

Recherche d'une corrélation entre les enterovirus et les bactériophages dans les coquillages contaminés

par

F. DENIS, J. BRISOU et E. BLANCHOUIN - DELANNOY

Laboratoire de Bactériologie - Virologie - C.H.U. La Milettrie - Poitiers (France)

La présence de virus pathogènes dans les coquillages a été signalée par plusieurs auteurs dont les résultats ont été regroupés [4], mais cette recherche reste l'exclusivité de laboratoires très spécialisés; c'est pour cette raison que certains auteurs tels METCALF, VAUGHN & STILES [7] ont à la suite de BERG [1] émis l'idée de rechercher s'il existait des « coliphages à indicateur de virus », cette recherche de bactériophages ayant pour elle l'avantage de la simplicité et de l'économie des techniques de laboratoire.

Mais pour qu'à la détection des virus puisse se substituer celle plus aisée d'un bactériophage il faut que :

- le phage soit aussi résistant dans l'environnement que les virus humains.
- le phage soit toujours présent quand le virus l'est.
- La présence de phage soit excédentaire par rapport au virus.

Le premier de ces impératifs édictés par BERG [1] a déjà été étudié par d'autres auteurs [7]; nous nous limiterons dans ce travail à l'étude des deux derniers.

Matériel et méthode

— Dix mille sept cents huîtres de parcs ont été analysées sous forme de lots de 12 animaux entre juillet 1972 et 1974.

— Les virus et les bactériophages ont été recherchés dans un culot de centrifugation obtenu après deux heures à 80.000 - 100.000 g et traitements préalables décrits précédemment (4), la technique s'inspirant de celle de METCALF et STILES [6].

Sur ce culot les virus sont recherchés par inoculation à des cultures cellulaires de rein de singe de primoexplantation et à des portées de souriceaux nouveau-nés; les bactériophages sont recherchés grâce à six souches détectrices : *coli B*, *coli 125*, *Ps. aeruginosa*, *Shiga ycd*, *Salmonella para B* des lysotypes Dundee et Taunton selon une technique inspirée de GUELIN [5] & BUTTIAUX [2].

Résultats

Contamination par les virus pathogènes pour l'homme

Au cours de ce travail, la recherche de virus par inoculation sur système cellulaire a été pratiquée sur 890 lots, l'inoculation aux souriceaux nouveau-nés réalisée seulement sur 125 d'entre eux. Ces essais d'isolements ont donné lieu à la mise en évidence :

- 8 fois de mélanges de 2 virus soit : 16 virus.
- 13 fois un virus isolé soit : 13 virus.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 23, 6, pp. 129-131 (1976).

Ceci représente 29 virus isolés à partir de 21 lots. Le pourcentage de lots contaminés est donc de 21 sur 890, soit 2,3 %. Les virus (4) (5) se répartissent entre : Poliovirus : 1, Coxsackie B : 5; Coxsackie A : 6 dont 3 Coxsackie A₁₆; Echovirus : 8, Enterovirus non typé : 1; virus en cours d'identification : 8, ils semblent appartenir au groupe des Poxvirus.

Ces virus étant présents dans 2,3 % des lots.

Contamination par les bactériophages

La contamination par les bactériophages a été suivie mensuellement pendant les deux années, des variations ont été observées, la période optimale de contamination se situant en octobre et novembre.

Globalement les coliphages étaient présents dans 41 % des lots (Coli B) et 42 % des lots (Coli 125), les phages anti-*Pseudomonas aeruginosa* dans 23 %, ceux actifs sur la Shiga dans 30 %, des chiffres voisins étant obtenus avec les phages anti-*Salmonella para B* (30 % pour le lysotype Dundee et 31 % pour le lysotype Taunton). Le pourcentage de lots contaminés par au moins un coliphage ou un phage anti-*Salmonella para B* est encore plus élevé.

Recherche d'une corrélation entre contamination par des virus pathogènes pour l'homme et par les bactériophages

a. Recherche d'un type phagique révélateur d'une contamination par un virus pathogène pour l'homme.

Dans cette perspective, on a cherché quel était le pourcentage de lots contaminés par les six types phagiques étudiés, selon que les coquillages hébergeaient ou non les virus humains.

	Coli B	Coli 125	Pseudomonas	Shiga	Salmonella D	Salmonella T
Sans virus	48	40	25	36	33	34
Avec virus	63	39	18	44	30	45

Pourcentage de lots contaminés par les phages.

On constate que les différences ne sont pas très nettes entre les deux catégories de coquillages. Quand un virus pathogène pour l'homme contamine un lot de fruits de mer, on ne retrouve pas constamment un type phagique donné qui pourrait servir de bactériophage test. On peut donc dire que le 2^e critère énoncé par BERG n'est pas respecté puisqu'on ne peut écarter ou retenir des lots de coquillages destinés à la consommation en fonction de la présence ou de l'absence d'un bactériophage.

b. Recherche d'une corrélation entre la présence de plusieurs types phagiques et celle de virus.

Nombre de phages :		0	1	2	3	4	5	6
Lots	Sans virus	22	22	20	17	11	5	1
	Avec virus	9	30	20	12	14	12	3

Pourcentage des lots contenant différents phages simultanément.

Un lot ne contenant pas de virus pathogène héberge en moyenne 1,9 types phagiques, dans le cas contraire la moyenne est de 2,4 pour les 6 phages considérés. Les coquillages hébergeant des virus dangereux pour l'homme contiennent donc plus de types phagiques différents que les autres sans qu'un bactériophage particulier puisse être considéré comme un « virus test ».

De plus la présence simultanée dans les lots d'au moins trois phages différents voire même de 4,5 ou même 6 ne signifie nullement qu'il y a contamination par un virus humain.

Malgré la variété des phages recherchés on ne peut en considérant un phage particulier ou plusieurs phages simultanément conclure indirectement à une présence virale dangereuse pour l'homme.

Conclusion

Lors de cette étude, 890 douzaines d'huîtres provenant de parcs ont été examinées; le travail a porté sur une période de deux ans. On a recherché régulièrement des bactériophages avec 6 souches détectrices et des virus pathogènes pour l'homme par inoculation à des systèmes cellulaires (rein de singe) et à des souriceaux nouveau-nés.

Il apparaît que la contamination par des bactériophages est élevée, les variations mensuelles ne sont pas univoques selon le type phagique recherché. La présence de coliphages a été relevée dans 56 % du total des lots et des phages anti-*Salmonella para B* dans 48 %.

Des virus susceptibles d'être pathogènes pour l'homme ont été mis en évidence dans 2,3 % des lots, il s'agit essentiellement d'entérovirus. Ces chiffres sont nettement plus faibles que ceux rapportés par METCALF & STILES [6] [8], puisqu'ils avaient un pourcentage de contamination allant de 18,1 à 40,5 selon les lieux de prélèvements. Mais rappelons-le, les huîtres que nous avons examinées, provenant de parcs ostréicoles, étaient théoriquement consommables.

Enfin malgré le nombre élevé de souches révélatrices de phages utilisé dans ce travail il ne nous a pas été possible de trouver un bactériophage ou un « coliphage » témoin d'une contamination virale, répondant aux critères énumérés par BERG [1]. On a seulement constaté que les lots contenant des virus susceptibles d'être pathogènes pour l'homme contiennent en moyenne plus de types phagiques que ceux qui sont indemnes.

Dans l'état actuel des recherches, il n'est pas possible d'établir une relation constante entre l'absence de phages et celle d'entérovirus. Ces conclusions rejoignent un peu ce qui a été dit des relations entre coliformes et *Salmonella*; une attitude prudente consiste à considérer cependant les bactériophages comme des témoins supplémentaires de contamination sans vouloir leur accorder une valeur trop absolue.

Références bibliographiques

- [1] BERG (G.). — Discussion of the fate of viruses in a marine environment. *Adv. Wat. Pollut. Res.*, 1969, 4 (3), 833 - 834.
- [2] BUTTIAUX (R.). — L'analyse bactériologique des eaux de consommation. Flammarion Ed., 1951, 209 p.
- [3] DENIS (F.). — Coxsackie viruses group A in oysters and mussels. *Lancet*, 1973, 1262.
- [4] DENIS (F.). — Les virus pathogènes pour l'homme dans les eaux de mer et les mollusques. *Survie. Recherche. Bilan. Méd. Mal. Inf.*, 1974, 4, 6 bis, 325 - 334.
- [5] GUELIN (A.). — Étude quantitative des bactériophages de la mer. *Ann. Inst. Past.*, 1948, 74, 104 - 112.
- [6] METCALF (T.G.) & STILES (W.C.). — Enteroviruses within an estuarine environment. *Am. J. Epid.*, 1968, 88, 379 - 391.
- [7] METCALF (T.G.), VAUGHN (J.M.), & STILES (W.C.). — The occurrence of human viruses and coliphage in marine waters and shellfish. Conférence FAO. Rome FIRMP/70/E.-24, 1972.
- [8] METCALF (T.G.), SLANETZ (L.W.) & BARTLEY (C.H.). — Enteric pathogens in estuary waters and shellfish in Microbial Safety of fishery products. Chichester C.O. Graham H.D., Acad. Presse Ed., New-York London 1973, p. 215 - 234.

