

Influence de la régulation osmotique pour la survie et l'adaptation d'*Escherichia coli* dans le milieu marin

Violette A. BREITMAYER et Michel J. GAUTHIER

I.N.S.E.R.M. Unité 303, 1 Avenue Jean Lorrain, 06300 Nice (France)

La survie des bactéries pathogènes dans les milieux marins ou dans les estuaires a été l'objet de nombreuses études depuis plus d'un siècle (revue dans GAUTHIER et PIETRI, 1989). Cette survie dépend de nombreux facteurs physiques, chimiques et biologiques plus ou moins spécifiques de l'environnement marin. Si l'on excepte la lumière, dont l'effet bactéricide a été démontré, il semble que le maintien des bactéries entériques dans ces conditions dépend surtout de la présence de matières nutritives organiques ou minérales, qui peuvent éviter à ces germes organophiles un jeûne trop sévère. Cette carence nutritionnelle a été considérée comme le facteur majeur d'évolution vers la dormance, ou passage à l'état viable mais non cultivable (GRIMES et COLWELL, 1986).

Au cours des deux dernières années, nous avons apporté diverses données expérimentales montrant que les bactéries entériques sont capables de résister à l'activité antagoniste de l'eau de mer, voire même de s'adapter au milieu marin, lorsqu'elles peuvent réguler leur pression de turgescence et restaurer leur équilibre osmotique au moment de leur arrivée en mer (MUNRO et al., 1987, 1989).

L'influence des mécanismes d'osmorégulation sur la survie d'*Escherichia coli* (espèce considérée comme modèle) dans l'eau et les sédiments marins, a été analysée grâce à l'utilisation de nombreuses souches mutantes déficientes en chacun des systèmes de contrôle osmotique connus : accumulation d'ions potassium, accumulation ou synthèse (à partir de précurseurs intracellulaires comme la choline) de proline ou de bétaïnes (essentiellement glycine bétaïne, GB), synthèse intracellulaire de divers osmolytes compatibles avec le métabolisme comme le glutamate ou le tréhalose (revue dans CZONKA, 1989). Il a été conclu de cette étude préliminaire que *tous les processus qui permettent aux cellules d'équilibrer leur pression osmotique avant leur contact avec l'eau de mer aident à l'établissement d'un état de protection très efficace, sous lequel elles persistent dans un état viable, cultivable et potentiellement virulent pendant de longues périodes (T90 à l'état normal, 2 à 3 jours, à l'état protégé : 2 à 4 mois)*. Sous cet état, les bactéries entériques conservent leur structure normale et maintiennent un certain nombre de propriétés qui disparaissent rapidement dans les cellules non protégées (MUNRO et al., 1987).

Deux des processus impliqués dans l'osmorégulation pourraient avoir une plus grande importance du point de vue écologique : la **synthèse intracellulaire d'osmolytes compatibles, et le transport de bétaïnes à partir du milieu**. Ce sont en effet deux voies par lesquelles les bactéries entériques transportées par les eaux usées pourraient restaurer leur équilibre osmotique dans les divers compartiments du milieu marin : eau, sédiments, surfaces d'algues, ou tractus digestif d'animaux. Tous deux nécessitent théoriquement la croissance, même très restreinte, des cellules leur assurant le maintien d'un niveau métabolique relativement important.

La protection conférée par l'accumulation de bétaïnes (qu'elles soient d'origine exo ou endogène) a fait l'objet de tests plus approfondis, visant à définir dans quelle mesure elle peut se développer dans les conditions marines, soit dans les eaux oligotrophes, soit dans les sédiments contenant des quantités variables de matières organiques. On sait en effet que ces amines quaternaires (I) sont présentes dans les sédiments marins et sont produites par de nombreux micro-organismes, végétaux et animaux pour leur adaptation aux milieux salés (KING, 1988), (II) agissent comme osmoprotecteurs pour une grande variété de micro-organismes, (III) sont accumulées par les bactéries entériques même lorsqu'elles sont présentes à l'état de traces ($\mu\text{g}/\text{kg}$) et (IV) restaurent immédiatement le métabolisme des cellules en état de choc osmotique.

Dans les eaux marines oligotrophes, nous avons montré que ni l'expression de gènes codant pour les systèmes de transport de la GB (*proU*, *proP*), ni le fonctionnement de ces systèmes ne permettent le transport et l'accumulation de cet osmolyte. Par contre, dans certains sédiments marins à haute concentration en carbone organique (C.O.T.) et en ions phosphates, ces gènes sont exprimés et les deux systèmes *ProP* et *ProU* fonctionnent, conférant aux cellules l'état de protection mis en évidence auparavant. Nous avons en outre montré qu'en présence de GB, les cellules d'*E. coli* peuvent échanger plus facilement entre elles certains plasmides de résistance aux antibiotiques (plasmide RP4, résistance à kanamycine, ampicilline, tétracycline).

En conséquence, il semble que certaines eaux eutrophisées et surtout certains sédiments marins puissent être considérés comme des zones "à risque", car ils pourraient jouer le rôle de réservoirs pour les bactéries entériques (indicateurs et pathogènes) et conférer à ces germes une résistance accrue au milieu marin. Ces formes résistantes, relativement adaptées aux conditions marines, seraient en particulier beaucoup plus aptes à survivre dans la colonne d'eau, après leur remise en suspension par les courants, les vagues ou les marées. En outre, ces zones seraient beaucoup plus favorables à la dissémination "in situ" des gènes plasmidiques hébergés par les bactéries d'origine intestinale (humaine ou animale).

REFERENCES

- CZONKA, L.N., 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 53 : 121-147.
- GAUTHIER, M.J. et PIETRI, C., 1989. Devenir des bactéries et des virus entériques en mer. In : M. Bianchi, D. Marty, J.-C. Bertrand, P. Caumette et M.J. Gauthier (eds). *Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques*. Masson, Paris, pp. 319-342.
- GRIMES, D.J. and COLWELL, R.R., 1986. Viability and virulence of *Escherichia coli* suspended by membrane chamber in semitropical ocean water. *FEMS Microbiol. Lett.* 34 : 161-165.
- KING, G.M., 1988. Distribution and metabolism of quaternary amines in marine sediments. In : T.H. Blackburn and J. Sorensen (eds.). *Nitrogen cycling in marine environments*. John Wiley & Sons Ltd, N.Y., pp. 143-173.
- MUNRO, P.M., GAUTHIER, M.J. and LAUMOND, F., 1987. A previous growth of enteric bacteria on a salted medium increases their survival in seawater. *Lett. Appl. Microbiol.* 4 : 121-124.
- MUNRO, P.M., GAUTHIER, M.J., BREITMAYER, V.A. and BONGIOVANNI, J., 1989. Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 2017-2024.

Influence de certains paramètres physico-chimiques sur la fixation du Cadmium par *Vibrio parahaemolyticus*

René L. CLEMENT, Gilles N. FLATAU, Michel J. GAUTHIER et Férédyoun MAHDYOUN

Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité 303 "Mer et Santé", 1 Avenue Jean Lorrain, 06300 Nice (France)

L'industrialisation génère une augmentation de la concentration des métaux lourds dans l'environnement, et parmi ceux-ci, le cadmium, élément sans fonction biologique connue. Dans le milieu marin, la fixation de ce métal par les bactéries dépend entre autres, de facteurs physico-chimiques tels que le pH, la salinité, la température, le potentiel d'oxydoréduction. La plupart des auteurs ne prennent en compte que la variation d'un paramètre, bien que la teneur en oxygène dissous décroît considérablement dans la colonne d'eau (Khalid, 1980).

Le but de cette étude était donc de comparer l'influence de ces facteurs environnementaux dans un milieu non nutritif simulatif l'eau de mer, en aérobiose ou en anaérobiose, par *Vibrio parahaemolyticus*, bactérie aérobie facultative, ubiquiste des milieux estuariens et côtiers marins.

Quel qu'ait été le facteur considéré, la fixation du métal était une fonction monotone croissante du temps. Elle dépendait du pH, de la teneur en NaCl, de la température, et dans certains cas, de l'oxygénation du milieu.

A pH 8,5, les cellules de *Vibrio parahaemolyticus* immobilisaient une quantité appréciable de métal pendant les 2 premières heures de contact. Excepté ce pH alcalin, l'acidification du milieu a significativement favorisé la fixation du métal en 4 heures aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose. Le pH jouerait donc un rôle important lors de la fixation du métal sur ou dans les cellules bactériennes, en modifiant l'état ionique du métal, et/ou en changeant la réponse biologique au niveau cellulaire, par perturbation structurale ou fonctionnelle des enveloppes (Gauthier et Flatau, 1980 ; Campbell et Stokes, 1985).

L'influence de la concentration en NaCl sur la fixation du cadmium par la souche test pourrait provenir des variations subséquentes de la teneur en chlorures du milieu, donc des formes chlorées du métal (Gauthier et Flatau, 1980 ; Flatau et coll., 1986). La fixation du métal en aérobiose et en anaérobiose était une fonction décroissante de la teneur en NaCl. La cinétique de fixation était beaucoup plus rapide en milieu à faible salinité (5g NaCl/l) dans les 2 conditions d'oxygénation, ce qui, outre la modification de la forme du métal pouvait, être la conséquence, (i) d'une augmentation de la perméabilité cellulaire (Bertrand et Larsen, 1988), (ii) d'une accélération de la fixation du métal consécutive à une activation du métabolisme et en particulier de l'activité respiratoire (Clément, 1985 ; Gauthier et coll., 1986), (iii) d'une augmentation du nombre de sites de fixation du métal sur les enveloppes.

La quantité de cadmium fixé par cette bactérie mésophile était par ailleurs une fonction croissante de la température dans les deux conditions d'oxygénation. Cette augmentation pouvait donc être liée au métabolisme énergétique (aucune croissance à 4°C).

Les variations physico-chimiques du milieu revêtent, donc à l'évidence, une grande importance sur un plan écotoxicologique, car elles modifient très largement la forme ionique des métaux et influencent directement l'état structural et fonctionnel des cellules bactériennes réceptrices. C'est particulièrement le cas pour le milieu marin, où la concentration saline influe d'une manière déterminante sur la spéciation du métal et le métabolisme des micro-organismes.

Références

- BERTRAND J.C., LARSEN H., 1988. La "bactérie marine" : mythe ou réalité. In : *Les micro-organismes dans les écosystèmes océaniques*. Ed Bianchi M., Marty D., Bertrand J.C., Caumette P. et Gauthier M., Masson et Cie, Paris.
- CAMPBELL P.G.C., STOKES P.M., 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Can. Fish Aquat. Sci.*, 42 : 2034-2049.
- CLEMENT R.L., 1985. Etude écophysologique de la résistance et de l'accumulation du cadmium par les bactéries hétérotrophes marines à Gram négatif. *Thèse Ecole Pratique des Hautes Etudes*. Marseille, France p. 59.
- FLATAU G.N., CLEMENT R.L., GAUTHIER M.J., 1986. Influence of salinity and organic matter on cadmium accumulation by a marine pseudomonad. *Microbios Letters*, 32 : 141-1.
- GAUTHIER M.J., FLATAU G.N., 1980. Etude de l'accumulation du cadmium par une bactérie marine en fonction des conditions de cultures. *Chemosphere*, 9 : 713-718.
- GAUTHIER M.J., CLEMENT R.L., FLATAU G.N., AMIARD J.C., 1986. Accumulation du cadmium par les bactéries marines à Gram négatif selon leur sensibilité au métal et leur type respiratoire. *Oceanologica Acta*, 9 : 333-337.
- KHALID R.A., 1980. Chemical mobility of cadmium in sediment-water systems. In: *Ecological Cycling* 257-304. Ed. J.O. Nriagu N.Y. U.S.A.