

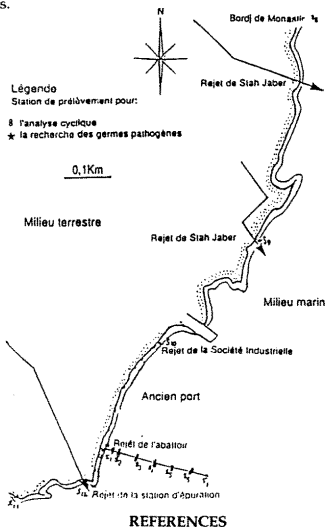
Nous nous sommes intéressés ici à la recherche et au dénombrement des coliformes totaux CT, des coliformes fécaux CF et des germes totaux aérobies, mésophiles GAM et cultivables sur gélose nutritive, au cours d'une année dans les stations réparties sur la figure 1. Cette analyse cyclique a été faite simultanément pour les coliformes et les germes pathogènes dans l'objectif de dégager les relations éventuelles entre ces germes. Nous avons pu donc d'abord délimiter la région la plus polluée et la saison où cette pollution est la plus prononcée. Dans une seconde étape et en nous basant sur les résultats obtenus, nous avons essayé de calculer le coefficient de corrélation entre les différents paramètres déterminés. L'analyse des variations de ces coefficients a été faite en fonction des saisons et des stations.

Les résultats du dénombrement montrent que les valeurs maximales sont obtenues dans les stations les plus proches du point de rejet (S1 et S2) et les valeurs minimales sont obtenues dans les stations les plus éloignées de ce point (S6 et S7). Les GAM présentent un maximum de densité en été, alors que les CT et CF présentent le taux le plus élevé à la fin de la période hivernale et au début du printemps. Les tracés de la courbe de Bonde montrent que seules les stations 1 et 2 sont constamment polluées, les stations 3 et 4 sont faiblement polluées, les stations 5, 6 et 7 ne sont pas polluées et peuvent servir de stations témoins. Pour évaluer la relation entre les GAM dans toutes les stations durant toute l'année, nous avons déterminé le coefficient de corrélation (R) entre toutes les valeurs obtenues. La même étude a été faite avec les CT et CF. Nous avons déterminé aussi les coefficients de corrélation entre les GAM et les CT d'une part, entre les GAM et les CF d'autre part, et enfin entre les CT et les CF. L'influence de la distance au point de rejet sur les trois groupes de germes étudiés (GAM, CT, CF) dépend des groupes eux-mêmes: des effets différents s'exercent sur les groupes hétérogènes particulièrement les GAM (R faible ou négatif) et, en contre partie, des effets comparables ont été obtenus sur les CF (R voisin ou supérieur à 0,9) d'où p est supérieur à 95 %. L'effet des saisons sur les relations entre les GAM, les CT et les CF dans les trois groupes des stations: stations polluées (S1, S2), peu polluées (S3 et S4) et non polluées (témoins) S5, S6 et S7 montre que les coefficients R obtenus dépendent largement des saisons et des groupes considérés. Cela confirme une fois de plus que les facteurs de stress du milieu marin n'agissent pas de façon identique sur les bactéries. Dans les stations polluées, on remarque une corrélation positive entre les trois groupes de germes dans les stations polluées (S1, S2) particulièrement en hiver et en automne. Cette corrélation est plus faible au printemps et en été dans ces mêmes stations. Dans les stations non polluées: la corrélation entre les GAM et CT est bonne durant le printemps, l'été et l'automne mais elle est nettement plus faible en hiver.

La corrélation entre les GAM et les CF est importante en hiver et en automne, moyenne, en été et change de signe au printemps. Entre les CT et CF la corrélation dépend aussi des saisons. La recherche des germes pathogènes a été faite durant deux années, les prélèvements d'eau ont été faits régulièrement, chaque semaine, 460 prélèvements ont été réalisés dans les stations représentées sur la figure 1. Aucune *Shigella*, aucun *Vibrio cholerae* n'ont été trouvés. Trois souches de *Salmonella paratyphi* B ont été détectées. *Pseudomonas aeruginosa* germe pathogène opportuniste a été le plus fréquemment isolé particulièrement au printemps.

Nous avons effectué des prélèvements réguliers de crabes, de patelles et d'oursins dans les stations S8, S9, S10, S11 et S12. Le nombre total d'animaux analysés est de: 537 crabes, 275 patelles et 119 oursins. Les souches de salmonelles trouvées dans l'eau ont été retrouvées dans les crabes. Le nombre de germes pathogènes trouvés dans l'eau et chez les invertébrés de la région Sud-Est de Monastir s'avère relativement faible par rapport au taux de contamination mesuré par le dénombrement des CF. De ce fait il n'est pas possible d'établir une corrélation entre ces germes pathogènes et les indicateurs de pollution. MUNIZ *et al.*, (1989), travaillant sur les eaux douces tropicales ont noté que "le meilleur indicateur des pathogènes c'est qu'il n'y ait pas d'indicateur du tout". LECLERC *et al.* (1983) ont montré au cours des analyses d'eaux de consommation que le nombre des coliformes fécaux déterminé par incubation à 44,5°C ne tient pas compte des CF qui ne se développent pas bien à cette température. Ils ont donc suggéré qu'il serait préférable de réaliser cette incubation à 41°C. Il en résulte alors que le nombre des CF que nous avons déterminé est faible par rapport à ce qui existe en eau de mer.

La rareté des germes pathogènes détectés au cours de ce travail peut s'expliquer alors (i) par l'absence de relation entre ces germes pathogènes et les indicateurs de pollution comme mentionné dans le cas des eaux douces tropicales (MUNIZ *et al.*, 1989), ce qui n'est pas encore démontré dans le cas des eaux marines (ii) par l'inadéquation des techniques de recherche et d'identification utilisées au cours de ce travail, bien qu'étant parmi les plus classiques et les plus standardisées. L'évolution récente de la microbiologie marine à la suite de la mise en évidence des formes atypiques et non cultivables des germes entériques met en question la plupart des résultats d'analyses microbiologiques des eaux qui ne s'intéressent qu'aux formes typiques et cultivables.



REFERENCES

LECLERC H., GAVINI F., IZARD D. et TRINEL P.A., 1983.- Les coliformes, mythes et réalité. 597-618. In H. Leclerc ed. Les bacilles Gram négatifs d'intérêt médical et en santé publique: taxonomie, identification, application. Editions INSERM 114.
GAUTHIER M.J., 1981.- Les pollutions marines. Ed. Ecol. Polytechnique Fédérale de Lausanne. Institut de génie de l'environnement. p. 97.

Les salmonelles, fréquentes en milieu hospitalier et chez les porteurs sains, sont souvent véhiculées et rejetées dans la mer avec les eaux usées. Dans ce milieu nous avons pu montrer que *S. paratyphi* B subit des modifications très profondes et donne des formes masquées difficiles à retrouver par les techniques classiques de recherche de *Salmonella* (BAKHROUF *et al.* 1990). *Escherichia coli* évolue aussi en eau de mer vers des formes non cultivables sur les milieux de culture utilisés pour sa recherche (GAUTHIER *et al.*, 1990). Nous rapportons ici les résultats des travaux faits sur une souche de *S. wien* qui était isolée à l'Institut Pasteur de Tunis chez un porteur sain.

Le suivi de la survie de cette souche en flacon d'eau de mer a permis de voir que cette salmonelle peut survivre plus d'une année en eau de mer. Elle subit des modifications plus ou moins profondes selon la durée d'incubation en eau de mer. Sur des galeries Api 20E, l'arginine dihydrolase positive chez la souche parentale devient négative chez les colonies transparentes obtenues sur gélose nutritive (GN) après 20 jours de mise en contact avec l'eau de mer. Chez toutes les colonies obtenues après une année de contact avec l'eau de mer, la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase, la citrate déshydrogénase ne sont plus actives. Après le premier repiquage sur gélose nutritive préparée à l'eau de mer (GNEM) ces cellules sont incapables d'assimiler les dix sucres étudiés sur des galeries Api 20E alors qu'après des repiquages successifs en bouillons et sur milieux solides elles deviennent actives et capables d'hydrolyser la gélatine. La dégradation du glucose par ces bactéries stressées ne se fait plus par la voie d'acides mixtes mais par la voie butanediole. Nous avons repris ce travail avec une autre souche de *S. wien* que nous avons incubée en eau de mer pendant quatre mois. Les mêmes modifications des caractères cultureux et morphologiques ont été observées. La capacité d'assimilation des sucres par les cellules incubées en eau de mer particulièrement l'arabinose et le glucose est modifiée: certaines de ces bactéries n'utilisent plus la voie d'acides mixtes au cours de la dégradation du glucose mais utilisent la voie butanediole.

S. wien non incubée préalablement en eau de mer donne des formes filtrables (ff) à travers les membranes à pores de 0,45 µm après 20 jours d'incubation en eau de mer. Le taux des (ff) reste faible par rapport au nombre total des bactéries. Ces formes semblent mieux survivre sur des géloses préparées à l'eau de mer. Les mêmes modifications des caractères biochimiques sont observées que dans le cas de cellules normales.

Variation du taux des formes filtrables de *S. wien* en fonction de la durée d'incubation en eau de mer et du milieu de récupération

Milieu de culture	GN		GNNAcI		GNEM	
	N. total	N. (ff)	N. total	N. (ff)	N. total	N. (ff)
Nombre de cellules/ml						
Durée d'incubation						
1 jour	10 ⁵	0	2 10 ⁵	0	10 ⁵	0
20 jours	2 10 ⁵	10	10 ⁵	10	4 10 ⁵	2 10 ³
22 jours	15 10 ⁴	10	45000	150	8 10 ⁵	1500
24 jours	2 10 ⁵	170	2 10 ⁴	15	14 10 ⁴	10 ³
7 mois	10 ³	2	10 ³	7	17000	150

N:nombre ; N. (ff):nombre des cellules filtrables<0,45µm

L'étude de la résistance aux antibiotiques de *S. wien* avant incubation en eau de mer et après quatre mois, sept mois et une année d'incubation dans cette eau a permis de voir que l'antibiogramme de cette souche reste le même et peut servir alors de marqueur épidémiologique.

Sur milieu solide (gélose nutritive), *S. wien* peut tolérer avant mise en contact avec l'eau de mer 35 g de NaCl/l, après une semaine d'incubation en eau de mer elle peut tolérer 45 g de NaCl/l.

De ces travaux, il s'avère que cette salmonelle peut bien s'adapter à l'eau de mer et peut présenter un danger pour les baigneurs et les consommateurs de fruits de mer dans les zones polluées par les eaux usées. Les modifications qu'elle subit touchent à des caractères impliqués dans l'identification du genre *Salmonella* ce qui lui permet d'échapper au dénombrement et aux recherches faits au cours de la surveillance sanitaire des eaux.

REFERENCES

BAKHROUF A., JEDDI M., BOUDABBOUS A. and GAUTHIER M., 1989.- Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* cells to a filtrable stage in sea water. *FEMS Microbiology Letters*.
BAKHROUF-BEN FEDHILA A., JEDDI M., BOUDABBOUS A. and GAUTHIER M., 1990.- Production of filtrable minicells by *Salmonella paratyphi* B in seawater. *Microbios Letters* 43 123 - 129.