart P., Courel D. 2007. Evaluation de la potabilité de l'eau dans une zone peuplée du Sahel sénégalais : Niakhar. *Environnement Risques Santé*, 6(5) : 373-381.
- Chitnis V., Chitnis S., Vaidya K., Ravikant S., Patil S. & Chitnis D.S., 2004. Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. *Water Research*, 38: 441–447.
- CRS: Catholic Relief Services. 2005. **Water Supply and Sanitation Technical Reference Library CD**. Baltimore, MD.
- Curriero F.C., Patz J.A., Rose J.B. & Lele S. 2001. The association Between Extreme Precipitation and Waterborn Outbreaks in the United States, 1948-1994. *American Journal of Public Health*, 91: 1194-1199.
- Czekalski N., Berthold T., Caucci S., Egli A. & Bürgmann H. 2012. Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into lake geneva, Switzerland. *Frontier in Microbiology*, 3: 106.

- Da Costa P.M., Vaz-Pires P. and 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.
- Dalebroux Z.D. and Swanson M.S. 2012. ppGpp: magic beyond RNA polymerase. *Nature Reviews Microbiology*, 10(3) : 203–212.
- De Vicente A., Avilés M., Codina J.C., Borrego J.J., Romero P. 1990. Resistance to antibiotics and heavy metals of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from natural waters. *Journal of Applied Bacteriology*, 68(6): 625-632.
- Denton M., Kerr K., Mooney L., Kerr V., Rajgopal A., Brownlee K., Arundel P., Conway S. 2002. Transmission of colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* between patients attending a pediatric cystic fibrosis center. *Pediatric Pulmonology*, 34: 257-261.
- Devarajan N., Thilo K., Periyasamy S., Christian van D., Crispin K.M., Pius T.M., Bastiaan W.I., John P. 2017. Antibiotic resistant *Pseudomonas spp.* in the aquatic environment: A prevalence study under tropical and temperate climate conditions. *Water Research*, 115: 256-265.
- Djaouda M., Njiné T., Liang S., Ebang Menye D., Gaké B., Serges Zébazé Togouet H., Nola M. 2015. Bacteriological quality of well waters in Garoua. North Cameroon. *Water Quality Exposure and Health*, 6:161–176.
- Domenech C.E., Lisa TA., Salvano M.A., Garrido M.N. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* acid phosphatase, Activation by divalent cations and inhibition by aluminum ion. *FEMS Microbiology Letters*, 299 : 96-8.
- Drouart F., Vouillamoz J.M. 2012. **Alimentation en eau des populations menacées**, ONG. Action contre la faim, éd. Des sciences et des arts.
- Duan K., McCullough W.M., Surette M.G., Ware T., Song J. 2012. Comprehensive Analysis of Gene-Environmental Interactions with Temporal Gene Expression Profiles in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS ONE*, 7(4): e35993.
- Ebongue C. O., Dongmo T.M., Nda Mefo'o J. P., Ngaba G. P., Adiogo G. B., 2015. Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *Pan African Medical Journal*, 20:227.
- Eisenberg E.S., Mandel L.J., Kaback H.R. & Miller M.H. 1984. Quantitative association between electrical potential across the cytoplasmic membrane and early gentamicin uptake and killing in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 157:863–867.

- Eng R.H., Padberg F.T., Smith S.M. *et al.* 1991. Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35: 1824–8.
- Eyo A-A.O., Ibeneme E.O., Thumamo B.D.P., Asuquo A.E. 2015. Antibiotic resistance profiles of clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Calabar, Nigeria. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 10 (4): 09-15.
- Fetar H., Gilmour C., Klinoski R., Daigle D.M., Dean C.R. & Poole K. 2011. *mexEF-oprN* multidrug efflux operon of *Pseudomonas aeruginosa*: regulation by the MexT activator in response to nitrosative stress and chloramphenicol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*., 55(2): 508–514.
- Fetter C.W. 2008. **Applied Hydrogeology**. Columbus, OH: Merrill Publishing Company.
- Field T.R., White A., Elborn J.S., Tunney M.M. 2005. Effect of oxygen limitation on the in vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* grown planktonically and as biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* , 24(10):677-87.
- Foulquier A., Malard F., Mermillod-Blondin F., Datry T., Simon, L., Montuelle B. & Gilbert J. 2010. Vertical change in dissolved organic carbon and oxygen at the water table region of an aquifer recharged with stormwater: biological uptake or mixing? *Biogeochemistry*, 99: 31–47.
- Fraimow H.S., Greenman J.B., Leviton I.M., Dougherty T.J. & Miller M.H. 1991. Tobramycin uptake in *Escherichia coli* is driven by either electrical potential or ATP. *Journal of Bacteriology*, 173:2800–2808.
- Fraud S. and Poole K. 2011. Oxidative stress induction of the *mexXY* multidrug efflux genes and promotion of aminoglycoside resistance development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(3): 1068–1074.
- Freeze R. A. and Cherry J. A. 2012. **Groundwater**. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, Inc.
- Fuentefria D.B., Ferreira A.E. & Corção G. 2011. Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related? *Journal of Environmental Management*, 92: 250–255.

- Gao P., Mao D., Luo Y., Wang L., Xu B. & Xu, L., 2012a. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. *Water Research*, 46: 2355–2364.
- Garrity G.M. 2005. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 2nd edition. Volume 2, Part B. New York (NY): Springer-Verlag.
- Gaze W.H., Zhang L., Abdousslam N.A., Hawkey P.M., Calvo-Bado L., Royle J., Brown H., Davis S., Kay P., Boxall A.B.A. et al. 2011. Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and integron-associated genes in the environment. *ISME Journal*, 5: 1253–1261.
- Geldreich E.E. 1996. **Microbial quality of water supply in distribution system**. CRC, Boca Raton, FL, NY, pp293.
- Ghotaslou R. et Behnaz S.E. 2013. Effects of oxygen on in-vitro biofilm formation and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmaceutical Sciences*, 19 (3): 96-99.
- Giamarellou H., Kanellakopoulou K. 2008. Current therapies for *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Care Clinics*, 24: 261-278.
- Goldscheider N., Hunkeler D., Rossi P. 2006. Review: Microbial biocenosis in pristine aquifers and an assessment of investigation methods. *Hydrogeological Journal*, 14: 926-941.
- Goto S. and Enamoto S. 1970. Nalidixic acid cetrinide agar. A new selective plating medium for the selective isolation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Japanese Journal of Microbiology*, 14: 65-72.
- Gourmelon M., Cillard J., Pommepuy M. 1994. Visible light damage to *Escherichia coli* in seawater: Oxidative stress hypothesis. *Journal of Applied Bacteriology*, 77: 105-112.
- Guardabassi L., Petersen A., Olsen J.E. & Dalsgaard A., 1998. Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3499–3502.
- 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.
- Guo X., Xia R., Han N. and Xu H., 2011. Genetic diversity analyses of class 1 integrons and their associated antimicrobial resistance genes in *Enterobacteriaceae* strains

- recovered from aquatic habitats in China. *Letters in Applied Microbiology*, 52: 667–675.
- Hancock R.E.W. & Speert D.P. 2000. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resistance Updates*, 3:247–255.
- Hentges D.J., Stein A.J., Casey S.W., Que J.U. 2003. Protective role of intestinal flora against infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice: Influence of antibiotics on colonization resistance. *Infection and Immunity*, 47: 118-122.
- Heurlier K., Dénervaud V., Haenni M., Guy L., Krishnapillai V., Haas D. 2005. Quorum-sensing-negative (lasR) mutants of *Pseudomonas aeruginosa* avoid cell lysis and death. *Journal of Bacteriology*, 187: 4875-4883.
- Hieng I.O. 2003. **Study of Geotechnical Parameters of the Soils in Cameroon**. CLE (ed.), Yaoundé, Cameroon.
- Higgins P.G., Fluit A.C., Milatovic D., Verhoef J., Schmitz F.J. 2003. Mutations in GyrA, ParC, MexR and NfxB in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21: 409-413.
- Hocquet D., Nordmann P., El Garch F., Cabanne L., Plésiat P. 2006. Involvement of the MexXY-OprM efflux system in emergence of cefepime resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50: 1347-1351.
- 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, edn. Philadelphia, p. 524.
- Huang H.I., Shih H.Y., Lee C.M., Yang T.C., Lay J.J., Lin Y.E. 2009. In vitro efficacy of copper and silver ions in eradicating *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter baumannii*: Implications for on-site disinfection for hospital infection control. *Water Research*, 42: 73-80.
- Huang Y-M., Bernard K., Yue L. & Sharon S. 2009. The Effect of Osmotic Shock on RpoS Expression and Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. *Journal of Experimental Microbiology and Immunology*, 13:13-17.
- Igbinosa E.O., Odjadjare E.E., Igbinosa I.H., Orhue P.O., Omoigberale M.N.O. and Amhanre N.I., 2012. Antibiotic synergy interaction against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from an abattoir effluent environment. *The Scientific World Journal*.

- IGESOBTA : **L'Intégration de la Gestion des Eaux Souterraines pour les Organismes de Bassins Transfrontaliers en Afrique.** 2015. Les eaux souterraines et l'environnement-un manuel de formation produit par AGW-Net, BGR, IWMI, CapNet, RAOB, et IGRAC.
- Imlay J.A. 2013. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 11(7) : 443–454.
- 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 de Juin 2013.
- InVS : Institut de Veille Sanitaire. 2015. **Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012.** Rapport Burden BMR. p.24.
- ISO : International Organization for Standardization. 2008. **Qualité de l'eau. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*. Méthode par filtration sur membrane.** Norme française 16266 (T 90-419).
- Jayasekara R., Harding I., Bowater I., and Lonergan G. 2005. Biodegradability of selected range of polymers and polymer blends and standard methods for assessment of biodegradation. *Journal of Polymers and Environment*, 13(3): 231-250.
- 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.
- Kamga G.H., Michel T., Zacharie S., Ngamba Ndifo J.M., Mbakop C.D. and Adiogo D. 2015. Caractérisation phénotypique des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la ville de Yaoundé (Cameroun). *African Journal of Pathology and Microbiology*, 4: 4 p.
- Kamini G. M., Keutchatang T., Mafo Y. F. H., Kansci G., Medoua N. G. 2016. Antimicrobial usage in the chicken farming in Yaoundé, Cameroon: a cross-sectional Study. *International Journal of Food Contamination*, 3:10.
- Kato A. and Groisman E.A. 2008. The PhoQ/PhoP regulatory network of *Salmonella enterica*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 631: 7–21.

- Kayama S., Murakami K., Ono T., Ushimaru M., Yamamoto A., Hirota K. & Miyake Y. 2009. The role of *rpoS* gene and quorum-sensing system in ofloxacin tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. ***FEMS Microbiol. Letters***, 298(2): 184–192.
- Kerstens K., Ludwig W., Vancanneyt M., De Vos P., Gillis M. and Schleifer K.H. 1996. Recent changes in the classification of the pseudomonads: an overview. ***Systematic Applied Microbiology***, 19:465-477.
- Kim J., Hahn J.S., Franklin M.J., Stewart P.S., Yoon J. 2009. Tolerance of dormant and active cells in *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biofilm to antimicrobial agents. ***Journal of Antimicrobial Chemotherapy***, 63(1): 129–135.
- 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.
- King P., Citron D.M., Griffith D.C., Lomovskaya O., Dudley M.N. 2010. Effect of oxygen limitation on the in vitro activity of levofloxacin and other antibiotics administered by the aerosol route against *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. ***Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases***, 66(2):181-6.
- Knapp C.W., McCluskey S.M., Singh B.K., Campbell C.D., Hudson G. & Graham D.W., 2011. Antibiotic resistance gene abundances correlate conditions in archived Scottish soils. ***PLoS ONE***, 6: e27300.
- Koh A.Y., Priebe G.P., Pier G.B. 2005. Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of gastrointestinal colonization and dissemination in neutropenia. ***Infection and Immunity***, 73: 2262-2272.
- Kopa Njueya A., Likeng J.D.H. & Nono A. 2012. Hydrodynamique et qualité des eaux souterraines dans le bassin sédimentaire de Douala (Cameroun) : cas des aquifères sur formations Quaternaires et Tertiaires ***International Journal of Biological and Chemical Sciences***, 6(4) : 1874-1894.
- Krulwich T.A., Lewinson O., Padan E., Bibi E. 2005. Do physiological roles foster persistence of drug/multidrug- efflux transporters? A case study. ***Nature Reviews Microbiology***, 3: 566–572.
- Krumperman P.H. 1983. Multiple antibiotic-resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. ***Applied and Environmental Microbiology***, 46 (1): 165-170.

- Kumar R., Joshi S.R., Acharya C. 2008. Metal tolerant *Bacillus* and *Pseudomonas* from Uranium rich soils of Meghalaya. *Research Journal of Biotechnology, Special Issue*: 345-350.
- Kümmerer K. 2004. Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobials Chemotherapy*, 54 (2): 311-320.
- Kümmerer K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment – a review – part II. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75: 435–441.
- Kunz A.N. & Brook I., 2010. Emerging resistant Gram-negative aerobic bacilli in hospital acquired infections. *Chemotherapy*, 56: 492–500.
- Kurath G., Morita R.Y. 2003. Starvation-survival physiological studies of a marine *Pseudomonas* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 45: 1206-1211.
- Kwon K-S., Kim S-B., Choi N-C., Kim D-J., Soonjae Lee, Sang-Hyup Lee and Choi J-W. 2013. Deposition and transport of *Pseudomonas aeruginosa* in porous media: lab-scale experiments and model analysis. *Environmental Technolology*, 13 : 2757-2764.
- Lavenir R. 2007. **Les populations de *Pseudomonas aeruginosa* en milieux hydriques : Evidences de prédispositions naturelles et d'adaptations génétiques.** Lyon 1.
- Lazdunski, 1998. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et leur régulation. *Médecine et Maladies Infectueuses*, 28 : 109-18.
- Le jallé C., 1998. **Eau potable et assainissement dans les quartiers périurbains et les petits centres en Afrique.** Gret éd., Paris, 157p.
- Levi Y. 2006. Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes dans les eaux. *Environnement, Risques & Santé*, 5(4): 261-265.
- Li D., Yang M., Hu J., Zhang J., Liu R., Gu X., Zhang Y., Wang Z., 2009. Antibioticresistance profile in environmental bacteria isolated from penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Environmental Microbiology*, 11 : 1506–1517.
- Li D., Yu T., Zhang Y., Yang M., Li Z., Liu M., Qi R., 2010. Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and the receiving river. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 3444–3451.

- Lister P.D., Wolter D.J., Hanson N.D. 2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Review*, 22: 582-610.
- Livermore D.M. 1995. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Review*, 8:557—84.
- Livermore D.M. 2002. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*, 34: 634-640.
- MacDonald A.M., Davies J., and 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.
- Mansotte, F., Astagneau P., Brucker G., Brunel C., Crignon A-M., Feldman P., Godard M., Gourdet V., Harel A., Hofman M., Lerouge M., Paquette A., Soulet T., Vassal S., Yakar V.1999. **Elimination des effluents liquides des établissements hospitaliers. Recommandations du CLIN Paris-Nord.** Paris, Institut Biomédical des Cordeliers, 74 p.
- Mates S.M., Eisenberg E.S., Mandel L.J., Patel L., Kaback R. & Miller M.H. 1982. Membrane potential and gentamicin uptake in *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 79: 6693–6697.
- Mathee K, Narasimhan G, Valdes C, Qiu X, Matewish JM, Koehrsen M, et al. 2008. Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. *Proceedings of the national academy of sciences USA*, 105: 3100–3105.
- Matyar F., Akkan T., Uçak Y., Eraslan B. 2010. *Aeromonas* and *Pseudomonas*: antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). *Environmental Monitoring and Assessment*, 167: 309-320.
- Mboumi Njoujip T.L., Feumba R., Ngounou Ngatcha B., Kengni L. 2011. **Hydrodynamique des eaux de la nappe superficielle du bassin versant de Besseke (Douala-Cameroun).** Colloque International "Sciences de l'Eau, du Climat et de

l'Environnement pour un développement durable de l'Afrique" du 21 au 25 novembre 2011 – Université de Ngaoundéré, Cameroun.

- McCray J.E., Huntzinger D.H., Van Cuyk S. & Siegrist R. 2000. **Mathematical modeling of unsaturated flow and transport in soil-based wastewater treatment systems.** Proc. WEFTEC 2000. Water Environment Federation, Washinton D.C. 20p.
- McMahon M., Ann S., Jiru X., John E., Moore I., Blair S. and David A. 2007. Environmental Stress and Antibiotic Resistance in Food-Related Pathogens *Applied and environmental microbiology*, 73 (1): 211–217.
- McPhee J.B., Bains M., Winsor G., Lewenza S., Kwasnicka A., Brazas M.D. et al. 2006. Contribution of the PhoP-PhoQ and PmrA-PmrB two-component regulatory systems to Mg²⁺-induced gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 188(11): 3995–4006.
- Mena K.D. and Gerba C.P. 2009. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201:71-115.
- Morand A., Morand J-J. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* en dermatologie. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 10p.
- Moreira L., Agostinho P., Vasconcellos P., Morais V., Da Costa M.S. 1994. Survival of allochthonous bacteria in still mineral water bottled in polyvinyl chloride (PVC) and glass. *Journal of Applied Bacteriology*, 77: 334-339.
- 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 Sciences*, 64:101–104.
- Moritz van Vuuren. 2001. Département des maladies vétérinaires tropicales, Faculté des Sciences vétérinaires. Université de Pretoria, Afrique du Sud. *Conférence OIE*, 123-134.
- Moskowitz S.M., Ernst R.K. & Miller S.I. 2004. PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *Journal of Bacteriology*, 186(2): 575–579.
- Murakami K., Tsuneko O., Darija V., Shizuo K., Makiko M., Katsuhiko H., Ken N., Yoichiro M. 2005. Role for rpoS gene of *Pseudomonas aeruginosa* in antibiotic tolerance. *FEMS Microbiology Letters*, 242: 161–167.

- Muthukumaravel K. 2010. Evaluation of Ground Water Quality in Perambalur. *Indian Journal of Environmental Sciences*, 14: 47-49.
- Narten M., Rosin N., Schobert M., and 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.
- Nasreen M., Sarker A., Malek M.A., Ansaruzzaman M., Mahububur R. 2015. Prevalence and resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from surface water. *Advances in Microbiology*, 5: 74-81.
- Nde F.P., Assob J.C., Kwenti T.E., Njunda A.L., Tainenbe T.R. 2015. Knowledge, attitude and practice of breast self-examination among female undergraduate students in the University of Buea. *BMC Research Notes*, 15: 8-43. Doi: 10.1186/s13104-015-1004-4.
- Nguyen D., Joshi-Datar A., Lepine F., Bauerle E., Olakanmi O., Beer K. et al. 2011. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. *Science*, 334(6058): 982–986.
- Nikaido H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 67(4): 593–656.
- Njitchoua R., Dever L., Fontes J.C. & Naah E. 1997. Geochemistry, origin and recharge mechanisms of groundwaters from the Garoua Sandstone aquifer, northern Cameroon. *Journal of Hydrology*, 190: 123–140.
- Nnanga N., Ngene J. P., Tsala D., Emery Ngoule C., Lamare N. 2014. Relation entre pollution des eaux de sources, forages et maladies hydriques enregistrées au centre hospitalier Dominicain Saint Martin de Porres du quartier Mvog-betsi à Yaoundé. *Health Sciences and Diseases*, 15 (3): 1-8.
- Nola M., Njine T., Sikati V.F. & Djuikom E. 2001. Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* in groundwaters in equatorial region of Cameroon and relationships with some chemical parameters of water. *Revue des Sciences de l'Eau*, 14 : 35-53.
- Nordmann P. 2006. L'émergence de la résistance aux quinolones chez les Entérobactéries. *Pathologie Biologie*, 54: 7-9.
- Nordmann P., Dortet L., Poirel L. 2012. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is a storm! *Trends in Molecular Medicine*, 18 : 263-272.

- Nougang M.E. 2012. **Souches pathogènes d'Escherichia coli dans les eaux souterraines et de surface des villes de Douala et Yaoundé (Cameroun), et importance de quelques facteurs abiotiques**. Thèse de Doctorat/PhD, Université de Yaoundé 1, Cameroun.
- Nougang M.E., Nola M., Djuikom E., Noah E.O.V., MOUNGANG L.M. and Ateba, B.H. 2011. Abundance of Faecal Coliforms and Pathogenic *E. coli* Strains in Groundwater in the Coastal Zone of Cameroon (Central Africa), and Relationships with Some Abiotic Parameters. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3 : 622-632.
- OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques. 1997. **Consensus document on information used in the assessment of environmental applications involving *Pseudomonas***. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 6. Paris (France).
- Odjadjare E. E., Igbinosa E.O., Mordi R., Igere B., Igeleke C.L., Okoh A.I. 2012. Prevalence of Multiple Antibiotics Resistant (MAR) *Pseudomonas* Species in the Final Effluents of Three Municipal Wastewater Treatment Facilities in South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9: 2092-2107.
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé. 2006. **Guidelines for safe recreational water environments**. Volume 2 : swimming pools and similar environments. 118 p.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé. 2011. **Evaluation des options de traitement domestiques de l'eau. Objectifs sanitaires et spécifications portant sur les performances microbiologiques**. ISBN 9789242548228.
- Oyetibo G.O., Ilori M.O., Adebusey S.A., Obayori O.S., Amund O.O. 2010. Bacteria with dual resistance to elevated concentrations of heavy metals and antibiotics in Nigerian contaminated systems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168(1-4): 305-14.
- Passerat J., Tamtam F., Le Bot B., Eurin J., Chevreuil M., Servais P., 2010. Antimicrobials and faecal bacteria resistant to antimicrobials in the rivers of the Seine River watershed: Impacts of hospital effluents. *Journal Europeen d'Hydrologie*, 41 : 1–13.
- Perron K., Caille O., Rossier C., Delden C.V., Dumas J., Köhler T. 2004. CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Chemistry*, 279: 8761-8768.

- Pier G.B. 2002. CFTR mutations and host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Current Opinion in Microbiology*, 5(1): 81-6.
- Pier G.B., Grout M., Zaidi T.S., Olsen J.C., Johnson L.G., Vankaskas J.R., Goldberg J.B. 1996. Role of mutant CFTR in hypersusceptibility of cystic fibrosis patients to lung infections. *Science*, 271: 64-7.
- Pitt R., Chen S-E., Clark S. 2002. **Compacted urban soil effects on infiltration and bioretention stormwater control designs.** Global Solutions for Drainage Proceeding of the Ninth International Conference on Urban Drainage, Portland, Oregon.
- Pitt R., Clark S. & Parmer K. 1994. **Potential groundwater contamination from intentional and nonintentional stormwater infiltration.** Research project, Cooperative Agreement N°. CR819573 EPA/600/SR-94/051 United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.
- Pitt R., Clark S., & Field R. 1999. Groundwater contamination potential from stormwater infiltration practices. *Urban Water*, 1 : 217-236.
- PNUD – Cameroun : Programme des Nations Unies pour le Développement du Cameroun. 2003. **Rapport national sur le développement Humain.**
- Poole K. 2012b. Stress responses as determinants of antimicrobial resistance in Gramnegative bacteria. *Trends Microbiology*, 20 : 227-234.
- Poole K., 2014. Stress responses as determinants of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: multidrug efflux and more. *Canadian Journal of Microbiology*, 60: 783–791.
- Quinteira S., Ferreira H., Peixe L. 2005. First isolation of *bla*VIM-2 in an environmental isolate of *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49: 2140–2141.
- Raja C.E., Selvam G.S. 2009. Plasmid profile and curing analysis of *Pseudomonas aeruginosa* as metal resistant. *International Journal of Environmental Sciences and Technology*, 6(2): 259-266.
- Richards S.M., Strandberg K.L., Gunn, J.S. 2010. *Salmonella*-regulated lipopolysaccharide modifications. *Subcellular Biochemistry*, 53: 101–122.
- Ridgway H.F., Safarik J., Phipps D., Carl P., Clark D. 1990. Identification and catabolic activity of well-derived gasoline-degrading bacteria from a contaminated aquifer. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 3565-3575.

- Rio Y., Pina P., Jurin F, Allouch P., Didion J.2002. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques, isolé chez des malades de soins intensifs français en1998. Phénotypes de résistance aux β -lactamines, étude ESCRIME. *Pathologie Biologie*, 50 : 12-27.
- Rodier J. 2009. **Water Analysis**. Dunod (ed.), 9th ed, Paris, pp. 3-715.
- Rosewarne C.P., Pettigrove V., Stokes H.W., Parsons Y.M., 2010. Class 1 integrons in benthic bacterial communities: Abundance, association with Tn402-like transposition modules and evidence for coselection with heavy-metal resistance. *FEMS Microbiology Ecology*, 72: 35–46.
- Rusin P.A., Rose J.B., Haas C.N., Gerba C.P. 1997. Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 152: 57-83.
- Santosh M., Avannavar S.M., Shrihari S. 2008. Evaluation of water quality index for drinking purpose for river Netravathi, Mangalore, South India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 143: 279-290.
- Schmidt-Lorenz W., Bischofberger T., Cha S. 2010. A simple nutrient-tolerance (NT) test for the characterization of the different types of oligocarbotolerant and oligocarbophile water bacteria from non-carbonated mineral water. *International Journal of Food Microbiology*, 10 : 157-176.
- Schoeller H. J. 2011. **Pollution des Eaux Souterraines**. Actes du Colloque de Moscou, IAHS-AISH Publ. No. 103.
- Schreiber K, Krieger R, Benkert B, Eschbach M, Arai H, Schobert M, Jahn D. 2007. The anaerobic regulatory network required for *Pseudomonas aeruginosa* nitrate respiration. *Journal of Bacteriology*, 189: 4310– 4314.
- Serrano C., Romero M., Alou L., Sevillano D., Corvillo I., Armijo F. & Maraver F. 2012. Survival of human pathogenic bacteria in different types of natural mineral water. *Journal of Water and Health*, 10: 400-405.
- Shalaka R., Lotlikar., Shane Hnatusko., Nicholas E., Dickenson, Shyamal P., Choudhari., Wendy L., Picking, Marianna A.P. 2013. Three functional β -carbonic anhydrases in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: role in survival in ambient air. *Microbiology*, 159: 1748–1759.

- Sharma D.R., Pradhan B., Mishra S.K., 2010. Multiple drug resistance in bacterial isolates from liquid wastes generated in central hospitals of Nepal. *Kathmandu University Medical Journal*, 8: 40–44.
- 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.
- Silvestry-Rodriguez N., Bright K.R., Uhlmann D.R., Slack D.C., Gerba C.P. 2007. Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* by silver in tap water. *Journal of Environmental Science and Health*, 42: 1579-1584.
- Sosa A. de J., Byarugaba D.K., Amabile C., Hsueh P.R., Kariuki S., Okeke I.N. (Eds). 2010. **Antimicrobial resistance in developing countries**. doi: 10.1007/978-0-387-89370-9.
- Stover C.K., Pham X.Q., Erwin A.L., Mizoguchi S.D., Warrenner P., Hickey M.J., Brinkman F.S., Hufnagle W.O., Kowalik D.J., Lagrou M., Garber R.L., Goltry L., Tolentino E., Westbrook-Wadman S., Yuan Y., Brody L.L., Coulter S.N., Folger K.R., Kas A., Larbig K., Lim R., Smith K., Spencer D., Wong G.K., Wu Z., Paulsen I.T., Reizer J., Saier M.H., Hancock R.E., Lory S., Olson M.V. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799): 959-64.
- Succhel B. 1988. **Climat types in Cameroon**. Thesis, University of Bordeaux III, France.
- Suh S.J., Silo-Suh L., Woods D.E., Hassett D.J., West S.E. & Ohman D.E. 1999. Effect of *rpoS* mutation on the stress response and expression of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 181(13): 3890–3897.
- Sui Q., Cao X., Lu S., Zhao W., Qiu Z., Yu G. 2015. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: a review. *Emerging Contaminants*, 1 : 14–24.
- Tabue Youmbi J.G., Ngnikam E., Feumba R., Bon A., Tsama V., Ekodeck G.E. 2011. **Evolution piézométrique de la nappe superficielle en zone de socle cristallophyllien fortement urbanisé : Cas du bassin versant de la Mingoa (Yaoundé, Cameroun)**. Colloque International "Sciences de l'Eau, du Climat et de l'Environnement pour un développement durable de l'Afrique" du 21 au 25 novembre 2011 – Université de Ngaoundéré, Cameroun.

- Takem G.E., Chandrasekharam D., Ayonghe S.N. and Thambidurai P. 2010. Pollution characteristics of alluvial groundwater from springs and bore wells in semi-urban informal settlements of Douala, Cameroon, Western Africa. *Environmental Earth Sciences*, 61 : 287-298.
- Talarmin A., Nizon J.Y., Cavallo J.D. 1996. *Pseudomonas aeruginosa* et β -lactamines : mécanisme de résistance et conséquences thérapeutiques. *Médecine des Armées*, 24 :35-9.
- Tamminen M., Karkman A., Löhmus A., Muziasari W.I., Takasu H., Wada S., Suzuki S. Virta M., 2011. Tetracycline resistance genes persist at aquaculture farms in the absence of selection pressure. *Environmental Sciences and Technology*, 45: 386–391.
- Teixeira P., Cunha J., Albano H., Ramalho R., Gibbs P. 2001. Evaluation of survival patterns and cellular injury of *Pseudomonas aeruginosa* in different bottled waters stored under various conditions. *Journal of Food Safety*, 21: 167-180.
- Tyler E.J., Milner M. & Converse J.C. 1993. **Soil acceptance of wastewaters from chamber and gravel infiltration systems.** University of Wisconsin-Madison, SSWMP Publication. p. 12.
- Ullah A., Durrani R., Ali G., Ahmed S. 2012. Prevalence of antimicrobial resistant *Pseudomonas aeruginosa* in fresh water spring contaminated with domestic sewage. *Journal of Biological and Food Science Research*, 1 (2): 19-22.
- Vachee A., Leclerc H. 2005. Propriétés antagonistes de la flore autochtone des eaux minérales naturelles vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal européen d'hydrologie*, 26 : 327-338.
- Van Asperen I.A., de Rover C.M., Schijven J.F. *et al.* 2015. Risk of otitis externa after swimming in recreational fresh water lakes containing *Pseudomonas aeruginosa*. *British Medical Journal*, 311 :1407-1410.
- Van Bambeke F., Tulkens P. 2008. Syllabus national belge de Pharmacologie - **Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse.** Section 1 : pharmacologie générale des antibiotiques. p.212.
- Van der Kooij D., Visser A., Oranje J.P. 2003. Multiplication of fluorescent Pseudomonads at low substrate concentrations in tap water. *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 48: 229-243.

- 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.
- 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.
- Wahome C.N. 2013. **Contamination levels of groundwater, antimicrobial resistance patterns, plasmid profiles and chlorination efficacy in Ongata rongai, kajiado North County, Kenya**. Thesis in the school of pure and applied sciences of Kenyatta University.
- Walters M.C., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M.J., Stewart P.S. 2003. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *P. aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob Agents and Chemotherapy*, 47(1): 317-323.
- Warburton D.W., Bowen B., Konkle A. 1994. The survival and recovery of *Pseudomonas aeruginosa* and its effects upon Salmonellae in water: Methodology to test bottled water in Canada. *Canadian Journal of Microbiology*, 40(12): 987-992.
- Ward N.R., Wolfe R.L., Olson B.H. 2004. Effect of pH, application technique, and chlorine-to-nitrogen ratio on disinfectant activity of inorganic chloramines with pure culture bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 508-514.
- Weihui W. and Shouguang J. 2015. **In molecular medical microbiology**. 2nd edition, p. 2216 Doi: 10.1016/C2010-1-67744-9. Edited by Yi-Xei T, Sussman M. and Schwartzman J.
- WHO: World Health Organization. 2014. **Antimicrobial resistance global report on surveillance**. Geneva: Switzerland.
- Wilkinson F.H., Kerr K.G. 1998. Bottled water as a source of multi-resistant *Stenotrophomonas* and *Pseudomonas* species for neutropenic patients. *European Journal of Cancer Care*, 7 : 12-14.
- Wogaing J. 2010. **De la quête à la consommation du médicament au Cameroun**. Revue Internationale sur le Médicament, vol.3.
- Wolfe R.L. 2006. Ultraviolet disinfection of potable water. *Environmental Science and Technology*, 24: 768-773.

- Wright G.D. 2007. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 5 (3): 175-86.
- Wu J., Long Q. & Xie J. 2010. (p)ppGpp and drug resistance. *Journal of Cellular Physiology*, 224(2): 300–304.
- Xiong Y-Q., Caillon J., Henri D., Gilles P. and Denis B. 1996. Influence of pH on Adaptive Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Aminoglycosides and Their Postantibiotic Effects. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 40(1) : 35-39.
- Yongue-Fouateu R. 1986. **Contribution à l'étude pétrographique de l'altération et des faciès de cuirassement ferrugineux des gneiss migmatiques de la région de Yaoundé.** Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé. 214p.
- Youmbi T.J.G., Feumba R., Njitat T. V., De Marsily G., Ekodeck G.E. 2013. Water pollution and health risks at Yaoundé, Cameroon. *Comptes Rendus Biologies*, 336: 310–316.

ANNEXES

Annexe 1 : Distances spécifiques entre les puits étudiés et les hôpitaux des villes de Douala et Yaoundé.

	Puits	Proximité à un hôpital (Km)
Douala	PD1	0,98
	PD2	0,65
	PD3	1,6
	PD4	12,3
	PD5	10,9
	PD6	0,5
	PD7	0,75
	PD8	0,45
	PD9	13,8
	PD10	12,9
	PD11	15,7
	PD12	18,6
	PD13	11,3
	PD14	15,4
Yaoundé	PY1	13
	PY2	0,7
	PY3	0,85
	PY4	1,2
	PY5	10,3
	PY6	11,7
	PY7	1,3
	PY8	1,9
	PY9	2,1
	PY10	9,2
	PY11	10,1
	PY12	13,7
	PY13	10,2
	PY14	11,9

Annexe 2 : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) pour la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (CASFM/EUCAST, 2013 et 2014)

Antibiotiques	Charge du disque (µg)	Diamètre d'inhibition (mm)	
		Cible	Limites acceptables
Amikacine	30	22	18-26
Artréonam	30	26	23-29
Céfépime	30	27	24-30
Ceftazidime	30	28	25,5-31,5
Ciprofloxacine	5	29	25-33
Gentamicine	15	19	15,5-22,5
Imipénème	10	24	20-28
Piperacilline-Tazobactam	75-10	28	24-31
Ticarcilline-Clavulanate	75-10	24	20-28

Annexe 3 : Tableau d'interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibition des antibiotiques (CASFM/EUCAST, 2013, 2014)

Antibiotiques	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
		S _≥	R _{<}
Pipéraciline	75	18	18
Piréacilline-Tazobactam	75-10	19	19
Ticarcilline	75	18	18
Ticarcilline-Clavunalate	75-10	18	18
Cefépime	30	19	19
Ceftazidime	30	19	19
Cefsulodine	30	19	19
Imipénème	10	20	17
Méropénème	10	24	18
Aztréonam	30	50	16
Ofloxacine	5	22	22
Ciprofloxacine	5	25	22
Amikacine	30	18	15
Gentamicine	15	16	16
Tobramycine	10	16	16
Fosfomycine	50 + 50 G6PD	14	14
Colistine *	50	Concentration critique (mg/l) : S_≥4, R_{<}4	

* En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine en milieu liquide. CMI = Concentration Minimale Inhibitrice. **S** = sensible, **R** = résistant. La catégorie intermédiaire (**I**) n'est pas listée. Elle est interprétée comme étant la valeur entre les diamètres critiques S et R. Par exemple, pour des diamètres critiques présentés S ≥ 24 mm et R < 18 mm, la catégorie intermédiaire est 18-24 mm.

Annexe 4 : Variation des paramètres physicochimiques et hydrologique suivants les mois de campagnes dans les puits de la ville de Yaoundé (de Avril 2013 à Avril 2014)

paramètres considérés	Campagnes												
	Avril-13	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril-14
Temp (°C)	23,8±0,7	25,2±0,6	24,6±1,1	24,3±0,6	24,4±0,5	24,4±0,6	24,5±0,5	24,7±0,4	24,3±0,6	24,4±0,4	24,9±0,6	24,4±0,4	24,9±0,9
Cond.électrique (µs/Cm)	383,8±283	391,7±280	382±248	186,7±119	383,3±241	392,3±268	381±244	398,7±265	394,17±270	385,1±252	389,2±236	342,8±210	360±223
pH (UC)	5,9±0,3	5,6±0,7	6,8±0,2	6,4±0,5	5,5±0,7	5,6±0,6	5,5±0,7	5,7±0,8	6±0,5	5,5±0,6	5,5±0,7	5,5±0,7	5,5±0,4
MES (mg/L)	7,8±15	5,1±3	8,6±10	8,9±12	17,5±30	7,3±10	10,2±8	0,4±0,5	8,6±7,6	16,3±24	21,3±17,6	8,1±9	8,2±7
Oxy. Dissous (mg/L)	4,5±0,8	4,5±0,6	4,4±1,3	3,6±1,2	3,6±1,1	4,7±1,4	4,5±1,1	4,7±1	5±1,1	4,3±0,7	4,8±0,6	4,1±1	5,5±0,3
Couleur (Pt.Co)	80,1±172	22,5±24	56,1±112	46,5±58	96,7±207	22,1±46	53,8±58	5,5±17	29±36	94,3±127	85,2±86	36,4±80	62,1±37
Turbidité (FTU)	11,5±28	4,7±4	10,5±21	8,7±10	19,1±42	4,6±8	10,2±10	1,1±3	6,7±6	17,7±22	15,1±15	6,2±14	9,1±6
Alcalinité (mg/L de CaCO ₃)	76,4±92	38,4±41	45,9±66	31,7±48	41,5±62	43±66	46,2±75	47,1±70	50,8±79	39,4±53	41,5±56	32,2±44	32,6±43
Dioxyde Carbone dissous (mg/L)	13,2±6	20,1±1,7	7,3±5,4	8,1±4	21,1±1,2	20,7±1,4	20,1±2,1	6±3,8	7,9±5,1	9,3±5,8	17,6±4,3	19,4±2,8	18,7±3,4
Oxydabilité (mg/L de KMnO ₄)	3±4	1,7±1	2,5±3	3,4±1,3	1,4±1,5	1,6±1,3	2,4±1,1	1,8±1,4	2,5±1,2	2,6±0,9	2,5±1	2,3±1	2,2±0,7
Epaisseur colonne eau (Cm)	178,9±35	185,7±37	186,8±37	181,5±35	180,8±35	187,6±36	194,3±37	197,7±39	183,6±36	176,1±34	176,3±34	175,6±31	178,2±35

Temp : température, cond. Électrique : conductivité électrique, MES : matières en suspension, oxy. Dissous : oxygène dissous.

Annexe 5 : Variation des paramètres physicochimiques et hydrologique suivants les mois de campagnes dans les puits de la ville de Douala (de Avril 2013 à Avril 2014)

paramètres considérés	Campagnes												
	Avril-13	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril-14
Temp (°C)	27,9±0,5	28,1±0,6	27,1±0,4	26,5±0,5	26,1±0,3	26,4±0,4	27,2±0,3	26,9±0,2	27,1±0,1	27,3±0,4	27,1±0,2	27,3±0,4	27,4±0,4
Cond.électrique (µs/Cm)	6	375,6±131	364,9±132	194,6±146,6	391,4±153	364,2±156	358,1±154	326,8±141	358,1±131	375,1±127	370,2±129	347,6±129	339,7±129
pH (UC)	6,6±0,4	6,1±0,1	7,1±0,2	6,6±0,1	6,2±0,5	6,1±0,4	6,1±0,5	5,5±0,5	6,1±0,4	6,2±0,6	6,06±0,4	6,1±0,5	6,2±0,4
MES (mg/L)	5,5±7	11,2±11	5,8±4	14,2±6	2,9±5	8,6±8	9,7±7	11,4±13	14,6±14	6,7±6	12,4±10	14,1±24	7,6±8
Oxy. Dissous (mg/L)	4,3±1	4±1,5	4,6±1,7	4,2±1	4,8±1,4	4,3±1,1	4,2±0,8	4,8±1,2	4,8±1,3	3,6±1,1	3,9±1,4	4,1±1,2	4,2±1,2
Couleur (Pt.Co)	33,5±45	69,5±53	41,7±34	13,2±13	23,2±27	32,5±52	54,9±40	48,7±121	71,9±124	18,1±22	75,2±103	67,5±145	56,6±42
Turbidité (FTU)	6,3±7	11±10	8,4±5	2±2	5,8±5	8,7±9	11,2±7	12,6±22	14,1±23	3,8±4	14,8±19	16,2±36	9,3±7
Alcalinité (mg/L de CaCO ₃)	68,7±36	62,7±46	65,5±42	63,4±39	58,7±45	59,5±49	87,1±98	84,4±70	70,5±72	61,7±50	64±52	59,7±34	65,1±37
Dioxyde Carbone dissous (mg/L)	15,3±3	20,5±1	18,8±3	10,3±4	13,4±5	19,9±4	20,3±1	21±1	19±1	7,8±6	7,9±3	14,2±3	16,5±2
Oxydabilité (mg/L de KMnO ₄)	5±3	6,2±5	6±2	2,4±2	1,4±1,5	2,2±1	2,9±1,4	3,5±1,6	3,6±2,2	4,2±1,4	4,4±1,5	4,5±1,9	4,7±2,1
épaisseur colone eau (Cm)	128,6±29	131,5±31	131,6±31	147,6±38	153,7±36	156,3±36	154,5±37	141,1±33	131,2±36	127,2±35	129,3±30	129,3±28	129,2±29

Temp : température, cond. Électrique : conductivité électrique, MES : matières en suspension, oxy. Dissous : oxygène dissous.

LISTE DES PUBLICATIONS TIREES DE LA THESE

Eheth, J.S., Lontsi Djimeli, C., Mougang, L.M., Moussa Djaouda, Noah Ewoti, O.V., Tamsa Arfao, A., Nougang, M.E., Bricheux, G., Nola, M. and Sime-Ngando, T. 2016. Assessment the role of some abiotic factors in the abundance dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in wells in sandy and clayey-lateritic soils in cameroon (central africa). *International Journal of Information Research and Review*, 3 (5): 2343-2353.

Eheth, J.S., Lontsi Djimeli C., Nana Paul A., Tamsa Arfao A., Noah Ewoti O. V., Mougang L. M., Bricheux G., Sime-Ngando T., Nola M. 2019. Less effect of wells physicochemical properties on the antimicrobial susceptibility *Pseudomonas aeruginosa* isolated in equatorial region of Central Africa. *Applied Water Sciences*, 9: 30.



Research Article

ASSESSMENT THE ROLE OF SOME ABIOTIC FACTORS IN THE ABUNDANCE DYNAMICS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IN WELLS IN SANDY AND CLAYEY-LATERITIC SOILS IN CAMEROON (CENTRAL AFRICA)

¹Eheth, J.S., ¹Lontsi Djimeli, C., ¹Moungang, L.M., ²Moussa Djaouda, ¹Noah Ewoti, O.V., ^{1, 3}Tamsa Arfao, A., ¹Nougang, M.E., ⁴Bricheux, G., ^{1, *}Nola, M. and ⁴Sime-Ngando, T.

¹Hydrobiology and Environment Research Unit, University of Yaoundé 1, Faculty of Sciences, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

²Higher Teachers' Training College, University of Maroua, PO Box 55, Maroua, Cameroon

³Laboratoire de Microbiologie et Biotechnologie Saint Jérôme Polytechnique, Institut Universitaire Catholique Saint Jérôme de Douala, Cameroon

⁴Laboratoire 'Microorganismes: Génome & Environnement', UMR CNRS 6023, Université Blaise Pascal, Complexe Scientifique des Cézeaux, 24 avenue des Landais, BP 80026, 63171 Aubière Cedex, France

ARTICLE INFO

Article History:

Received 13th February 2016
Received in revised form
17th March 2016
Accepted 21st April 2016
Published online 30th May 2016

Keywords:

P. aeruginosa,
Wells,
Soil,
Meteorological,
Physicochemical,
Hydrological Factors.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the influence of some abiotic factors monitoring abundances of *Pseudomonas aeruginosa*, in open and closed wells in sandy and clayey-lateritic soils in Cameroon (Central Africa). In closed wells, the abundance of *P. aeruginosa* varied from 1 to 153 CFU/100 ml in sandy soil, and from 1 to 60 CFU/100 ml in clayey-lateritic soil. In open wells, it varied from 1 to 200 CFU/100 ml in sandy soil, and from 1 to 58 CFU/100 ml in clayey-lateritic soil. Abundances of *P. aeruginosa* underwent temporal variations in wells. Meteorological, physicochemical and hydrological factors impacts at different magnitudes the abundance dynamic of cells. Positive correlation ($P < 0.05$) between rainfall and *P. aeruginosa* abundances were more observed in wells in clayey-lateritic soil than those of sandy soil. Lower cells abundances observed in some open wells were related to the high insolation periods ($P < 0.05$). The hierarchical organization was made by expressing percentage and ranking in descending order of the mean of sum of squares of each MANOVA test factor showed that in open wells, the water electrical conductivity and alkalinity seems to be the main factors controlling the *P. aeruginosa* abundance dynamics in sandy soil whereas the total suspended solids seems the main factors in clayey-lateritic soils. In closed wells, this bacteria abundance dynamics seems to be mainly controlled by the dissolved oxygen and carbon dioxide content in clayey-lateritic soils whereas the main factors in sandy soil are the dissolved oxygen content and the well depth.

Copyright © 2016, Eheth et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

INTRODUCTION

The bacterium *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen. Although it is generally not pathogenic for a healthy population, it is typically problematic in immunocompromised patients. It has been shown responsible for the deaths of infants drinking contaminated water, although an effect of this severity is not typical (Bitton, 2002). The study of its ecology in shallow aquifers is a useful starting point for understanding the potential of transmission of bacterial diseases via drinking groundwater.

*Corresponding author: Nola, M.,

Hydrobiology and Environment Research Unit, University of Yaoundé 1, Faculty of Sciences, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon .

Many studies carried out on aquatic environment have shown that various abiotic factors may influence the composition of bacterial communities and their growth. In most aquifers, the predominant microorganisms are thought to be aerobic or facultatively-aerobic heterotrophs, mostly in the genus *Pseudomonas* (Kazumi and Capone, 1994). These bacteria may have to experience a range of adverse conditions, including very low nutrient concentrations, and are adapted to grow and survive at extremes of organic carbon availability. Evidence for extreme nutrient limitation of bacteria in aquifers is provided by estimates of inter-related bacterial abundance, nutrient supply, and metabolic activities (Kazumi and Capone, 1994). One of the main stress factors that bacteria face in the environment is solar ultraviolet (UV) radiation, which leads to lethal effects through oxidative damage.

Many bacteria (e.g., *Escherichia coli*) are able to repair DNA damage caused by ultraviolet component (UVC) irradiation via a chromosomally encoded UVC-inducible, mutagenic repair system, which is mediated via a key macromolecule–RecA protein. The common freshwater bacterium *P. aeruginosa* has little resistance to the damaging effects of UVC radiation since it does not contain this system, but it contains RecA protein (Miller et al., 2000). The bactericidal effect of solar radiation often evoked in natural aquatic environment is still debated. Rainfall-driven runoff, which is closely related to the region's climate and soil, has found to be a major risk factor for water quality (Njitchoua et al., 1997). Groundwater contamination from pathogens depends on the soil chemical properties, adsorption capability, the ability of the soil to physically strain the pathogens and pathogen survival (Weiss et al., 2008). According to Pitt et al (1999), groundwater contamination from pathogens occurs more readily in areas with sandy soils and where the water table is near the land surface. The influx of pathogens in groundwater during infiltration of stormwater runoff also related to the rainfall volume and intensity (Pitt et al., 1999). Soil clogging development and soil moisture, which are closely related to the air temperature and relative humidity, has found as affecting the bacterial infiltration rate in soil column (Tyler et al., 1993).

Douala and Yaounde are the main cities of the Cameroon with the highest population densities and where the problems of water supply and sanitation are most worrying. These two regions have different types of climate and soils according to their geographical locations. Many people there rely on groundwater as the major source of drinking water, which is subject to contamination of varying sources, including percolation from surface water, septic tanks, latrines and other on-site systems, direct injection of wastewater effluent and surface water through wells (Nola et al., 2001; Nougang et al., 2011). Studies conducted at Yaounde showed that groundwater harbours diverse bacterial microflora, primarily consisting of faecal bacteria, which are commensal or pathogenic. The abundances of *Aeromonas hydrophila* and *P. aeruginosa* undergoes spatiotemporal changes depending on the variation of several physicochemical and hydrological factors (Nola et al., 2001). However, critical information about the influence of changing climate variables on abundances of *P. aeruginosa* remains unknown. Douala town has a sandy soil texture while Yaounde town has a clayey-lateritic one. Comparative studies examining varying effects of meteorological factors on the abundances of *P. aeruginosa* in groundwater according to the soil texture have not yet been carried out in these two towns. Our study aimed at evaluating the impact of soil texture and some meteorological, hydrological and physicochemical factors on the abundance dynamic of *P. aeruginosa*, in well waters of Douala and Yaounde, and their respective importance.

MATERIALS AND METHODS

Study areas and sampling sites

The study was carried out in sandy and clayed-lateritic soils represented respectively at Douala and Yaounde, the biggest and most important towns of Cameroon (Central Africa). Douala metropolis is a coastal area located along the Gulf of Guinea between latitude 4° 04' North and longitude 9° 70' East (Figure 1).

Soils present a diversity marked by the dominance of ferrallitic soils with sandy texture (Hieng, 2003). Vegetation is relatively poor, made up of mangrove swamps that essentially occupy the edges of the coast (Letouzey, 1979). Yaounde is a forest area between latitude 3° 87' North and longitude 11° 52' East (Figure 1). It has ferro-lateritic acidic soils with clayed texture (Bachelier, 1959). The vegetation is made up of dense forest zone (Letouzey, 1979). In each study area, 8 wells were selected among which 4 open wells (coded OSW1, OSW2, OSW3, OSW4 in sandy soil, and OCLW1, OCLW2, OCLW3, OCLW4 in clayed-lateritic soil) and 4 closed wells (coded CSW1, CSW2, CSW3, CSW4 in sandy soil, and CCLW1, CCLW2, CCLW3, CCLW4 in clayed-lateritic soil). The diameter of selected wells was 1.5 m in order to ensure good exposure of well to the sun and have a good penetration of the solar radiations into the open wells. The closed wells were safe from solar radiation. They have been considered as control for the study of the impact of solar radiation.

Water sampling

Water samplings were done from April 2013 to April 2014. Sampling duration was 13 months. Water samples from the 8 wells of each town were collected and analysed monthly. At each sampling point, two water samples were collected, one in a 500 ml sterile glass bottle for bacteriological analysis and the other in a 1000 ml polyethylene bottle for physico-chemical analysis (APHA, 2012). Water samples were collected in wells at the water surface where bacterial production is strongly affected by UV from sunlight radiation (Sommaruga et al., 1997). This zone is sufficiently oxygenated and constitutes the preferential microhabitat of *P. aeruginosa* which metabolism is strictly respiratory.

Bacteriological analysis

Membrane filtration was used to isolate and enumerate *P. aeruginosa* cells according to the standard methods (APHA, 2012). For each well, raw or diluted water sample was filtered through a sterile 47 mm, 0.45µm-pore-diameter, gridded membrane filter, under partial vacuum. Funnel was rinsed with three 30 ml portion of sterile dilution water. Filter was removed with a sterile forceps and placed on agar in 55 × 9 mm Petri dish (Gosselin a Corning Brand, France). The Cetrimide Nalidixic agar culture medium (CN, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) was used. Incubation was done at 37°C for 24h. The typical *P. aeruginosa* colonies on CN agar medium were subsequently identified according to Holt et al (2000). The identification of each *P. aeruginosa* colony was confirmed using King B medium.

Physicochemical and hydrological analyses

Physicochemical and hydrological analyses were made according to Rodier (2010). At each sampling site, well depth, water column thickness and water table level were measured using graduated line with weight attached. *In situ* parameters like temperature, pH, electrical conductivity and dissolved oxygen were determined using a multi parameter analyzer kit (HANNA Instruments). Carbon dioxide and alkalinity were determined by titrimetric method. Total suspended solids (TSS) were measured by filtration of water samples, and then weighted, after transit in the steamroom at 105°C.

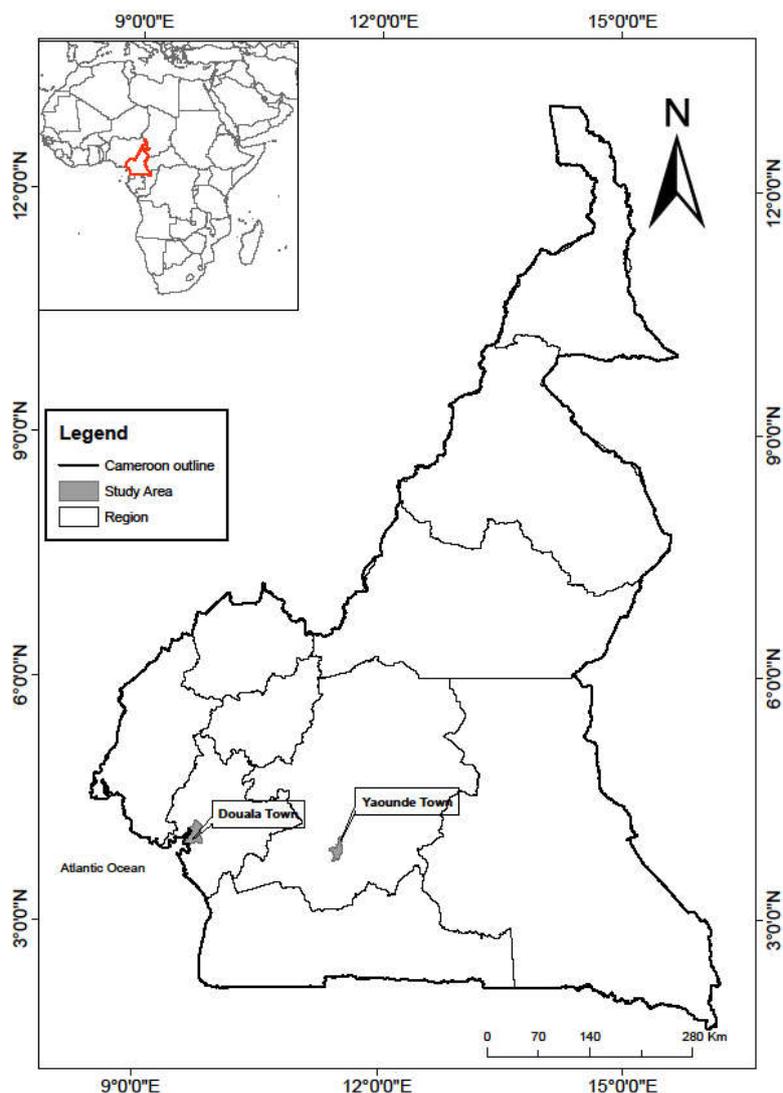


Figure 1. Sampling sites in the towns selected for the study

The chromic acid wet digestion titrimetric method was used to measure organic matters (Chemical oxygen demand) in the samples (Rodier, 2010).

Collection of meteorological data

Meteorological data were collected following the water sampling frequency. Rainfall was measured using automatic rain gauge. The insolation and the daylight duration were measured respectively using automatic LP PYRA pyranometer and MEUDON heliograph. Air temperature and relative humidity was measured respectively using TESTO 925 thermometer and EXTECH M0210 moisture meter. The values of the measured parameters were adjusted from the NASA Surface Meteorology and Solar Energy data set available via the Internet at <http://eosweb.larc.nasa.gov/sse/> (on 19th December 2014)

Data analysis

Monthly changes in *P. aeruginosa* densities at the different sampling sites were plotted using the SigmaPlot 10.0 software. Due to their skewed distributions, the bacterial counts (x) were log-transformed [$\ln(x + 1)$]. Correlations between different bacterial counts and meteorological, physico-chemical and hydrological parameters were assessed using the Spearman's

correlation coefficient [using Statistical Package for Social Sciences software version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)]. To compare the mean abundances of *P. aeruginosa* among wells, Kruskal-Wallis H-test and Mann-Whitney U-test were used. A p -value of 0.05 was assumed to be statistical significance level. A hierarchical order of meteorological, physicochemical and hydrological factors monitoring the abundance dynamic of *P. aeruginosa* was performed by the MANOVA test using the R software. This hierarchical organization was made by expressing percentage and ranking in descending order of the sum of squares of each MANOVA test factor to several factors.

RESULTS AND DISCUSSION

Rainfall

The annual rainfall volume recorded in Douala town was 3043 mm. The temporal variation of this parameter identified two different rainfall periods; a long period of about 8 months (March to October) where rainfall volume was high and ranged from 228 to 446 mm, and a short period that lasts four months (November to February) where rainfall volume was relatively low and varied between 19.8 and 89 mm (Figure 2). The weather of Douala is a humid equatorial coastal type influenced by the sea.

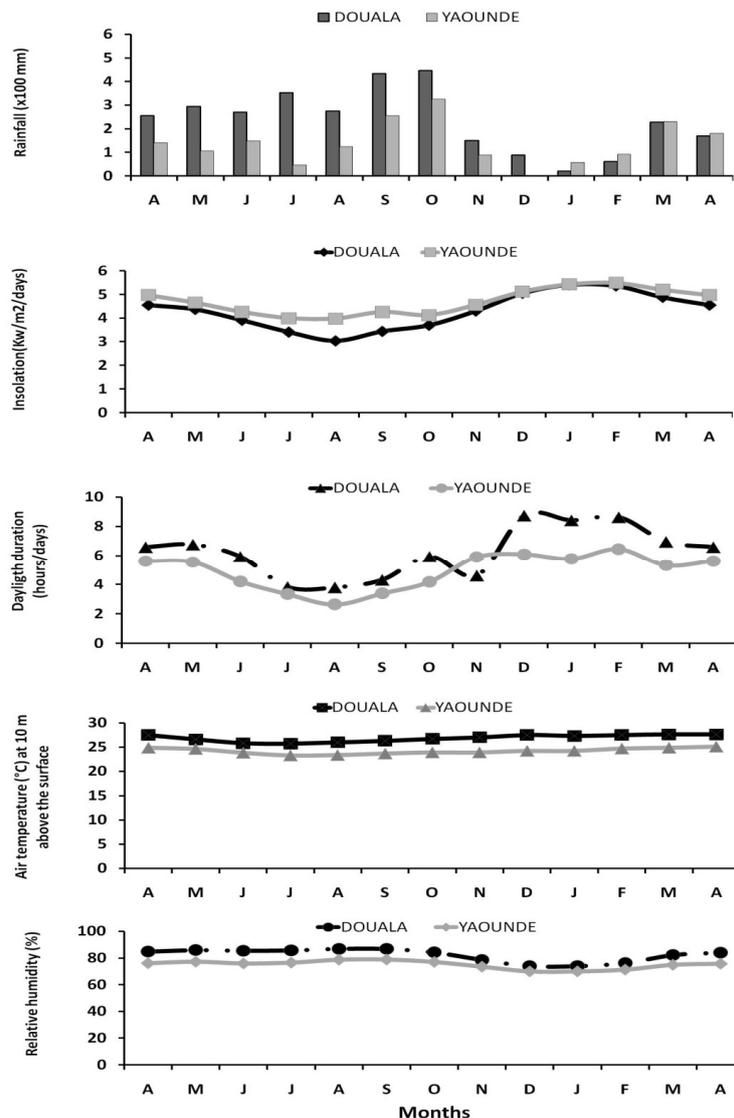


Figure 2. Monthly variations of climatic data of studies sites (A: April 2013, M: May, J: June, J: July, A: August, S: September, O: October N: November, D: December, J: January, F: February, M: March, A: April 2014).

However, the proximity of Mount Cameroon (4100 m height) also influences the climate that becomes very wet (Succhel, 1988). In Yaounde, the annual rainfall volume reaches 1793 mm. The lowest rainfall volumes were obtained in July (46.4 mm). The month of December is characterized by the absence of rains. The precipitation was high in the months of September and October where maximum rainfall volume reached 324.6 mm (Figure 2). The Yaounde region experiences a particular climate termed by Succhel (1988) as “type Yaoundeen”. It is a tropical subequatorial climate characterized by four seasons including a long dry season (December to February), a short rainy season (March to June), a short dry season (July to August) and a long rainy season (August to November).

Insolation and daylight duration

The monthly values of insolation fluctuated between 3.04 and 5.41 kWh/m²/day in Douala with a mean value of 4.31 ± 0.76 kWh/m²/day. In Yaounde, insolation oscillated between 3.98 and 5.49 kWh/m²/days with a mean of 4.70 ± 0.54 kWh/m²/day (Figure 2). In both towns, minimum values of insolation were recorded in the month of August whereas the maximum values were observed in January.

However, the values of daylight duration showed a slight difference between the two study areas. The annual mean daylight duration was 6.24 ± 1.73 hours/day in Douala and 4.93 ± 1.22 hours/day in Yaounde (Figure 2). This difference could be justified by the geographical position or the climate types of the regions.

Air temperature and relative humidity

The monthly values of air temperature at 10 m above the surface of the region earth fluctuated slightly between 25.7 and 27.6°C in Douala town, with an annual mean value of 26.85 ± 0.72 °C. In Yaounde town, air temperature ranged from 23.3 to 25.1°C with an annual mean value of 24.2 ± 0.59 °C. In both towns, minimum values of air temperature were recorded in July whereas the maximum values were observed in April.

Air temperature recorded in Douala town seems to be relatively high when compared to Yaounde town. Relative humidity was found to be ranged from 73.9 to 86.9% in Douala town, with an annual mean value of 82.2 ± 4.84 %. Air humidity was relatively less in Yaounde town and fluctuated between 69.9 and 78.16 ± 2.99 % with an annual mean value of 74.95%. In both towns minimum values of air humidity were recorded in

December and January whereas the maximum values were observed in August. However, relative humidity observed in Douala town seems to be relatively high when compared to Yaounde town. This difference would be related to the high values of air temperature recorded in Douala town. The proximity of the sea associated with the high temperature enhances evaporation process which leads to the higher air humidity in Douala town.

Physicochemical characteristics of wells in Yaounde and Douala

Table 1 shows mean values and standard deviations of physicochemical parameters measured in the open and closed wells in sandy (Douala) and clayey-lateritic soils (Yaounde). In wells of Douala, the temperature value ranged from 26.92±0.65 (CSW3) to 27.5±0.96°C (OSW2). Temperature of waters was higher in open wells compared to closed wells and corresponds to the ambient air temperature. The electrical conductivity values were found to be ranged from 238.69±82.80 µS/cm (OSW1) to 559.69±153.5 µS/cm (OSW2). According to Rodier (2010), the mineralization rate of wells of Douala was average.

The concentration of dissolved carbon dioxide ranged from 14.46±6.80 mg/l (OSW1) to 17.63±4.35 mg/l (OSW2). The pH values varied from 5.88±0.55 (OSW2) to 6.65±0.35 (CSW4) which reveals acidic groundwaters. The low pH value (5.88±0.55) recorded at OSW2 would be related to the high concentration of carbon dioxide (17±4.35 mg/l) registered at the same sampling well. Basically, the pH of water is determined by the amount of dissolved carbon dioxide which forms carbonic acid in water. Boughrou (2007) added that, pH of groundwater is also determined by the geological nature of the watershed rocks.

In sandy lands rich in siliceous and silicated minerals, waters are acidic. This could explain the fact that pH values were relatively close (Table 1) at all sampling well with sandy soil. Wells in Douala were poorly oxygenated. Dissolved oxygen was found to be ranged from 2.46±0.98 (CSW4) to 5.53±0.85 mg/l (OSW1). The maximum value of organic matter was found as 7.24±4.83 mg O₂/l at sampling well CSW4 where oxygen was minimal (2.46±0.98 mg/l). Minimum value of organic matter was found as 2.94±1.40 mg O₂ /l at sampling well OSW4 where oxygen was relatively high (5.51 mg/l).

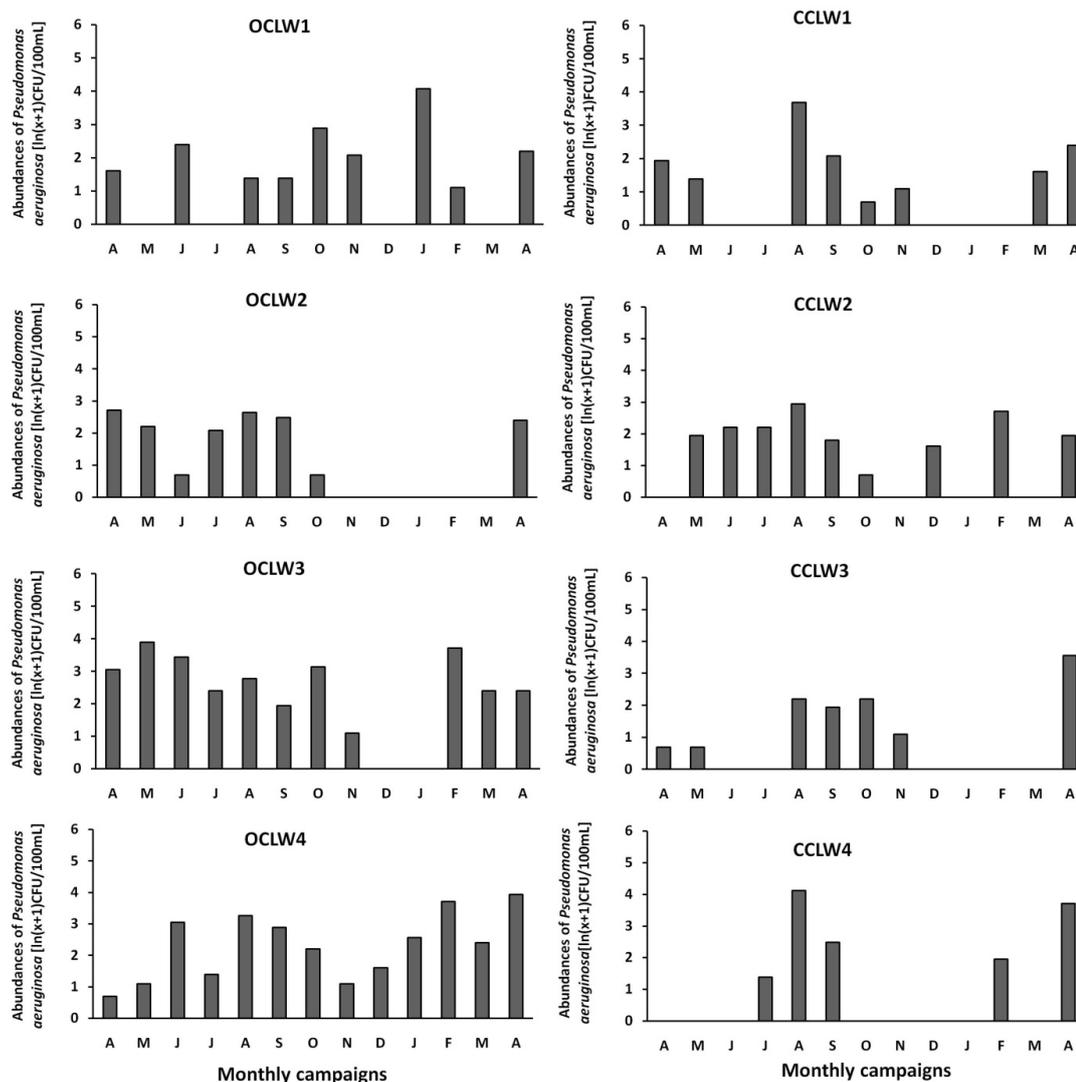


Figure 3. Monthly variations of *Pseudomonas aeruginosa* abundance collected from open sandy soil wells (OSW) and closed sandy soil wells (CSW).

These results suggest that the concentrations of dissolved organic matter (DOM) and dissolved oxygen (DO) in groundwater will be hyperbolically related. It would imply that the DOM is relatively bioavailable (Chapelle *et al.*, 2011). According to Findlay *et al.* (1993), relative concentrations of DO and DOM in groundwater systems can be affected by microbial metabolism. Water alkalinity ranged from 36.81 ± 5.48 mg CaCO₃/l (OSW4) to 135.35 ± 55.60 mg CaCO₃/l (CSW4). Water alkalinity is mainly determined by bicarbonates, carbonates and hydroxide ions. This parameter measures the capacity of the water to neutralize acids and it reflects its inherent resistance to pH changes. The groundwaters with sandy soil seemed to be poorly buffered and pH sensitive since their alkalinity values were generally below about 100 mg CaCO₃ /l (Muthukumaravel, 2010). In wells of Yaounde, temperature ranged from 24.18 ± 0.61 (OCLW1) to 25.15 ± 0.63 °C (CCLW3) (Table 1). The maximum value of electrical conductivity reached 710.23 ± 139.4 µS/cm (OCLW4) and minimum value reached 182.15 ± 32.8 µS/cm (OCLW2). The observed difference in electrical conductivity may be due to the local source of pollution. The wells in Yaounde were slightly acidic with pH ranging from 5.13 ± 0.71 (OCLW3) to 6.97 ± 0.23 (OCLW1). The acidic pH values of groundwaters could be related both to the concentration of carbon dioxide and the crystalline nature of the watershed rocks which characterizes Yaounde region (Boughrou, 2007). The concentration of carbon dioxide in wells oscillated between 12.43 ± 7.50 mg/l (OCLW2) and 16.95 ± 6.13 mg/l (CCLW4).

Dissolved oxygen level in wells varied from 3.87 ± 1.48 mg/l (CCLW4) to 5.02 ± 1.16 mg/l (OCLW4). These low-dissolved oxygen levels could be explained by the presence of the organic matter and heterotrophic bacteria consuming oxygen in the corresponding well water samples (Findlay *et al.*, 1993). The concentration of organic matter measured in wells varied from 1.43 ± 0.83 mg O₂ /l (OCLW4) to 3.97 ± 2.26 mg O₂/l (OCLW1). Organic matter can be delivered to groundwater via percolating through the unsaturated zone. Foulquier *et al.* (2010) showed that the observed variability of organic matter concentrations could be related to the mixing of recharge waters from land surface with underlying ambient groundwater. Total alkalinity was found to be ranged from 3.40 ± 2.74 mg CaCO₃/l (OCLW3) to 179.58 ± 50.78 mg CaCO₃/l (OCLW1). The gap between alkalinity values in wells was very important in wells with clayey-lateritic soil.

Hydrological characteristics of wells

Total well's depth ranged from 387.6 (OSW4) to 778.8 cm (OSW2) in Douala and from 163.6 (OCLW3) to 1301.2 cm (CCLW3) in Yaounde. When examining water table level below the surface, the values this hydrological parameter varied from 39.28 ± 5.93 (OSW4) to 301.24 ± 11.70 cm (OSW2) in wells of Douala and from 36.28 ± 5.79 (OCLW3) to 742.66 ± 6.53 cm (CCLW3) in wells of Yaounde. Water table level seems to be more near the land surface in wells of Douala when compared to wells of Yaounde.

Abundances of *P. aeruginosa* in wells

In closed wells with sandy soil, abundances of *P. aeruginosa* often reached 153 CFU/100 ml in December (CSW3) (Figure 3).

The lowest abundance, 1 CFU/100 ml, was recorded in March, June and November. In closed wells with clayey-lateritic soil, the cell densities sometimes reached 60 CFU/100 ml in August (CCLW4) (Figure 4). The lowest microbial density, 1 CFU/100 ml, generally appeared in May and October. Temporal variations in cell abundances were observed in closed wells of sandy and clayey-lateritic soils. These results are in agreement with the works of Nola *et al.* (2001) that underlined a spatio-temporal change in the abundances of opportunistic bacteria such as *Aeromonas hydrophila* and *P. aeruginosa* in well waters with clayey-lateritic soil.

In open wells with sandy soil exposed to solar radiation, the abundances of *P. aeruginosa* reached 200 CFU/100 ml in July (OSW4) (Figure 3). In most open wells with sandy soil, low bacterial density, 1 CFU/100 ml, was recorded in December, January and February. These low abundances coincided with high sunlight duration recorded at the same period. In open wells with clayey-lateritic soil, the cell abundances reached 58 CFU/100 ml in January (OCLW1) (Figure 4). The lowest bacterial density 1 CFU/100 ml was observed in April, June and October. Generally *P. aeruginosa* cells were rare in open wells.

The mean abundances of *P. aeruginosa* cells were calculated for each series of sandy and clayey-lateritic soil well waters. The mean abundances of cells were compared using H-test of Kruskal-Wallis. It was noted that there was no significant difference (P 0.05) amongst the mean abundance of *P. aeruginosa* cells collected from sandy and clayey-lateritic soil groundwaters. The mean abundances of *P. aeruginosa* were also calculated for open and closed wells for each type of soil. No significant difference (P 0.05) was noted amongst the mean abundance of cells collected from open and closed wells for each type of soil.

Relationship between *P. aeruginosa* abundance and meteorological parameters

Correlations between different bacterial counts and meteorological parameters considered were assessed using the Spearman's correlation coefficient and the results are presented in Table 2. Significant positive relationships (P<0.05) between rainfall volume and *P. aeruginosa* abundances in some wells (CCLW1, CCLW3) of Yaounde have been noted. This relationship between rainfall volume and cell abundances could be explained by the infiltration of stormwater runoff containing *P. aeruginosa* toward groundwater during rainfall (Curriero *et al.*, 2001). *Pseudomonas* is reported to be the most abundant bacteria microorganism in urban runoff, and the higher potential groundwater contamination has been indicated (Pitt *et al.*, 1994). In wells of Douala, there was no significant correlation (P 0.05) between rainfall and *P. aeruginosa* abundances. This is a surprising result since monthly rainfall volumes were found to be relatively high in Douala region (Figure 2), and the sandy soil texture observed in this town is more permeable to allow stormwater infiltration. Several factors could limit groundwater contamination from *P. aeruginosa* presents in stormwaters runoff. Adsorption of *P. aeruginosa* to the soil particles is an important factor affecting retention of opportunistic pathogen in soil leading to a reduction of groundwater contamination during rainy seasons (Kwon *et al.*, 2013).

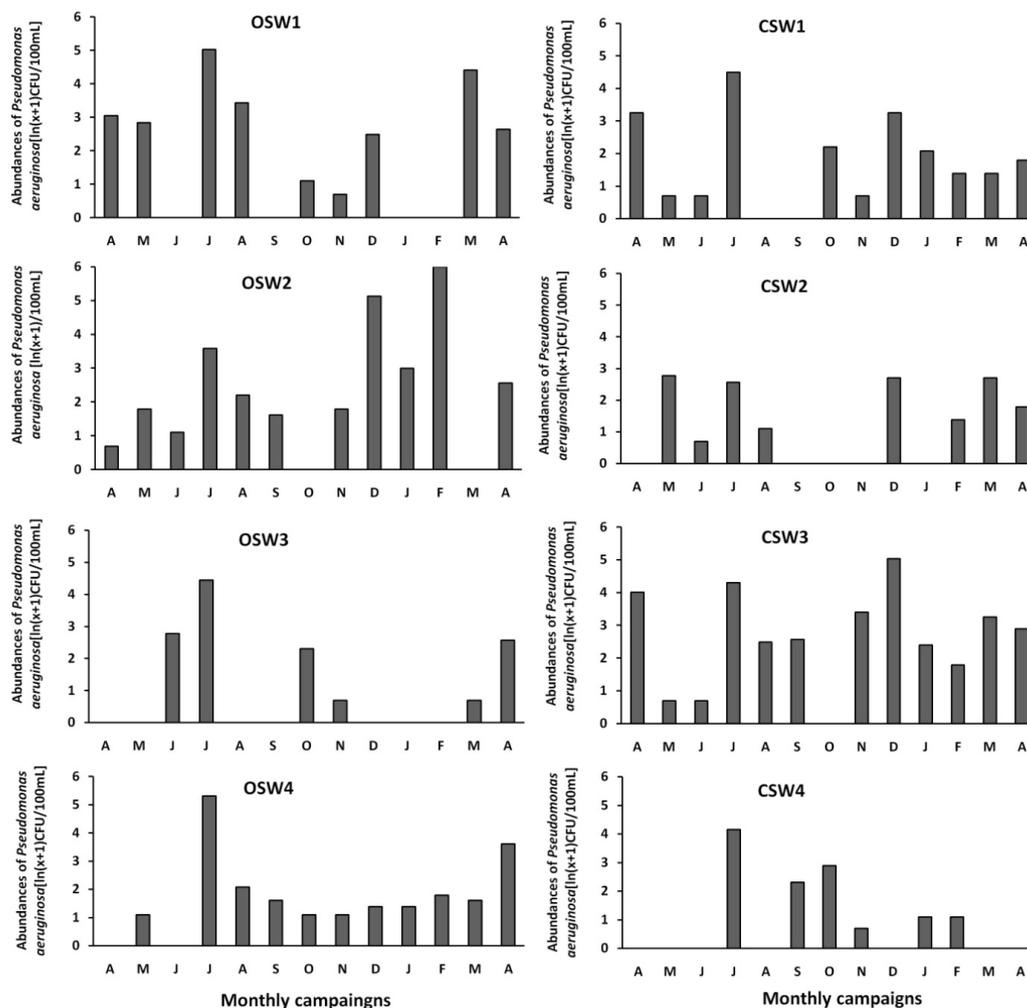


Figure 4. Monthly variations of *Pseudomonas aeruginosa* abundance collected from open clayed-lateritic soil wells (OSW) and closed clayed-lateritic soil wells (CSW)

The sandy and clayey-lateritic soils prospected in our study are located in urban regions where soils are generally compacted due to the construction practices and the repeat passage of vehicles. Soil compaction reduces infiltration rate of stormwater runoff since it affects the physical properties of soil by increasing its strength and bulk density, decreasing its porosity (Pitt *et al.*, 2002).

Air temperature was negatively correlated ($P < 0.05$) with cell abundances in some wells in Douala (CSW2) and Yaounde (CCLW4). This relationship meant that increasing in air temperature could lead to a reduction in *P. aeruginosa* abundances in groundwaters. Air temperature generates a significant influence on the soil temperature which affects soil clogging development (Tyler *et al.*, 1993). Clogging by the accumulation of suspended solids and organic matter at the infiltrative surface of the soil leads to reduced permeability and reduced bacterial transport in soil column (McCray *et al.*, 2000). Kristiansen (1981) observed a higher degree of clogging at a high temperature. Relative humidity and *P. aeruginosa* abundances were no correlated ($P > 0.05$) in wells with clayey-lateritic soil. However, relative humidity was positively correlated ($P < 0.05$) with cell densities in wells in sandy soil (CSW1, CSW2). Significant relationship between relative humidity and *P. aeruginosa* abundances seemed to be related to the soil texture.

Relationship between insolation and *P. aeruginosa* abundances has been evidenced in open wells. In Douala, cell abundances were generally low during high insolation period (Figure 3). It has been noted in Yaounde that increased insolation and daylight duration significantly favors ($P < 0.05$) decreasing in *P. aeruginosa* abundances (OSW2) (Table 2). These results corroborate the works of several authors who suggest that bacteria are particularly vulnerable to UV radiations damage because their small size limits effective cellular shading (Garcia-Pichel, 1994).

Magdalena *et al* (2014) showed that UVA (representing the major fraction of UV radiation reaching the earth's surface) is typically lethal against *P. aeruginosa* cells due to the presence of 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone in water also known as *Pseudomonas* quinolone signal (PQS). PQS is an intercellular quorum sensing signal which acts as an endogenous photosensitizer. According to Fernandez and Pizarro (1996), this could explain the high sensitivity of *P. aeruginosa* to UVA when compared to enteric bacteria sensitivity such as *Escherichia coli*. Some open wells in Douala (OSW2) have high bacterial densities in December during which insolation is high. It has been noted that correlation between insolation and *P. aeruginosa* abundance was not significant ($P > 0.05$) in some open wells of Douala and Yaounde. The variation of the relationship between abundances of *P. aeruginosa* and solar radiance from open wells to one another may be related to the

Table 1. Means (and standard deviations) of physicochemical and hydrological parameters of well waters in Douala and Yaounde

Parameters considered	Sampled wells in each type of soil															
	Sandy soil (Douala)								Clayey-lateritic soil (Yaounde)							
	OSW1	OSW2	OSW3	OSW4	CSW1	CSW2	CSW3	CSW4	OCLW1	OCLW2	OCLW3	OCLW4	CCLW1	CCLW2	CCLW3	CCLW4
Temp. (°C)	27.06 (0.58)	27.5 (0.96)	27.46 (0.72)	27.23 (0.78)	26.93 (0.44)	27.27 (0.73)	26.92 (0.67)	26.95 (0.65)	24.18 (0.61)	24.27 (0.67)	24.46 (0.56)	24.78 (0.72)	24.42 (0.45)	24.38 (0.79)	25.15 (0.63)	24.23 (0.48)
EC (µS/cm)	238.69 (82.80)	559.69 (153.5)	273.31 (67.43)	390.23 (70.69)	410.15 (82.66)	493.69 (110.4)	526.12 (195.6)	357.38 (142.89)	434 (89.58)	182.15 (32.8)	228.85 (149.8)	710.23 (139.4)	242.46 (39.55)	221.46 (46.26)	923.54 (280.2)	620.23 (115.1)
pH	6.42 (0.35)	5.88 (0.55)	6.18 (0.58)	6.18 (0.52)	6.37 (0.37)	6.27 (0.5)	6.63 (0.33)	6.65 (0.35)	6.97 (0.23)	5.69 (0.83)	5.13 (0.71)	5.98 (0.44)	5.19 (0.70)	5.19 (0.87)	6.24 (0.49)	6.1 (0.43)
DO (mg/l)	5.53 (0.85)	4.83 (0.87)	3.67 (1.63)	5.51 (0.85)	4.22 (1.21)	3.43 (0.98)	4.65 (1.33)	2.46 (0.98)	4.45 (1.47)	4.36 (0.66)	4.73 (0.79)	5.02 (1.16)	4.25 (1.13)	4.97 (0.67)	4.49 (0.94)	3.87 (1.48)
TSS (mg/l)	10.77 (11.24)	14.31 (14.04)	10.85 (7.77)	10.69 (6.73)	6.62 (5.42)	8.85 (8.52)	5.77 (7.76)	16.31 (16.36)	30.46 (28.99)	3.31 (3.15)	10.46 (10.63)	8.38 (8.79)	9.54 (9.77)	5.77 (7.19)	10.62 (11.55)	4.75 (6.85)
Alk.(CaCO ₃)	94.35 (21.26)	45.19 (89.13)	60.73 (56.60)	36.81 (5.48)	67.92 (18.70)	77.77 (28.07)	149 (46.02)	135.35 (55.60)	179.58 (50.78)	3.42 (2.38)	3.40 (2.74)	62.85 (49.21)	6.37 (12.06)	22 (62.73)	137.65 (77.69)	67.69 (12.71)
CO ₂ (mg/l)	14.46 (6.80)	17.63 (4.33)	14.81 (7.36)	15.79 (5.11)	15.30 (6.22)	15.72 (6.35)	17.52 (4.35)	16.40 (5.19)	14.96 (7.72)	12.43 (7.50)	13.23 (8.39)	15.20 (7.43)	14.24 (6.13)	13.73 (7.38)	12.75 (8.54)	16.95 (6.13)
OM (mg/l)	3.77 (3.42)	4.89 (2.77)	4.55 (2.77)	2.94 (1.40)	4.55 (3.68)	3.62 (1.98)	3.33 (2.60)	7.24 (4.83)	3.97 (2.26)	2.44 (1.70)	2.23 (0.92)	1.43 (0.83)	1.78 (1.22)	1.88 (1.37)	5.16 (3.55)	1.74 (0.84)
D. well (cm)	745.3	778.8	478.9	387.6	394.7	638	634.9	511.8	522.34	648.7	163.6	504.5	1300.6	650.15	1301.2	605.7
Wat.tab (cm)	137.38 (15.51)	301.24 (11.70)	107.68 (10.16)	39.28 (5.93)	60.96 (8.78)	165.55 (15.79)	174.65 (19.97)	115.28 (12.75)	141.52 (12.46)	303.08 (13.14)	36.28 (5.79)	136.94 (4.27)	742.66 (6.53)	176.05 (9.68)	714.11 (1.99)	59.49 (5.22)

Temp. = Temperature; EC: electrical conductivity; DO = Dissolved Oxygen; TSS: Total Suspended Solids; Alk. = Alkalinity; OM = Organic matter; D. well = Depth well; Wat. Tab = Water table level; OSW: open sandy well; CSW: closed sandy well; OCLW: open clayey-lateritic well; CCLW: close clayey-lateritic well.

Table 2: Spearman correlation “r” coefficients between abundances of *P. aeruginosa* and meteorological and hydrological factors

Factors considered	Sampled wells in each type of soil															
	Sandy soil (Douala)								Clayey-lateritic soil (Yaounde)							
	OSW1	OSW2	OSW3	OSW4	CSW1	CSW2	CSW3	CSW4	OCLW1	OCLW2	OCLW3	OCLW4	CCLW1	CCLW2	CCLW3	CCLW4
Rainfall	0.298	-0.158	0.287	-0.031	-0.39	-0.059	-0.385	0.278	0.31	0.385	0.343	0.292	0.560*	-0.232	0.536*	0.135
Air temp.	-0.024	-0.311	-0.201	0.089	0.151	-0.484*	-0.019	-0.144	0.057	-0.192	-0.189	-0.123	0.235	0.242	0.113	-0.485*
Rel. hum	-0.158	0.811**	0.429	0	0.532*	0.483*	0.432	0.423	0.283	-0.33	0.039	0.05	-0.399	-0.089	-0.405	0.118
Insolation	-0.282	0.329	-0.356	-0.129	0.13	0.162	0.179	-0.243	-0.071	-0.546*	-0.155	0.088	-0.071	-0.546	-0.155	0.088
Daylight.du	-0.24	0.326	-0.368	-0.174	0.111	0.354	0.088	-0.309	0.036	-0.584*	-0.186	-0.083	0.036	-0.484	-0.186	-0.083
Water tab. l	-0.133	0.132	0.281	0.467*	-0.187	-0.179	-0.396	0.609*	-0.043	0.349	0.079	-0.153	-0.138	0.017	0.293	-0.063
Well depth	-0.881**								0.143							

** : P < 0.05; *** : P < 0.01; df = 12; Air temp. = Air temperature; Rel. hum = Relative humidity; Daylight.du = Daylight duration; Water tab. l = Water table level; OSW = open sandy well; CSW = closed sandy well; OCLW = open clayey-lateritic well; CCLW = close clayey-lateritic well.

Table 3. Spearman correlation “r” coefficients between abundances of *P. aeruginosa* and physicochemical factors of well waters

Factors considered	Sampled wells in each type of soil															
	Sandy soil (Douala)								Clayed-lateritic soil (Yaounde)							
	OSW1	OSW2	OSW3	OSW4	CSW1	CSW2	CSW3	CSW4	OCLW1	OCLW2	OCLW3	OCLW4	CCLW1	CCLW2	CCLW3	CCLW4
EC	0.22	0.039	-0.649*	-0.235	-0.214	-0.362	0.25	-0.114	0.025	-0.419	0.014	-0.298	-0.408	-0.389	-0.104	-0.2
pH	-0.018	0.089	0.284	-0.25	0.301	-0.299	-0.124	-0.261	-0.191	-0.071	0.139	-0.237	-0.226	-0.089	-0.125	-0.259
DO	-0.081	0.398	0.275	-0.175	-0.474	-0.215	0.019	-0.159	0.477*	0.072	0.011	0.304	-0.034	-0.193	-0.064	-0.034
Temp.	-0.141	0.011	-0.127	-0.2	0.207	0.369	-0.048	-0.096	-0.147	-0.015	-0.183	0.375	-0.295	0.235	-0.039	-0.043
OM	-0.073	-0.107	0.176	-0.173	0.036	0.053	-0.014	-0.261	0.425	0.573*	-0.049	-0.178	0.557*	0.031	-0.42	0.283
CO ₂	-0.29	-0.201	0.286	-0.122	-0.422	0.057	-0.27	-0.012	-0.017	0.226	0.457*	0.087	0.684**	0.434	0.555*	0.449*
Alkalinity	-0.213	-0.403	0.619*	-0.54*	0.19	-0.108	0.017	0.099	0.117	0.381	0.563*	-0.549*	0.213	-0.11	-0.226	-0.197
TSS	0.134	0.18	0.432	0.128	0.225	0.034	-0.001	0.078	0.053	-0.338	0.064	0.403	-0.091	0.083	-0.232	-0.026

*: P < 0.05; **: P < 0.01; df = 12; EC: electrical conductivity; DO = Dissolved Oxygen; Temp. = Temperature; OM = Organic matter; Carbone. diox = Carbone dioxide; TSS: total suspended solids; OSW = open sandy well; CSW = closed sandy well; OCLW = open clayey-lateritic well; CCLW = close clayey-lateritic well.

Table 4. Percentage (%) of the mean of sum of squares of meteorological, hydrological and physicochemical factors impacting the abundance dynamic of *P. aeruginosa*

Parameters considered	Sampled wells in each type of soil			
	Sandy soil		Clayey-lateritic soil	
	OSW	CSW	OCLW	CCLW
Rainfall	0.85	0.01	0.02	2.10
Insolation	6.82	1.09	2.89	0.37
Daylight duration	2.77	0.66	0.86	2.02
Air temperature	1.11	0.34	1.11	5.45
Relative humidity	0.65	2.05	0.65	7.64
Well depth	12.34	11.28	1.34	4.03
Water table level	0.9	0.97	0.9	0.06
EC	32.45	0.76	33.28	0.65
pH	5.04	5.03	2.04	2.61
Oxygen	0.3	48.61	0.27	16.2
Temperature	7.09	3.43	2.09	0.53
Organic matter	0.7	1.19	0.7	0.005
Carbon dioxide	6.38	10.93	6.08	56.09
Alkalinity	13.49	10.11	5.69	0.91
TSS	6.92	1.15	40.26	1.24

EC: electrical conductivity; OSW = open sandy well; CSW = closed sandy well; OCLW = open clayey-lateritic well; CCLW = close clayey-lateritic well

characteristics of the native habitat on which exhibition of bacteria to the solar radiance depends on. According to Kevin *et al* (2012), suspended solids could limit light penetration in water column and protect microorganisms from solar radiation. Impact of solar radiance can also be compromised by interference of hydrological and physicochemical factors that are able to modulate microbial abundances (Nola *et al.*, 2001).

Relationship between *P. aeruginosa* abundance and hydrological parameters

In Douala, total well depth was negatively correlated ($P < 0.05$) with *P. aeruginosa* abundances. Variation of the water table level significantly favors ($P < 0.05$) the increase in *P. aeruginosa* abundances (OSW4 and CSW4) (Table 2). In wells of Yaounde, there was not significant correlation between hydrological parameters and *P. aeruginosa* abundances. Significant relationship between hydrological factors and cell abundances has been marked in wells in sandy soil (Douala). According to Weiss *et al* (2008), the potential of groundwater contamination is a complex function of soil and contaminant properties and the depth to the water table. When water table level is near the land surface, the duration of infiltration is short and groundwater contamination from pathogen occurs more readily.

Relationship between *P. aeruginosa* abundances and physicochemical parameters

In wells of Douala, abundances of *P. aeruginosa* were negatively correlated ($P < 0.05$) with electrical conductivity at OSW3 well (Table 3). Variation of external osmolarity is one of the main stress factors that bacteria face in the environment (Morbach and Krämer, 2002). Domenech *et al* (1992) added that enzymatic activity of *P. aeruginosa* is altered by cationic composition of water. This could explain why a direct effect between *P. aeruginosa* survival and the level of mineralization water was observed by Serrano *et al* (2012). In wells of Yaounde, cell abundances were positively correlated ($P < 0.05$) to organic matter, alkalinity, oxygen, and dissolved carbon dioxide contents. The presence of the biodegradable organic matters in well waters stimulates metabolism and enhance the bacterial abundances (Goldscheider *et al.*, 2006). *P. aeruginosa* is a heterotrophic bacterium that uses organic nutrients as carbon and energy provider. This bacterium decomposes organic matters via respiratory process, and this can induce the production of in water.

Hierarchical order of abiotic factors impacting the abundances of *P. aeruginosa* in wells

Table 4 summarizes the hierarchical order of meteorological, physicochemical and hydrological factors impacting the abundance of *P. aeruginosa* in open and closed wells of sandy and clayey-lateritic soils. This hierarchical organization was made by expressing percentage and ranking in descending order of the mean of sum of squares of each MANOVA test factor to several factors.

The dissolved oxygen and carbon dioxide are the main factors impacting the abundance dynamics of *P. aeruginosa* in closed wells of sandy and clayey-lateritic soils. In open wells, abundance of *P. aeruginosa* was mainly controlled by TSS and electrical conductivity respectively in clayey-lateritic soil and

sandy soil. These results show that abundances of *P. aeruginosa* were mainly controlled by physicochemical factors. Meteorological factors have a relative less impact on the cell abundances dynamic when compared to other factors.

Conclusion

Abiotic parameters and *P. aeruginosa* abundance in wells from sandy and clayey-lateritic soils seems relatively different, in open wells as well as in closed. Meteorological, physicochemical and hydrological factors impacts at different magnitudes the abundance dynamic of cells. In open wells, the water electrical conductivity and alkalinity seems to be the main factors controlling the *P. aeruginosa* abundance dynamics in sandy soil whereas the total suspended solids seems the main factors in clayey-lateritic soils. In closed wells, this bacteria abundance dynamics seems to be mainly controlled by the dissolved oxygen and carbon dioxide content in clayey-lateritic soils whereas the main factors in sandy soil are the dissolved oxygen content and the well depth.

REFERENCES

- Bachelier, G. 1959. Pedological survey of soils in Yaounde, Contribution for the study of ferralitic soils genesis. *Tropical Agronomy*. 19, 279–305.
- Bitton, G. 2002. Encyclopedia of Environmental Microbiology. John Wiley & sons, inc., publication. p.3527.
- Boughrou Ali Ait, 2007. Biodiversity, ecology and groundwaters quality of two arid regions of Morocco: the Tafilalet and the region of Marrakech. PhD thesis, Grounwater Hydrobiology Group, University of Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco.
- Chapelle, F. H., Bradley, P. M., McMahon, P. B., Kaiser, K. & Ron Benne, 2011. Dissolved Oxygen as an Indicator of Bioavailable Dissolved Organic Carbon in Groundwater. *Ground Water*. U.S Government work, p.12.
- Curriero, F.C., J.A. Patz, J.B., Rose & Lele S. 2001. The association Between Extreme Precipitation and Waterborn Outbreaks in the United States, 1948-1994. *Am. J. Public Health*. 91, 1194-1199.
- Domenech, C.E., Lisa, TA., Salvano, M.A., Garrido, M.N. 1992. *Pseudomonas aeruginosa* acid phosphatase, Activation by divalent cations and inhibition by aluminum ion. *FEBS letters*. 299, 96-8.
- Entry, J.A. & Farmer, N. 2001. Movement of Coliform Bacteria and Nutrients in Ground Water Flowing Through Basalt and Sand Aquifers. *J. Environ. Qual.* 30, 1533-1539.
- Fernandez, R.O., Pizarro, R.A. 1996. Ultraviolet-A lethal effect on *Pseudomonas aeruginosa*, *Photochem. Photobiol.* 64, 334–339.
- Findlay, S., Strayer, D., Goumbala, C. & Gould, K. 1993. Metabolism of streamwater dissolved organic carbon in the shallow hyporheic zone. *Limnol. Oceanogr.* 38, 1493–1499.
- Foulquier, A., Malard, F., Mermillod-Blondin, F., Datry, T., Simon, L., Montuelle, B. & Gilbert J. 2010. Vertical change in dissolved organic carbon and oxygen at the water table region of an aquifer recharged with stormwater: biological uptake or mixing? *Biogeochemistry*. 99, 31–47.
- Garcia-Pichel, F. 1994. A model for internal self-shading in planktonic organisms and its implications for the usefulness of ultraviolet sunscreen. *Limn. Oceanogr.* 39, 1704–1717.

- Goldscheider, N., Hunkeler, D., Rossi P. 2006 Review: Microbial biocenosis in pristine aquifers and an assessment of investigation methods. *Hydrogeol. J.* 14, 926-941.
- Hieng, IO. 2003. Study of Geotechnical Parameters of the Soils in Cameroon. CLE (ed.), Yaounde, Cameroon.
- 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, edn. Philadelphia, p. 524.
- Kazumi, J. & Capone, D. 1994. Heterotrophic microbial activity in shallow aquifer sediments of Long Island, New York. *Microb. Ecol.* 28, 19-37.
- Kevin, G.M., Ronán, M.C., Hans-Joachim, M., Martella du Preez, Eunice, U., Pilar, F. 2012. Solar water disinfection (SODIS): A review from bench-top to roof-top. *J. Hazar. Mater.* 14450.
- Kristiansen R. 1981. Sand-filter trenches for purification of septic tank effluent: The clogging mechanism and soil physical environment. *Journal of Environment Quality.* 10: 353-357.
- Letouzey, R. 1979. Phytogeographic map of Cameroon at 1/32 500 000. In: Atlas Jeune Afrique du Cameroun, Jeune Afrique, Paris, p. 45.
- Magdalena, P., Meichtry, M., Pizarro, R. A., Costa, C. S. 2014. Role of the Pseudomonas quinolone signal (PQS) in sensitizing *Pseudomonas aeruginosa* to UVA radiation. *J. Photochem Photobiol.* 142, 129-140.
- McCray J.E., Huntzinger D.H., Van Cuyk S. and Siegrist R. 2000. Mathematical modeling of unsaturated flow and transport in soil-based wastewater treatment systems. Proc. WEFTEC 2000. Water Environment Federation, Washinton D.C. Pp. 20.
- Miller, R. V. 2000. *recA*: the gene and its protein product. In: Encyclopedia of microbiology, Luria S (ed.), 2nd edn, San Diego, Pp. 43-54.
- Morbach, S. & Krämer, R. 2002. Body shaping under water stress: osmosensing and osmoregulation of solute transport in bacteria. *ChemBiochem.* 3, 384-397.
- Muthukumaravel K. 2010. Evaluation of Ground Water Quality in Perambalur. *Ind. J. Environ. Sciences.* 14, 47-49.
- Njitchoua, R., Dever, L., Fontes, J.C. & Naah, E. 1997. Geochemistry, origin and recharge mechanisms of groundwaters from the Garoua Sandstone aquifer, northern Cameroon. *J. Hydrol.* 190, 123-140.
- Nola, M., Njine, T., Sikati, V. F. et Djuikom, E. 2001. Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* in groundwaters in equatorial region of Cameroon and relationships with some chemical parameters of water. *Rev. Sci. Eau.* 14, 35-53.
- Nougang, M. E., Nola, M., Djuikom, E., Noah, E.O.V., Mounang, L. M. & Ateba, B. H. 2011. Abundance of Faecal Coliforms and Pathogenic *E. coli* Strains in Groundwater in the Coastal Zone of Cameroon (Central Africa), and Relationships with Some Abiotic Parameters. *Cur. Res. J. Biol. Sc.* 3, 622-632.
- Pitt R., Chen S-E., Clark S. 2002. Compacted urban soil effects on infiltration and bioretention stormwater control designs. Global Solutions for Drainage Proceeding of the Ninth International Conference on Urban Drainage, Portland, Oregon.
- Pitt R., Clark S., and Field R. 1999. Groundwater contamination potential from stormwater infiltration practices. *Urban Water.* 1: 217-236.
- Pitt R., Clark S., and Parmer K. 1994. Potential groundwater contamination from intentional and nonintentional stormwater infiltration. Research project, Cooperative Agreement N°. CR819573 EPA/600/SR-94/051 United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.
- Rodier, J., Bernard, L., Merlet, N. 2010. Water Analysis. Dunod (ed.), 9th edn, Paris, Pp. 3-715.
- Serrano, C., Romero, M., Alou, L., Sevillano, D., Corvillo, I., Armijo, F. & Maraver, F. 2012. Survival of human pathogenic bacteria in different types of natural mineral water. *J. Water Health.* 10, 400-405.
- Sommaruga, R., Obernosterer, I., Herndl, G.J. & Psenner, R. 1997. Inhibitory effect of solar radiation on thymidine and leucine incorporation by freshwater and marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 4178-4184.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2012. 20th edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Succhel, B. 1988. Climat types in Cameroon. Thesis, University of Bordeaux III, France.
- Tyler E.J., Milner M., and Converse J.C. 1993. Soil acceptance of wastewaters from chamber and gravel infiltration systems. University of Wisconsin-Madison, SSWMP Publication. p. 12.
- Van Wesemael, B. 2006. Contents in organic matters in soil in Walloon Region. Report of Catholic University of Louvain/Department of Geography. Statement on the Walloon environment, Belgium.
- Weiss P.T., LeFevre G. and Gulliver J. S. 2008. Contamination of Soil and Groundwater Due to Stormwater Infiltration Practices, A Literature Review. Project Report No.515. Stormwater Assessment Project, University of Minnesota.



Less effect of wells physicochemical properties on the antimicrobial susceptibility *Pseudomonas aeruginosa* isolated in equatorial region of Central Africa

Jean Samuel Eheth¹ · Chrétien Lontsi Djimeli¹ · Paul Alain Nana¹ · Antoine Tamsa Arfao^{1,2} · Olive Vivien Noah Ewoti¹ · Luciane Marlyse Moungang¹ · Geneviève Bricheux³ · Télésphore Sime-Ngando³ · Moïse Nola¹

Received: 13 July 2018 / Accepted: 11 February 2019
© The Author(s) 2019

Abstract

This study aimed at assessing the impact of some wells abiotic factors on the antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated. A total of 14 well waters of Douala and Yaoundé towns (Cameroon, Central Africa) were chosen. Fifteen antibiotics were used to test antimicrobial susceptibility with the majority belonging to β -lactam, aminoglycoside and quinolone groups. Result showed that in Douala, electrical conductivity of water ranged from 145.38 to 559.69 $\mu\text{S}/\text{cm}$ in well, while in Yaoundé, it ranged from 172.5 to 710.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Dissolved oxygen ranged from 2.5 to 5.5 mg/l and from 3.9 to 5.1 mg/l, respectively, in Douala and Yaoundé. Organic matter varied from 2.3 to 7.2 mg/l and 1.4 to 5.2 mg/l in Douala and Yaoundé, respectively. As for pH, it fluctuated between 5.56 and 6.66 CU and between 5.1 and 7.0, respectively, in Douala and Yaoundé. The sampled waters harbour multi-drug-resistant *P. aeruginosa* strains. About 20.40% of strains from wells in Yaoundé metropolis expressed resistance to at least 5 antibiotics, whereas from wells in Douala town, up to 33.33% of strains were resistant to at least 8 antibiotics including ticarcillin, ceftazidime and gentamicin. The effect of abiotic factors on the sensitivity to antibiotics was assessed using the multiple regression tests. In both towns, less than 5% in the changes of physicochemical parameters of well waters explained the variance in inhibition diameter values of antibiotics ($p \leq 0.05$). The pH significantly impacts on antimicrobial susceptibility. Environmental conditions are less stressful for *P. aeruginosa* and fairly affect its antimicrobial susceptibility.

Keywords Wells · *P. aeruginosa* · Antimicrobial susceptibility · Abiotic factors

Introduction

Pseudomonas aeruginosa is a Gram-negative bacterium implicated in cutaneous and ophthalmic infections, gastro-intestinal attacks leading sometimes to diarrhoeic in newborns. In most cases, these infections are associated with contaminated water or contaminated antiseptic solutions (Mérens et al. 2013). Infections caused by *P. aeruginosa* are sometime difficult to treat because of its high level of intrinsic resistance to antibiotics (Hancock and Speert 2000). This opportunist bacterium can also exhibit high adaptive response to changing environmental conditions (Mérens et al. 2011). In developing countries where access to potable water and sanitation is limited, the presence of this resistant bacterium in aquatic environments is a serious public health threat (Satoru and Phan 2012).

✉ Moïse Nola
moise.nola@yahoo.com

¹ Hydrobiology and Environment Laboratory, Faculty of Sciences, University of Yaounde 1, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

² Microbiology and Biotechnology Laboratory, Saint Jerome Catholic University of Douala, P.O. Box 5949, Douala, Cameroon

³ Laboratoire 'Microorganismes: Génome et Environnement', UMR CNRS 6023, Université Clermont Auvergne, Campus Universitaire des Cézeaux, 1 Impasse Amélie Murat CS 60026, 63178 Aubière Cedex, France

Antimicrobial susceptibility must not be considered just as a medical issue but also as an ecological matter. To understand the process by which antimicrobial susceptibility is governed in environmental bacteria, it is necessary to consider the ecology of microorganisms as well as the potential impact of environmental conditions (Macfarlane et al. 2000). Just like many microorganisms, *P. aeruginosa* is frequently exposed to environmental stresses such as UV radiation, acid stress (pH), nutrient starvation and oxygen limitation related to organic pollution (Poole 2012a). These stresses elicit a variety of specific and highly regulated adaptive responses that not only protect the bacterium from the offending stress, but also alter gene expression patterns (Wood and Ohman 2009) and cell physiology in ways that it can profoundly influence antimicrobial susceptibility (Macdonald and Kuehn 2013). According to Poole (2012b), the physiological changes in a bacterium exposed to environmental stresses are often transient but occasionally permanent depending on the adaptive changes in the genetic architecture of the microorganism. McMahon et al. (2007) added that some pathogens continued to express higher levels of antibiotic resistance after removal of stress, suggesting that in some cases sublethal stress may induce stable increases in antibiotic resistance.

In Cameroon, data on the antimicrobial susceptibility of bacteria originated from aquatic environments are very fragmentary (Akoachere et al. 2013). Investigations on drug resistance are mostly performed with clinical strains because of their implication in nosocomial infections (Ateba et al. 2013; Kamga et al. 2015). Yet the presence of resistant bacteria in aquatic ecosystems increases the risks during infection by water since the therapeutic possibilities are reduced. In urban areas such as Douala and Yaoundé, populations depend mainly on groundwaters which are consumed sometimes without efficient treatment (Drouart and Vouillamoz 2012; INS 2013). These groundwaters harbour diverse bacterial microflora primarily consisting of faecal bacteria, which are commensal or pathogenic (Nola et al. 2001; Nougang et al. 2011). The opportunist bacterium *P. aeruginosa* isolated from wells of Douala often expressed acquired resistances against several antibiotics such as doxycycline, cotrimoxazole, tetracycline and ampicillin (Akoachere et al. 2013). Otherwise, groundwaters of Douala and Yaoundé are acidic with low dissolved oxygen and nutrients contents (Nola et al. 2001; Nougang et al. 2011). These conditions are potentially stressful for the local bacterial microflora. The impact of these environmental conditions on the occurrence of resistant *P. aeruginosa* strains has not been yet undertaken. Although the reasons and the factors of the resistances remain poorly documented in natural water, it is well known that increasing resistance in aquatic environments in urban areas is mainly assigned to anthropogenic pollution. The implication of some anthropogenic ecosystems (hospital

effluents, wastewater treatment stations, farms) in the dissemination of the resistance has been demonstrated through several works which characterized these ecosystems as reservoirs of multi-drug resistant bacteria, resistance genes and mobile genetic elements, but also as the platforms of genetic exchanges between bacterial species (Czekalski et al. 2012; Fuentefria et al. 2011; Gaze et al. 2011). However, little is known about the possible impact of physicochemical characteristics of water on the occurrence of multi-drug-resistant *P. aeruginosa* strains in these environments. The aim of this study was to have firsthand information about the possible relationship between water pollution and the antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa* strains in two urban areas.

Materials and methods

Site description

Douala town is located between 3° 5' and 4° 15' at latitude North and between 9° 37' and 9° 50' at longitude East, along the coastal plain of Cameroon. The relief is made of sedimentary formations (clays, marls, sands, sandstone, etc.) and an important proportion of hydromorphic soils (Hieng 2003). The population of this city is more of 2,000,000 inhabitants (BUCREP 2010). Several investigations showed that 2/3 of the population do not have access to the network water and rely on boring, wells and natural springs. The water quality of 3/4 of borings and wells is uncertain because of the proximity of the groundwater table and the sandy geologic plinth which favour the circulation of contaminants (Drouart and Vouillamoz 2012).

Yaoundé City is located between latitude 3° 44' and 4° 2' North and longitude 11° 22' and 11° 24' East. It has ferrolateritic acidic soils with clayed texture (Hieng 2003). The demography of Yaoundé is of about 2,000,000 inhabitants (BUCREP 2010). Groundwaters play a fundamental role in the water supply in Yaoundé, where less than 50% of households have direct access to the drinking water delivered through pipeline (INS 2013). Studies established that groundwater pollution comes mainly from traditional pit latrines and agricultural activities. 53% of households are exposed to waterborne diseases by consuming groundwaters (INS 2013).

Water sampling

In each study area, 14 dug wells, coded WY1, WY2,, WY14 in Yaoundé, and WD1, WD2,, WD14 in Douala, were selected according to their accessibility and their spatial distribution. Water samplings were done from April 2013 to April 2014 in order to explore environmental conditions leading in groundwaters during all seasons of the

year. Water samples from the 14 wells of each town were collected and analysed monthly. At each sampling point, two water samples were collected, one in a 500-ml sterile glass bottle for bacteriological analysis and the other in a 1000-ml polythene bottle for organic matter analysis.

Analyses of water physicochemical parameters

At each sampling site, the water pH, dissolved oxygen and electrical conductivity were determined in situ (using a multi-parameter analyser kit HANNA Instruments) to estimate their impact on antimicrobial susceptibility. Organic matter (chemical oxygen demand) was evaluated in laboratory by the chromic acid wet digestion titrimetric method. These parameters were chosen since they are indicators of the organic pollution. Physicochemical analyses were made according to Rodier (2009) and APHA (2012).

Bacterial isolation and identification

Membrane filtration method was used to isolate and enumerate *P. aeruginosa* cells according to the standard methods (APHA 2012). For each well, raw or diluted water sample was filtered through a sterile 0.45- μm -pore-diameter, gridded membrane filter, under partial vacuum. Filter was removed and placed on cetrimide–nalidixic agar culture medium (CN, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) contained in Petri dish (Gosselin a Corning Brand, France). Incubation was done at 37 °C for 24 h. The typical *P. aeruginosa* colonies on CN agar medium were subsequently identified according to Holt et al. (2000) and confirmed using King B medium, acetamide and oxydase tests (Goto and Enomoto 1970).

Antimicrobial susceptibility tests

The antimicrobial susceptibility tests were carried out using Kirby–Bauer disc diffusion method as indicated by CA-SFM (2013). Three hundred and eleven and 312 *P. aeruginosa* strains were, respectively, collected in wells of Douala and Yaoundé. Fifteen antibiotics were tested belonging to 4 groups (CA-SFM 2013): β -lactam, aminoglycoside, quinolone and one non-classified group. The β -lactam group included piperacillin (75 μg), piperacillin/tazobactam (75/10 μg), ticarcillin (75 μg), ticarcillin/clavulanate (75/10 μg), ceftazidime (30 μg), cefepime (30 μg), cefsulodin (30 μg), imipenem (10 μg) and meropenem (10 μg). The aminoglycoside included tobramycin (10 μg), gentamicin (15 μg) and amikacin (30 μg). The quinolones used were ciprofloxacin (5 μg) and ofloxacin (5 μg). The non-classified antibiotic was fosfomicin (50 μg + 50 μg G6P).

Pseudomonas aeruginosa strain ATCC 27853 susceptibility was used as control. This strain was provided by the

Laboratory of Microbiology and Environment of Centre Pasteur of Cameroon. Test results were only validated in the cases where inhibition zone diameters of the control strains were within performance ranges. Inhibition zone diameters of *P. aeruginosa* isolates were measured and then compared with the reference data (CA-SFM) to assess if strains were resistant (**R**), intermediate (**I**) or sensitive (**S**) to the tested antibiotics.

Data analysis

Prevalence of resistant (**R**), intermediate (**I**) or sensitive (**S**) strains to each antibiotic was plotted using SigmaPlot 10.0 software. To assess a dimensional measurement of the linear relationship between the inhibition diameter values of each antibiotic and physicochemical parameter of well waters, multiple regressions were done using the software XLSTAT 2007. The regression equation model defined was: $Y = a_0 + a_1\text{EC} + a_2\text{pH} + a_3\text{DO} + a_4\text{OM}$. Y (inhibition diameter value of antibiotic) was assigned to the depended variable. The explanatory variables were EC (electrical conductivity), pH, DO (dissolved oxygen) and OM (organic matter). The slopes parameters a_1 , a_2 , a_3 and a_4 showed how Y changes with one unit of corresponding physicochemical parameter. a_0 represented the intercept point. R^2 values were determined to measure the percentage of variation in the values of inhibition diameter of antibiotics that can be explained by the variation in the explanatory variables. A p value of 0.05 was assumed to be statistical significance level.

Results

Wells physicochemical characteristics

In Douala metropolis, the mean values of physicochemical parameters measured in the wells varied with respect to the sampling site (Table 1). The electrical conductivity values ranged from 145.38 to 559.69 $\mu\text{S}/\text{cm}$, meaning that mineralization rate of these waters was average (Rodier 2009). The pH values fluctuated between 5.56 and 6.66 and revealed acidic groundwaters. Dissolved oxygen concentration ranged from 2.5 to 5.5 mg/l, and concentrations in organic matter varied from 2.3 to 7.2 mg/l.

In Yaoundé, the value of physicochemical parameters measured in wells also varied with respect to sampling site (Table 2). The highest value of electrical conductivity reached 710.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$, and the lowest value reached 172.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$. The observed difference in electrical conductivity may be due to the local source of pollution. Well waters were slightly acidic with pH ranging from 5.1 to 7.0. Dissolved oxygen levels ranged from 3.9 to 5.1 mg/l, and the concentration in organic matter varied from 1.4 to 5.2 mg/l.

Table 1 Means (and standard deviations) of physicochemical parameters in wells of Douala

Parameters considered	Sampled wells													
	WD1	WD2	WD3	WD4	WD5	WD6	WD7	WD8	WD9	WD10	WD11	WD12	WD13	WD14
Electrical conductivity ($\mu\text{s. cm}^{-1}$)	184.2 (46)	145.4 (34.8)	238.7 (82.8)	410.2 (82.6)	363.5 (76.7)	401.7 (91.8)	312.5 (85.5)	273.3 (67.4)	390.2 (70.6)	279.2 (55.7)	559.7 (153.5)	493.7 (110.3)	526.1 (195.6)	357.4 (142.9)
pH (CU)	6.1 (0.4)	5.9 (0.4)	6.4 (0.4)	6.4 (0.4)	6.4 (0.4)	6.7 (0.5)	6.3 (0.4)	6.2 (0.6)	6.2 (0.5)	5.6 (0.9)	5.9 (0.6)	6.3 (0.5)	6.6 (0.3)	6.7 (0.4)
Dissolved oxygen (mg.l^{-1})	5.3 (0.5)	5.3 (0.5)	5.5 (0.8)	4.2 (1.2)	4.3 (0.7)	4.4 (1.4)	4.9 (1.0)	3.7 (1.6)	3.5 (0.9)	3.9 (1.2)	4.8 (0.9)	3.4 (1.0)	4.6 (1.3)	2.5 (1.0)
Organic matter (mg.l^{-1})	4.4 (2.2)	4.0 (1.0)	2.3 (1.1)	4.6 (3.7)	3.9 (2.3)	3.3 (3.4)	3.8 (1.1)	4.5 (2.8)	2.9 (1.4)	2.6 (1.4)	4.9 (2.8)	3.6 (2.0)	3.3 (2.6)	7.2 (4.8)

Table 2 Means (and standard deviations) of physicochemical parameters in wells of Yaoundé

Con-sidered parameters	Sampling sites													
	WY1	WY2	WY3	WY4	WY5	WY6	WY7	WY8	WY9	WY10	WY11	WY12	WY13	WY14
Electrical conductivity ($\mu\text{s. cm}^{-1}$)	204.8 (36.7)	434.0 (89.6)	182.2 (32.8)	221.5 (46.3)	228.8 (149.8)	710.2 (139.4)	923.5 (280.2)	172.5 (39.9)	337.0 (56.6)	220.3 (39.0)	242.5 (39.5)	371.9 (71.7)	268.5 (54.6)	620.2 (115.1)
pH (CU)	6.1 (0.3)	7.0 (0.2)	5.7 (0.8)	5.2 (0.9)	5.1 (0.7)	6.0 (0.4)	6.2 (0.5)	6.3 (0.3)	6.0 (0.5)	5.7 (0.2)	5.2 (0.7)	5.4 (0.7)	5.5 (0.7)	6.1 (0.4)
Dissolved oxygen (mg.l^{-1})	5.1 (1.1)	4.5 (1.5)	4.4 (0.7)	5.0 (0.7)	4.7 (0.8)	5.0 (1.2)	4.5 (0.9)	4.4 (1.7)	4.1 (1.0)	4.5 (0.9)	4.2 (1.1)	4.5 (0.9)	4.6 (1.3)	3.9 (1.5)
Organic matter (mg.l^{-1})	2.5 (1.2)	4.0 (2.3)	2.4 (1.7)	1.9 (1.4)	2.2 (0.9)	1.4 (0.8)	5.2 (3.5)	2.8 (0.9)	1.4 (1.3)	1.6 (1.1)	1.8 (1.2)	2.0 (0.8)	1.9 (2.4)	1.7 (0.8)

Antimicrobial susceptibility patterns among *P. aeruginosa* strains and multiresistance aspect

A total of 623 *P. aeruginosa* strains were collected and tested. Out of this number, 311 and 312 strains were collected, respectively, from wells in Douala and Yaoundé. The prevalence of the resistant, intermediate and sensitive strains isolated is illustrated in Fig. 1.

In groundwaters of Yaoundé, *P. aeruginosa* strains expressed highest resistance to fosfomycin (90.09%) and ofloxacin (30%) and lowest resistance to tobramycin (0.6%) (Fig. 1a). In well waters of Douala, *P. aeruginosa* strains expressed highest resistance rates to fosfomycin (77.88%) and lowest resistance to ceftazidime (2.88%) (Fig. 1b). The prevalence of resistant strains to ceftazidime, ticarcillin, gentamicin, tobramycin and amikacin was relatively different in wells of Douala when compared to those of Yaoundé (Fig. 1). Resistant strains to ceftazidime were recorded in wells of Douala (2.88%), while in Yaoundé there were no resistant strains recorded to this drug.

In wells of both towns, the most active antibiotics against *P. aeruginosa* strains were ciprofloxacin, colistin,

meropenem, imipenem and piperacillin/tazobactam (Fig. 1). The resistance level to combined antibiotics piperacillin/tazobactam and ticarcillin/clavulanate was different in Yaoundé and Douala (Fig. 1). About 17.16% of strains in Yaoundé town and 6.41% of strains in Douala town were sensitive to piperacillin/tazobactam but resistant to piperacillin alone. This is not surprising since tazobactam acts as a β -lactamase inhibitor. About 10.89% of *P. aeruginosa* strains from wells of Yaoundé and 9.29% from those in Douala were resistant to antibiotic combination ticarcillin/clavulanate but sensitive to ticarcillin alone.

Figure 2 shows the prevalence of multi-drug-resistant strains. In wells of Yaoundé, about 93.39% of *P. aeruginosa* strains were resistant to at least 3 antibiotics. The resistance prevalence to at least 4 antibiotics reached 52.14%. Up to 20.46% of *P. aeruginosa* strains were resistant to at least 5 antibiotics. It has been found that 0.66% of *P. aeruginosa* strains were resistant to at least 9 antibiotics. In wells of Douala, 85.26% of *P. aeruginosa* strains expressed resistance to at least 3 drugs (Fig. 2). The prevalence of resistant strains to at least 4 antimicrobials reached 68.58%. Up to 52.24% of strains were resistant to at least 5 antibiotics. It

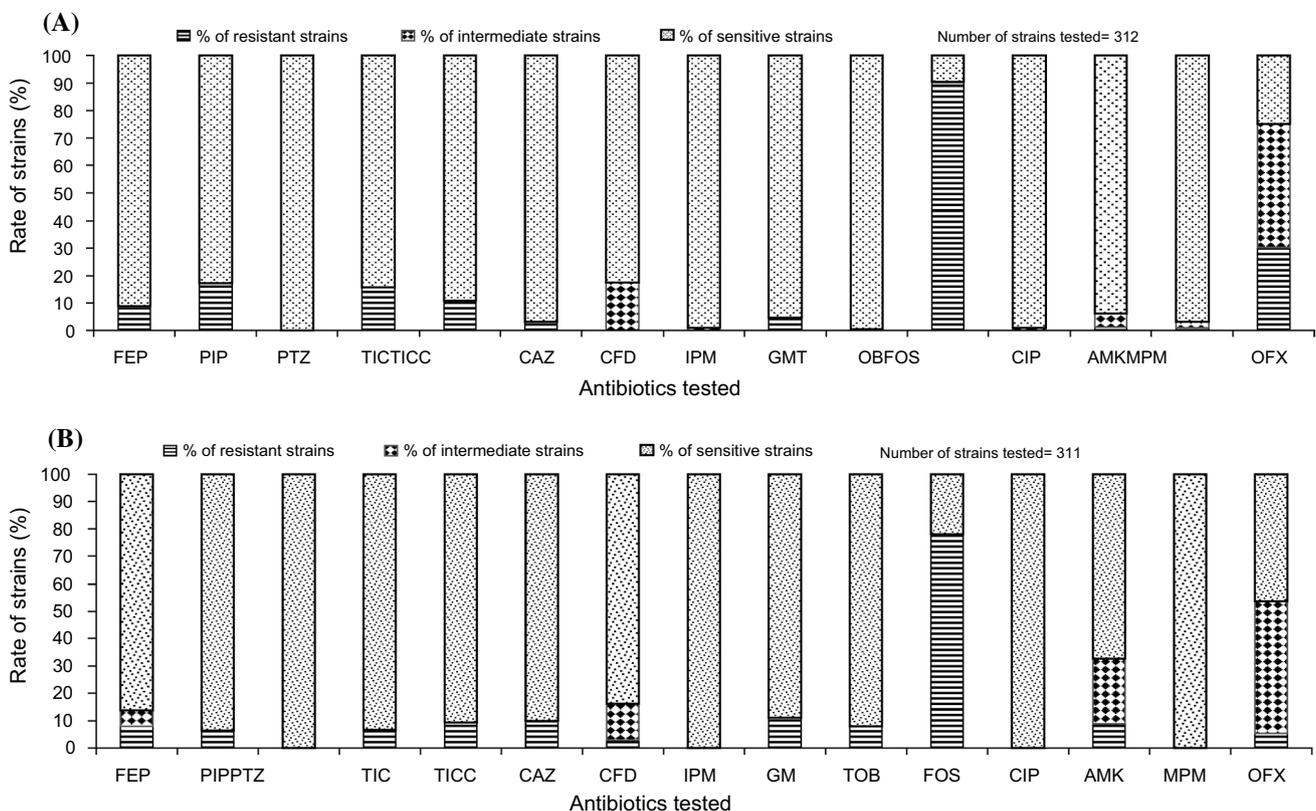


Fig. 1 Antimicrobial susceptibility patterns among *P. aeruginosa* strains isolated from wells in Yaoundé of clayey lateritic soil (a), and in Douala of sandy soil (b) (FEP cefepime, PIP piperacillin, PTZ piperacillin/tazobactam, TIC ticarcillin, TICC ticarcillin/clavulanate, CAZ ceftazidime, CFD ceftazidime, IMP imipenem, GM gentamicin, TOB tobramycin, AZT aztreonam, FOS fosfomycin, COL colistin, CIP ciprofloxacin, AMK amikacin, KMC kanamycin, MPM meropenem, OFX ofloxacin)

cillin/clavulanate, CAZ ceftazidime, CFD ceftazidime, IMP imipenem, GM gentamicin, TOB tobramycin, AZT aztreonam, FOS fosfomycin, COL colistin, CIP ciprofloxacin, AMK amikacin, KMC kanamycin, MPM meropenem, OFX ofloxacin)

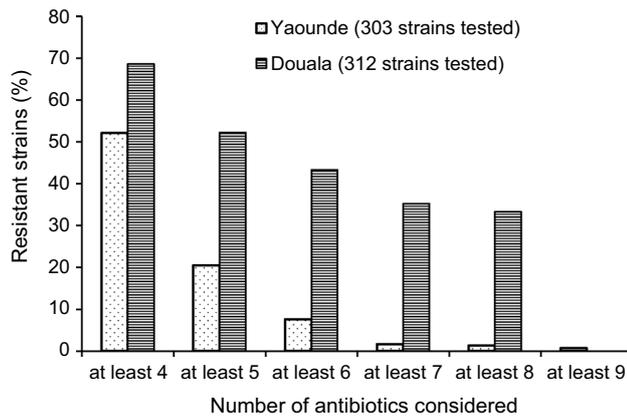


Fig. 2 Variation of the percentage of multi-drug-resistant *P. aeruginosa* isolates with the number of antibiotics they resist to and the isolation sites (Yaoundé and Douala)

is noted that up to 33.33% of strains expressed multi-drug resistance to at least 8 antibiotics.

Impact of physicochemical parameters of water on the antibiotics sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa*

The effect of physicochemical water parameters on the inhibition diameter of *P. aeruginosa* was assessed using the multiple regression test, and the results are presented in Tables 3 and 4.

Table 3 Multiple regression of inhibition diameter values of antibiotics with abiotic factors in wells of Yaoundé

Depended variables (inhibition diameters of antibiotic tested)	Regression equation	R^2 value
FEP =	$27 - 0.002EC - 1.4pH - 0.2DO - 0.1OM$	0.014
PIP =	$27 - 0.001EC - 1.4pH - 0.2DO - 0.3OM$	0.014
PTZ =	$25 - 0.003EC - 0.7pH - 0.004DO - 0.04OM$	0.011
TIC =	$21 - 0.0008EC - 1.1pH - 0.006DO - 0.2OM$	0.041
TICC =	$21 - 0.00005EC - 1.1pH + 0.2DO - 0.08OM$	0.009
CAZ =	$27 + 0.0004EC - 1.5pH - 0.1DO - 0.04OM$	0.007
CFD =	$26 + 0.0008EC - 1.6pH + 0.01DO - 0.02OM$	0.010
IMP =	$27 - 0.0001EC - 1.3pH - 0.4DO + 0.04OM$	0.007
GM =	$22 - 0.0003EC - 1.3pH - 0.05DO + 0.06OM$	0.010
TOB =	$20 - 0.0001EC - 1.2pH + 0.01DO + 0.04OM$	0.008
FOS =	$7.6 - 0.0007EC - 0.8pH + 0.07DO - 0.1OM$	0.009
CIP =	$33 - 0.001EC - 1.8pH - 0.1DO - 0.07OM$	0.009
AMK =	$22 + 0.0002EC - 1.2pH + 0.02DO - 0.01OM$	0.007
MPM =	$31 - 0.001EC - 1.4pH - 0.3DO - 0.04OM$	0.007
OFX =	$23 - 0.001EC - 1.07pH - 0.1DO + 0.05OM$	0.007

Observations = 182; $p \leq 0.05$. FEP cefepime, PIP piperacillin, TIC ticarcillin, TICC ticarcillin/clavulanate, CAZ ceftazidime, CFD cefsulodin, IMP imipenem, GM gentamicin, TOB tobramycin, FOS fosfomycin, CIP ciprofloxacin, AMK amikacin, MPM meropenem, OFX ofloxacin, EC electrical conductivity, DO dissolved oxygen, OM organic matter

With strains isolated from wells in Yaoundé, the percentage of variation in the values of inhibition diameters of antibiotics that can be explained by the variation in the physicochemical parameters of wells oscillated between 0.7 and 4.1% ($p \leq 0.05$). The lowest R^2 values were observed with ofloxacin, meropenem, amikacin, imipenem and ceftazidime. The regression equation which showed the highest R^2 values was obtained with ticarcillin (Table 3). When examining specific slopes assigned to each physicochemical parameter, the pH of well waters seems to be the abiotic factor having the steepest slopes ranging from 0.4 to 1.8 (Table 3). These slopes showed how inhibition diameter of antibiotics changes with pH. The slopes of electrical conductivity varied between 0.00005 and 0.002, while those of dissolved oxygen oscillated between 0.006 and 0.4. The slopes assigned to the organic matter ranged from 0.01 to 0.3 ($p \leq 0.05$).

With *P. aeruginosa* strains isolated from well in Douala town, 2.5% to 4.8% of the variance in inhibition diameter values of antibiotics can be explained by the changes in physicochemical parameters (Table 4). The lowest R^2 value was observed with ofloxacin and fosfomycin, while the highest R^2 value was obtained with ceftazidime. The slopes attributed to each abiotic factor ranged from 0.1 to 4.8 with the pH, from 0.002 to 0.005 with the electrical conductivity, from 0.3 to 0.5 with the dissolved oxygen and from 0.003 to 0.2 with the organic matter.

In both towns, less than 5% of the changes in physicochemical parameters of well waters explained the variance in inhibition diameter values of antibiotics ($p \leq 0.05$). The

Table 4 Multiple regression of inhibition diameter values of antibiotics with abiotic factors in wells of Douala

Depended variables (inhibition diameters of antibiotic tested)	Regression equation	R ² value
FEP =	40 + 0.005EC - 3.7pH + 0.4DO - 0.1OM	0.043
PIP =	41 + 0.003EC - 3.6pH + 0.4DO + 0.003OM	0.031
PTZ =	38 + 0.004EC - 3.2pH + 0.3DO + 0.03OM	0.032
TIC =	36 + 0.003EC - 3.4pH + 0.4DO - 0.005OM	0.041
TICC =	31 + 0.003EC - 2.8pH + 0.3DO - 0.02OM	0.036
CAZ =	43 + 0.005EC - 4.1pH + 0.3DO - 0.2OM	0.048
CFD =	39 + 0.005EC - 3.5pH + 0.3DO - 0.07OM	0.035
IMP =	41 + 0.003EC - 3.7pH + 0.5DO - 0.1OM	0.038
GM =	26 + 0.002EC - 2.4pH + 0.4DO + 0.01OM	0.034
TOB =	27 + 0.002EC - 2.4pH + 0.3DO + 0.008OM	0.031
FOS =	4.8 + 0.003EC - 0.1pH + 0.6DO - 0.06OM	0.025
CIP =	53 + 0.004EC - 4.8pH + 0.5DO - 0.03OM	0.037
AMK =	25 + 0.003EC - 2.3pH + 0.6DO + 0.05OM	0.037
MPM =	54 + 0.003EC - 4.7pH + 0.3DO - 0.07OM	0.034
OFX =	33 + 0.003EC - 2.8pH + 0.3DO - 0.07OM	0.025

Observations = 182; $p \leq 0.05$. FEP cefepime, PIP piperacillin, TIC ticarcillin, TICC ticarcillin/clavulanate, CAZ ceftazidime, CFD cefsulodin, IMP imipenem, GM gentamicin, TOB tobramycin, FOS fosfomycin, CIP ciprofloxacin, AMK amikacin, MPM meropenem, OFX ofloxacin, EC electrical conductivity, DO dissolved oxygen, OM organic matter

pH of water seems to be the parameter susceptible to impact the variation in the inhibition diameters values regarding the slopes of regression equations. The slopes values of pH were relatively more important with strain isolated in Douala than to those isolated in Yaoundé.

Discussion

Pseudomonas aeruginosa strains isolated from groundwaters of Yaoundé and Douala (tropical regions) were multi-drug resistant. The observed acquired resistance against ticarcillin and ceftazidime is alarming since these antibiotics are recognized to kill *P. aeruginosa* cells and they are preferentially used in hospital against *P. aeruginosa* infections (Kamga et al. 2015). The occurrence of multi-drug-resistant strains in these aquatic ecosystems has been long time questioned. During this study, the measurement of the physicochemical parameters of groundwaters showed that the concentrations of dissolved oxygen corresponded to the normal oxygenated conditions non-stressful for *P. aeruginosa*. The multiple regression tests revealed that the percentage of variation in the values of inhibition diameters of antibiotics tested can be explained by the variation in the physicochemical parameters ranging from 0.7 to 4.1% ($p \leq 0.05$) in Yaoundé and from 2.5 to 4.8% in Douala. These results mean that the relationship between antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa* and abiotic factors would be minimal in both regions. The reasons of this weak relation would be explained by the order of magnitude of the measured physicochemical parameters

in groundwaters. Indeed, it has been established that stress is the major environmental parameter that significantly affects *P. aeruginosa*.

Stress selects in bacterium several molecular adaptation mechanisms also involved in antibiotic resistance (Macfarlane et al. 2000; Johnson et al. 2012). However, when the level of physicochemical parameter is not sufficient to induce bacterial stress, its impact on antimicrobial susceptibility would be minimal. According to Ghotaslou and Behnaz (2013), oxygen depletion of 0 to 1% (< 3 mg/l) could lead to stress in *P. aeruginosa* affecting its antibiotics sensitivity. These authors revealed that changes in oxygen pressure contributed to increased antibiotic resistance in hypoxia (1%) with penicillin, tobramycin and carbapenem drugs, while the inhibition diameter values in normoxia 21% (5–7 mg/l) remained unchanged. During the sampling campaign, the concentrations of dissolved organic matters obtained were different to those of oligotrophic groundwaters (< 1 mg/l) where organic nutrient limitation leads to nutrient stress against bacteria. According to Nguyen et al. (2011), organic nutrient limitation impacts antimicrobial resistance as a result of its activation of stress responses that promote resistance to gentamicin, meropenem and ofloxacin by activating the stringent response. Groundwaters of these two towns seem to be sufficiently charged in dissolved organic matter, and this environmental condition significantly reduces the impact of nutrient stress against *P. aeruginosa*.

Moreover, intrinsic factors linked to *P. aeruginosa* species might explain weak relation between abiotic factors of well waters and antimicrobial susceptibility. Sequencing

of several *P. aeruginosa* strains genomes revealed that a large fraction (around 10%) of the genome is dedicated to gene regulation, which is consistent with its high versatility (Mathee et al. 2008; Stover et al. 2000). It has a disparate variety of metabolism; it can degrade very distinct compounds such as alcohols, fatty acids, sugars, di- and tri-carboxylic acids, aromatics, amines and amino acids, which can be used up as sources of carbon. *P. aeruginosa* has both aerobic and anaerobic metabolism. It is capable of anaerobic metabolism by converting nitrate to nitrite. This highest versatility might significantly contribute to escape *P. aeruginosa* from the stress provided by non-optimal environmental conditions (Schreiber et al. 2007).

The analysis of slopes parameters permitted to appreciate the impact of individual abiotic factors on antimicrobial susceptibility. In both towns, significant slopes ($p \leq 0.05$) were obtained only with pH. The values of pH ranged from 5.56 to 6.66 in groundwaters of Douala and from 5.1 to 7.0 in groundwaters of Yaoundé. These values were susceptible to lead to acidic stress and to affect antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa*. Several studies showed that the membrane transport of antibiotics such as aminoglycosides is a function of the difference trans-membrane in H^+ ion, which explains the impact that pH might have on resistance to aminoglycosides (Framow et al. 1991; Eisenberg et al. 1984). According to Moriarty et al. (2007), bactericidal effect of tobramycin against *P. aeruginosa* decreases when the bacterium grows in acidic condition. In addition, the sensitivity to ceftazidime is not influenced by pH. The influence of pH on acquired resistance to aminoglycoside drugs such as amikacin and neticillin has been examined by Xiong et al. (1996). These authors showed that bactericidal effect of aminoglycoside drugs depended on their concentrations at pH 7.4. At pH 6.5, the bactericidal activity of amikacin and neticillin was very weak when compared to the one observed at pH 7.4. At pH 5.5, amikacin and neticillin do not have bactericidal effect on *P. aeruginosa*.

Conclusion

Groundwaters of Douala and Yaoundé towns harbour multi-drug-resistant *P. aeruginosa* strains. The relationship between antimicrobial susceptibility and organic pollution remained weak in these regions. Only the pH was found to have an impact on the variation of inhibition diameter values of antibiotics. The values of physicochemical parameters showed that environmental conditions leading in groundwaters of Douala and Yaoundé are less stressful for *P. aeruginosa*. This might explain the weak relationship between abiotic factors and antimicrobial susceptibility.

Acknowledgements The authors thank the authorities of the Laboratory of Microbiology and Environment of Centre Pasteur of Cameroon, those of the University of Yaoundé 1 (Cameroon) and the University Clermont Auvergne (France), for their logistic and material contributions.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

- Akoachere J, Kihla T, Omam L, Massalla TN (2013) Assessment of the relationship between bacteriological quality of dug-wells, hygiene behaviour and well characteristics in two cholera endemic localities in Douala, Cameroon. BMC Public Health 13:692. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-692>
- APHA: American Public Health Association (2012) Standard methods for the examination of water and waste water. APHA 22th Edition, Washington DC
- Ateba NS, Ngaba GP, Ebongue CO, Ngassongo RO, Tsiagadigui JG, Behiya G, Nguépi E, Adio D (2013) Susceptibility to colistin of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated in Douala Laquintinie Hospital, Cameroon. Afr J Pathol Microbiol 2:4. <https://doi.org/10.4303/ajpm/23564>
- BUCREP: Bureau Central des Recensements et des Etudes de Populations (2010) Livre « Rapport de Présentation »
- CA-SFM: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2013) Recommandations. SFM edit, Créteil (<http://www.sfm-microbiologie.org/>). Accessed 23 Jun 2014
- Czekalski N, Berthold T, Caucci S, Egli A, Bürgmann H (2012) Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into lake Geneva, Switzerland. Front Microbiol 3:106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00106>
- Drouart F, Vouillamoz JM (2012) Eau-Assainissement-Hygiène pour les populations à risque. Hermann édit., Paris
- Eisenberg ES, Mandel J, Kaback HR, Miller MH (1984) Quantitative association between electrical potential across the cytoplasmic membrane and early gentamicin uptake and killing in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 157:863–867
- Framow HS, Greenman JB, Leviton IM, Dougherty TJ, Miller MH (1991) Tobramycin uptake in *Escherichia coli* is driven by either electrical potential or ATP. J Bacteriol 173:2800–2808
- Fuentefria DB, Ferreira AE, Corção G (2011) Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: are they genetically related? J Environ Manag 92:250–255. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.09.001>
- Gaze WH, Zhang L, Abdousslam NA, Hawkey PM, Calvo-Bado L, Royle J, Brown H, Davis S, Kay P, Boxall ABA (2011) Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and integron-associated genes in the environment. ISME J 5:1253–1261. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.15>
- Ghotaslou R, Behnaz S (2013) Effects of oxygen on in vitro biofilm formation and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. Pharm Sci 19:96–99
- Goto S, Enomoto S (1970) Nalidixic acid cetrinide agar. A new selective plating medium for the selective isolation of

- Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Immunol 4:65–70. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1970.tb00492.x>
- Hancock REW, Speert DP (2000) Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. Drug Resist Updat 3:247–255. <https://doi.org/10.1054/drup.2000.0152>
- Hieng IO (2003) Etude des paramètres géotechniques des sols du Cameroun. Edition CLE, Yaoundé, Cameroun
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (2000) Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edn. Lippincott Williams and Wilkins Publications, Philadelphia
- 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 de Juin 2013
- 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. J Bacteriol 194: 813–826. <https://doi.org/10.1128/JB.05230-11>
- Kamga GH, Michel T, Zacharie S, Jean Marie NN, Calixte DM, Dieudonné A (2015) Caractérisation phénotypique des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans la ville de Yaoundé (Cameroun). Afr J Pathol Microbiol 4: 4. <https://doi.org/10.4303/ajpm/235908>
- Macdonald IA, Kuehn MJ (2013) Stress-induced outer membrane vesicle production by *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol 195:2971–2981. <https://doi.org/10.1128/JB.02267-12>
- Macfarlane EL, Kwasnicka A, Hancock RE (2000) Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP-phoQ in resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides. Microbiology 146:2543–2554. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-10-2543>
- Mathee K, Narasimhan G, Valdes C, Qiu X, Mawish JM, Koehrsen M et al (2008) Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. Proc Natl Acad Sci USA 105:3100–3105. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711982105>
- McMahon M, Ann S, Jiru X, John E, Moore Ian S, David A (2007) Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. Appl Environ Microbiol 73:211–217. <https://doi.org/10.1128/AEM.00578-06>
- Mérens A, Delacour H, Plésiat P, Cavallo J-D, Jeannot K (2011) *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. Revue Francophone des Laboratoires 2011(435):49–62. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71102-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71102-9)
- Mérens A, Jault P, Barges L, Cavallo JD (2013) Infections à *Pseudomonas aeruginosa*. EMC Maladies infectieuses 10 : 1-18. [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(12\)56974-7](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(12)56974-7)
- Moriarty TF, Elborn JS, Tunney MM (2007) Effect of pH on the antimicrobial susceptibility of planktonic and biofilm-grown clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Br J Biomed Sci 64:101–104. <https://doi.org/10.1080/09674845.2007.11732766>
- Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, Bauerle E, Olakanmi O, Beer K (2011) Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. Science 334:982–986. <https://doi.org/10.1126/science.1211037>
- Nola M, Njine T, Sikati VF, Djuikom E (2001) Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* in groundwaters in equatorial region of Cameroon and relationships with some chemical parameters of water. Rev Sci Eau 14:35–53
- Nougang ME, Nola M, Djuikom E, Noah EO, Mougang LM, Ateba BH (2011) Abundance of faecal coliforms and pathogenic *E. coli* strains in groundwater in the coastal zone of Cameroon (Central Africa), and relationships with some abiotic parameters. Cur Res J Biol Sc 3:622–632
- Poole K (2012a) Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 67:2069–2089. <https://doi.org/10.1093/jac/dks196>
- Poole K (2012b) Stress responses as determinants of antimicrobial resistance in gram negative bacteria. Trends Microbiol 20:227–234. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.02.004>
- Rodier J (2009) Analyse de l'eau. Dunod (ed.), 9th edit, Paris
- Satoru S, Phan TP (2012) Distribution of quinolones, sulfonamides, tetracyclines in aquatic environment and antibiotic resistance in Indochina. Front Microbiol 3:67–70. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00067>
- Schreiber K, Krieger R, Benkert B, Eschbach M, Arai H, Schobert M, Jahn D (2007) The anaerobic regulatory network required for *Pseudomonas aeruginosa* nitrate respiration. J Bacteriol 189:4310–4314. <https://doi.org/10.1128/JB.00240-07>
- Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warriner P, Hickey MJ et al (2000) Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. Nature 406:959–964. <https://doi.org/10.1038/35023079>
- Wood LF, Ohman DE (2009) Use of cell wall stress to characterize -22(AlgT/U) activation by regulated proteolysis and its regulon in *Pseudomonas aeruginosa*. Mol Microbiol 72:183–201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06635.x>
- Xiong YQ, Caillon J, Henri D, Pi Gilles, Denis B (1996) Influence of pH on adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides and their postantibiotic effects. Antimicrob Agents Chemother 40:35–39

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.