

# ÉTUDE SUR LA MICROBIOLOGIE DU BENTHOS

(2<sup>e</sup> mémoire)

par J. BRISOU, Y. DE RAUTLIN DE LA ROY et H. JARRIAULT  
(avec la collaboration technique de B. et M. MOULINS)

Depuis de très nombreuses années, les hygiénistes, spécialement les médecins, se sont attachés à orienter l'étude des populations microbiennes des animaux marins, vers la recherche des espèces pathogènes pour l'homme.

Citer les principaux travaux effectués sur ce sujet déborderait le cadre de ce travail.

Il faut noter cependant que les recherches ont porté principalement sur les bactéries des coquillages, mollusques et, en général, animaux marins comestibles de la zone littorale. Préoccupation normale et logique puisque, d'une part, ces animaux ont de plus fortes chances d'être souillés que ceux du large et que, d'autre part, leur consommation abondante fait courir davantage de risques d'épidémies.

Les germes des animaux benthiques sont donc moins bien connus que ceux des animaux marins de la zone littorale. Nous nous sommes attachés uniquement dans ce travail à l'étude des animaux benthiques.

Par animaux benthiques, nous entendons ici les animaux vivant au fond de la mer, sur le talus continental, à une profondeur comprise entre 100 et 500 mètres, profondeur atteinte de façon courante par les chalutiers actuels. Ces conditions imposent une distance de plusieurs milles nautiques des côtes, au moins 10, soit 18 kilomètres, le plus souvent davantage, 160 km dans le golfe de Gascogne.

Parmi ces animaux, nous avons rencontré des espèces sessiles (éponges, huîtres, actinies), des espèces à autonomie limitée (échinides tels qu'oursins, étoiles de mer, holothuries, mollusques, gastéropodes, pagures), enfin des espèces nettement mobiles mais, soit abyssales ou semi-abyssales, vivant habituellement sur le fond (poissons).

Cette dernière notion est évidemment sujette à controverses car les mœurs des poissons ne sont pas toutes encore parfaitement connues.

Tous ces animaux ont en commun la caractéristique de vivre en profondeur et à distance des côtes. Ils pourraient, à priori et dans certaine mesure, variable selon leur degré d'organisation et leur mode de nutrition, constituer un reflet de la population bactérienne présente en ces lieux. Certains mollusques filtrent en effet des quantités considérables d'eau (1 à 1,5 litre par gramme et par heure), retiennent des particules en suspension et, par là, jouent le rôle de « pièges » pour les bactéries. D'autres espèces arénicoles ou géophages présentent un intérêt analogue, alors que la flore intestinale d'espèces plus organisées serait différente de la population bactérienne environnante.

L'étude des bactéries vivant chez la classique association « pagure-actinie » présente un intérêt théorique manifeste.

Beaucoup d'animaux simples ne se nourrissent que par filtration, et ne se comportent pas de façon passive. Ils font un choix. Certains germes sont détruits alors que d'autres sont

concentrés dans différents organes, notamment l'hépatopancréas et l'intestin chez les mollusques bivalves par exemple.

Il demeure donc une certaine proportion de bactéries vivantes que l'on peut qualifier de « flore commensale » déjà étudiée par nous-mêmes et TYSSET et collaborateurs en Méditerranée, ainsi que par CHAKROUN.

Tous les êtres vivants possèdent une flore commensale avec laquelle s'établit un équilibre. Les représentants du benthos ne peuvent échapper à cette loi très générale, même s'il s'agit d'animaux peu organisés.

Il est aussi évident que cette population commensale n'est pas d'une composition rigoureusement fixe et qu'elle varie, dans certaines limites physiologiques, selon la nature de l'apport alimentaire introduisant des bactéries diverses.

Nous ne pouvons dans ces quelques pages exposer les détails techniques. Seuls seront résumés les résultats de l'enquête.

#### Résultats.

Nous avons effectué 185 prélèvements sur 128 animaux. L'examen à l'état frais des cultures en milieu liquide a permis de reconnaître la présence de *Spirilles* aussi bien chez les Spongiaires, que chez les stellerides, holothurides, gastéropodes, lamellibranches surtout *Ostrea cochlear*, et les pagures, mais pas chez les poissons. Ils représentaient jusqu'à 10 % de la population bactérienne totale. Ces spirilles pouvaient atteindre 20  $\mu$  de long et posséder jusqu'à 12 ou 15 tours de spires, la diminution habituelle était de 8 à 10  $\mu$  avec 5 à 7 tours de spires. Il a été possible de les retrouver dans les subcultures mais non de les obtenir à l'état de souches pures. L'examen à l'état frais a aussi montré la prédominance des espèces mobiles et la très grande fréquence des vibrions qui, présents de façon quasi constante, représentaient souvent la fraction la plus importante de la population bactérienne.

Après coloration de Gram, on constatait le très fort pourcentage de bacilles Gram négatif, en moyenne 70 à 80 %.

On fut aussi frappé par la fréquence des sphéropastes et des levures.

Dans un certain nombre de circonstances, on constatait l'absence totale de culture en milieu à l'eau douce alors que la croissance était très abondante en milieu à l'eau de mer. Dans ces cas, la population microbienne totale était uniquement halophile stricte, avec absence complète d'espèces de type halophile facultatives ou dulçaquicoles. Dans l'ensemble, cette population composée exclusivement d'halophiles stricts est de 12,5 % avec des écarts importants selon les groupes zoologiques : spongiaires 11 %, actiniaires 36 %, holothuries 5 %, stellerides 5 %, crustacés 4 %, gastéropodes 27 %, lamellibranches 6 %, poissons 26 %. Ceci confirme la prédominance des espèces halophiles.

Dans un seul cas on a rencontré une population strictement dulçaquicole. Il s'agissait de cultures effectuées à partir de l'hépatopancréas d'un gastéropode, *Ranella gigantea*, provenant de 380 mètres de profondeur dans la zone du cap de Peñas, à 20 kilomètres de la côte la plus proche. Il est rare de rencontrer dans de telles conditions une population microbienne à 100 % dulçaquicole.

L'activité physiologique des populations microbiennes offre un grand intérêt écologique. Il faut cependant tenir compte d'une possible inhibition temporaire ou permanente d'une ou plusieurs activités enzymatiques; elle peut être due, soit à des phénomènes de compétition entre des espèces microbiennes différentes, soit à la présence de glucose ou d'autres substances, même à l'état de traces. Or le fragement d'animal qui sert d'inoculum peut apporter en même temps le glycogène et les enzymes qui le dégradent en glucose.

Sur le plan de l'activité enzymatique, une observation principale se dégage de cette enquête : en milieu à l'eau de mer, l'activité enzymatique est beaucoup plus importante qu'en milieu à l'eau douce. L'écart le plus significatif est observé pour la production d'indole, constatée respectivement dans 70 et 13 % des cas, sur les 185 groupes effectués. Nous retrouvons là un

phénomène connu, celui de l'influence du Cl Na sur le pouvoir indologène. MAILLOUX et TYSSET, entre autres, l'ont mis en évidence sur des souches pures. Nous le retrouvons avec des populations microbiennes complexes.

Le pouvoir protéolytique est très important, 93 %, en milieu marin contre 56 % en milieu doux. Le taux de 100 % en milieu marin est observé chez les holothuries et les décapodes.

La production d'H<sub>2</sub>S est encore plus marquée : 97 et 60 %, le taux de 100 % est atteint, toujours en milieu à l'eau de mer, chez les actiniaires, les holothuries, les lamellibranches et les poissons.

Le pouvoir glucolytique est aussi très élevé : 92 et 80 % avec 100 % chez les lamellibranches en milieu marin.

La réduction des nitrates et la lipidolyse se situent à un niveau élevé, respectivement de 83 et 81 % en milieu à l'eau de mer, et de 55 et 48 % en milieu à l'eau douce.

On conçoit aisément l'intérêt pratique d'une telle population microbienne; elle interviendra très activement dans les phénomènes de putréfaction des animaux marins, y compris ceux destinés à la consommation, phénomène déjà mis en évidence chez les poissons par GIANNELLI.

L'uréolyse est fréquente : 75 et 58 %, alors que la chitinolyse est moins répandue : 36 et 5 %. Dans ce dernier cas, on constate une différence d'activité considérable selon le milieu.

Enfin, la dégradation du lactose est un phénomène moins fréquent dans ces populations bactériennes cultivées en milieu marin.

Nous avons tenté de mettre en évidence des relations entre, d'une part, l'activité physiologique de la population microbienne, en particulier l'uréolyse et la chitinolyse et, d'autre part, des groupes zoologiques, des zones de prélèvements ou les profondeurs. Nous n'avons rencontré aucun rapport manifeste.

Dans le même but, on a comparé l'activité physiologique des populations microbiennes provenant d'animaux vivant en association donc dans les mêmes conditions écologiques mais appartenant à des espèces zoologiques différentes. C'est le cas de la classique association « actinie-pagure » souvent complétée par la présence d'un ver ou d'une éponge, ou des deux. On constate alors que les populations microbiennes diffèrent selon les animaux d'une même association. On a pu observer, sur une actinie, une population composée à 100 % d'halophiles stricts alors que chez le pagure associé, l'inoculum fournissait une culture abondante en milieu à l'eau douce, indice d'une population différente comprenant au moins des halophiles facultatifs.

Cette étude bactériologique des associations animales montre donc bien que *chaque espèce animale* possède une population microbienne différente de celle de son associée. Ceci confirme la notion de population bactérienne commensale propre à chaque espèce animale, sujette cependant à des variations individuelles.

Cette population commensale pourra bien sûr subir des fluctuations imposées par la population ambiante, en particulier dans les eaux polluées, mais elle n'en sera pas le reflet intégral. Même les animaux les moins organisés, même ceux de type nutritionnel microphagique, opéreront, dans certaines limites, un triage et posséderont une flore commensale particulière qui se rapproche de la flore dite intestinale riche en protéolytiques, uréolytiques, glucidolytiques, réductrices, indologènes, sulfhydrogènes.

## Conclusion.

Cette étude porte sur 185 groupes physiologiques effectués à partir de 128 animaux marins appartenant à 7 embranchements zoologiques, différents et prélevés entre 130 et 450 mètres de profondeur dans des zones de pêche des chalutiers rochelais, c'est-à-dire dans la partie médiane du golfe de Gascogne et au large des côtes septentrionales et occidentales de l'Espagne.

Cette considération des groupes physiologiques a permis d'explorer, en milieu à l'eau de mer et en milieu à l'eau douce, le comportement biochimique de la population microbienne globale des prélèvements vis-à-vis de la gélatine, des nitrates, du glucose, du lactose, de l'urée, de la chitine, des lipides ainsi que leur pouvoir sulfhydrogène et indologène.

On constate une prédominance massive des bacilles Gram négatif, la fréquence des vibrions et celle des spirilles, la rareté relative des microcoques et des bacilles Gram positif. Malgré un milieu assez peu favorable à leur développement, les levures sont souvent présentes.

Les espèces halophiles prédominent. Dans 12,5 % des cas, on rencontre même une population exclusivement composée de bactéries halophiles strictes, mais il faut considérer que, même au large et à ces profondeurs, on rencontre des espèces dulçaquicoles strictes.

L'activité biochimique de ces populations microbiennes est toujours plus marquée en milieu à l'eau de mer qu'en milieu à l'eau douce. Les écarts les plus significatifs sont constatés dans le pouvoir indologène (70 contre 13 %) et la chitinolyse (36 contre 5 %).

En milieu à l'eau de mer, ces populations sont douées d'activités protéolytique, putréfiante, glucoalytique, réductrice de nitrates, lipidolytique et uréolytiques intenses. Elles sont en effet comprises entre 93 et 75 %. En milieu à l'eau douce, les réactions positives sont encore élevées puisque comprises entre 80 et 48 % mais en moyenne inférieures de la moitié à celles observées en milieu marin. Cette notion présente un intérêt pratique indiscutable puisque les analyses de routine prescrites pour la surveillance des fruits de mer ne comporte que des épreuves en milieux très sélectifs et à l'eau douce. Les populations commensales passent donc le plus souvent inaperçues.

Des comparaisons effectuées entre les différents animaux d'une même zone de prélèvement, et en particulier de l'étude des associations animales du type « actinie-pagure », il ne ressort pas de relation évidente entre les populations microbiennes et une zone géographique donnée. Il semble que la population microbienne du milieu ambiant n'exerce qu'une influence limitée sensible seulement dans les zones très fortement polluées. Les espèces animales paraissent opérer une sélection microbienne pour leur propre compte. Il en est même qui concentrent certaines espèces bactériennes et possèdent alors une flore commensale plus riche en certains groupes zoologiques.

*Laboratoire de Microbiologie. École nationale de Médecine de Poitiers.  
C.R.E.O. La Rochelle.  
(avec la participation du chalutier « Pelago »).*

---