

ETUDE DE LA SURVIE DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* EN EAU DE MER NATURELLE

Imen Boukef^{1*}, Monia Elbour¹, Patrice Got², Marc Trousselier², Abdellatif Boudabbous³

¹ Laboratoire de Microbiologie, Institut National des Sciences et Technologie de la Mer, Salaambo, Tunisie

² Laboratoire d'Hydrobiologie Marine, Université Montpellier II, France

³ Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences, Tunis, Tunisie

Résumé

La présente étude est effectuée en vue de suivre l'état de survie de *Salmonella typhimurium* cultivée en eau de mer naturelle. Ainsi un modèle bactérien expérimental *S. typhimurium* a été utilisé pour suivre la survie de la bactérie dans des conditions différentes (i) survie en eau de mer à l'obscurité pendant 32 jours à température ambiante (22°C), (ii) survie en eau de mer en condition de rayonnement solaire pendant 4 heures.

Le suivi a concerné la cultivabilité (dénombrement des cellules cultivables), la détermination des cellules totales par marquage au Syber Green et l'intégrité membranaire par le test Live/Dead.

Les résultats obtenus montrent que pour les cellules maintenues en eau de mer à l'obscurité nous avons une décroissance de cellules cultivables (3 ULog) avec une altération de l'intégrité membranaire au bout du 18 jours de culture.

Cependant, pour les cellules ayant subi l'effet du rayonnement solaire, nous avons obtenu une décroissance de cultivabilité plus importante (4ULog) au bout de 4 heures avec une altération de l'intégrité membranaire décelée précocement.

Mots clés : Survie, *Salmonella typhimurium*, VNC.

Introduction

Le devenir des entérobactéries dans l'écosystème marin a suscité plusieurs études (1, 2, 3). Cependant, seul un nombre restreint d'études a été mené en Tunisie (4, 5). La présente étude est établie en vue de comparer la survie de *S. typhimurium* C52 et *S. typhimurium* isolées de l'environnement, en condition d'eau de mer naturelle filtrée exposée ou non au rayonnement solaire.

Matériel et méthodes

les souches étudiées : *S. typhimurium* C52, fournie par le laboratoire d'hydrobiologie marine de l'université de Montpellier II et *S. typhimurium* (k) isolée à partir des eaux usées d'une stations d'épuration et identifiée à l'institut pasteur de Tunis.

Conditions expérimentales : les microcosmes de cultures sont des précultures de 24 heures, lavées et maintenues dans des flacons d'eau de mer filtrée sur 0.2 µm (pH : 4.18, O₂ : 7.56, salinité : 37.8 ‰).

Les microcosmes sont suivis en condition (i) eau de mer naturelle filtrée à l'obscurité, (ii) en eau de mer filtrée exposée au rayonnement solaire et l'intensité lumineuse et la température sont relevées.

Les paramètres suivis sont : la cultivabilité (dénombrement en CFU), le taux des cellules totales détecté en épifluorescence après marquage au Sybr Green et le pourcentage des cellules intègres déterminé par le test Live/Dead.

Résultats

Tests de survie en eau de mer naturelle filtrée à l'obscurité et à une température ambiante :

Le dénombrement des cellules cultivables pour les souches *S. typhimurium* C52 et K présente une diminution similaire pour les deux souches. Cependant, la souche *S. typhimurium* C52 ne présente une diminution b du nombre de cellules cultivables qu'après 4 jours de latence (Fig.1a).

En comparaison de résultats obtenus antérieurement, nous constatons que *S. typhimurium* conserve sa cultivabilité plus longtemps (6, 7), probablement due à la présence de matière organique dissoute dans l'eau de mer naturelle filtrée (2).

Le taux des cellules intègres pour les deux souches C52 et K présente une diminution similaire, néanmoins, le nombre des cellules totales reste constant durant toute la durée de l'expérience (Fig.1b).

Tests de survie en eau de mer sous l'effet du rayonnement solaire :

Le dénombrement des cellules cultivables de *S. typhimurium* C52 et K présente une diminution de même ordre après 4 heures d'exposition.

Le taux des cellules intègres pour *S. typhimurium* C52 et K décroît sous l'effet du stress. Cependant, cette diminution est plus importante pour *S. typhimurium* K (souche sauvage); ceci serait dû probablement à une forme de résistance plus prononcée chez cette souche isolée de l'environnement (1),(8),(9). Le nombre de cellules totales est maintenu constant durant l'expérience.

Références

- Gauthier M.J. *et al.*, 1993. Nouvelles perspectives sur l'adaptation des entérobactéries dans le milieu marin. *Mar. Life*, 3, n°1-2: 1-18.
- Dupray E. et Derrien A., 1995. Influence du passage de *Salmonella* spp et *E. coli* en eaux usées sur leur survie ultérieure en eaux de mer. *Wat. Res.*, 29, 4: p1005-1011.

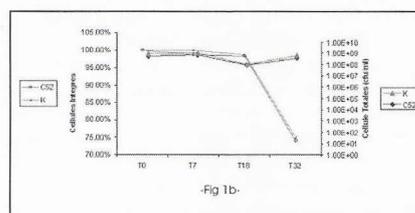
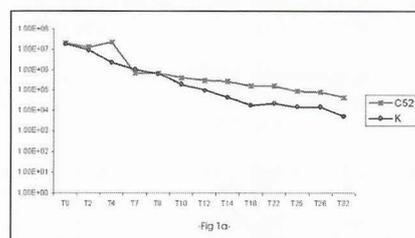


Fig. 1 : suivi de la survie en eau de mer à l'obscurité de *Salmonella typhimurium* C52 et K (32 jours)
(a) suivi de la variation des cellules cultivables (cfu/ml).
(b) suivi de la variation des cellules intègres (%) par rapport aux cellules totales.

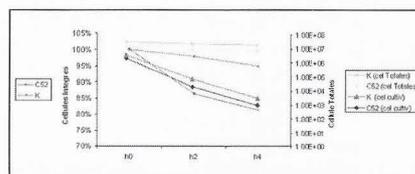


Fig. 2 : suivi de la survie de *Salmonella typhimurium* (C52 et K) en eau de mer avec exposition au rayonnement solaire. Variation en nombre des cellules cultivables (cfu/ml) et en nombre des cellules intègres (%) par rapport aux cellules totales (cfu/ml).

Letters, 179: 265-273.

7 - Joux F. *et al.*, 1997. Succession of cellular states in a *Salmonella typhimurium* population during starvation in artificial seawater microcosms. *FEMS Microbiology Letters*, 22: 65-76.

8 - Mezrioui. N. *et al.*, 1995. A microcosm study of the survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in brackish water. *Wat. Res.*, 29, 2: 459-465.

9 - Baleux B. *et al.*, 1998. Survie et maintien de la virulence de *Salmonella typhimurium* VNC exposée simultanément à trois facteurs stressants expérimentaux. *Oceanologica Acta*, 21, 6: 939-950.

10 - Sinton L.W. *et al.*, 2002. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilisation pond effluent in fresh and saline waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 3: 1122-1131.

3 - Trousselier M. *et al.*, 1998. Responses of enteric bacteria to environmental stresses in seawater. *Oceanologica Acta*, 21,6: 965-981.

4 - Bakrouf A., 1992. Bactériologie des eaux critiques et études des variations somatiques des bactéries pathogènes en milieu marin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi B*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio alginolyticus*). Thèse de doctorat en sciences biologiques Faculté des sciences de Pharmacie Monastir et l'unité INSERM (Santé Nice).

5 - Zaafran S., 2002. Effet de la lumière solaire sur la survie de *Salmonella typhimurium* en milieu marin. Thèse de doctorat en sciences biologiques Faculté des sciences de Pharmacie Monastir et l'unité INSERM (Santé Nice).

6 - Caro A. *et al.*, 1999. Physiological changes of *Salmonella typhimurium* cells under osmotic and starvation conditions by image analysis. *FEMS Microbiology*