

E610-LEG-C

37537

**UNIVERSITE DE RENNES I  
UER MEDICALES ET PHARMACEUTIQUES**

**ANNEE 1988 - 1989**

THESE POUR OBTENIR  
LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES I  
mention : Sciences Biologiques et Santé

par :  
FRANCOISE LE GUYADER

COLONISATION BACTERIENNE ET IMPLANTATION DE E. COLI  
DANS LE SEDIMENT D'ORIGINE LITTORALE

IFREMER Bibliothèque de BREST



OEL10944

Présentée et soutenue publiquement le : 1er Juin 1989

JURY	Président :	M. CORMIER	Professeur
	Membres :	M. BOURLIOUX	Professeur
		M. SCHWARTZBROD	Professeur
		M. MARTIN	Professeur
		Mme POMMEPUY	Ingénieur

**UNIVERSITE DE RENNES I  
UER MEDICALES ET PHARMACEUTIQUES**

**ANNEE 1988 - 1989**

THESE POUR OBTENIR  
LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES I  
mention : Sciences Biologiques et Santé

par :  
FRANCOISE LE GUYADER

COLONISATION BACTERIENNE ET IMPLANTATION DE E. COLI  
DANS LE SEDIMENT D'ORIGINE LITTORALE

Présentée et soutenue publiquement le : 1<sup>er</sup> Juin 1989

JURY	Président :	M. CORMIER	Professeur
	Membres :	M. BOURLIOUX	Professeur
		M. SCHWARTZBROD	Professeur
		M. MARTIN	Professeur
		Mme POMMEPUY	Ingénieur

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Microbiologie Pharmaceutique de RENNES sous la direction de Mr le Professeur M. CORMIER que je remercie tout particulièrement pour m'avoir confié ce travail, guidé mes recherches et pour l'honneur qu'il me fait en présidant cette thèse.

Je remercie Mme M. POMMEPUY, ingénieur au département DERO EL du centre de Brest de l'IFREMER ainsi que toute l'équipe de ce département pour m'avoir permis de participer à leur étude sur la rivière de Morlaix, pour leur accueil et pour tout ce qu'ils m'ont fait découvrir.

Je remercie Mr le Professeur P. BOURLIOUX et Mr le Professeur L. SCHARTZBROD pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail et pour m'avoir fait bénéficier de leurs conseils.

Je remercie Mr le Professeur G. MARTIN et Mme M. POMMEPUY de me faire l'honneur de participer à ce jury.

Je remercie Mr le Professeur A. SEGUI pour avoir mis à ma disposition un logiciel de traitement de texte et m'avoir guidée dans son utilisation, ainsi que Mme B. BARDOT pour l'aide apportée à la réalisation technique de ce travail.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans Mr. J. MINET, Mr Y. LE GUYADER et Mr M. BUTIN pour l'aide qu'ils m'ont apportée lors des nombreux prélèvements de sédiment.

Je tiens à exprimer ma gratitude à toute l'équipe du Laboratoire de Microbiologie Pharmaceutique pour leurs conseils et l'aide qu'ils m'ont apportée lors de la réalisation de ce travail.

# SOMMAIRE

## A INTRODUCTION

## B LES BACTERIES, L'EAU DE MER ET LE SEDIMENT

<b>I L'EAU DE MER: UN MILIEU HOSTILE</b>	<b>3</b>
1) <i>Les formes de malnutrition</i>	4
2) <i>Fréquence des bactéries adhérentes</i>	4
<b>II L'ADHESION: UN MECANISME COMPLEXE</b>	<b>5</b>
1) <i>Rôle de la surface d'adhésion</i>	5
2) <i>Mécanisme de l'adhésion bactérienne chez les bactéries à gram négatif</i>	6
a. <i>la phase réversible</i>	7
b. <i>la phase irréversible</i>	8
<b>III LE SEDIMENT: UN MOYEN DE SURVIE</b>	<b>11</b>
1) <i>Relation surface/contamination</i>	11
2) <i>Interface eau/sédiment</i>	12
3) <i>Contamination de l'eau surnageante</i>	13
4) <i>Les estuaires</i>	13
5) <i>Les entérobactéries dans le sédiment</i>	14
6) <i>survie de E.coli</i>	16
<b>IV OBJECTIFS DU TRAVAIL</b>	<b>18</b>

## C MATERIEL ET METHODES

### I PRELEVEMENTS 20

- 1) *Etude sur le rivière de Morlaix* 20
- 2) *Etude sur les échanges eau/sédiment* 21
- 3) *Etude sur l'implantation d'une souche d'E.coli* 22

### II ECHANTILLONNAGE ET NUMERATIONS BACTERIENNES 24

- 1) *Echantillonnage* 24
- 2) *Filtrations différentielles* 24
- 3) *Milieux de cultures utilisés* 25
- 4) *Numération et identification* 27
- 5) *Numération par l'orange d'acridine* 27

## D MISES AU POINT DE PROTOCOLES

### I ADHESION D'UNE SOUCHE D'E.COLI SUR SEDIMENTS ARTIFICIELS 29

- 1) *Matériel particulière* 29
- 2) *Source de carbone et d'énergie* 30
- 3) *Mesure du taux de sucre et de protéine* 30
  - a. *mesure du taux de sucre* 30
  - b. *mesure du taux de protéine* 30
- 4) *Expérience A* 31
- 5) *Expérience B* 32
- 6) *Expérience C* 33
- 7) *Etablissement du protocole* 35

<b>II ADHESION SUR LAMES DE VERRE</b>	<b>36</b>
1) <i>Choix de la concentration de la suspension bactérienne</i>	37
2) <i>Influence du lavage de la lame</i>	37
3) <i>Variation du temps de contact</i>	38
4) <i>Mode de préparation des lames</i>	39
5) <i>Influence de l'état physiologique des bactéries</i>	40
6) <i>Influence du temps d'immersion</i>	41
7) <i>Influence de l'agitation</i>	42
8) <i>Etablissement du protocole</i>	42

## **E ETUDE SUR LA RIVIERE DE MORLAIX**

<b>I PRESENTATION DU SITE D'ETUDE</b>	<b>44</b>
<b>II CAPACITE DE CROISSANCE DES ESPECES BACTERIENNES RENCONTREES DANS L'ESTUAIRE SELON LES MILIEUX DE CULTURE ET LES TEMPERATURES D'INCUBATION UTILISEES</b>	<b>46</b>
1) <i>Gélose Trypticase</i>	46
2) <i>Milieu de Drigalski</i>	46
<b>III ETUDE DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE DU SEDIMENT</b>	<b>47</b>
1) <i>Situation en mortes eaux</i>	47
2) <i>Situation en vives eaux</i>	49
3) <i>Triplicats</i>	49
4) <i>variations saisonnières</i>	50

<b>IV DISCUSSION</b>	<b>50</b>
<b>F ETUDE IN VITRO SUR LES ECHANGES EAU/SEDIMENT</b>	
<b>I CONTAMINATION DE L'EAU DE MER PAR LE SEDIMENT</b>	<b>53</b>
1) <i>Influence de la structure du sédiment</i>	53
2) <i>Etude de la flore</i>	54
a. Données quantitatives	
b. données qualitatives	55
3) <i>Mode de contamination de l'eau</i>	56
<b>II CONTAMINATION DU SEDIMENT PAR L'EAU DE MER</b>	<b>57</b>
1) <i>Contamination du sédiment</i>	57
2) <i>Etude de la flore</i>	58
3) <i>suivi des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski</i>	59
<b>III EVOLUTION DES COLIFORMES FECAUX ET ENTEROCOQUES</b>	<b>60</b>
<b>IV DISCUSSION</b>	<b>61</b>

# G ETUDE DE L'IMPLANTATION D'UNE SOUCHE D'E.COLI

<b>I ROLE DU MATERIEL PARTICULAIRE</b>	<b>64</b>
1) <i>Rappel du protocole utilisé</i>	64
2) <i><u>E.coli</u> depuis 8 jours dans l'eau de mer</i>	65
a. Dosage de la caséine	
b. Résultats	
3) <i><u>E.coli</u> depuis 15 jours dans l'eau de mer</i>	66
a. Dosage de la caséine	
b. Résultats	
4) <i>Synthèse</i>	67
<b>II MODE D'ADHESION</b>	<b>68</b>
1) <i>Rappel du protocole utilisé</i>	68
2) <i>Essais de décrochement par les réactifs chimiques</i>	69
3) <i>Essais de décrochement par les enzymes</i>	71
4) <i>Effet de la cellulase en fonction du temps</i>	72
5) <i>Discussion</i>	74
<b>III INFLUENCE DE LA COMPETITION DE FLORES SUR L'IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'<u>E.COLI</u></b>	<b>75</b>
<b>A) CONTAMINATION PAR L'EAU</b>	<b>76</b>
1) <i>Implantation en milieu stérile</i>	76
2) <i>Implantation en présence de la flore de l'eau</i>	76
3) <i>Implantation en présence de la flore du sédiment</i>	76
4) <i>Implantation en milieu naturel</i>	77

<i>B) CONTAMINATION PAR LE SEDIMENT</i>	77
1) <i>Implantation en présence de la flore du sédiment</i>	78
2) <i>Implantation en milieu naturel</i>	78
<i>C) INFLUENCE DE LA STERILISATION DU SEDIMENT</i>	78
<i>D) DISCUSSION</i>	79

## **H CONCLUSION**

## **BIBLIOGRAPHIE**

## **ANNEXES**

<b>FORMULES DES MILIEUX DE CULTURES UTILISES</b>	105
<b>TABLE DES RESULTATS</b>	107

## **LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX.**

**Tableau 1:** Pourcentage des bactéries adhérentes aux particules (d'après IRIBERI et al., 1987).

**Fig.1:** Schéma montrant la production de polysaccharides dans l'adhésion d'une bactérie à une surface inerte (d'après COSTERTON et al., 1978).

**Fig2:** Diagramme des relations entre le nombre de bactéries et les propriétés du sédiment (d'après DALE, 1974).

**Fig.3:** Représentation schématique de la contamination du littoral par les entérobactéries (d'après GRIMES et al., 1986).

**Tableau 2:** Dates et caractéristiques des différentes campagnes effectuées sur le site de Morlaix.

**Fig.4:** Bac de prélèvement.

**Fig.5:** Traitement des échantillons.

**Fig.6:** Tests préliminaires, expérience A.

**Fig.7:** Tests préliminaires, expérience B.

**Tableau 3:** Mesure des concentrations de glucose- expérience B.

**Fig.8:** Tests préliminaires, expérience C.

**Fig.9:** Localisation des prélèvements dans la baie de Morlaix.

**Fig.10:** Evolution des populations bactériennes dans le sédiment et dans l'eau le long de l'estuaire en situation de mortes eaux.

**Fig.11:** Teneurs en carbone et azote organique le long de l'estuaire.

**Fig.12:** Evolution des populations bactériennes dans le sédiment et dans l'eau le long de l'estuaire en situation de vives eaux.

**Fig.13:** Variations saisonnières au niveau du sédiment de l'estuaire.

**Fig.14:** Influence de la structure du sédiment.

**Fig.15:** Etude de la flore.

**Tableau 4:** Espèces identifiées lors de la contamination de l'eau par le sédiment.

**Fig.16:** Mode de contamination de l'eau.

**Fig.17:** Contamination du sédiment par l'eau de mer.

**Tableau5:** Espèces identifiées lors de la contamination du sédiment par l'eau de mer.

**Fig.18:** Suivi des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski.

**Fig.19a:** Numération des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski incubé à 42°C.

**Fig.19b:** Numération sur milieu de Slanetz.

**Fig.20:** Adhésion de la souche d'*E.coli* depuis 8 jours dans l'eau de mer.

**Fig.21:** Adhésion de la souche d'*E.coli* depuis 15 jours dans l'eau de mer.

**Tableau 6a:** Essais de décrochement par les réactifs chimiques de la souche adhérente depuis 2h.

**Tableau 6b:** Essais de décrochement par les réactifs chimiques de la souche adhérente depuis 24h.

**Tableau 7a:** Essais de décrochement par les enzymes de la souche adhérente depuis 2h

**Tableau 7b:** Essais de décrochement par les enzymes de la souche adhérente depuis 24h

**Tableau 8a:** Effet de la cellulase en fonction du temps.

**Tableau 8b:** Effet de la cellulase en fonction du temps en milieu tamponné.

**Fig.22:** Adhésion de la souche d'*E.coli* sur les lames de verre.

**Fig.23:** Implantation de la souche d'*E.coli*, contamination par l'eau.

- a. Implantation en milieu stérile.
- b. Implantation en présence de la flore de l'eau.
- c. Implantation en présence de la flore du sédiment.
- d. Implantation en milieu naturel.

**Fig.24:** Implantation de la souche d'*E.coli*, contamination par le sédiment.

- a. Implantation en présence de la flore du sédiment.
- b. Implantation en milieu naturel.

**Fig.25:** Influence de la stérilisation du sédiment.

## A INTRODUCTION

## A INTRODUCTION

Le milieu marin littoral est depuis longtemps soumis à de nombreux rejets. Divers facteurs rendent les 1700km de côtes de la Bretagne particulièrement sensibles à ce problème:

- géographiques: la côte bretonne est très découpée et comporte de nombreuses baies, estuaires, abers... qui sont le point de convergence de réseaux hydrologiques importants.

- démographiques: la région du littoral abrite une forte densité de population.

- économiques: la Bretagne est une région d'élevage ce qui provoque une forte contamination des rivières par les bactéries d'origine animale. Les techniques d'épandage largement utilisées contribuent également à la contamination par les eaux de ruissellement.

Mais c'est aussi une région touristique: la fréquentation massive des plages et des ports en été augmentent les rejets.

La contamination subie par le milieu marin peut être directe par les rivières et les eaux de ruissellement ou indirecte par les rejets de stations d'épuration. Ces apports comportent des flores d'origines industrielle, domestique et animale mais aussi celles des boues de la station. Le traitement des effluents en station d'épuration ne permet pas d'éliminer tous les germes: une quantité non négligeable d'entérobactéries d'origine humaine et animale se retrouve dans le milieu extérieur. Ces rejets constituent un risque sanitaire important, d'autant plus que les activités d'aquaculture et de loisirs sont en pleine expansion.

La survie des entérobactéries dans l'environnement marin est étudiée depuis très longtemps. Les résultats rapportés dans la littérature sont souvent contradictoires: pour certains auteurs le pouvoir épurateur du milieu marin est important tandis que d'autres décrivent des temps de survie de plusieurs jours et même de plusieurs semaines.

Les normes de contrôle sanitaire des eaux côtières impliquent la culture des germes présents dans l'environnement. Les nouvelles techniques de numération directe par épifluorescence ou immunofluorescence permettent de mettre en évidence que de nombreuses bactéries du milieu extérieur sont viables mais non cultivables.

Il est par ailleurs de plus en plus évident que les bactéries survivent et se multiplient dans les sédiments marins.

Les entérobactéries sont rejetées soit adsorbées aux particules soit libres, auquel cas ces dernières peuvent s'adsorber plus ou moins rapidement au matériel particulaire présent dans l'eau de mer. La sédimentation entraîne leur accumulation à la surface du sédiment. Les bactéries de contamination dans cet environnement riche en nutriments sont capables de survivre très longtemps.

Le sédiment marin joue donc le rôle de piège et de réservoir pour les bactéries. Les animaux vivants directement au contact du sédiment peuvent accumuler ces bactéries. Cette accumulation peut, ensuite, éventuellement être amplifiée par la chaîne alimentaire conduisant à l'homme. La remise en suspension du sédiment par divers facteurs tels que les vagues, les courants de marée, les poissons, les opérations de dragage la navigation, les baignades peut entraîner la contamination de l'eau surnageante.

## **B LES BACTERIES, L'EAU DE MER ET LE SEDIMENT**

## B LES BACTERIES, L'EAU DE MER ET LE SEDIMENT

Déjà en 1943, ZOBELL montre que toute surface solide, en adsorbant la matière organique ou par le simple fait de l'adhérence, permet à des bactéries de survivre en milieu hostile. Depuis, de nombreux auteurs ont confirmé et développé par leurs études *in vitro* et *in vivo* cette hypothèse.

### I L'EAU DE MER: UN MILIEU HOSTILE

Les dénombrements bactériens effectués dans les eaux côtières ou d'estuaires montrent une décroissance des bactéries dans le temps et de la côte vers le large. Jusqu'à ce jour, ces analyses reposaient sur la culture des micro-organismes présents dans l'eau. Or il apparaît de plus en plus probable que de nombreuses bactéries persistent sous forme viable mais non cultivable (KOGURE et al., 1979, COLWELL et al., 1985, ROSZAK et COLWELL, 1987, KOGURE et al., 1987). En milieu marin les bactéries sont soumises à de nombreux stress tels que la pression osmotique, le manque de substrat, la température, la lumière, les variations saisonnières, s'ajoutent à ceci les compétitions de flore (SIEBURTH, 1967, BELLAIR, 1977, ERKENBRECHER, 1981, CAMBRIDGE, 1981, LESSARD et SIEBURTH, 1983). Divers auteurs font l'inventaire des facteurs provoquant la disparition des micro-organismes non marins dans l'eau de mer (MITCHELL, 1968, MOREL, 1972, JONES et RHODES-ROBERTS, 1981).

La survie des bactéries peut être influencée par le phytoplancton: la matière organique excrétée par celui-ci exerce un rôle régulateur sur les concentrations bactériennes (BIANCHI, 1973, MARTIN et LELONG, 1981). De plus le phytoplancton est, lui-même, très souvent colonisé par les bactéries (FLOODGATE, 1972, FERGUSON et PALUMBO, 1979, KOGURE et al., 1982, FUKAMI et al., 1983, WRIGHT et COFFIN, 1983, ALBRIGHT et al., 1985, ALBRIGHT et al., 1986, LAANBROEK et VERPLANKE, 1986).

### *1) les formes de malnutrition*

La pauvreté de l'eau de mer en éléments nutritifs provoque chez les bactéries l'apparition de formes de malnutrition. Cet état s'accompagne de changements physiologiques réversibles: modification de la paroi, diminution du volume bactérien et augmentation des capacités d'adhésion (DAWSON et al., 1981, MORITA, 1982, KJELLEBERG et HERMANSSON, 1984).

L'adhésion au matériel particulaire permet à ces bactéries en état de carence alimentaire d'entrer dans un état de "dormance" caractérisé par une activité métabolique très faible mais supérieure cependant à celle des bactéries libres (WRIGHT, 1978, KJELLEBERG, 1982, HUMPHREY et al., 1983, FUKAMI et al., 1983, GORDON et al., 1983, FLETCHER, 1986, IRIBERRI et al., 1987, KJELLEBERG et al., 1985, KJELLEBERG et al., 1987).

HANSON et WIEBE (1977), en région côtière ont montré que plus de 70% de l'activité bactérienne observée est associée à des particules de taille supérieure à 180 $\mu$ m. La majorité des bactéries métaboliquement actives sont donc adsorbées sur des particules.

### *2) fréquence des bactéries adhérentes*

Dans un milieu pauvre en éléments nutritifs, les bactéries adhérentes au matériel particulaire sont plus nombreuses que les bactéries libres ce qui laisse présager que l'adhésion aux particules est un moyen de survie pour les bactéries. Cette observation est confirmée par de nombreux auteurs:

- dans l'eau de mer : JANNASH et PRITCHARD (1972), WEIBE et POMMEROY (1972), GOULDER (1977), NOVISTKY et MORITA (1978), HARVEY et YOUNG (1980), GOULDER et al. (1981), BENT et GOULDER (1981)

- dans l'eau douce : GEESEY et al (1977), GEESEY et COSTERTON (1979), JONES et RHODES-ROBERTS (1981).

L'adhésion des bactéries procure une protection contre l'attaque de divers micro-organismes (bactériophages...) ou produits toxiques: par exemple contre l'action du chlore (BRACEWELL et al., 1980, HERSON et al., 1987, BERMAN et al., 1988). Cette protection est accentuée par l'accumulation de polysaccharide à la surface des bactéries.

LOCALISATION	% BACTERIES ADHERENTES	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE
<u>Océan</u>		
Pacifique	20-50	JANNASH et JONES 1959
Pacifique	33-50	SOROKIN 1971
Atlantique nord	<1	HOBBIE et al. 1972
Atlantique nord (côtes)	très peu	WIEBE et POMMEROY 1972
Atlantique nord (côtes)	15	FERGUSON et RUBLEE 1976
Long Island N.Y.	très peu	FERGUSON et PALUMBO 1979
côtes de Bilbao	<1-22>	IRIBERRI et al. 1987
<u>Estuaire et marais salant</u>		
Rivière Newport	1-7	PALUMBO et al. 1984
surface d'estuaire	très peu	BOWDEN 1977
Humber (Angleterre)	56-94 (été)	GOULDER 1977
Humber (Angleterre)	94-98 (hiver)	GOULDER 1977
Kiels fjord (RFA)	2.9-8.1	ZIMMERMAN 1977
marais salant (côte ouest)	18-75 (été)	WILSON et STEVENSON 1980
marais salant (côte ouest)	13-31 (hiver)	WILSON et STEVENSON 1980
marais salant (Californie)	20-90	HARVEY et YOUNG 1980
<u>Eau douce</u>		
Baie de Quinte, Ontario.	17,50%	BURNISON 1975
Lac Tanning (Danemark)	73	RIEMANN 1978
étang côtier (US, nord est)	<10	KIRCHMAN et MITCHELL 1982
Lac Mendota	<1-30	PEDROS-ALIOS et BROCK 1983
étang	<10	KIRCHMAN 1983

Tableau1: Pourcentage des bactéries adhérentes aux particules (d'après IRIBERRI et al., 1987).

Par le biais de l'adhérence, les bactéries peuvent entrer en contact direct avec les éléments nutritifs liés aux particules ce qui leur procure un avantage nutritif (BRIGHT et FLETCHER, 1983). De plus l'adhérence au matériel particulaire permet à la bactérie d'être transportée dans la colonne d'eau au gré des courants (PEDROS-ALIO et BROCK, 1983).

Le nombre de bactéries adhérentes dépend de la densité de matières en suspension ce qui explique les grandes variations de données selon les auteurs :

- la valeur la plus faible (1%) est trouvée dans l'océan Atlantique nord (eau marine très peu chargée en particules).

- la valeur la plus forte (entre 94 et 98%) correspond à une eau d'estuaire en hiver (Tab.1).

CAMMEN et WALKER (1982) observent les mêmes variations dans leur étude dans la baie de Fundy: au large la flore bactérienne est essentiellement constituée de bactéries libres, tandis qu'en zone côtière 94% des bactéries sont liées aux particules.

Dans l'estuaire de l'Elorn, POMMEPUY ( 1983) met en évidence que 99% des bactéries sont adsorbées sur le matériel disponible en suspension lorsque les courants sont importants (crue de l'Elorn ou vive eau).

## II L'ADHESION : UN MECANISME COMPLEXE

L'adhésion de bactéries à des surfaces solides dans un système aqueux est une interaction complexe entre la bactérie, le substrat solide et la phase liquide.

### *1) Rôle de la surface d'adhésion*

La surface d'adhésion est le composant majeur pour le processus d'adhésion, ses caractéristiques influencent grandement le mécanisme d'adhésion (SCHUMACHER et PETERS, 1987.)

Ses 3 principales caractéristiques sont:

- les facteurs physico-chimiques (données chimiques et thermodynamiques)
- les facteurs physiques (texture de la surface)
- facteurs biologiques (significatifs lorsque le substrat est un autre organisme)

(FLETCHER et MARSHALL, 1982).

La tension superficielle de surface est un facteur déterminant pour l'adhérence bactérienne: de nombreuses bactéries adhèrent aux surfaces à basse énergie ,rares sont celles qui adhèrent aux surfaces à haute énergie (FLETCHER, 1979).

L'importance de la surface et de son revêtement a été démontrée dans de nombreuses expérimentations in vitro. FLETCHER (1975) a montré que les protéines telles que l'albumine bovine, la gélatine, le fibrinogène et la pepsine inhibent l'adhésion en s'adsorbant sur la surface d'adhésion. Cette action peut s'expliquer soit par la création d'un "échafaudage" macromoléculaire auquel la bactérie est incapable d'adhérer, soit par la modification du micro-environnement ionique de la surface.

Certaines bactéries adhéreront préférentiellement à des surfaces hydrophobes tandis que d'autres préféreront des surfaces hydrophiles (FLETCHER et PRINGLE, 1983).

Par exemple, PRINGLE et FLETCHER (1986) ont cherché à évaluer les capacités d'adhésion des bactéries en fonction de l'hydratation du substrat. L'eau adsorbée diminue l'adhésion de 2 genres testés, *Pseudomonas fluorescens* et *Acinetobacter* sp., en modifiant le micro-environnement ionique, ou en diminuant l'énergie libre de l'interface liquide/surface ou encore en occupant stériquement l'approche des surfaces réduisant ainsi l'adsorption spontanée des cellules.

## 2) Mécanisme de l'adhésion bactérienne chez les bactéries à gram négatif

L'adhésion des bactéries pathogènes sur des tissus se fait par des structures spécialisées telles que par exemple les fimbriae. Les contraintes de type mécanique subies par les bactéries en milieu aquatique nécessitent un mécanisme plus robuste (COSTERTON et GEESEY, 1979). L'observation in situ a permis de mettre en évidence l'existence de "slime": film visqueux ou gélatineux formé sur les surfaces immergées, incluant des organismes vivants ou morts (CHARACKLIS, 1973).

La membrane externe joue un rôle essentiel dans l'adhésion (CORPE, 1980). Des changements phénotypiques de la composition macromoléculaire et de la structure de la surface cellulaire entraînent des modifications de l'adhésion (FLETCHER et McELDOWNEY, 1984, McELDOWNEY et FLETCHER, 1986). Le simple lavage des bactéries peut modifier les capacités d'adhésion en éliminant des composants pariétaux (FLETCHER et PRINGLE, 1983).

Des différences dans la capacité d'adhésion interviennent selon l'espèce bactérienne. Il faut tenir compte pour interpréter ce phénomène de la présence de pili, de capsules polysaccharidiques mais aussi de la constitution des enveloppes bactériennes.

L'adhésion d'un micro-organisme s'effectue en 2 étapes:

- une phase réversible
- une phase irréversible

a) la phase réversible.

La phase réversible est celle durant laquelle l'organisme entre en contact avec la surface. Cette phase d'adhésion est très rapide (de l'ordre de quelques secondes) et la désorption est facile (FLETCHER, 1979, STANLEY, 1983). Les forces qui interviennent sont du type London- Van Der Waals, interactions électrostatiques de double couche (ROGERS, 1979, ELLWOOD et al, 1982).

les facteurs favorisant les contacts avec la surface augmentent l'adhésion: la mobilité de certaines espèces bactériennes, une population nombreuse, le temps alloué à l'attachement et, artificiellement, la centrifugation qui permet de rompre les forces électrostatiques de répulsion...(FLETCHER, 1977, FLETCHER, 1979, HUMPHRIES et al., 1987). L'état physiologique de la population bactérienne joue un rôle important en influençant la mobilité des cellules et/ou en modifiant qualitativement ou quantitativement les polymères de la surface bactérienne .

FLETCHER et McELDOWNEY (1984) attribuent un rôle important aux polymères de surface des bactéries au niveau des interactions électrostatiques, de la formation d'agrégat ou d'inhibition de l'adhésion.

L'équilibre obtenu entre la bactérie et la surface d'adhésion peut-être décrit par la théorie de la stabilité des colloïdes attribuable à Derjaguin-Landau et Verwey-Overleek (DLVO). Elle établit que l'énergie d'interaction totale entre les 2 particules est déterminée par la somme de l'énergie attractive de Van Der Waals et l'énergie électrostatique répulsive (MARSHALL et al., 1979, DANIELS, 1980, ELLWOOD et al., 1982).

FLETCHER (1977) trouve par contre une similitude avec les modèles décrivant l'adsorption moléculaire de solutions sur des surfaces. Le fait que les caractéristiques de l'adsorption peuvent être décrites par une équation de type Langmuir suggère que les éléments initiatifs à l'attachement bactérien pourraient être contrôlés par des phénomènes non biologiques.

Par exemple l'effet de la concentration en électrolyte sur l'adhésion de *Vibrio alginolyticus* sur des grains d'hydroxyapatite a été déterminé par GORDON et MILLERO (1984). A basse concentration (<0,1mole) l'affinité de la bactérie pour la surface augmente avec la force ionique du milieu en accord avec la théorie DLVO. Pour les concentrations plus élevées (augmentation de la concentration en cation) l'affinité bactérienne pour la surface varie indépendamment des changements de forces ioniques du milieu. Ces variations dans le mécanisme d'action des sels sur l'adhérence bactérienne à haute concentration sont en accord avec les relations trouvées in situ entre le nombre de bactéries adhérentes et la salinité.

Cette phase réversible pendant laquelle la bactérie peut être éliminée du support par simple lavage est très courte (de l'ordre de quelques minutes) (MARSHALL, 1980).

#### b) la phase irréversible

La seconde phase est caractérisée par la production d'un "ciment" par la bactérie qui lui permet d'adhérer définitivement (CORPE, 1970, CHARAKLIS, 1973, PAERL, 1975, COSTERTON, 1980).

Paradoxalement ce sont les méthodes d'études des microbiologistes qui ont retardé la découverte du glycocalyx bactérien et de son rôle fonctionnel. En effet, pour produire et entretenir un glycocalyx une bactérie doit dépenser de l'énergie et dans l'environnement protégé que constitue une culture pure, cette production représente un luxe métabolique coûteux qui ne confère aucun avantage sélectif. Un milieu nutritif riche favorise la croissance au détriment de l'adhésion (CORPE, 1973).

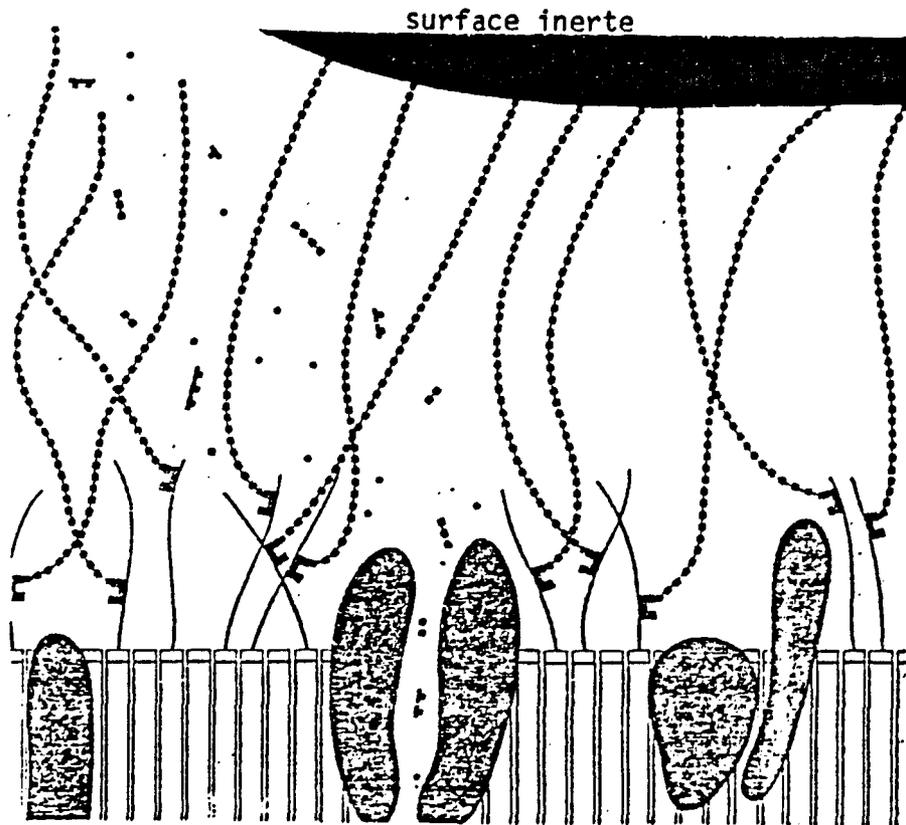


Fig.1: Schéma montrant la production de polysaccharides dans l'adhésion d'une bactéries à une surface inerte.

Le glycocalyx est constitué d'une masse de longues fibres polysaccharidiques (chaînes de carrés) qui sont fabriquées grâce à des polymérase (structure en U), liées aux polysaccharides (filaments noirs). Ces fibres drainent aussi vers la bactérie divers nutriments: sucre (rectangles), acides aminés (structure en T) et ions minéraux (points) qui pénètrent dans la cellule par des canaux intramembranaires délimités par les protéines (d'après COSTERTON et al., 1978).

La production de glycocalyx est maximale lorsque les bactéries sont dans un milieu hostile et/ou elles subissent un choc osmotique ou nutritionnel. Pour STANLEY (1983) et PAUL (1984), l'adhésion, dans un système maritime, est un phénomène actif qui nécessite de l'énergie de la part de la cellule: des cellules tuées ou à métabolisme altéré adhèrent très peu. Selon JARMAN et PACE (1984), l'énergie consommée pour cette adhésion provient soit de l'ATP soit du NAD(P)H<sub>2</sub>.

Cette seconde phase de l'adhésion est caractérisée par l'élaboration d'un glycocalyx constitué de polysaccharides se situant autour des éléments de la membrane externe des bactéries à gram négatif (CORPE, 1973, COSTERTON et al., 1978, COSTERTON et IRVING, 1981) (fig.1). Le type de macromolécules synthétisée par les bactéries pour adhérer déterminent les surfaces d'adhésion (ZAIDI et al., 1984)

La composition du glycocalyx est variable selon les bactéries mais la présence d'acide mucopolysaccharidique à été mise plusieurs fois en évidence par la coloration au rouge de ruthénium (JONES et al., 1969, FLETCHER et FLOODGATE, 1973, SUTHERLAND, 1983, ALLISON et SUTHERLAND, 1984).

Sans mentionner la composition exacte des glycocalyx, plusieurs auteurs mettent en évidence la présence de deux polysaccharides différents ou une modification au cours du temps du polysaccharide initial .

Par exemple, FLETCHER et FLOODGATE (1973) distinguent un polysaccharide primaire présent sur la bactérie libre, qui permet l'adhésion lors de la rencontre de la bactérie avec la surface, et un polysaccharide secondaire produit lors de l'adhésion irréversible.

CHRISTENSEN et al. (1985) mettent également en évidence l'existence de 2 polysaccharides différents. Le polysaccharide A contenant du glucose, galactose, acide glucuronique et galacturonique est produit par les cellules en phase de croissance. Le polysaccharide B, différent par sa composition chimique ainsi que par ses propriétés physiques, est sécrété pendant la phase stationnaire.

UHLINGER et WHITE (1983) trouvent un changement de la composition du glycocalyx produit par *Pseudomonas atlantica* pendant le cycle de croissance: les concentrations en galactose diminuent tandis que les acides uronique augmentent avec le taux de synthèse .

Le rôle principal du glycocalyx est de permettre à la bactérie d'adhérer, et d'établir un gradient de diffusion des nutriments. Il y a création d'un micro-environnement servant de zone protectrice tampon contre les dommages physiques (UHLINGER et WHITE, 1983).

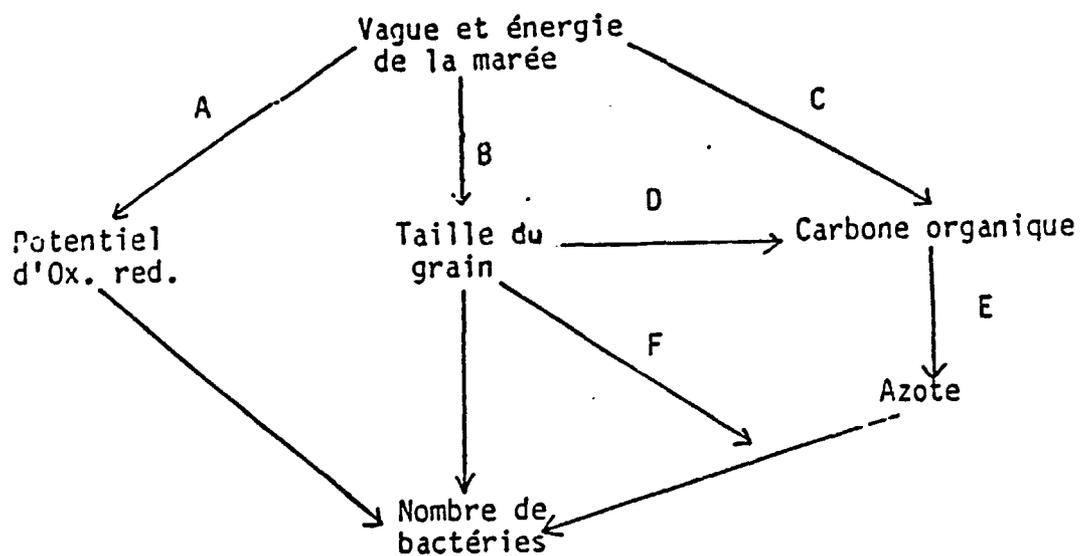
Il pourrait constituer également un réservoir par captation de matériel nutritionnel pour la bactérie. Les fibres permettraient de garder et de concentrer les enzymes digestives secrétées par les bactéries et de les diriger contre le substrat. Par ailleurs, ce ciment entraînerait la constitution d'un écosystème (COSTERTON et al., 1978).

Plus récemment, PRINGLE et al. (1983) ont émis l'hypothèse que le rôle spécifique de ce glycocalyx consiste en l'élaboration d'un film bactérien et l'établissement de la formation de ponts intercellulaires sans rôle adhésif. Cette thèse est reprise par WARDELL et al. (1983), ALLISON et SUTHERLAND (1987): l'étude d'une souche de *Pseudomonas fluorescens* et d'un mutant muqueux montre que le mutant possède des capacités d'adhésion plus faible.

WRANGSTADH et al. (1986) mettent en évidence un polysaccharide extracellulaire correspondant à une diminution dans le degré d'adhésion aux surfaces hydrophobes. Après 10 heures en milieu hostile, ce polymère disparaît et les facultés d'adhésion de la bactérie augmentent.

Un grand nombre de travaux publiés sur le sujet, bien qu'aucune preuve formelle n'ait pu être apportée, montre que les phénomènes d'adhésion et la production de glycocalyx jouent un rôle important dans la survie des bactéries de contamination en milieu marin. En effet, dans ce milieu hostile, les populations de bactéries adhérentes sont plus nombreuses que les populations de bactéries libres.

Adhésion et production de glycocalyx sont des phénomènes induits par la qualité du milieu et les hypothèses émises sur le rôle de ces deux phénomènes nous apparaissent logiques: rôle de protection contre les produits toxiques ou inhibiteurs et contre les chocs physiques, rôle de concentration et d'accumulation des nutriments.



Les lettres correspondent aux hypothèses suivantes:

A- Les vagues et les marées augmentent l'aération et diminuent l'accumulation des substances réduites dans le sédiment.

B- La taille du sédiment déposé sur le rivage est déterminé par l'énergie des vagues et les courants de marée.

C- Les particules organiques en suspension dans l'eau sont déposées là où les vagues et les courants sont faibles.

D- Plus le sédiment est fin, plus la surface d'adsorption pour la matière organique est grande (cette relation peut être déduite des relations B et C).

E- Lorsque le contenu en matière organique est le plus élevé, le carbone et l'azote tendent à leurs valeurs maximales.

F- Comme le carbone organique, la grande capacité d'adsorption des matériaux fins peut conduire à l'accumulation d'azote organique et inorganique.

Fig.2: Diagramme des relations entre le nombre de bactéries et les propriétés du sédiment (d'après DALE, 1974).

### III LE SEDIMENT : UN MOYEN DE SURVIE

#### 1) *Relation surface/contamination*

L'observation que le nombre de bactéries adhérentes dépend de la surface de la particule ressort de nombreuses études (ZOBELL, 1938, MEADOWS, 1971, HARGRAVE, 1972, BATOOSINGH et ANTHONY, 1970, DALE, 1974, RUBLEE et DORNSEIF, 1978, RUBLEE, 1982, SUTHERLAND, 1983, GAUTHIER et al., 1984). DALE (1974) propose un diagramme schématisant les relations entre le nombre de bactéries adhérentes et les propriétés du sédiment (fig.2).

En règle générale, les bactéries utilisent seulement une faible proportion de la surface disponible (HARGRAVE, 1972, WEISE et RHEINHEIMER, 1978, MARSH et ODUN, 1979, MILLS et MAUBREY, 1981, DE FLAUN et MAYER, 1983, TUFAIL, 1985). Des variations importantes sont notées selon le type ou la composition chimique du matériel particulaire: DEFLAUN et MAYER (1983), trouvent un taux de colonisation de 0,05% et CLAVIER-RAULT (1981), 5% sur deux sédiments marins différents.

En milieu naturel, les micro-organismes se situent essentiellement dans les infractuosités et les crevasses, qui leur offrent une protection physique (MEADOWS et ANDERSON, 1966, MAYER et ROSSI, 1982). Des grains de silice de même taille mais de microtopographies différentes ne sont pas colonisés par les mêmes flores après 8 semaines d'exposition à l'eau de mer. L'absence de crevasses et sillons à la surface du grain est corrélée à une diminution de la masse microbienne totale adsorbée (NICKELS et al., 1981).

Le nombre de bactéries liées aux particules dépend de la nature et de la quantité de matière organique adsorbée (SCROEDER et VAN ES, 1980, FUKAMI et al., 1983). Cette variation en éléments nutritifs peut même avoir plus d'importance que la taille de la particule (CAMMEN, 1982). L'adsorption de la matière organique sur les particules est proportionnelle à la surface exposée, et dépend du type de sédiment: un grain jeune à angles vifs adsorbe mieux qu'un grain âgé à bords ronds (MEYER-REIL, 1978, TANOUE et HANGA, 1979, NICKELS et al., 1981, YAMAMOTO et LOPEZ, 1985).

Sur une étude effectuée dans le Massachusetts portant sur 52 échantillons, 42 types de particules ont été recensés (JOHNSON, 1974). Parmi celles ci, 69% des particules de quartz sont incrustées de matière organique, et pratiquement toutes les particules argileuses sont incorporées dans une matrice organique. Environ 61% des particules examinées dans le sédiment superficiel sont susceptibles de jouer le rôle de substrat.

Les bactéries associées au matériel particulaire favorisent l'adsorption de la matière organique. En effet, celle ci est renforcée lors d'une augmentation de l'activité bactérienne obtenue, par exemple, par augmentation de la température (DE FLAUN et MAYER, 1983). L'observation en microscopie à balayage montre que, généralement, les bactéries issues des rejets sont agglomérées dans la matière organique (CORMIER et al., 1984).

## 2) *Interface eau/sédiment*

Le sédiment présente toutes les caractéristiques permettant la survie des bactéries ( HALL et al., 1972, ANSON et WARE, 1974, DALE, 1974, VELJI et ALBRIGHT, 1985, PRIEUR et al., 1985). A taille égale, une particule présente dans l'eau permet à un nombre plus faible de bactéries d'adhérer que si elle se trouvait dans le sédiment (MARSH et ODUM, 1979). Dans le sédiment la croissance peut être favorisée par l'immobilisation et la grande concentration en nutriments, tandis que dans l'eau de nombreux phénomènes physiques favorisent la dispersion (DAVIDSON et FRY, 1987).

Les concentrations bactériennes les plus élevées sont situées à la surface du sédiment (BIANCHI, 1971, RUBLEE et DORNSEIF, 1978, RAM et al., 1981, RUBLEE, 1982, LAANBROEK et VERPLAMK, 1982). L'interface vraie entre le sédiment et l'eau ne peut être considéré que d'un point de vue théorique. NOVITSKY (1983) assimile cette frontière à la couche supérieure du sédiment < 1mm, tandis que OLAH (1973), étend cette limite à 1 cm de profondeur. La population microbienne trouvée à ce niveau est homogène et représente la partie métabolique la plus active (HALL et al., 1972, NOVITSKY, 1983, NOVITSKY et KARL, 1986).

Dans cette couche, les populations bactériennes s'organisent pour développer une diversité taxonomique et fonctionnelle importante et permanente, ce qui leur permet d'utiliser au mieux les ressources nutritives. Ils aboutissent ainsi à des populations élevées et stables (TROUSSELIER et BALEUX, 1982). BIANCHI (1979),

met en évidence une complémentarité des microflores de l'eau, de la pellicule sédimentaire superficielle et du tractus digestif des animaux benthiques pour la dégradation de la matière organique.

### *3) Contamination de l'eau surnageante*

La notion de concentration bactérienne dans le sédiment superficiel est très importante car le contact direct avec l'eau en fait la zone privilégiée d'échanges: la qualité bactériologique des eaux estuariennes et costières en dépend. De nombreux facteurs peuvent remettre en suspension les particules de surface : les courants, la marée, le vent, mais aussi les poissons, les crustacés et l'homme ( pêche, nautisme, baignade...) ( BELLA et al., 1972, OVIATT et NIXON, 1975, GOULDER, 1976, MEYER-REIL et al., 1978, MEYER-REIL et al., 1980, BOLTER et al., 1981, CHURCHLAND et al., 1982, PALUMBO et al., 1984, DAUMAS, 1984, JORGENSEN, 1984, JACQ et PRIEUR, 1985).

Par exemple, après une opération de dragage, la concentration en coliformes fécaux dans l'eau est multipliée par 4 et celles des streptocoques par 50 (GRIMES, 1980).

Les phénomènes de marée sont également importants: la concentration la plus élevée en particules en suspension est observée en marée de vive eau (JORGENSEN, 1984, CLARKE et JOINT, 1986).

Le passage des bactéries dans l'eau peut être également indépendant de tout phénomène physique. Par exemple, les vibrios, germes d'origine marine, s'accumulent dans les sédiments et ne migrent dans l'eau que lorsque la température est supérieure à 10°C (KAPER et al, 1981, GRIMES et COLWELL, 1983, SHIARIS et al., 1987). KAPER et al., (1979), supposent que le passage dans l'eau se fait de façon concomitante au zooplancton.

### *4) Les estuaires*

La salinité des estuaires varie de 5 à 30g/l et les phénomènes de marée y joue un rôle sédimentologique important en provoquant un mouvement des sédiments entre l'amont et l'aval (ALLEN et al., 1982, PRIEUR et al., 1984). Une flore adhérente succède à une flore constituée essentiellement de bactéries libres caractéristiques d'une

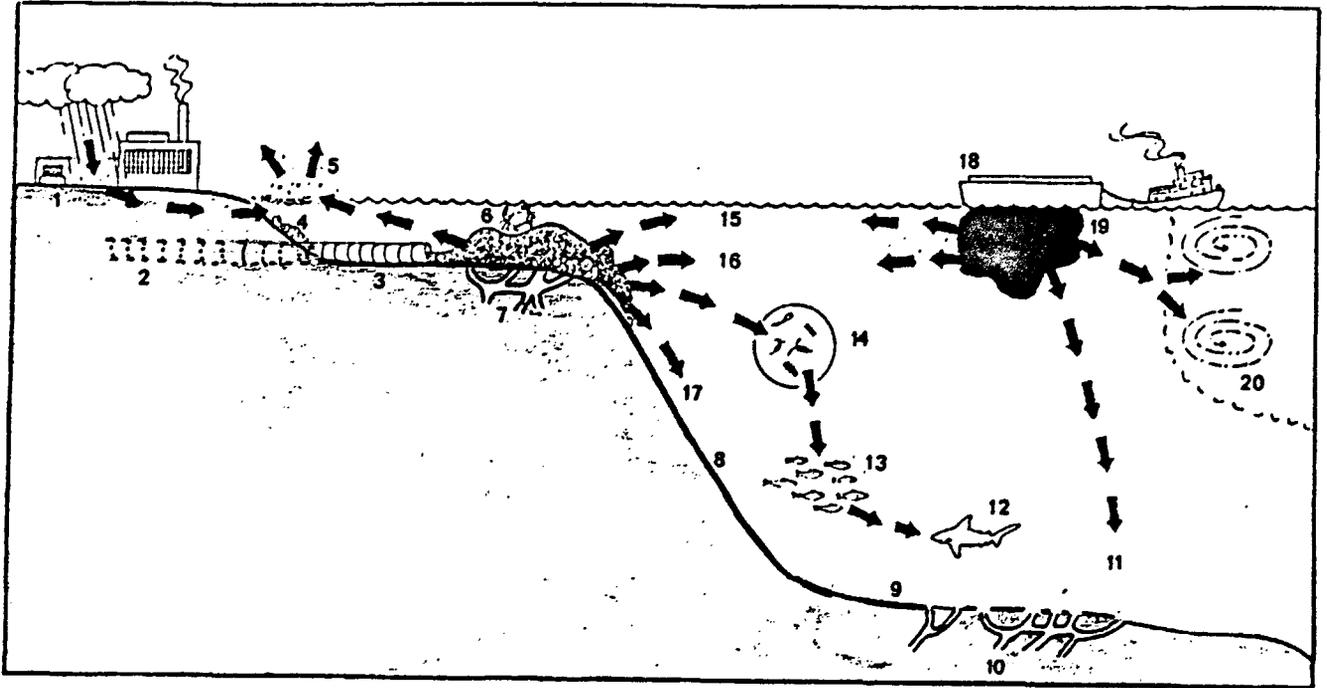


Fig.3: Représentation schématique de la contamination du littoral par les entérobactéries (d'après GRIMES et al., 1986).

1- eaux de ruissellements, rivières et estuaires, 2- rejets d'eaux usées, 3- coquillages, 4- bivalves, 5- formation d'aérosol sous l'action des vagues, 6- crustacés, 7- invertébrés benthiques, 8- pente continentale, 9- plaine abyssale, 10- invertébrés benthiques, 11- composés sédimentables, 12- prédateurs (par exemple requins), 13- consommateurs primaires, 14- plancton (par exemple copépodes), 15- matériaux flottants (par exemple lipides), 16- matériaux en suspension, 17- matières sédimentables, 18- barge de transport, 19- pollution chimique, 20- courants.

eau marine (ERKENBRECHER, 1981, BELL et ALBRIGHT, 1981).

L'importance de l'influence des courants de marée est montrée par l'étude de PALUMBO et al. (1984): la remise en suspension du sédiment de surface dans l'estuaire de Georgia dont l'amplitude de marée est supérieure à 2m, est plus importante que dans celui de la rivière de Newport (amplitude de marée inférieure à 1m).

Cette remise en suspension peut constituer une source de contamination au même titre qu'un rejet. POMMEPUY et al. (1987) ont montré que dans l'estuaire de l'Elorn la qualité des eaux est soumise à 3 facteurs: la rivière et la station d'épuration (sources permanentes et directes mais de niveau contaminant variable), la troisième discontinue et indirecte étant constituée par le sédiment. En période de faible turbulence (morte eau), il n'y a pas de remise en suspension des sédiments: la flore bactérienne diminue d'amont en aval, les bactéries endogènes marines remplaçant la flore contaminante. En période de turbulence (vive-eau, crue de la rivière), la source de contamination constituée par le sédiment, piège des entérobactéries, intervient.

Une étude réalisée dans l'estuaire Tamar a mis en évidence l'existence de trois groupes de bactéries: les bactéries libres, les bactéries associées aux particules toujours en suspension et les bactéries associées aux particules qui sédimentent et peuvent être remises en suspension. Les particules toujours en suspension sont grosses, riches en matière organique et procurent un environnement favorable à l'activité bactérienne (PLUMMER et al., 1987).

### *5) Les entérobactéries dans le sédiment*

Le rôle du sédiment est capital dans le devenir des entérobactéries issues de la flore du tube digestif des mammifères supérieurs, contaminants important des eaux côtières: il constitue un cadre favorable à leur survie et même à leur développement.

La contamination du littoral et des estuaires est favorisée par les rejets d'eaux usées mais aussi par les eaux de drainages, les rivières, les eaux de ruissellement d'origine agricole...(fig.3).

La disparition des bactéries de contamination de l'eau est la conséquence de 3 phénomènes: mortalité, dilution et principalement sédimentation (BORREGO et al., 1983, MARTIN et BONNEFONT, 1986). Selon SAYER et al. (1975), plus de 80% des germes indicateurs fécaux sont associés au matériel particulaire, parmi lesquels 53% de bactéries viables.

La sédimentation des bactéries à la sortie d'un rejet fait l'objet de diverses théories. Selon ERIKSSON et AXBERG (1981), Les composés polluants issus de rejets et les polymères extracellulaires tendent à former des ponts entre les bactéries ce qui favorise la sédimentation. Par contre MILNE et al. (1986) ont noté que si le taux de sédimentation dans une eau d'estuaire augmente proportionnellement avec la concentration en matière en suspension, dans un mélange effluent/eau de mer il n'y a plus de corrélation. La sédimentation de solides provenant d'un effluent contrairement à ceux provenant d'une eau d'estuaire ne montre pas de relation avec le temps. Les particules issues d'effluents présentent de faible capacité de sédimentation.

L'avantage principal offert par le sédiment est la matière organique disponible. Les études d'impact de rejet montrent que les plus fortes concentrations de bactéries fécales sont dans les sédiments vaseux plutôt que sableux (BONDE, 1968, GERBA et al., 1977, GOYAL et al., 1977, MATSON et al., 1978, ROPER et MARSHALL, 1979, PETRILLI et al., 1980, SEBASTIANI-ANNICCHIARICO et al., 1982, VOLTERRA et al., 1985).

Par exemple, des germes tels que les Salmonelles survivent longtemps dans les sédiments: leurs concentrations y sont de 100 à 1000 fois supérieures à celles que l'on peut observer dans l'eau surnageante. Leur survie dans le sédiment est parallèle à celle des coliformes fécaux (VAN DONSEL et GELDREICH, 1971). 90% des salmonelles isolées par HENDRICKS (1971) proviennent de sédiments de surface.

Le sédiment protège les bactéries des radiations solaires (IRVING, 1977, BELLAIR et al., 1977, McCAMBRIDGE et McMEEKIN, 1981, HILY et al., 1986), et de la température (VERSTRAETE et VOETS, 1976, BABINCHAK et al., 1977, REINHEIMER, 1977, LEGENDRE et al., 1984). Plus le séjour des bactéries dans l'eau est bref meilleure est leur survie: la population des streptocoques fécaux et coliformes fécaux dans le sédiment est plus élevée lorsque le rejet est effectué au niveau du sédiment plutôt que dans l'eau (IZZO et al., 1982).

La survie prolongée de ces bactéries de contamination dans le sédiment provoque un risque sanitaire important. De nombreuses études montrent que la contamination ne reste pas localisée au point de rejet:

- SHIARIS et al. (1987) trouvent des coliformes fécaux et entérocoques fécaux jusqu'à 460m de l'émissaire.

- BONDE (1968) retrouve des coliformes jusqu'à 4 km de l'émissaire.

- AYRES (1977), BRACEWELL et al. (1980), LOUTIT et LEWIS (1985) détectent des coliformes jusqu'à 8 km du point de rejet.

- O'MALLEY et al. (1982), numèrent de fortes concentrations de coliformes fécaux dans un rayon de 9 km autour de l'émissaire, la contamination fécale s'étendant sur environ 1190 km<sup>2</sup>.

- BABINCHAK et al. (1977) montrent que la contamination du sédiment s'étend jusqu'à 11 km au nord et 37 km au sud du point de rejet en fonction des différents courants.

## 6) *Survie d'E.coli*

Le devenir d'un germe test tel qu'*E.coli* est intéressant par sa qualité de témoin de contamination fécale.

Il est difficile d'interpréter les informations sur la survie des germes indicateurs à partir d'études réalisées avec de l'eau et des sédiments d'origines diverses, et des méthodologies variées: les études de survie dans le sédiment ont le plus souvent impliqué l'utilisation de systèmes statiques, des milieux de culture sélectifs, des chambres de diffusion, des sacs de dialyse, des sédiments stériles, des systèmes d'agitation... Toutes ces variations expérimentales doivent entrer en considération pour l'interprétation des phénomènes in situ.

La survie de *E.coli* dépend de facteurs physiques tels que la température de l'eau, des rayonnements solaires et comme beaucoup d'autres bactéries, son adsorption aux particules lui procure une protection (ROBERTS et al., 1974, FAUST et al., 1975, ROPER et MARSHALL, 1974, KAPUCINSKI et MITCHELL, 1981).

GERBA et McLEODS (1976) ont étudié les compétitions de flore sur le devenir de *E.coli*. Ils ont réalisé des expériences in vitro sur des sédiments prélevés dans des zones polluées et des zones exemptes de tout rejet. Les essais sont réalisés en flacon contenant soit de l'eau de mer seule, soit de l'eau de mer additionnée de sédiment. Certains échantillons sont stérilisés, et les flacons sont agités avant chaque prélèvement.

La meilleure survie d'*E.coli* est obtenue dans les flacons contenant du sédiment: une croissance est même observée en présence du sédiment provenant du site le plus pollué (riche en matière organique) malgré les compétitions de flore. Une forte augmentation de la population est observée dans le sédiment stérile. Une expérience réalisée sur les eaux de lavage du sédiment naturel ou après stérilisation montre que la stérilisation relargue des éléments nutritifs, ce qui explique la forte croissance de *E.coli*. Dans l'eau la compétition avec la flore autochtone semble avoir plus d'importance pour *E.coli* bien que dans une eau chargée en matière organique (provenant du site pollué) la persistance du germe soit un peu plus longue. Ces résultats montrent donc qu'*E.coli* est capable d'utiliser les éléments nutritifs adsorbés sur les sédiments.

ROPER et MARSHALL (1979) ont également étudié le devenir d'*E.coli* en chambre de survie: leurs résultats sont similaires. Ils ont montré notamment que lorsque la salinité diminue il y a désorption de *E.coli*.

En tant que germe indicateur, la comparaison de sa survie dans le sédiment avec celle d'autres germes pathogènes est intéressante.

A des concentrations d'inoculation identiques, *Salmonella typhimurium* persiste plus longtemps qu'*E.coli* (GUDDING et KRODGSTAD, 1975). En fait, dans les fèces la population d'*E.coli* est bien supérieure à celle de *Salmonella typhimurium* c'est pourquoi il semble persister plus longtemps. Sa survie est, par ailleurs, supérieure à celle de *Salmonella newport* et *Salmonelle* spp. (BURTON et al., 1987).

La survie de *E.coli* a été souvent comparée à celle des vibrios, germes de l'environnement. Par exemple, LARSEN et WILLEBERG (1984) trouvent une bonne corrélation de sa survie avec celle des souches de *Vibrio anguillarum* et *algynolyticus*.

Le temps et les conditions de survie de *Vibrio cholerae* ont souvent été comparé avec la survie d'*E.coli*.

Des essais réalisés par GUTHRIE et SCOVILL (1984) ont montré que la survie de *Vibrio cholerae* dans l'eau est de l'ordre de 10 jours alors qu'*E.coli* disparaît après 72h. Contrairement à *E.coli*, sa survie n'est pas augmentée par l'addition de sédiments.

Des études comparatives en chambre de survie de *Vibrio cholerae* et *E.coli* ont été réalisées en présence ou non de la flore autochtone (HOOD et NESS, 1981). Diverses souches de *Vibrio cholerae* ont été testées (souches isolées de l'environnement, de milieu hospitalier, serotype O1 et non O1): elles présentent la même survie dans l'eau que dans le sédiment. En milieu stérilisé, on observe une croissance qui peut être provoquée soit par le relarguage ou une modification de la matière organique lors de la stérilisation, ou par l'absence de compétition de flore. *E.coli* diminue rapidement dans l'eau de mer mais survit très bien dans le sédiment même en présence de flores compétitives.

*Vibrio cholerae*, constitue cependant un cas particulier: il est présent dans l'eau et le sédiment à des salinités comprises entre 4 et 17g/l, équivalentes à celles d'un estuaire, indépendamment des saisons (SINGLETON et al., 1982), mais surtout ce germe a été isolé à partir d'eaux apparemment exemptes de contamination fécale (COLWELL et al., 1981).

HOOD et NESS (1981), après avoir isolé ce germe à plusieurs reprises lors d'études dans des estuaires, ont conclu que ce germe est un résident habituel de ces sites et que sa présence n'est pas corrélée avec les populations de coliformes fécaux.

Il faut également tenir compte du fait que *Vibrio cholerae* comme *E.coli*, est souvent présent sous forme viable mais non cultivable (XU et al., 1982, GRIMES et al. 1986). Selon PEREZ-ROZAS et HAZEN (1988), l'activité de *Vibrio cholerae* est affectée moins rapidement que celle de *E.coli* et il peut maintenir un taux d'activité supérieur à celle d'*E.coli* sous certaines conditions telles que la présence de sédiment ou de végétaux.

#### IV OBJECTIFS DU TRAVAIL

Ce bilan bibliographique nous a permis d'évaluer l'impact de l'eau de mer, le rôle de l'adhésion aux particules et l'influence du sédiment sur le devenir des bactéries en milieu marin.

Les nombreuses études réalisées montrent que la survie des bactéries de contamination est importante dans le sédiment. En situation défavorable, l'adhésion et la production de glycocalyx sont deux phénomènes importants qui interviennent dans la protection du micro-organisme mais également dans la nutrition par l'accumulation de matière organique.

L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence le rôle du sédiment pour la survie des bactéries, principalement pour les bactéries de contamination issues du tube digestif de l'homme ou des animaux à sang chaud. Pour ceci nous avons réalisé deux types d'étude, in situ et in vitro.

L'expérimentation in situ a été réalisée grâce à l'IFREMER qui nous a permis de participer à son étude sur la rivière de Morlaix.

Les travaux réalisés par le département DERO EL sur le site de Morlaix entrent dans le cadre du programme "Rejets Urbains en Mer". Une station d'épuration rejette ses effluents en amont de la rivière qui débouche sur une baie abritant des installations conchylicoles. Les diverses campagnes ont pour but d'apprécier le transport des germes après rejet, leur survie et leur influence sur l'environnement estuarien.

Les expérimentations réalisées in vitro ont pour but d'analyser et d'expliquer les phénomènes observés in situ.

Dans un premier temps, nous avons suivi les échanges eau/sédiment, l'importance de la structure du sédiment, le mode de contamination de l'eau. Une attention particulière a été portée sur le devenir des entérobactéries et des entérocoques.

Dans un second temps, nous avons étudié le devenir d'une souche d'*E.coli*. La présence de ce germe dans l'environnement témoigne d'une contamination fécale et son dénombrement fait partie des normes de qualité des eaux côtières et de baignade.

L'étude des paramètres conditionnant sa survie tels que le rôle du matériel particulaire, son mécanisme d'adhésion et l'influence des flores autochtones sur son implantation permettra de mieux contrôler son devenir.

## C MATERIEL ET METHODES

## C MATERIEL ET METHODES

### I PRELEVEMENTS

#### 1) Etude sur la rivière de Morlaix

Les campagnes de prélèvement organisées par l'IFREMER se sont déroulées dans l'estuaire de MORLAIX de février 1986 à mars 1988. Les dates et les caractéristiques des différentes campagnes sont données dans le tableau 2.

JOURS	COEFFICIENT DE MAREE	DEBIT DES RIVIERES DE MORLAIX (m <sup>3</sup> /s)
19 février 86	28-37 morte eau	3,77
25-26 février 86	93-102 vive eau	2,99
2-3 juin 87	45-43 morte eau	1,70
11-12 juin 87	89-91 vive eau	1,50
14-15 octobre 87	26-26 morte eau	6,76
23 octobre 87	94-95 vive eau	3,07
16-17 mars 88	97-104 vive eau	7,70
24-25 mars 88	35-30 morte eau	5,54

**Tableau 2:** Dates et caractéristiques des différentes campagnes effectuées sur le site de Morlaix.

Les prélèvements d'eau ont été faits à pleine mer et basse mer à bord d'une embarcation à l'aide de bouteilles stériles. Lorsque les conditions de manipulations étaient impossibles (marée basse de vives eaux) les prélèvements ont été réalisés de la rive à l'aide de cannes à prélèvements.

En ce qui concerne les prélèvements de sédiments, ils ont été réalisés suivant deux méthodes:

- dans les zones non découvrantes au cône Berthois
- dans les zones découvrantes, une annexe de bateau s'échouait sur la vasière. De cette manière, les prélèvements ont pu être effectués directement dans des boîtes stériles.

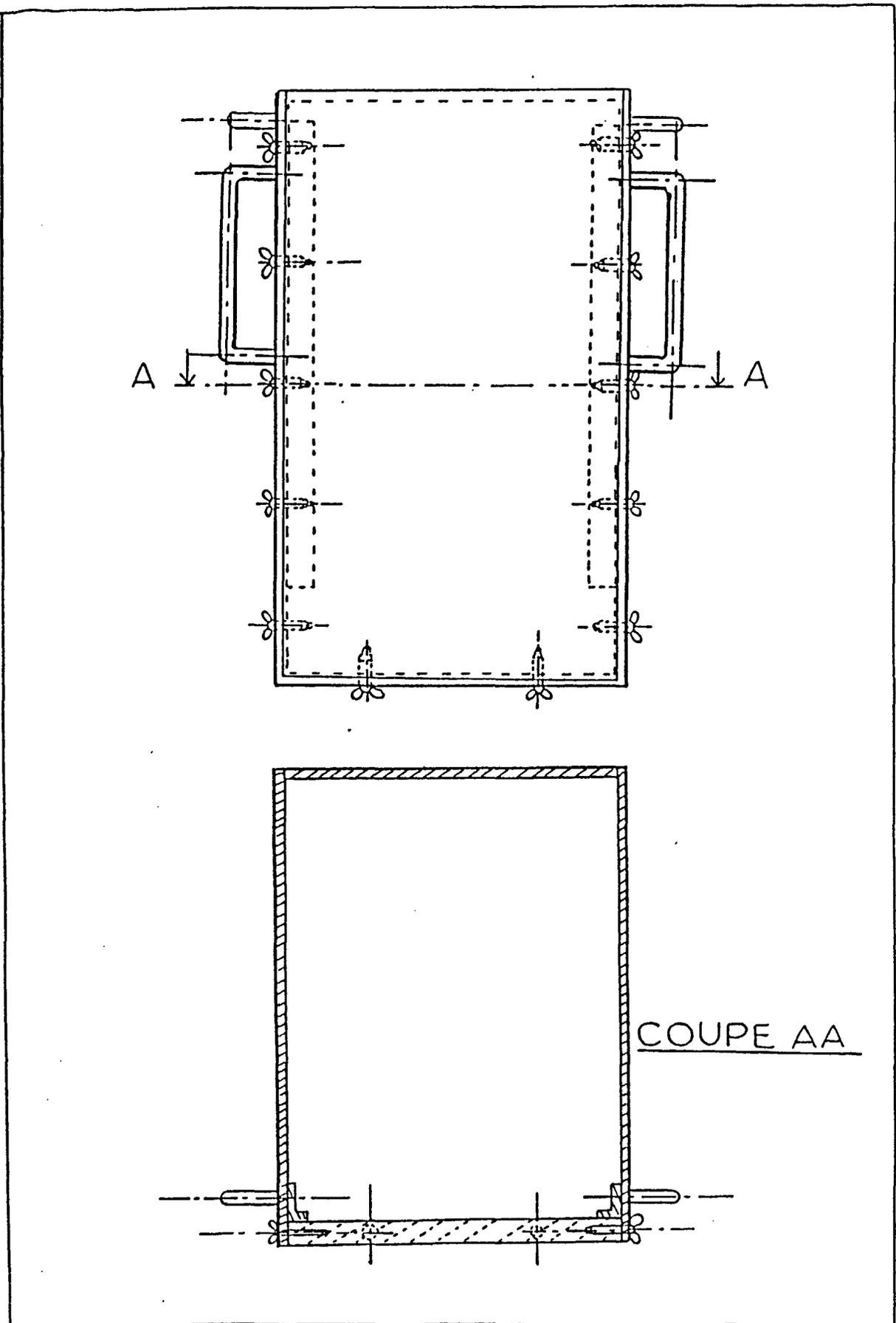


Fig.4: Bac de prélèvement.

L'échantillonnage a été réalisé sur la couche superficielle (1cm environ) et trois réplicats par points ont été faits lors de la première campagne (février 1986) afin d'évaluer la variabilité due à l'échantillonnage.

## 2) Etude sur les échanges eau/sédiment

Les prélèvements sont effectués à St Malo à l'entrée du port.

Nous avons effectué 2 types de prélèvements :

- à la pelle : le sédiment est prélevé à l'aide d'une pelle sur environ 10cm de profondeur. Il est ensuite placé dans un aquarium (35 x 23 x 25cm). Ce mode de prélèvement a été utilisé pour les études comparatives afin d'évaluer l'importance de la structure de la vase, ainsi que pour les études sur le sédiment stérile.

- à l'aide d'un bac : nous avons mis au point un bac permettant de prélever le sédiment sans perturber la pellicule de surface. C'est un parallélépipède en inox et plexiglas d'un volume de 60l environ (fig.4). Le côté en plexiglas est amovible et permet le prélèvement : le bac est introduit de biais dans le sédiment puis tiré parallèlement à la surface à l'aide des poignées. La hauteur de sédiment prélevée est d'environ 30cm et les différentes stratifications sont conservées. Un système de vis permet de remettre en place la face amovible, l'étanchéité du système étant assurée par un joint de caoutchouc et du joint siliconé de type "Rubson". Avant chaque prélèvement, le bac est soigneusement nettoyé et lavé à l'alcool à 90°.

L'eau de mer est prélevée en bidon de plastique, nettoyé et lavé à l'alcool à 90°

Pour certaines expérimentations, la flore autochtone du sédiment doit être éliminée pour mettre en évidence la contamination due à l'eau surnageante. Le sédiment est dans ce cas passé à l'autoclave pendant 1h à 121°C.

Pour les études utilisant de l'eau de mer stérile, la stérilisation est obtenue par passage sur membrane de 0,22 $\mu$ m de pore. Pour les volumes importants (supérieur à 5litres) les filtres utilisés sont des filtres Seitz<sup>R</sup> de 140mm de diamètre, et pour les faibles volumes des filtres Millipore<sup>R</sup> de 47mm de diamètre. On élimine ainsi toutes les bactéries mais aussi les particules en suspension dans l'eau de mer.

Des contrôles de stérilité par mise en culture d'échantillons d'eau ou de sédiment sont effectués avant la mise en oeuvre des expérimentations. Ces essais se sont toujours révélés négatifs.

Lors de la mise en contact eau/sédiment, l'eau de mer est versée très doucement le long d'une paroi du bac de façon à éviter toute remise en suspension. Le volume d'eau mis en place est identique au volume de sédiment présent dans le bac (15 litres environ).

L'expérimentation se déroule à 18°C +/- 3 au laboratoire.

### 3) *Etude sur l'implantation d'une souche d'E.coli*

Plutôt que d'utiliser une souche d'*E.coli* provenant de l'environnement pour réaliser notre étude, nous avons sélectionné une souche d'origine humaine récemment isolée d'une coproculture et dont la probabilité d'adaptation au milieu extérieur est faible. Nous nous retrouvons ainsi davantage dans la situation d'une souche rejetée par une station d'épuration dans le milieu extérieur.

L'étude de l'implantation d'une souche dans un environnement naturel nécessite une méthode de sélection: la résistance aux antibiotiques est un moyen largement utilisé à ce sujet (TEMPLE et al., 1980, SINCLAIR et ALEXANDER, 1984, BURTON et al., 1987).

La souche que nous avons sélectionnée présente deux résistances à l'acide nalidixique et à la rifampicine. Ces deux antibiotiques nous ont paru intéressants car la grande majorité des souches d'*E.coli* isolées du milieu marin sont sensibles à ces antibiotiques (MELIKECHI, communication personnelle, MUNRO et al., 1987). D'autre part ces résistances offrent l'avantage d'être d'origine chromosomique. Les concentrations minimales inhibitrices usuelles sont de 2mg/l pour l'acide nalidixique et de 8mg/l pour la rifampicine.

Pour obtenir des niveaux de résistance élevé pour la souche sélectionnée nous avons utilisé la technique de SZYBALSKI et BRYSON (1952).

Le principe consiste à couler dans une boîte de pétri une gélose fondue dans laquelle a été incorporé un antibiotique et laisser solidifier en position inclinée. Le niveau horizontal est ensuite rétabli avec de la gélose dépourvue d'antibiotique. L'antibiotique de la couche inférieure diffuse vers la couche supérieure en déterminant un gradient de concentration étalé selon un diamètre de la boîte. Ce gradient varie, en principe, de 0 à la concentration dans la couche inférieure suivant une progression arithmétique. Par repiquage successif des colonies situées sur les parties les plus concentrées en antibiotique, on peut augmenter le niveau de résistance d'une souche.

La concentration des deux antibiotiques permettant une bonne croissance de la souche étudiée a été déterminée à 84 mg/l pour la rifampicine et 100mg/l pour l'acide nalidixique.

Des essais sur la souche après séjour dans l'eau de mer n'ont pas montré de variations. D'autre part, à chaque prélèvement d'eau et de sédiment, des contrôles sont effectués pour vérifier qu'aucune bactérie ne se développe sur le milieu de Drigalski enrichi avec ces deux antibiotiques et incubée à 42°C. Ces contrôles se sont toujours révélés négatifs.

L'étude de l'implantation est réalisée dans le système expérimental précédemment utilisé, ce qui nous a permis d'apprécier l'impact des flores du sédiment ou de l'eau sur le devenir de la souche.

Après une culture de 24h en bouillon Trypticase soja, la souche est récupérée par centrifugation . Le culot est lavé 3 fois en eau physiologique stérile, puis mis en suspension dans de l'eau de mer stérile.

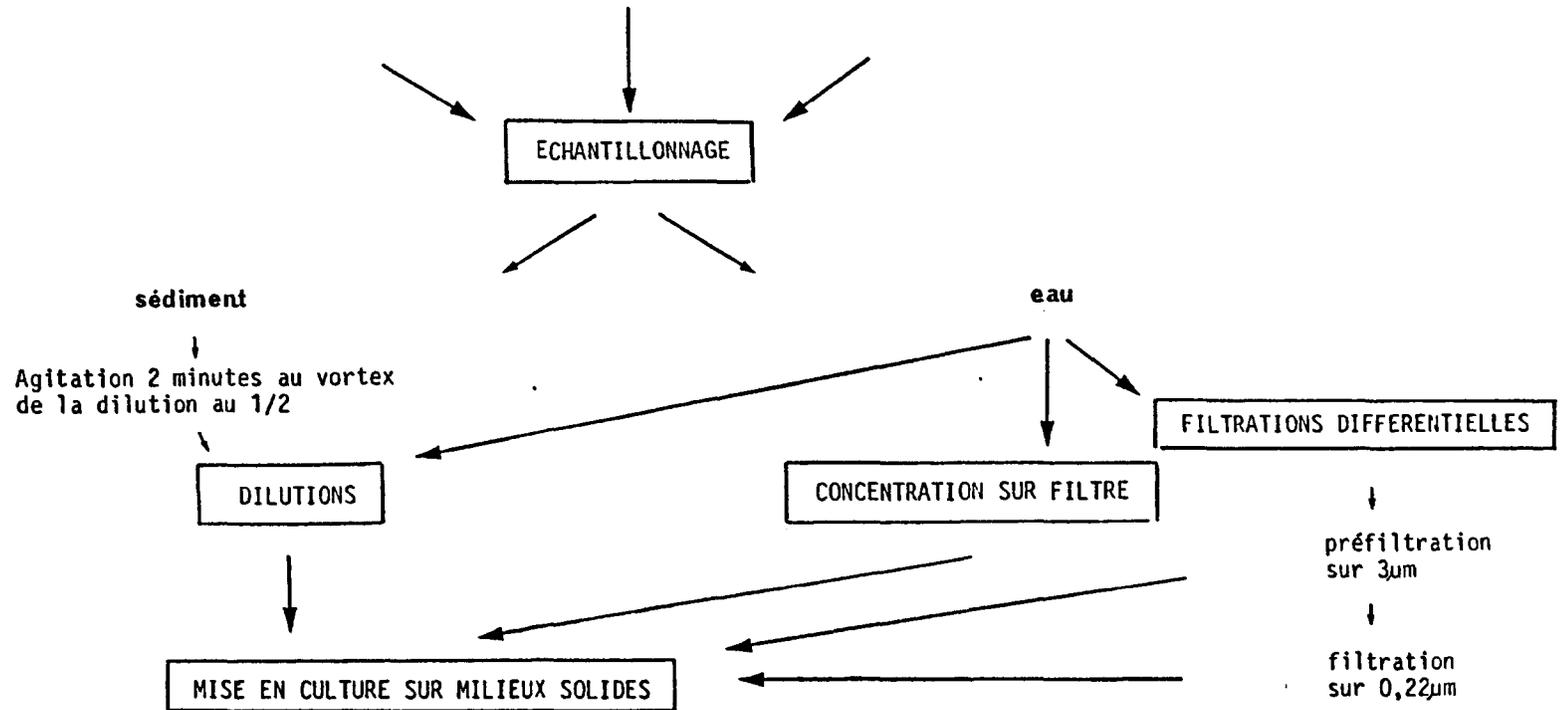
Lorsque la contamination du système est réalisée par l'eau de mer, la suspension est diluée dans le volume d'eau de mer total nécessaire à l'expérimentation puis cette eau est mise en contact avec le sédiment.

Lorsque la contamination est réalisée par le sédiment, la suspension initiale est diluée dans 1 litre d'eau de mer stérile et versée sur le sédiment. Le système est agité pendant 5 minutes de façon à bien remettre en suspension la couche superficielle du sédiment. Après une décantation de 18h, l'eau surnageante est aspirée et l'eau de mer est versée sur le sédiment.

ESTUAIRE DE MORLAIX

ECHANGES EAU/SEDIMENT

IMPLANTATION DE E.COLI



		Milieu	T° incub.
FLORE TOTALE	non halotolérante	Trypticase	37°C
	halotolérante	Trypticase + 40g/l NaCl	25°C
FLORE FECALE	entérobactéries	Drigalski	37°C
		Drigalski	42°C
	streptocoques	Slanetz	37°C
	entérobactéries halotolérantes	Drigalski + 40g/l NaCl	25°C
VIBRIONACEAE		TCBS	37°C

Fig.5: Traitement des échantillons.

Lors de l'étude du rôle du matériel particulaire sur la survie d'*E.coli*, la souche utilisée est la souche entérotoxique H10407 isolée par EVANS et al.(1977) et aimablement fournie par le Professeur Joly (Clermont-Ferrand).

## II ECHANTILLONNAGE ET NUMERATIONS BACTERIENNES

### 1) *Echantillonnage*

Lors des tests in vitro, les échantillons sont prélevés tous les jours en début d'expérimentation puis tous les 2 ou 3 jours pendant 10 jours.

Les prélèvements sont effectués en surface et en profondeur, à la pipette stérile pour l'eau, et par carottage pour le sédiment.

Les sédiments sont pesés, dilués en eau additionnée de chlorure de sodium à 9g/l. Les dilutions de l'eau se font dans les mêmes conditions.

Les numérations sont effectuées sur milieux solides après dilution et étalement au rateau, ou par filtration sur membrane de 0,22 $\mu$ m de pore pour les volumes importants d'eau. Pour chaque échantillon et chaque milieu deux dilutions sontensemencées (fig.5).

La détermination, pour les études in situ, de la salinité, des teneurs en matière organique et matières en suspension sont réalisées par l'IFREMER .

### 2) *Filtrations différentielles.*

la technique des filtrations différentielles a été réalisée lors des études in vitro sur les prélèvements d'eau, afin de mettre en évidence la flore associée au matériel particulaire et les populations de bactéries libres.

L'échantillon ou une dilution de l'échantillon est passé une première fois sur une membrane filtrante de 3 $\mu$ m de pores. Le filtrat recueilli dans une fiole stérile est ensuite passé sur un filtre de porosité de 0,22 $\mu$ m. Lorsque la filtration sur 3 $\mu$ m d'une dilution de l'échantillon est nécessaire (eau chargée), un aliquot de l'échantillon est refiltré indépendamment sur un filtre de 3 $\mu$ m pour la seconde filtration sur 0,22 $\mu$ m.

Désirant mettre en évidence les bactéries libres et les bactéries liées aux particules, nous avons choisi une porosité de  $3\mu\text{m}$ . En effet la taille de la majorité des bactéries varie entre  $0,22\mu\text{m}$  et  $3\mu\text{m}$ , et en milieu marin, les bactéries d'origine tellurique sont stressées et adoptent des formes naines (DAWSON et al., 1981, MORITA, 1982, KJELLEBERG et HERMANSSON, 1984).

En milieu naturel le pourcentage de particules inférieures à  $3\mu\text{m}$  est faible (les dénombrements effectués n'excluant pas les corps bactériens). La colonisation de ces particules par les bactéries leur procure peu d'avantages (faible concentration en nutriment, faible protection ...).

Cette porosité de  $3\mu\text{m}$  a également été choisie par de nombreux auteurs tels que: SOROKIN (1971), DERENBACH et WILLIAMS (1974), GOULDER (1977), PALUMBO et al. (1984), IRIBERRI et al., (1987).

La culture des filtres de porosité de  $3\mu\text{m}$  met en évidence les particules colonisées et les amas bactériens. L'impossibilité de connaître le degré de colonisation d'une particule qui varie selon la taille, la nature, la structure, mais qui dépend également des espèces bactériennes présentes nous permet uniquement une évaluation de la population de bactéries adhérentes.

GOULDER, (1977), suppose que le nombre de bactéries sur les faces cachées des particules est égal au nombre compté sur la face supérieure et les résultats qu'il exprime correspondent aux numérations effectuées multipliées par un facteur 2.

Dans le cas d'une eau fortement chargée en matière en suspension, un colmatage du filtre peut entraîner une rétention des particules inférieures à  $3\mu\text{m}$ . Au cours de nos expérimentations nous n'avons jamais rencontré ce problème.

### *3) Milieux de cultures utilisés*

Dans le but d'individualiser les caractères de croissance des bactéries, nous avons utilisé des milieux à des températures d'incubation et des salinités différentes. Certains milieux sont préparés à partir d'eau de mer naturelle prélevée à Saint-Malo. La préparation s'effectue dans les mêmes conditions que lors de l'utilisation d'eau distillée.

La stérilité du milieu est assurée par autoclavage pendant 20min à  $121^{\circ}\text{C}$ .

\* gélose Trypticase (BIO-MERIEUX)

- préparé à partir d'eau distillée, ce milieu est incubé 24h à 37°C.
- préparé à partir d'eau de mer, la concentration finale en chlorure de sodium est de 40g/l, l'incubation se fait alors pendant 48h à 25°C.

Ces 2 milieux hautement nutritifs et non sélectifs permettent une croissance abondante de la plupart des germes aérobies ou aéro-anaérobies. La concentration de 40g/l en chlorure de sodium et surtout l'incubation à 25°C favorisent le développement des bactéries halotolérantes.

\* milieu de Drigalski (I.P.P.)

Ce milieu est sélectif des bacilles gram négatif par la présence de cristal violet. On différencie 2 types de bactéries : des colonies jaunes lactoses + correspondant aux bactéries utilisant le lactose et des colonies bleues ou vertes lactose - n'utilisant pas le lactose. Ce milieu est incubé:

- 24h à 37°C, numérations des colonies lactoses +
- 24h à 42°C, numérations des colonies lactoses +. L'incubation à cette température permet aux bactéries de contamination stressées par leur séjour en milieu hostile un meilleur développement qu'à 44,5°C. Par contre la température de 42°C permet d'inhiber la croissance de nombreux germes d'origine marine. Les études réalisées au laboratoire sur la rade de Brest ont montré qu'à cette température on isole un grand nombre de bactéries d'origine fécale.

- ce même milieu préparé à partir d'eau de mer (concentration finale de 40g/l en chlorure de sodium) et incubé à 25°C permet d'évaluer la flore correspondantes aux bacilles gram négatif halotolérants .

\* milieu de Slanetz (A.E.S.)

Incubation de 24 h à 48 h à 37°C, isolement des entérocoques.

\* milieu de TCBS (DIFCO)

Incubation 24 h à 37°C. La numération des colonies utilisant le saccharose (colonies jaunes) permet de numérer les vibrions. Le choix de cette température d'incubation permet de favoriser la croissance des vibrions au detriement des autres bactéries d'origine marine (DUPRAY et CORMIER, 1983).

\* bouillon Trypticase soja (BIO MERIEUX)

Ce bouillon est utilisé pour la culture de la souche d'*E.coli* pendant 24h à 37°C.

#### 4) Numération et identification

Après incubation, les colonies sont dénombrées sur chaque boîte. Les résultats sont exprimés en nombre d'unité formant colonies (UFC) pour 100ml d'eau ou 100g de poids humide de sédiment.

Des identifications ont été réalisées à partir des différents milieux : les colonies les plus représentatives sont isolées sur gélose trypticase douce ou salée selon le milieu de départ. Après détermination du gram, du type respiratoire et de l'oxydase, l'identification est effectuée sur galerie :

- API 20E : pour les bacilles à gram négatif aéro-anaérobies, test portant sur 21 caractères biochimiques (réactions enzymatiques et fermentation de sucres).
- API 20NE : pour les bacilles à gram négatif, aérobies stricts, test regroupant des réactions enzymatiques et l'utilisation de substrats carbonés (auxanogramme).

Cocci et bacilles à gram positif ne sont identifiés que jusqu'au genre sans précision de l'espèce.

#### 5) Numération par l'orange d'acridine

La technique de coloration par l'orange d'acridine, composé fluorescent, permet de numérer les germes totaux dans un prélèvement. Il n'y a aucune spécificité: tous les germes viables ou non, cultivables ou non sont comptés. La technique utilisée est celle de HOBBIÉ et al. (1977).

Les numérations sont réalisées sur des filtres polycarbonates de  $0,22\mu\text{m}$  de diamètre de pores (Nuclepore<sup>R</sup>). Les filtres sont préalablement immergés dans une solution de noir d'Irgalan (2g/l d'acide acétique à 2%) pendant au moins 10 minutes. Ils sont ensuite rincés dans de l'eau distillée stérilisée par filtration sur membrane de  $0,22\mu\text{m}$  de pores. Le prélèvement est filtré puis recouvert de 3 ml de solution d'acridine orange à 0,01% et laissé en contact pendant 2 minutes. L'orange d'acridine est ensuite éliminée et le filtre est rincé à l'eau distillée filtrée

Le filtre est monté sur lame et examiné au microscope sous lumière UV au grossissement 100 sous immersion. Pour la numération, la répartition des germes sur le filtre doit être homogène. Dix champs choisis au hasard et contenant de 20 à 50 bactéries chacun doivent être dénombrés, soit un total d'environ 300 bactéries.

La moyenne de bactéries par champ multiplié par un coefficient permet d'obtenir le nombre de bactéries par ml ou  $\text{mm}^2$ .

Dans le cas d'une eau passée sur un filtre Nuclepore<sup>R</sup> de 47 mm de diamètre le coefficient est  $2,93 \cdot 10^5$  (un champ =  $64 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^2$ ).

Lors des numérations sur lames de verre, le nombre de bactéries est calculé pour une surface de  $1 \text{ mm}^2$  soit un coefficient de 156,25.

**D MISES AU POINT DE PROTOCOLES**

## D MISES AU POINT DE PROTOCOLES

### I ADHESION D'UNE SOUCHE D'E COLI SUR SEDIMENTS ARTIFICIELS

Quel est le rôle du matériel particulaire sur la survie d'une souche d'*E.coli*?

Pour apprécier l'importance du matériel particulaire, nous avons voulu étudier la survie d'une souche d'*E.coli* en présence de particules avec addition ou non d'une source d'énergie.

Des études préliminaires portant sur le choix des particules, de la source d'énergie et l'importance de l'inoculum bactérien ont été nécessaires.

#### 1) *Matériel particulaire*

Notre choix a été guidé par la dimension des particules et leur possibilité d'entrer dans la composition d'un sédiment naturel côtier. nous avons ainsi sélectionné:

- sable de mer, purifié à l'acide et calciné, diamètre moyen 100-300 $\mu$ m (MERCK).

- sable de Fontainebleau, purifié à l'acide et calciné, diamètre moyen 150-210 $\mu$ m (MERCK).

- bentonite, diamètre moyen 80 $\mu$ m (SERVA).

- carbonate de calcium, diamètre moyen <45 $\mu$ m (PROLABO).

- mica, diamètre moyen 10-40 $\mu$ m (PROLABO).

Avant utilisation, les sédiments sont pesés (50g) puis stérilisés à l'autoclave (121° pendant 20 minutes).

## 2) *Source de carbone et d'énergie*

L'étude bibliographique a conduit à sélectionner dans un premier temps 2 produits:

- glucose (solution à 10%)
- albumine bovine (solution à 1%)

puis, par la suite un troisième:

- caséine (solution à 2%).

Les sédiments stériles (50g) sont placés dans une solution stérile de sucre ou de protéine (20ml) et agités pendant 1min. Après un contact de 48h, le surnageant est éliminé et le sédiment est séché à l'étuve à 50°C pendant 18h.

Après cette préparation des sédiments, la stérilité est testée par mise en culture d'un aliquot. Ces tests se sont toujours révélés négatifs.

## 3) *Mesure du taux de sucre et de protéine*

### a) mesure du taux de sucre

Le taux de glucose est déterminé par la technique de la glucose oxydase (BOEHRINGER). La lecture est faite au spectrophotomètre à 500nm par la technique du point final, la concentration de l'échantillon est donnée par le rapport à un standard.

### b) mesure du taux de protéine

La technique utilisée est celle de Lowry modifiée (BROTHERTON et al., 1976).

Les échantillons de sédiment (500mg ou 50mg) sont repris par 0,2ml de soude 1N et incubés pendant 1h à 30°C. Après addition du réactif cuivreux (2ml), l'échantillon est de nouveau incubé 1/2h à 30°C. On réalise parallèlement une gamme d'étalonnage. L'adsorption est lue au spectrophotomètre à 750 nm.

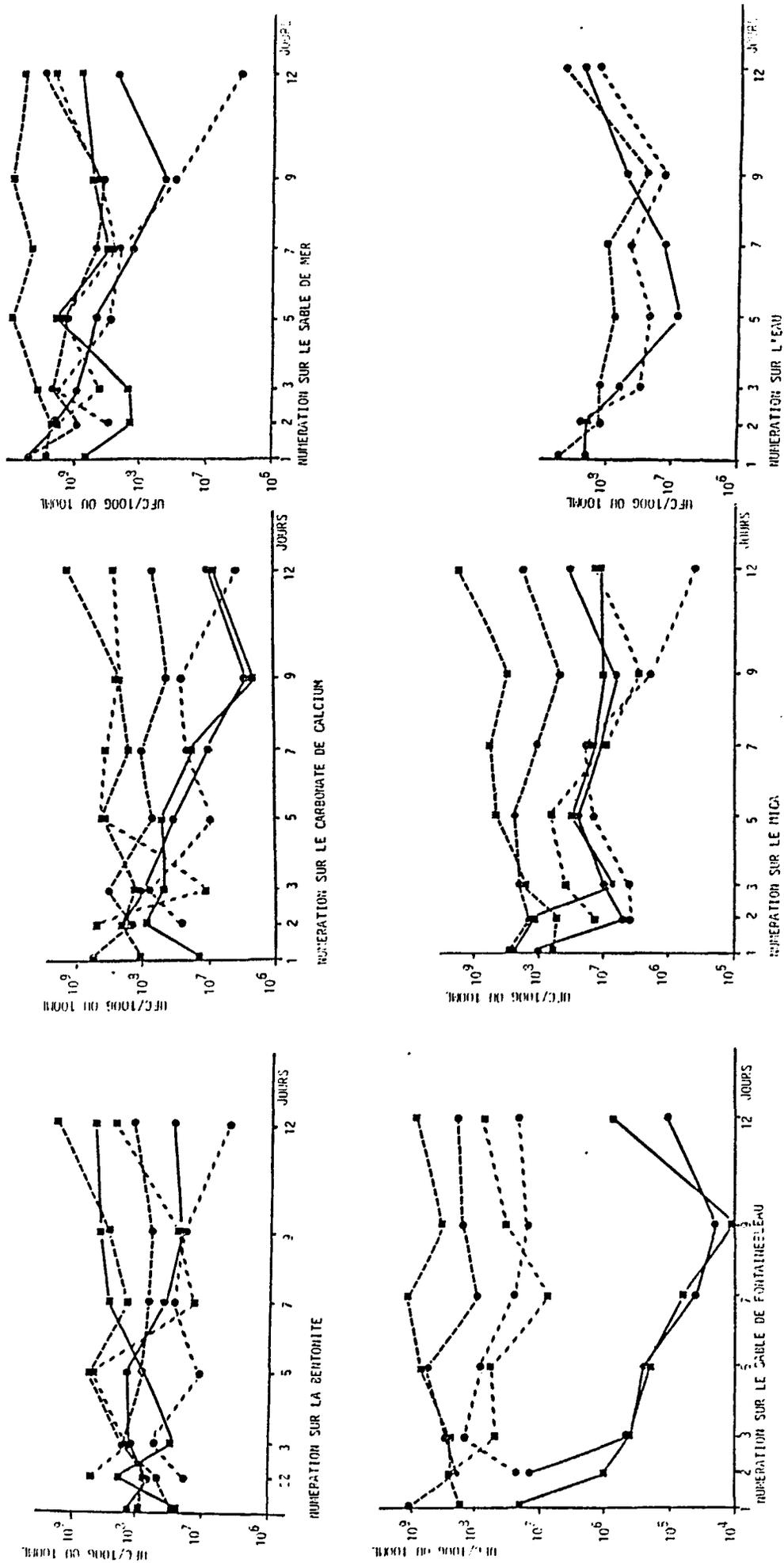


Fig.6: Tests préliminaires, expérience A.

Evolution de la population bactérienne dans l'eau (●) et dans le sédiment (■), dans les flacons additionné d'albumine bovine (----), de glucose (- · - ·) et témoins (—).

#### 4) *Expérience A*

La souche d'*E.coli* est mise en culture en bouillon Trypticase soja pendant 24h à 37°C. Le culot est récupéré par centrifugation (5 minutes à 3000tours/minute), lavé 3 fois à l'eau additionnée en chlorure de sodium à 9%, puis mis en suspension dans l'eau de mer filtrée stérilement. Cette eau de mer est alors mise en contact avec les différents sédiments.

Pour chaque type de particules, 50g de matériel non enrichi , 50g de matériel avec de l'albumine bovine et 50g avec du glucose sont placé en contact avec la suspension bactérienne en eau de mer à  $10^7$ UFC/100ml. Le devenir de la souche bactérienne dans l'eau de mer est suivi dans un flacon témoin sans addition de matériel particulaire.

L'expérimentation se déroule sur 12 jours à température du laboratoire (16°C+/-3). Pendant tout ce temps les flacons ne sont pas agités.

Des prélèvements sont effectués après 1,2,3,5,7,9,12 jours de contact. Les prélèvements de sédiment ne sont pas lavés.

La culture est réalisée sur milieu de Drigalski incubé à 37°C pendant 24h. La pureté de l'ensemencement permet de contrôler l'absence de contamination dans le flacon.

Les résultats montrent que la croissance est importante (augmentation de 10 à 100 fois de l'inoculum de départ), rapide (ces résultats sont obtenus après 24h) (fig.6). Dans les flacons témoins du carbonate de calcium, bentonite et sable de Fontainebleau, les numérations sont proches de  $10^7$ UFC/100g ou 100ml. Les numérations restent stables pendant l'expérimentation.

L'évolution des populations de l'eau et du sédiment dans les différents flacons sont semblables et l'influence de l'addition au niveau du sédiment d'albumine bovine ou du glucose est nulle. Deux hypothèses pourraient expliquer ce phénomène: d'une part la solubilisation de l'albumine bovine ou du glucose dans l'eau surnageante et d'autre part la forte densité de bactéries devenant elle-même le substrat nécessaire à la survie de la population.

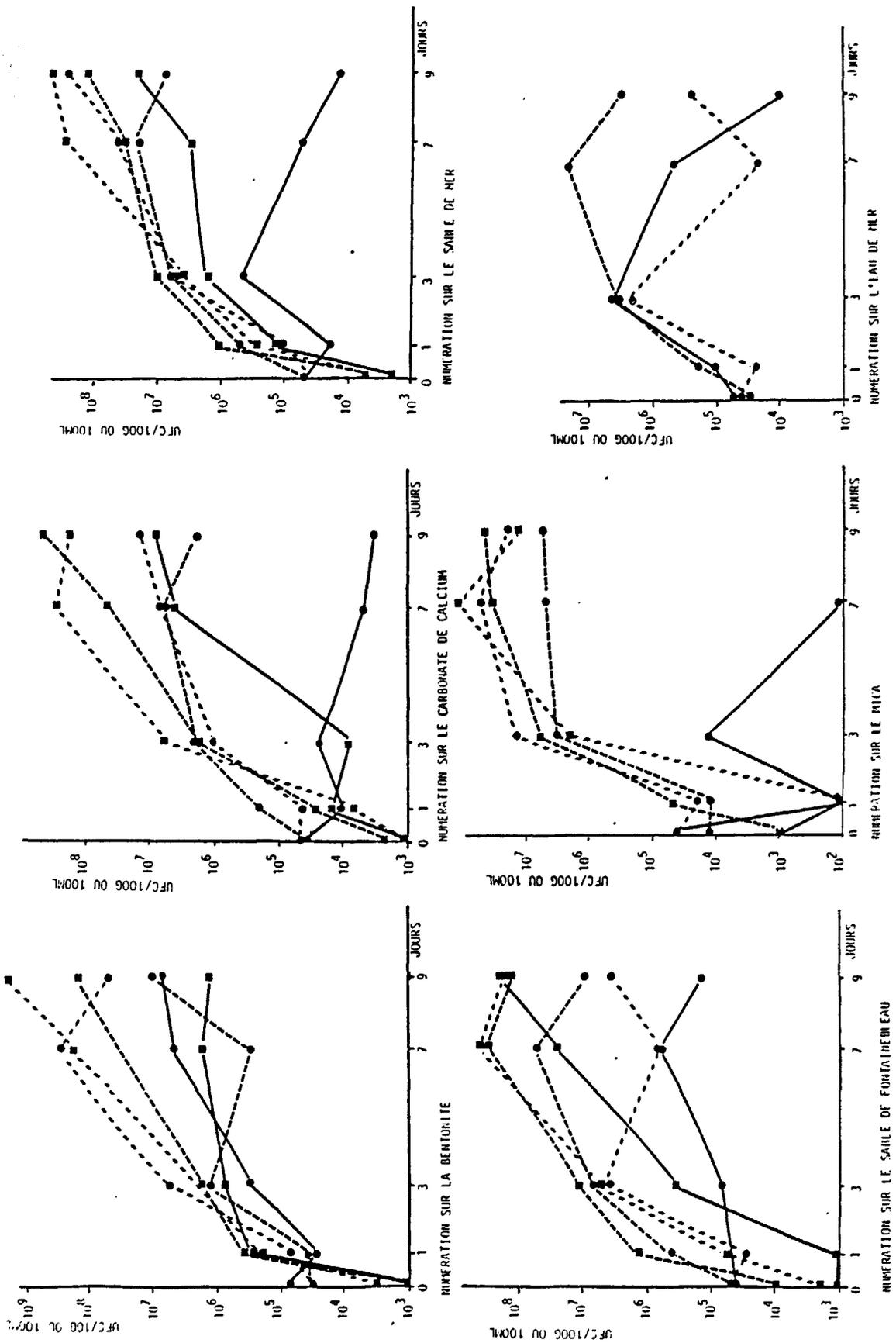


Fig.7: Tests préliminaires, expérience B.

Evolution de la population bactérienne dans l'eau (●) et dans le sédiment (■), dans les flacons additionné d'albumine bovine (---), de glucose (- · -) et témoins (—).

Le sable de Fontainebleau présente une évolution différente. Dans le flacon témoin (c'est à dire n'ayant reçu aucun enrichissement) la population diminue puis après 9 jours se multiplie de nouveau. Aucun élément de l'expérimentation ne permet d'apporter d'explications à ce phénomène pour le moment.

Dans les flacons témoins eau de mer avec glucose ou albumine bovine, après une croissance pendant la première journée la souche décroît légèrement puis la croissance reprend. Ce déclin est plus marqué dans l'eau de mer sans albumine-bovine ni glucose.

### 5) *Expérience B*

Nous avons renouvelé l'expérience avec un inoculum plus faible ( $5.10^4$  UFC/100ml). Un prélèvement est effectué immédiatement après que l'eau de mer soit mise en contact avec le sédiment.

Dans l'eau, les numérations correspondent à l'inoculum de départ, tandis que dans le sédiment la contamination varie de 1 à  $3.10^3$  UFC/100g dans les différents flacons (fig.7).

Après 24h de contact, dans tous les flacons la croissance au niveau du sédiment est importante. Par exemple, sur la bentonite ou le sable de mer, la population croît de  $10^3$  à  $5.10^5$  UFC/100g.

Cette croissance se poursuit et une semaine après le début de l'expérimentation les populations dans les flacons avec protéine ou sucre sont d'environ  $10^8$  UFC/100ml ou 100g. Dans les flacons témoins la croissance est plus modérée, jusqu'à  $10^6$  UFC/100ml ou 100g, sauf pour le sable de Fontainebleau dont la population dans le sédiment atteint  $10^8$  UFC/100g. Pour le carbonate de calcium, le sable de mer et le sable de Fontainebleau, la population de l'eau survit mais ne se multiplie pas.

Pour expliquer ces fortes croissance, nous pouvons reprendre les 2 hypothèses avancées précédemment (solubilisation de la source d'enrichissement et densité bactérienne trop élevée). Les mesures des concentrations de glucose confirme cette solubilisation (cf tab.3). En fin d'expérimentation, la concentration de glucose est même supérieure à celle du sédiment.

Jour	Matériel particulaire	Concentration en glucose	
		eau (mg/ml)	sédiment (mg/g)
0	Bentonite	0	28,2
	Sable de fontainebleau	0	24,8
	Sable de mer	0	30,0
	Mica	0	48,0
	Carbonate de calcium	0	15,2
	Eau de mer témoin	0,6	-
9	Bentonite	6,1	16,2
	Sable de fontainebleau	10,0	1,5
	Sable de mer	13,5	6,4
	Mica	38,2	11,2
	Carbonate de calcium	14,0	4,4
	Eau de mer témoin	0,29	-

**Tableau 3:** Mesure des concentrations de glucose -expérience B.

Cette solubilisation élevée du glucose nous à conduit à abandonner cette source d'enrichissement.

### 6) *Expérience C*

Les résultats obtenus jusqu'à présent présentent des ressemblances dans l'évolution des différentes particules.

L'examen de leur granulométrie permet de les classer en 2 groupes:

- particules  $< 100\mu\text{m}$ : bentonite ( $80\mu\text{m}$ )  
carbonate de calcium ( $< 45\mu\text{m}$ )  
mica ( $10-40\mu\text{m}$ )
- particules  $> 100\mu\text{m}$ : sable de mer ( $100-300\mu\text{m}$ )  
sable de fontainebleau ( $150-210\mu\text{m}$ )

Nous avons choisi un type de particules parmi chaque groupe:

- le carbonate de calcium (particules fines)
- le sable de mer (grosses particules anguleuses)

D'autre part, ces premières expérimentations ne mettant pas en évidence de différence dans le devenir de la souche entre l'eau et le sédiment, nous avons essayé de trouver dans les publications sur ce sujet une explication à notre problème. C'est ainsi que nous nous sommes aperçu que MEADOWS (1971) et FLETCHER (1975) montrent que l'albumine bovine diminue l'adhésion par action sur la surface de la bactérie. Ce mécanisme, selon les auteurs, résulterait de l'adsorption ou de la réaction avec les polysaccharides extracellulaire bactérien.

Notre nouvelle option s'est alors portée sur la caséine, favorisant l'adhésion des bactéries sur des plaques de verre (MEADOWS, 1971).

Un nouvel essai a donc été réalisé avec le carbonate de calcium et le sable de mer et, comme source d'énergie et de carbone, la caséine.

\* Dosage de la caséine.

Jour	Matériel particulaire	Concentration en caséine	
		eau (mg/ml)	sédiment (mg/g)
0	Sable de mer	0	0,64
	Carbonate de calcium	0	7,20
11	Sable de mer	0,14	0,12
	Carbonate de calcium	0,16	2,12

La solubilisation de la caséine à partir du sable est importante: après 11 jours de contact, la concentration de l'eau est la même que celle des particules. Par contre sur le carbonate de calcium, la concentration au niveau des particules reste très supérieure à celle de l'eau

Pendant l'expérimentation, la caséine est consommée aussi bien dans le sable de mer que dans le carbonate de calcium.

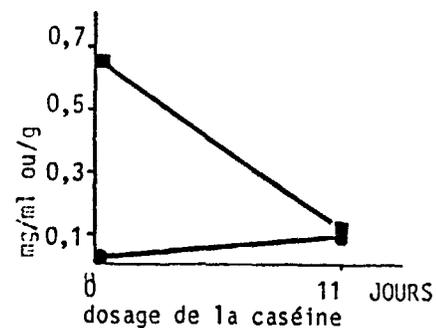
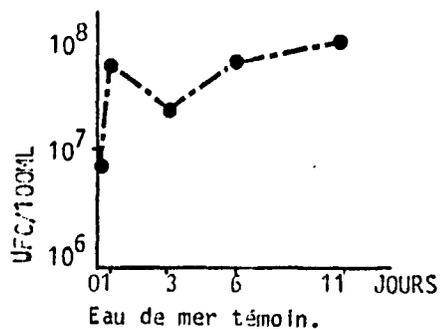
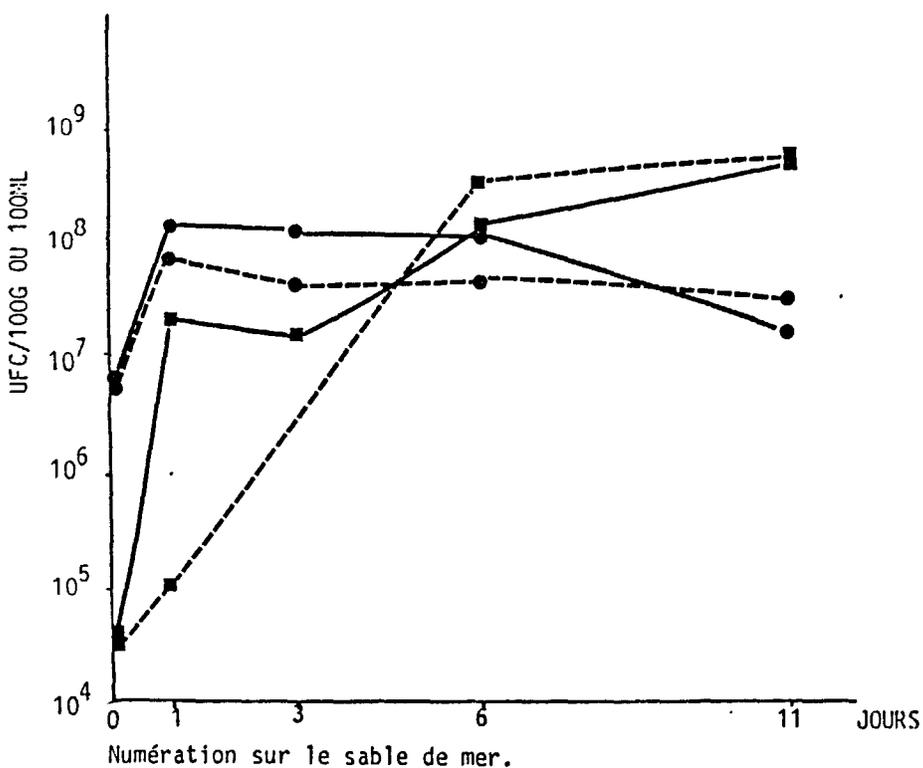
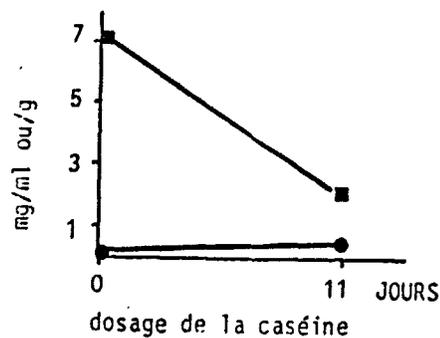
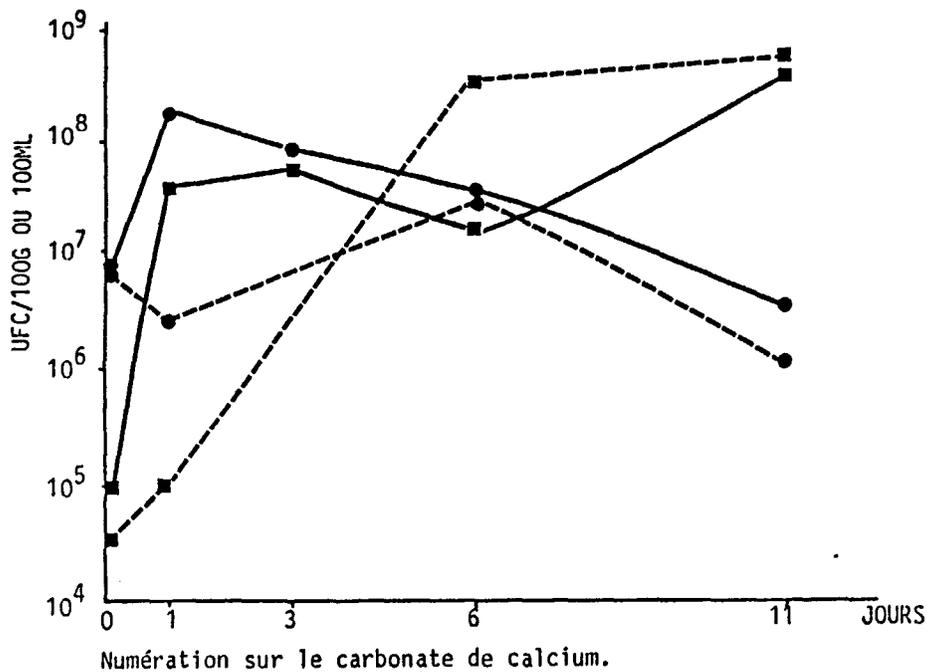


Fig.8: Tests préliminaires, expérience C.

Evolution de la population bactérienne dans l'eau (●) et dans le sédiment (■), dans les flacons additionné de caséine (—), et témoins (----).

## \* Résultats

Sur le carbonate de calcium avec caséine, la souche se multiplie dans l'eau et sur les particules. La croissance est particulièrement importante au niveau du sédiment: en 24h la population est multipliée par un facteur 1000 (fig.8).

Après 3 jours, la population de l'eau diminue tandis que celle du sédiment poursuit sa croissance. La différence, obtenue en fin d'expérimentation, est de l'ordre de 100.

Dans le flacon témoin, la souche reste stable dans l'eau et se multiplie dans le sédiment mais de façon plus lente que dans le flacon avec caséine. L'écart entre les populations de l'eau et du sédiment après 11 jours de contact, est de 1000.

Sur le sable, l'évolution est sensiblement identique. Dans le flacon avec caséine, la croissance est rapide et importante au niveau du sédiment. La population de l'eau se stabilise après 72h.

Dans le flacon témoin, la croissance dans le sédiment s'étend sur 6 jours.

Dans tous les cas, les populations obtenues en fin d'expérimentation au niveau du sédiment sont au moins 10 fois supérieures à celles de l'eau surnageante.

La souche implantée dans l'eau de mer seule se multiplie pendant 24h puis survit.

### *7) Etablissement du protocole*

Afin d'éviter la phase de multiplication de la souche observée pendant les 24 premières heures, l'ensemencement de l'eau de mer est réalisé 48h avant la mise en oeuvre de l'expérimentation.

Carbonate de calcium et sable de mer (50g) après stérilisation, sont mis en contact avec 20ml d'une solution de caséine à 2%, agité violemment pendant 1minute puis laissé 48h. Le surnageant est alors éliminé et les sédiments sont rincés 10 fois à l'eau distillée stérile.

Des mesures de la quantité de caséine relarguée dans les eaux de rinçage montrent qu'après le sixième lavage, les concentrations sont négligeables.

Les sédiments sont séchés pendant 18h à l'étuve à 50°C.

L'eau de mer contenant la souche d'*E.coli* (concentration d'environ  $10^4$  UFC/100ml) est alors mise en contact avec les sédiments (100ml) dans des flacons de verre fermés.

Pour chaque sédiment, un flacon témoin, c'est à dire sans caséine, est égalementensemencé.

Le suivi de la souche bactérienne dans l'eau de mer s'effectue dans un flacon sans addition de matériel particulaire.

Les flacons sont laissés pendant 10 jours à la température du laboratoire (15-18°C) à l'obscurité. Des prélèvements sont effectués régulièrement et incubés à 37°C après étalement sur gélose Drigalski. A aucun moment de l'expérimentation les flacons ne sont agités.

Ce protocole sera utilisé pour étudier l'influence des particules sur la survie de la souche d'*E.coli*.

## II. ADHESION SUR LAMES DE VERRE

Par quel mécanisme la souche d'*E.coli* adhère t-elle?

Pour apprécier le mode d'adhésion nous avons voulu décrocher les bactéries adhérentes par divers produits chimiques.

Le but de cette étude préliminaire est d'obtenir des bactéries adhérentes sur un support permettant de tester les réactifs et un dénombrement bactérien facile.

L'adhésion sur les lames de verre pour préparation microscopique nous a semblé convenable, la lecture pouvant se faire directement sur le support par coloration à l'orange d'acridine.

Nous avons fait varier la concentration de la suspension bactérienne, le mode de préparation des lames ainsi que le temps d'immersion de la lame dans la suspension bactérienne de façon à obtenir une densité de bactéries adhérentes suffisante pour apprécier les diminutions causées par les produits susceptibles de rompre les liaisons d'adhérence de la souche.

Tous les essais sont réalisés en double, les résultats présentés constituant la moyenne des 2 numérations obtenues.

Une culture en bouillon Trypticase soja incubée pendant 24h à 37°C, de la souche d'*E.coli* est centrifugée. FLETCHER et PRINGLE (1983) ayant montré que le simple lavage des bactéries peut modifier les capacités d'adhésion en éliminant des composants pariétaux, le culot est repris directement et mis en suspension dans de l'eau de mer naturelle stérilisée par filtration sur membrane de 0,22µm de pore.

Les lames sont stérilisées à l'autoclave (121°C pendant 20min) ou traitées chimiquement puis immergées dans la suspension bactérienne de 15minutes à 24h. Elles sont ensuite séchées et colorées.

### 1) *Choix de la concentration de la suspension bactérienne.*

Des essais sont réalisés sur des lames stérilisées à l'autoclave avec différentes concentrations de la souche dans l'eau de mer. Les numérations obtenues sont les suivantes:

<b>suspension bactérienne</b> (bactéries/ml)	2,5 10 <sup>5</sup>	3,4 10 <sup>6</sup>	2,2 10 <sup>7</sup>
<b>lame</b> (bactéries/mm <sup>2</sup> )	8,0 10 <sup>1</sup>	8,0 10 <sup>2</sup>	1,4 10 <sup>3</sup>

Le nombre de bactéries adhérentes sur la lame est proportionnel à la concentration de la suspension bactérienne, le dénombrement des lames se faisant au microscope après coloration par l'orange d'acridine il faut respecter un seuil minimal de densité bactérienne. Par exemple, 8,0.10<sup>1</sup> bactéries/mm<sup>2</sup> correspond à 1/2 bactéries par champ de microscope. Notre désir étant de mettre en évidence un décrochement des bactéries une densité minimale de 1000bactéries/mm<sup>2</sup> doit être atteinte d'ou une suspension de 10<sup>7</sup>bactéries/ml.

### 2) *Influence du lavage de la lame.*

Les conditions expérimentales sont identiques à l'expérimentation précédente mais des lavages sont effectués en eau distillée filtrée, sur un agitateur rotatif pendant 2 ou 5 minutes. Le dénombrement est ensuite effectué.

<b>suspension bactérienne</b> (bactéries/ml)	$6,9 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^7$
<b>lame</b> (bactéries/mm <sup>2</sup> )			
non lavée	$2,8 \cdot 10^3$	$8,9 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^3$
lavée 2 min	$5,6 \cdot 10^2$	$2,4 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2$
lavée 5 min	$2,8 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^2$

Comme nous l'avons vu lors de l'étude bibliographique, l'adhésion se déroule en deux étapes, réversible et irréversible. Le lavage permet d'éliminer les bactéries qui sont dans la première phase de l'adhésion.

Bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre les deux temps de lavage, nous avons sélectionné le temps de lavage de 5 minutes.

### 3) Variations du temps de contact

Les lames sont immergées dans la suspension bactérienne pendant des temps variant de 15min à 48h. Des lames prélevées régulièrement sont dénombrées directement et après lavage de 5min.

suspension bactérienne (bactéries/ml)	temps d'immersion (heures)	lame	
		non lavée (bactéries/mm <sup>2</sup> )	lavée 5min (bactéries/mm <sup>2</sup> )
$9,0 \cdot 10^6$	0,15	$3,8 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^1$
" "	0,30	$9,2 \cdot 10^2$	$6,2 \cdot 10^1$
" "	1	$2,9 \cdot 10^3$	$3,7 \cdot 10^1$
" "	1,30	$1,5 \cdot 10^3$	$6,2 \cdot 10^1$
" "	2	$3,5 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2$
" "	3	$3,5 \cdot 10^3$	$2,7 \cdot 10^2$
$1,1 \cdot 10^7$	24	$8,3 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^2$

Nos résultats montrent qu'après 2h de contact on obtient 10 fois plus de bactéries adhérentes qu'après 0,15h. Pour une immersion de 24h, la population de bactéries adhérentes est multipliée par 3. Ces résultats sont en accord avec ceux de FLETCHER (1977,1979) et HUMPHRIES et al.(1987): plus le temps alloué à l'attachement est long, plus le nombre de bactéries adhérentes est élevé.

#### 4) Mode de préparation des lames

Certains auteurs (DANIELSSON, 1977, ALLISON et SUTHERLAND, 1984) préconisent le lavage par l'acide sulfurique ou un détergent afin de mieux préparer la surface de la lame de verre. Nous avons testé 3 types de préparation des lames:

- acide sulfurique (1N): les lames sont immergées pendant 1h dans un bain d'acide puis rincées 20 fois à l'eau distillée stérile sous agitation magnétique.

- Teepol: les lames sont immergées pendant 1h dans une solution à 10% puis rincées 20 fois à l'eau distillée stérile sous agitation magnétique.

Ces lames, après traitement par l'acide ou le Teepol sont plongées dans un bain d'alcool puis flambées extemporanément avant la mise en oeuvre de l'expérimentation.

- autoclave: les lames sont stérilisées comme lors des précédents essais c'est à dire pendant 20 minutes à 121°C.

Les lames sont ensuite immergées 2h et 24h en contact avec la suspension bactérienne:

##### \* Lames préparées par autoclavage:

Temps immersion	suspension bactérienne (bactéries/ml)	lame	
		non lavée (bactéries/mm <sup>2</sup> )	lavée 5min. (bactéries/mm <sup>2</sup> )
2h	4,6 10 <sup>6</sup>	1,0 10 <sup>3</sup>	9,3 10 <sup>1</sup>
24h	8,9 10 <sup>7</sup>	2,7 10 <sup>3</sup>	1,0 10 <sup>3</sup>

##### \* Lames préparées par traitement à l'acide:

Temps immersion	suspension bactérienne (bactéries/ml)	lame	
		non lavée (bactéries/mm <sup>2</sup> )	lavée 5min. (bactéries/mm <sup>2</sup> )
2h	4,6 10 <sup>6</sup>	1,3 10 <sup>3</sup>	5,3 10 <sup>3</sup>
24h	8,9 10 <sup>7</sup>	1,3 10 <sup>4</sup>	5,2 10 <sup>2</sup>

\* Lames préparées par traitement au détergent:

Temps immersion	suspension bactérienne (bactéries/ml)	lame	
		non lavée	lavée 5min. (bactéries/mm <sup>2</sup> )
2h	4,6 10 <sup>6</sup>	1,6 10 <sup>3</sup>	7,7 10 <sup>3</sup>
24h	8,9 10 <sup>7</sup>	7,7 10 <sup>3</sup>	2,5 10 <sup>3</sup>

Après 2h d'immersion, sur les lames brutes les 3 modes de préparation donnent les mêmes résultats. Après lavage, les lames traitées par l'acide ou le détergent ont une densité bactérienne 5 fois supérieure à celles traitées par autoclavage.

Après 24h d'immersion, les différences sur les lames brutes sont importantes: les densités bactériennes sur les lames traitées par l'acide sont 10 fois supérieures à celles autoclavées. Après lavage, les différences s'atténuent mais on obtient sur les lames préparées par le détergent ou l'acide des populations de 3 à 5 fois plus élevées que sur celles préparées par autoclavage.

*5) Influence de l'état physiologique des bactéries*

Nous avons comparé les populations obtenues sur des lames immergées pendant 2h soit dans une suspension fraîche d'*E.coli* ou dans une suspension de 48h.

\* lames immergées dans une suspension fraîche de la souche:

suspension bactérienne: 4,6.10<sup>6</sup>bactéries/ml

lames préparées par:	autoclave	acide	détergent
(bactéries/mm <sup>2</sup> )			
non lavée	1,0 10 <sup>3</sup>	1,3 10 <sup>3</sup>	1,6 10 <sup>3</sup>
lavée 5min.	9,3 10 <sup>1</sup>	5,3 10 <sup>2</sup>	4,0 10 <sup>2</sup>

\* Lames immergées dans une suspension de 48h de la souche:  
suspension bactérienne:  $2,6 \cdot 10^6$  bactéries/ml

lames préparées par: (bactéries/mm <sup>2</sup> )	autoclave	acide	détergent
non lavée	$5,0 \cdot 10^1$	$3,0 \cdot 10^2$	$3,4 \cdot 10^2$
lavée 5min.	$9,4 \cdot 10^0$	$1,5 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$

Ces résultats montrent une diminution de l'adhérence de la souche lorsqu'elle est depuis 48h dans l'eau.

Les lames préparées par traitement à l'acide ou au détergent permettent une meilleure adhésion de la souche d'*E.coli* par rapport aux lames préparées par autoclavage. Pour la suite de notre étude nous utiliserons des lames préparées par le Teepol comme le préconise par ailleurs DANIELSON et al. (1977).

#### 6) Influence du temps d'immersion

Nous avons renouvelé l'expérience sur la variation du temps de contact avec les lames préparées par le détergent.

suspension bactérienne (bactéries/ml)	temps d'immersion (heures)	lame (bactéries/mm <sup>2</sup> )	
		non lavée	lavée 5min
$2,8 \cdot 10^6$	0,30	$1,4 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^1$
" "	1	$7,0 \cdot 10^2$	
" "	1,30	$5,4 \cdot 10^2$	$3,8 \cdot 10^2$
" "	2	$6,2 \cdot 10^2$	$5,2 \cdot 10^2$
$2,0 \cdot 10^6$	24	$1,1 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$
$2,7 \cdot 10^6$	48	$4,5 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$

Après 1/2h d'immersion de la lame dans la suspension bactérienne, peu de bactéries adhèrent et l'adhésion est relativement faible puisque le lavage élimine 80% des bactéries. Après 1,30h d'immersion, la perte due au lavage de la lame est plus faible (29%) et diminue encore après 2h d'immersion (16%).

Un contact étendu à 24h permet d'augmenter le nombre de bactéries adhérentes (environ 500bactéries/mm<sup>2</sup>), la perte par le lavage reste minimale. Après 48h le nombre de bactéries adhérentes est sensiblement le même.

### 7) Influence de l'agitation

Les lames sont immergées pendant 2h dans la suspension d'*E.coli*. L'incubation de la moitié des lames est faite sans agitation tandis que l'autre moitié des lames est placée sur un agitateur rotatif. Les lames sont lavées pendant 5 minutes avant d'être colorées.

suspension bactérienne (bactéries/ml)	lames	
	sans agitation (bactéries/mm <sup>2</sup> )	avec agitation (bactéries/mm <sup>2</sup> )
3,0 10 <sup>6</sup>	6,8 10 <sup>2</sup>	3,9 10 <sup>1</sup>

La différence obtenue est importante: l'agitation inhibe 94% de l'adhésion. Ces résultats sont en accord avec ceux de FLETCHER (1979) qui montrent que l'agitation de bactéries mobiles n'augmentent pas le taux d'adhésion. STANLEY (1983) montre une diminution de 90% de l'adhésion lorsque les flagelles sont éliminés par agitation.

### 8) Etablissement du protocole

Le protocole final est le suivant:

- un bouillon Trypticase soja de 24h de la souche d'*E.coli* est centrifugé puis remis en suspension dans de l'eau de mer filtrée sur membrane de 0,22µm de pores. La concentration finale est de l'ordre de 1.10<sup>7</sup> bactéries/ml.

- les lames sont lavées pendant 1h sous agitation magnétique dans une solution de Teepol à 10%. Après 20 rinçages en eau distillée stérile, elles sont plongées dans un bain d'alcool puis flambées. Cette dernière étape est réalisée extemporanément à la mise en oeuvre de l'expérimentation.

- les lames sont immergées pendant 2h ou 24h dans la suspension bactérienne à température ambiante. Ces lames sont ensuite lavées pendant 5minutes en eau distillée stérile filtrée sur un agitateur de rotatif.

Ces lames serviront à étudier le mode d'adhésion de la souche d'*E.coli*: elles sont immergées pendant 1h dans des solutions de produits susceptibles de rompre les liaisons d'adhérence puis séchées et colorées par l'orange d'acridine avant numération.

E ETUDE SUR LA RIVIERE DE MORLAIX

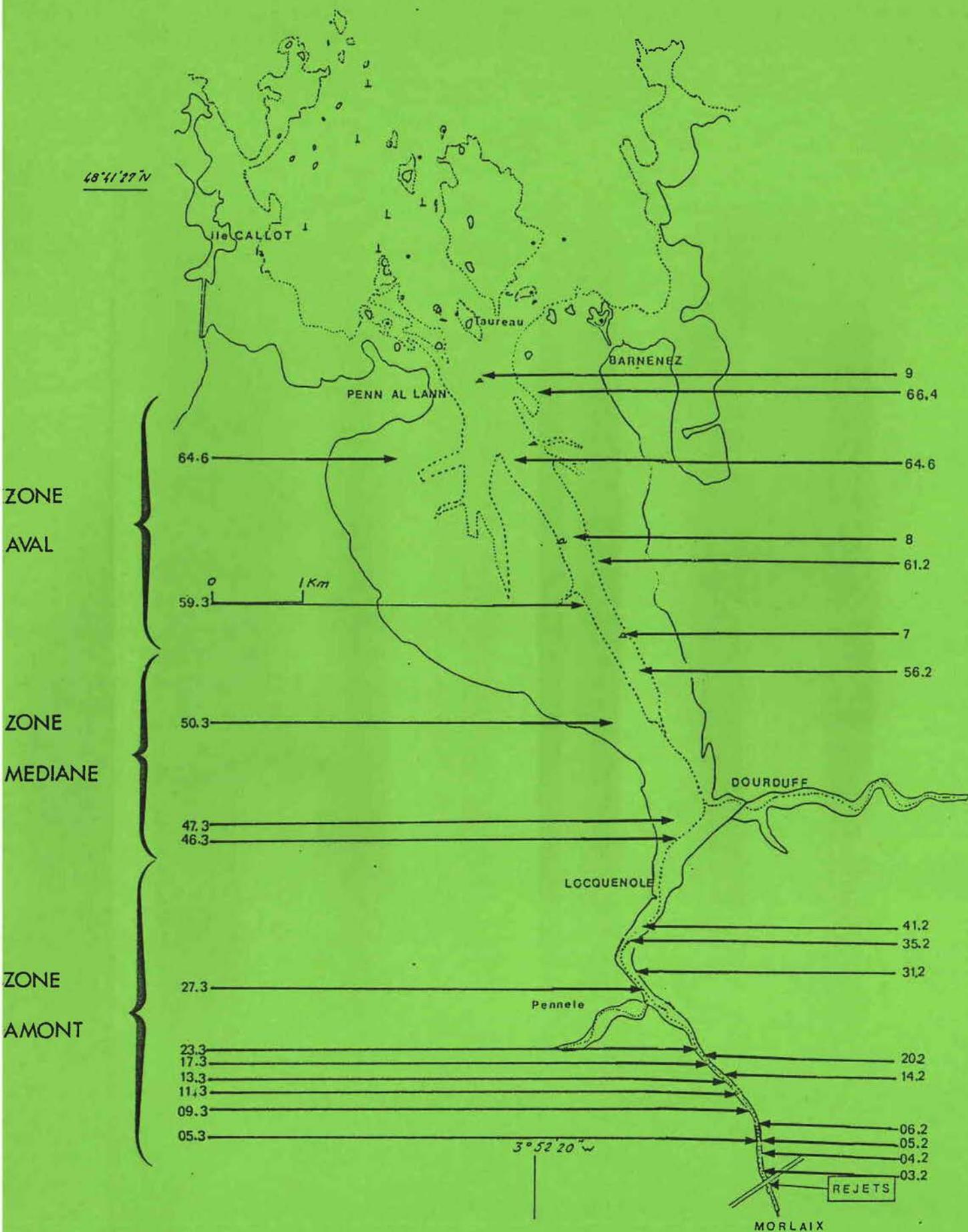


Fig.9: Localisation des prélèvements dans la baie de Morlaix.

## E ETUDE SUR LA RIVIERE DE MORLAIX

### I PRESENTATION DU SITE D'ETUDE.

L'étude sur le site de Morlaix réalisée par l'IFREMER dans le cadre du programme "Rejets Urbains en Mer" comporte trois principaux objectifs:

- déterminer les processus qui gouvernent en zone côtière le transport physique et les transformations physico-chimiques ou biologiques des contaminants issus des rejets urbains.
- évaluer les effets sur l'environnement côtier des contaminants majeurs émis par les rejets urbains
- identifier les axes possibles d'amélioration des technologies d'épuration et de rejets, spécifiques au milieu littoral.

Deux sites jugés suffisamment représentatifs ont été retenus:

- Toulon est: rejet en mer par émissaire à -44m des effluents urbains provenant d'une station d'épuration physico-chimique
- Morlaix: rejet en tête d'estuaire des effluents d'une station d'épuration biologique à boues activées.

Les études sur le site de Morlaix ont été réalisées par le département DERO/EL de l'IFREMER qui nous a permis de participer aux campagnes de prélèvement et aux traitements des échantillons de bactériologie.

L'estuaire de Morlaix comporte 2 parties:

- la rivière maritime de Morlaix
- une baie, prolongeant la rivière jusqu'à la pointe de Penn al Lann, limite aval de l'étude (fig.9).

La rivière maritime de Morlaix, limitée en amont par un bassin à flot est situé à la confluence de deux cours d'eau, le Jarlot et le Queffleu, qui drainent un bassin versant de 191km<sup>2</sup>.

La rivière, longue de 5,5km s'écoule depuis le bassin à flot jusqu'à la rade, dans une vallée resserrée (la largeur du chenal varie de 100m à pleine mer à 10m à basse mer).

La Pennelé, rive gauche à 2850m du bassin à flot, draine un bassin versant de 43km<sup>2</sup> et se jette dans la rivière. Plus en aval (600m environ), la rivière s'élargit jusqu'à la confluence avec le Dourduff (bassin versant de 74km<sup>2</sup>).

La baie, longue de 5km et large de 3,5km dans sa plus grande dimension est refermée au nord par la pointe de Penn al Lann. A basse mer, cette baie offre un vaste estran essentiellement occupé dans sa plus grande partie par des parcs ostréicoles. La superficie totale est de 1300hectares.

En tête d'estuaire, la station biologique à boues activées rejette ses effluents. Cette station comprend deux filières identiques de traitement qui fonctionnent en parallèle et qui comprennent chacune, après le prétraitement des effluents (dégrillage, dessablage, dégraissage) un décanteur primaire, un bassin d'aération (boues activées) et un décanteur secondaire. En fin de traitement, il existe un bassin de chloration (désinfection au dioxyde de chlore) qui fonctionne de juin à septembre.

Les débits d'effluents bruts arrivant à la station sont de l'ordre de 300m<sup>3</sup>/h. Ces débits, trop importants, ne peuvent être admis en totalité dans la station: 30 à 40% des effluents bruts sont directement déversés dans l'estuaire par l'utilisation d'un by-pass situé en entrée de station.

Le volume total de la station est de 2700m<sup>3</sup>. Pour un débit entrant dans la station de 250m<sup>3</sup>/h le temps de séjour des effluents est d'environ 11h.

Les rejets effectués dans la rivière sont donc constitué d'un mélange des flores d'eaux usées d'origine ménagère, industrielle ou de ruissellement et des boues de la station.

Notre étude a pour but d'évaluer l'impact de ces rejets sur la rivière.

Les campagnes de prélèvements se sont déroulées de février 1986 à mars 1988 (cf p.20). Ces campagnes exceptée celle de février ont portés à la fois sur l'étude des eaux et des sédiments en situation de vives eaux et mortes eaux.

## II CAPACITE DE CROISSANCE DES ESPECES BACTERIENNES RENCONTREES DANS L'ESTUAIRE SELON LES MILIEUX DE CULTURE ET LES TEMPERATURES D'INCUBATION UTILISES.

### 1) *Gélose Trypticase.*

Le milieu Trypticase permet la croissance de la flore hétérotrophe totale. Cette flore hétérotrophe peut être d'origine marine ou d'origine terrestre par contamination.

Pour permettre la croissance des flores hétérotrophes d'origine marine nous avons choisi d'augmenter sa teneur en sel par une fabrication à partir d'eau de mer. Cette technique présente aussi l'avantage d'apporter tous les oligo-éléments du milieu marin. Ce milieu est alors incubé à 25°C pour permettre la croissance des bactéries de l'environnement: l'incubation à 37°C pouvant, dans ce cas, être inhibitrice.

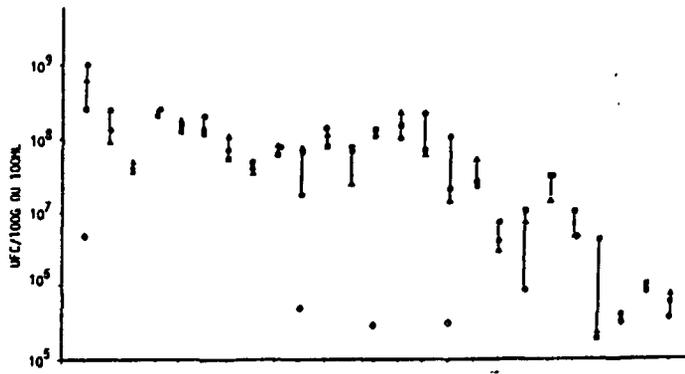
Par contre, cette température d'incubation à 37°C pour ce milieu Trypticase préparé avec de l'eau distillée favorise la croissance de la flore hétérotrophe de contamination.

### 2) *Milieu de Drigalski.*

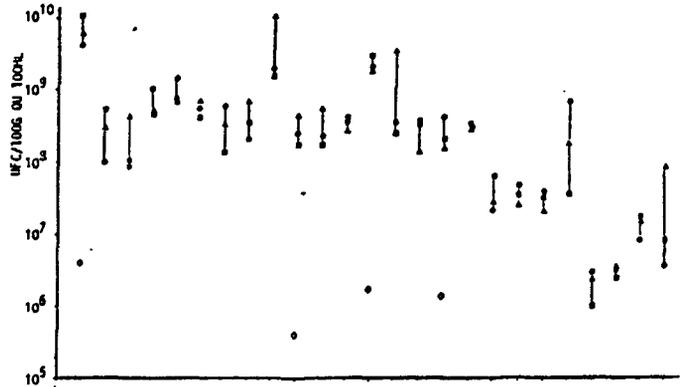
Nous avons choisi d'étudier le milieu de Drigalski pour obtenir les numérations des bactéries à gram négatif.

Ce milieu préparé avec de l'eau de mer et incubé à 25°C ou préparé avec de l'eau distillée et incubé à 37°C permet de séparer les bactéries à gram négatif du milieu marin des bactéries à gram négatif de contamination.

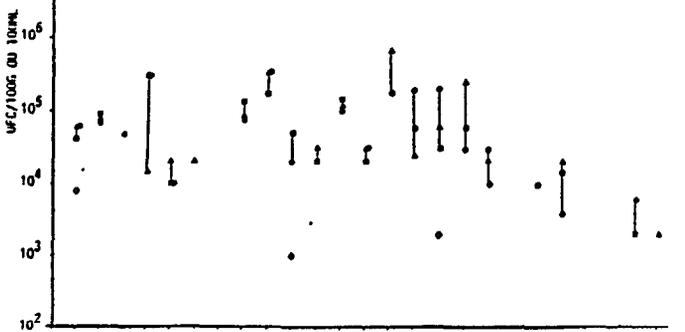
Gélose Trypticase  
incubée à 37°C.



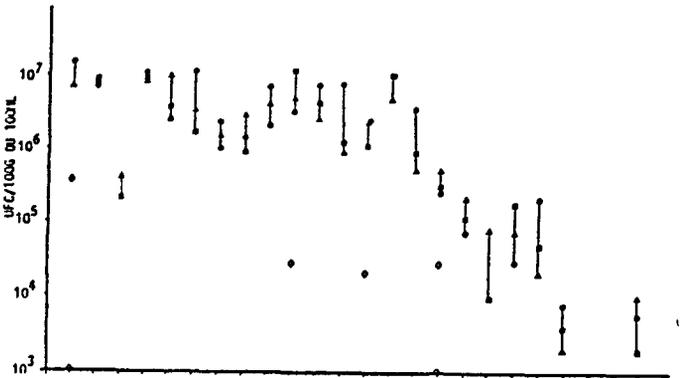
Gélose Trypticase  
incubée à 25°C.



Milieu de TCBS  
incubé à 37°C



Milieu de Drigalski  
incubé à 42°C, colonies lactose +.



Milieu de Slanetz  
incubé à 37°C.

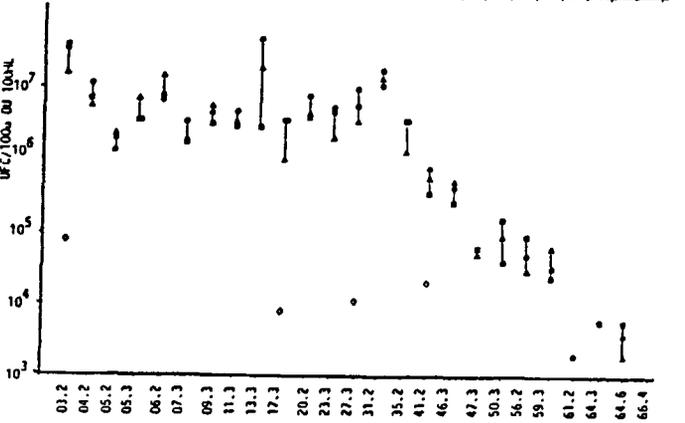


Fig.10: Evolution des populations bactériennes dans le sédiment (■ ▲ ●) et dans l'eau (◇) le long de l'estuaire en situation de mortes eaux.

Il est évident que cette méthode ne permet pas une sélection absolue mais on peut tout de même considérer que les espèces qui se développent sur ces milieux de culture sont représentatives des flores que l'on cherche à étudier.

La méthode classique et légale d'isolement des coliformes fécaux est de 44,5°C. Lors d'études préliminaires, nous avons pu constater que de nombreux colibacilles en état de stress sont incapables de se développer à de telles températures: le rendement des cultures est meilleur à 42°C. A une telle température, si l'on ne prend en compte que les colonies lactose +, on peut constater qu'il s'agit presque essentiellement d'*E.coli* et éventuellement quelques entérobactéries.

### III ETUDE DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE DU SEDIMENT

La première campagne, réalisée en février 1986 était constituée essentiellement de prélèvements de sédiment.

Chaque prélèvement a été réalisé sous la forme d'un triplicat c'est à dire que 3 échantillons ont été prélevés sur une surface inférieure à 1m<sup>2</sup>.

Les points de prélèvements ont été répartis ainsi:

- 16 en zone amont
- 4 en zone médiane
- 5 en zone aval.

#### 1) Situation en mortes eaux.

Nous pouvons comparer les flores isolées sur gélose Trypticase incubée à 37°C et à 25°C, milieu de Drigalski incubé à 42°C (numération des colonies lactoses +), milieu de Slanetz incubé à 37°C et milieu de TCBS incubé à 37°C (fig.10).

En abscisse les numéros correspondent aux points de prélèvement répartis le long de l'estuaire, de l'amont vers l'aval. En ordonnée, les concentrations sont données en nombre d'unité formant colonie (UFC) pour 100g de poids humide de sédiments ou 100ml d'eau de mer.

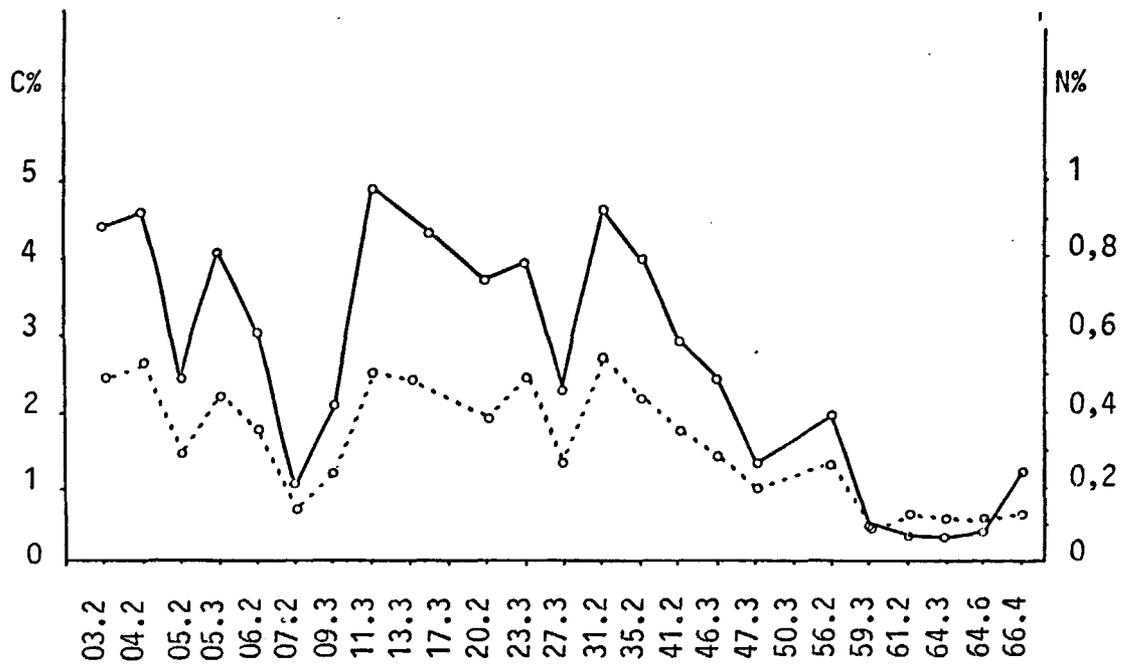


Fig.11: Teneurs en carbone et azote organique le long de l'estuaire.

Le point le plus amont (03.2) correspond au point de rejet de la station d'épuration, principale source de contamination.

L'aspect général des courbes qu'ils s'agisse de la flore autochtone ou allotochtone est sensiblement identique. Les numérations les plus élevées sont trouvées dans l'estuaire proprement dit c'est à dire du point 03.2 au point 35.2.

Les courbes présentent quasiment toutes un rebond au niveau des points 27.3-31.2 qui laisse penser qu'il existe une source secondaire de contamination constitué par la Pennelé.

Dans l'estuaire, les numérations correspondantes à la flore hétérotrophe totale, isolée sur gélose Trypticase incubée à 25°C (et contenant 40g/l de NaCl), sont comparables à celles de la flore hétérotrophe de contamination isolée sur milieu Trypticase incubée à 37°C (sans addition de NaCl).

La flore lactose + isolée sur milieu de Drigalski incubé à 42°C est remarquablement stable dans l'estuaire et représente approximativement 1% de la flore totale. La population d'entérocoques, isolée sur milieu de Slanetz est de même importance que celle correspondant aux colonies lactose + sur milieu de Drigalski incubé à 42°C, ce qui confirme l'identité du comportement des entérocoques et des bacilles à gram négatif type entérobactérie.

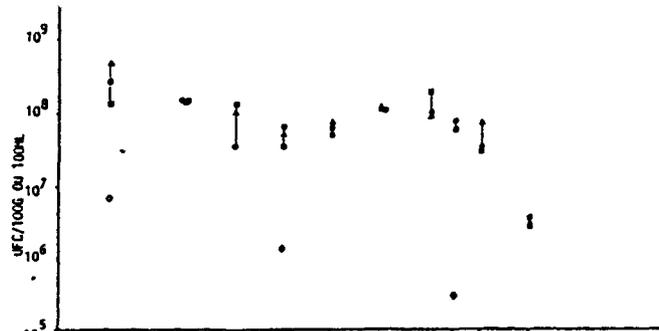
Les vibrios, colonies saccharose + isolés sur milieu de TCBS constitue une part relativement faible de la flore (les numérations sont de 100 à 1000 fois plus faible que celle obtenue sur gélose Trypticase incubée à 25°C).

Dans la partie aval, (point 41.3-66.4) la décroissance du nombre de bactérie est générale. Cette diminution est particulièrement marquée pour les bactéries de contamination (milieu de Drigalski, Slanetz et Trypticase incubé à 37°C).

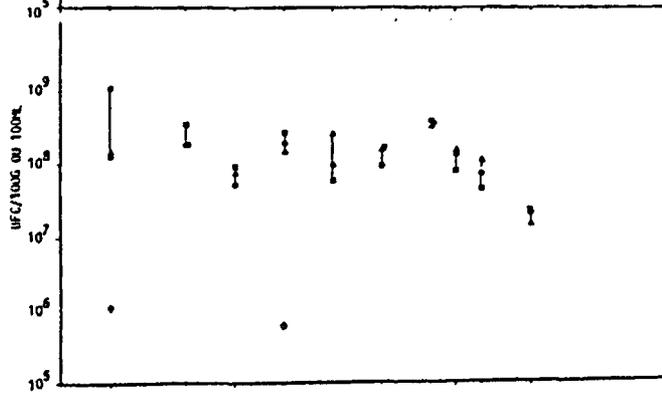
Sur milieu de TCBS et Trypticase incubée à 25°C (et préparé à partir d'eau de mer), cette décroissance est nettement moins marquée.

Malgré la variabilité observée sur les concentrations en carbone et en azote, nos observations confirment la relation entre l'importance de la flore bactérienne et la teneur en matière organique (fig.11).

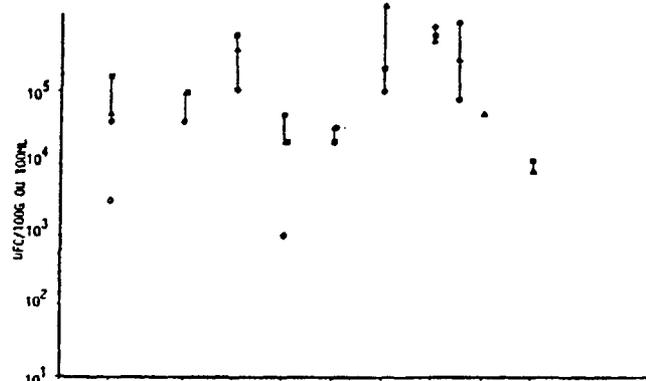
Gélose Trypticase  
incubée à 37°C.



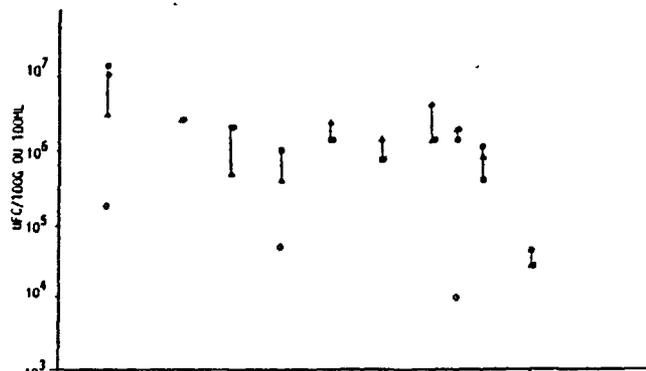
Gélose Trypticase  
incubée à 25°C.



Milieu de TCBS  
incubé à 37°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 42°C, colonies lactose +.



Milieu de Slanetz  
incubé à 37°C.

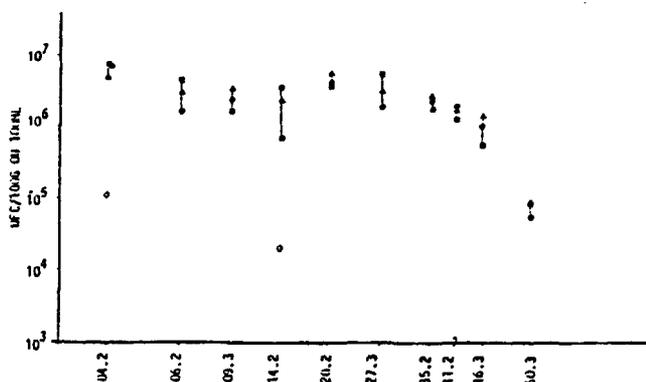


Fig.12: Evolution des populations bactériennes dans le sédiment (■▲●) et dans l'eau (◇) le long de l'estuaire en situation de vives eaux.

Si l'on compare dans l'estuaire proprement dit les numérations dans le sédiment et dans l'eau surnageante, on constate que la flore du sédiment est près de 1000 fois supérieure à la flore aquatique et ce, quelle que soit la flore considérée à l'exception des vibrios dont l'habitat naturel est l'eau de mer.

## 2) *Situation en vives eaux.*

En situation de vive eau, l'aspect général des courbes de l'ensemble des flores est identique. Le niveau de contamination dans le sédiment est identique, de même les rapports entre les flores de l'eau et du sédiment sont inchangés (fig.12).

Une différence notable apparaît cependant. La relative stabilité des diverses populations dans l'estuaire proprement dit s'étend en période de vives eaux jusqu'au point 46.3. A cette période on constate une contamination du sédiment à une plus grande distance de la station d'épuration, contaminant principal, alors que le débit des rivières est inférieur à celui observé en période de mortes eaux.

Cette contamination plus étendue du sédiment peut être causée par un transport sédimentaire par les courants. En effet les prélèvements sont réalisés à basse mer juste après la période de jusant.

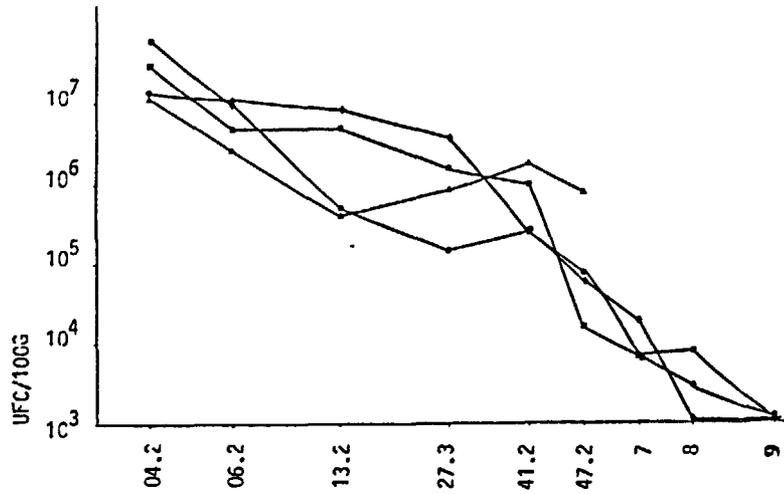
## 3) *Triplicats*

La nature du sédiment est telle que l'homogénéité des flores peut être mise en doute. Différents auteurs effectuent plusieurs prélèvements pour apprécier la qualité d'un sédiment (RUBLEE et al., 1978, ERKENBRECHER, 1981, O'MALLEY et al., 1982).

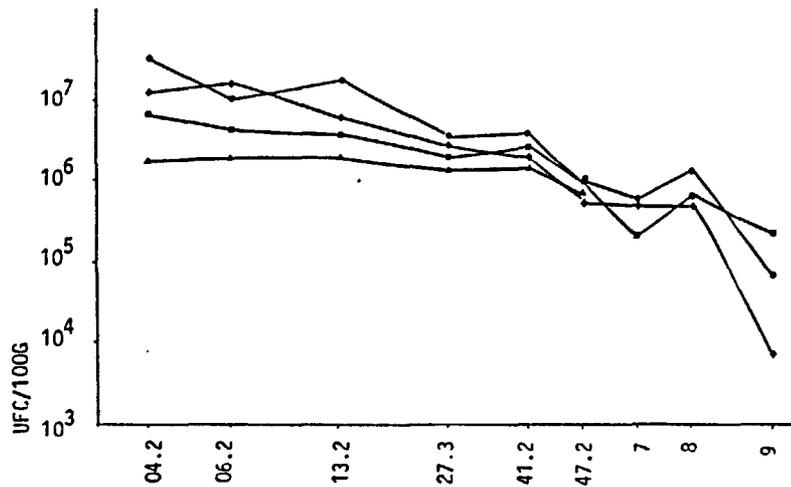
Lors des campagnes du mois de février 1986, les prélèvements ont été réalisés sous forme de triplicats. Ces triplicats sont reportés sur les figures 10 et 12 par l'utilisation de 3 symboles différents.

Les résultats obtenus montrent que les variations entre les différents prélèvements sont en général inférieure à 1 log. La variation longitudinale de l'estuaire (amont/aval), qui est comme nous l'avons vu précédemment de l'ordre de 3 à 4 log, est largement supérieure aux variations entre les différents répliqués.

Milieu de Drigalski  
incubé à 42°C, colonies lactose +.



Gélose Trypticase  
incubée à 25°C.



Milieu de TCBS  
incubé à 37°C

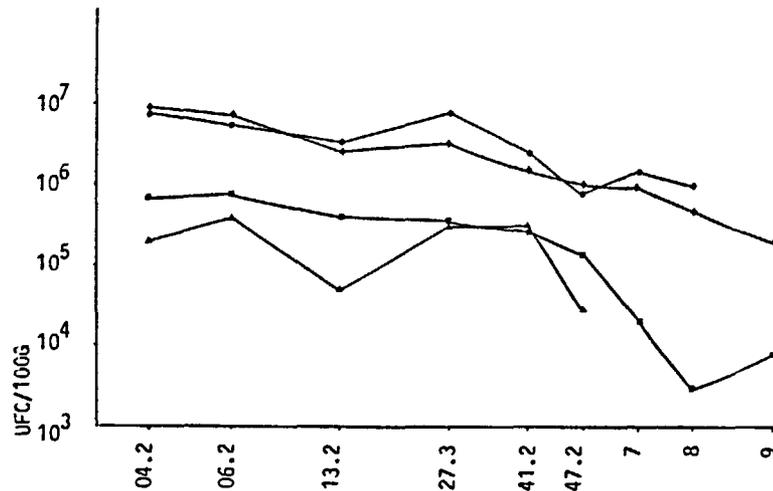


Fig.13: Variations saisonnières au niveau du sédiment de l'estuaire.  
Février 86 (▲), juin 87 (■), octobre 87 (◆) et mars 88 (●).

En zone aval, les écarts de populations sont plus variables: ceci peut s'expliquer par le niveau de contamination faible qui se situe à la limite de sensibilité de la méthode ( $10^3$ UFC/100G), et par la nature du sédiment plus hétérogène (particules grossières) et moins riche en matière organique.

#### 4) Variations saisonnières.

Les diverses campagnes se sont déroulées du mois de février 1986 à mars 1988. Nous avons reportés figure 13 les résultats cumulés des différentes campagnes en situation de vives eaux pour certain milieux tels que le milieu de Drigalski incubé à 42°C (dénombrement des colonies lactoses +), la gélose Trypticases incubée à 25°C et le milieu de TCBS incubé à 37°C.

La flore de contamination, telle que la flore lactose + isolée sur milieu de Drigalski incubé à 42°C ne subit pas de variations saisonnières significatives. Par exemple, au point 04.2 le nombre de colonies lactose + isolées sur milieu de Drigalski incubé à 42°C varie entre  $1,2 \cdot 10^7$ UFC/100g et  $6,0 \cdot 10^7$ UFC/100g et au point 7, point situé en zone aval, de  $7,0 \cdot 10^3$ UFC/100g à  $2,0 \cdot 10^4$ UFC/100g.

La flore hétérotrophe totale isolée sur gélose Trypticase incubée à 25°C et contenant 40g/l de chlorure de sodium reste remarquablement constante quelle que soit la période à laquelle le prélèvement est effectué.

Par contre, sur milieu de TCBS, qui permet d'isoler les vibrionacées germes caractéristiques d'une eau marine, les numérations sont plus importantes en octobre et mars par rapport à février et juin. La variation amont/aval reste faible pour toute les campagnes comme nous l'avions noté lors de la campagne de février.

## IV. DISCUSSION

Les concentrations bactériennes observées dans le sédiment montrent la station d'épuration comme principal contaminant de l'estuaire. Son influence s'exerce sur une distance d'environ 3km.

Les numérations mettent en évidence une source secondaire de contamination au niveau de la Pennelé dont le bassin versant abrite de nombreux élevages industriels. Par contre, le site du Dourduff où sont installées les stations d'épuration des coquillages semble sans influence sur la flore bactérienne du sédiment.

La décroissance des populations bactériennes observées de l'amont vers l'aval est logique. Il est évident que la majorité des particules contaminées vont sédimenter dans la partie amont de l'estuaire.

Les numérations réalisées en situation de vives eaux montrent une contamination plus large que lors des études en mortes eaux. Ce phénomène peut être causé soit par une remise en suspension des particules ayant sédimené auparavant ou par un transport plus important des particules issues du rejet.

Nous n'observons pas de différence de comportement dans le sédiment entre les streptocoques d'origine fécale et les bacilles à gram négatif d'origine fécale: la charge moyenne du sédiment est identique. Dans la partie aval, la décroissance de ces deux flores est particulièrement marquée et les teneurs en carbone et azote organique sont également très faibles.

Par contre, la flore hétérotrophe halophile et les vibrions, isolés sur milieu de TCBS présentent des niveaux de contamination plus stables, la diminution en zone aval étant faible.

Les vibrions constituent par ailleurs la flore la plus sensible aux variations saisonnières. Les populations élevées des bactéries marines dans la partie amont de l'estuaire montrent une pénétration importante des eaux marines.

Dans l'eau, quel que soit le type de flore étudiée, le niveau de contamination est de 100 à 1000 fois inférieur à celui du sédiment. Ceci confirme le rôle de la sédimentation dans l'épuration de l'eau et la survie des bactéries de contamination dans le sédiment.

L'accumulation bactérienne dans les sédiments d'estuaires est un phénomène qui a maintenant été démontré à de très nombreuses occasions. Nous pouvons par exemple nous rapporter aux travaux de LABELLE et al.(1980), ERKENBRECHER (1980), ALLEN et al.(1982), PALUMBO et al.(1984), PRIEUR et al.(1984), et POMMEPUY et al.(1987). Tous ont montré une contamination élevée du sédiment par rapport à l'eau surnageante.

L'absence d'influence des saisons au niveau du sédiment sur les flores de contamination est une notion importante. En effet dans l'eau les variations physico-chimiques dues aux changements de saison jouent un rôle important sur le devenir des germes de contamination (HENDRICKS, 1971, FAUST et al., 1975, KAPUSCINSKI et MITCHELL, 1981, BENT et GOULDER, 1981, IRIBERRI et al., 1987, RHODES et KATOR, 1988). Le sédiment apporte une protection suffisante ainsi que les éléments nutritifs permettant une survie, et les apports constitués par la station étant continuel le taux de contamination du sédiment ne varie pas.

Par contre, les bactéries marines de type vibrio sont sensibles aux variations saisonnières dans l'eau et dans le sédiment (KAPER et al., 1981, GRIMES et COLWELL, 1983, SHIARIS et al., 1987).

F ETUDE IN VITRO SUR LES ECHANGES EAU/SEDIMENT

## F ETUDE IN VITRO SUR LES ECHANGES EAU/SEDIMENT

L'étude bibliographique ainsi que l'étude réalisée sur le site de Morlaix nous ont montré que les bactéries s'accumulent dans le sédiment.

Les concentrations bactériennes dans le sédiment et surtout dans la couche superficielle sont de 100 à 1000 fois supérieures aux concentrations rencontrées dans l'eau surnageante. Les échanges eau/sédiment ont donc une importance capitale pour la qualité des eaux en zone littorale.

Nous avons réalisé une étude en pilote afin d'évaluer les échanges eau/sédiment en absence de toute remise en suspension. Les variations de pH, climatiques, les courants de marée sont ainsi éliminés.

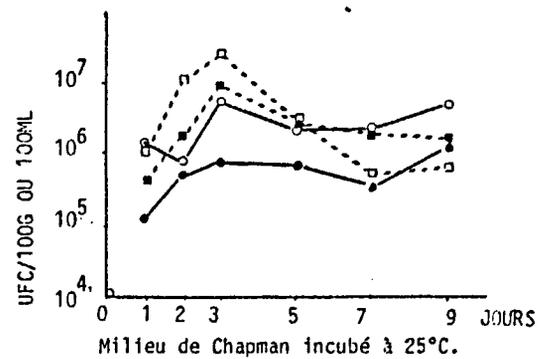
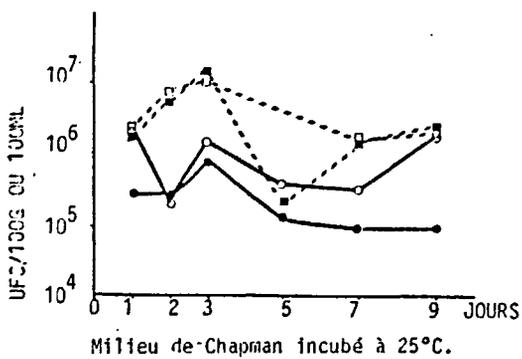
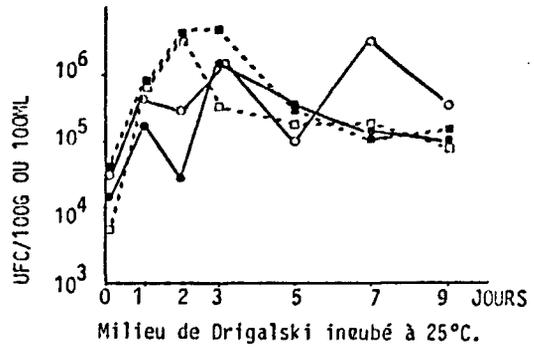
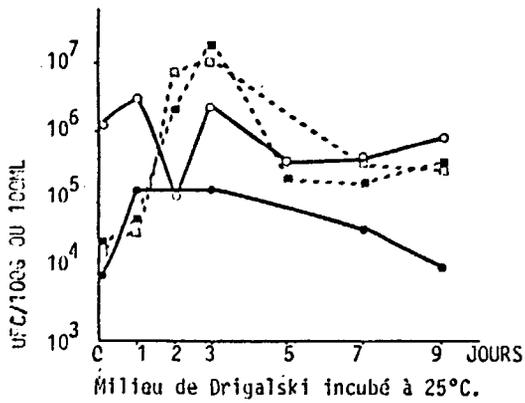
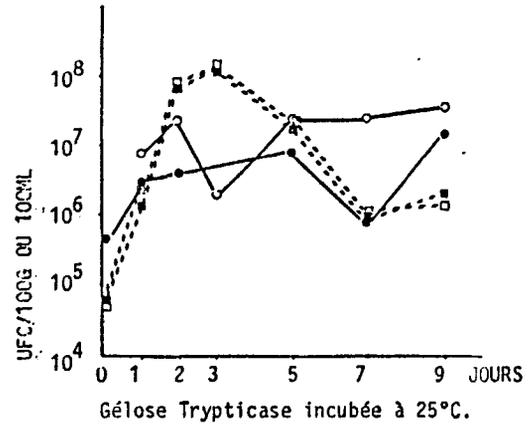
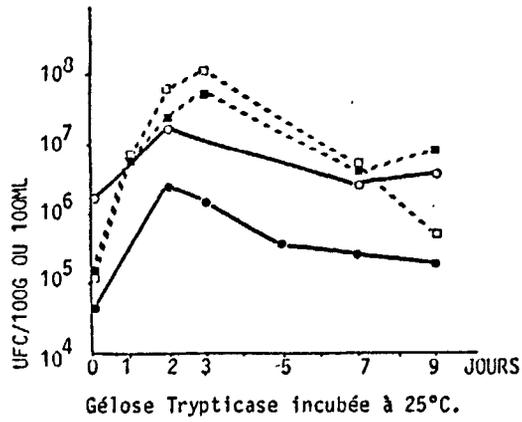
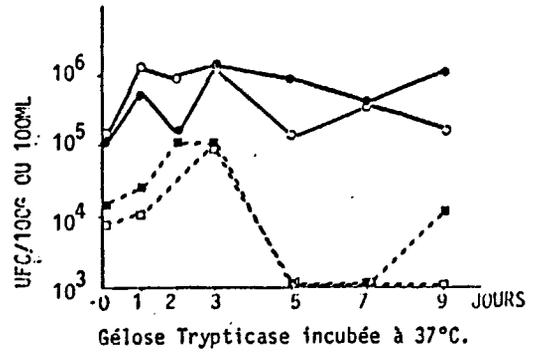
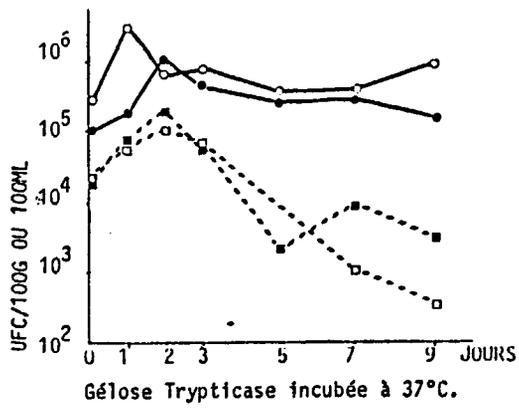
Ce système nous permet de plus de travailler soit avec de l'eau de mer stérile pour mettre en évidence le passage de la flore du sédiment vers l'eau soit avec du sédiment stérile pour mettre en évidence le passage de la flore de l'eau dans le sédiment.

## I CONTAMINATION DE L'EAU DE MER PAR LE SEDIMENT

### *1) Influence de la structure du sédiment.*

Pour mesurer l'impact de la structure du sédiment, 2 expériences ont été menées conjointement avec du sédiment prélevés selon les 2 techniques:

- à l'aide d'une pelle : il y a destruction totale de la structure du sédiment.
- à l'aide du bac de prélèvement : conservation de la structure en particulier de la couche superficielle.



STRUCTURE DU SEDIMENT CONSERVEE

STRUCTURE DU SEDIMENT MELANGEE

Fig.14: Influence de la structure du sédiment.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (- -■) et de l'eau de surface (- -□).

Dans le sédiment, on observe une croissance des diverses populations pendant 48h puis une survie (fig.14). Le devenir des flores du sédiment dont la structure est conservée est plus stable que lorsque la structure est perturbée.

De plus, lorsque la structure sédimentaire est intacte, la partie superficielle du sédiment (0-1cm) est de 10 à 100 fois plus riche qu'en profondeur.

Le passage des bactéries dans l'eau est rapide et important (environ  $10^4$  UFC/100ml pour la flore totale). Pendant 72h, la population de l'eau croit, puis, la flore de contamination diminue tandis que la flore halophile survit.

Le mode de prélèvement détruisant la structure du sédiment élimine le paramètre de concentration bactérienne en surface zone privilégiée des échanges avec l'eau. Il nous a donc semblé préférable, pour notre étude, d'utiliser le mode de prélèvement ne perturbant pas les différentes couches sédimentaires.

## 2) *Etude de la flore.*

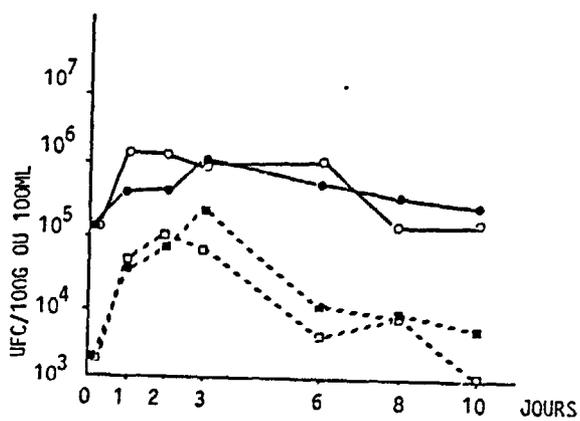
### a. Données quantitatives

La contamination de l'eau est quasiment immédiate. On observe une différence de comportement entre les flores isolées à la température de 25°C et à 37°C (fig.15).

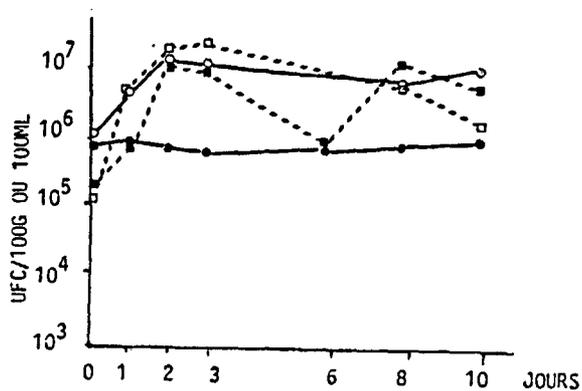
Tout d'abord, si dans les deux cas, on observe une croissance bactérienne celle-ci est beaucoup plus importante pour la flore isolée à 25°C que pour celle isolée à 37°C.

Après cette phase de croissance, la flore hétérotrophe de contamination du sédiment, isolée sur gélose Trypticase douce incubée à 37°C, reste beaucoup plus élevée que celle de l'eau. Sur gélose Trypticase et milieu de Drigalski, milieux tous deux incubés à 25°C et enrichi en chlorure de sodium, les numérations dans l'eau atteignent les mêmes taux que le sédiment et sont même supérieures au sédiment de profondeur (fig 15). La survie des bactéries autochtones est plus longue que celle de la flore contaminante isolée à 37°C.

Gélose Trypticase  
incubée à 37°C.



Gélose Trypticase  
incubée à 25°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 25°C.

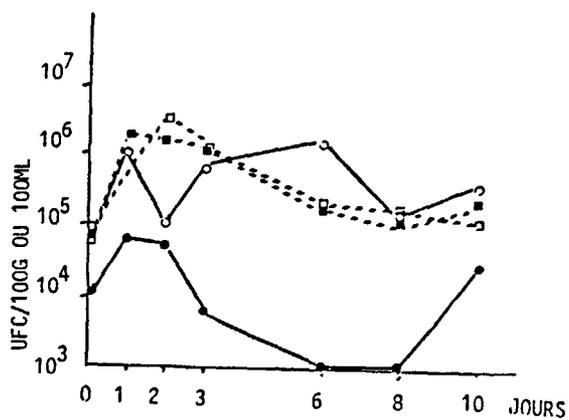


Fig.15: Etude de la flore.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (- -■) et de l'eau de surface (- -□).

### b. Données qualitatives

Ces variations sont-elles attribuables à un passage préférentiel d'un certain type de bactéries entre l'eau et le sédiment?

Existe-t-il une différence entre les flores du sédiment et celle de l'eau?

Pour répondre à ces questions, nous avons identifié des colonies les plus représentatives isolées sur les différents milieux de culture en fin d'expérimentation.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau ci-dessous.

ESPECE BACTERIENNE	SEDIMENT		EAU	
	profondeur	surface	profondeur	surface
<u>Pseudomonas</u>	12	9	8	11
<u>Bacillus</u>	3	3		
<u>Moraxella</u>	1	3	3	3
<u>Aeromonas</u>	1	4	4	2
<u>Flavobacterium</u>		3	2	4
<u>Vibrio</u>		6	3	2
Entérobactéries	2	2	2	1
Nb total d' identifications	19	30	22	23

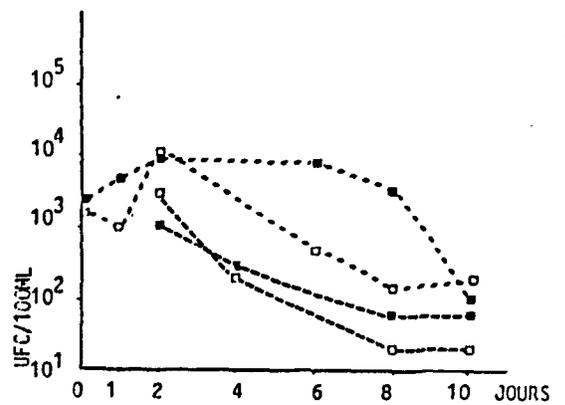
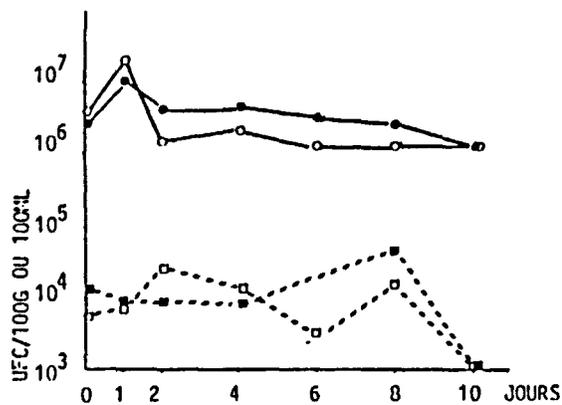
Tableau 4: Espèces identifiées lors de la contamination de l'eau par le sédiment.

L'identification des espèces prédominantes permet de constater qu'à l'exception des *Bacillus*, les espèces rencontrées se répartissent uniformément entre l'eau et le sédiment. On peut noter une prédominance des pseudomonacées, alors que les entérobactéries sont insignifiantes.

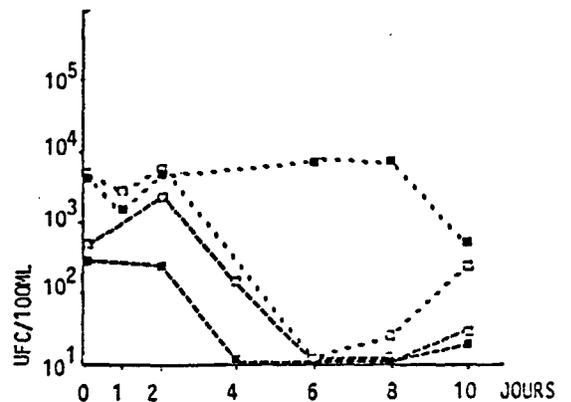
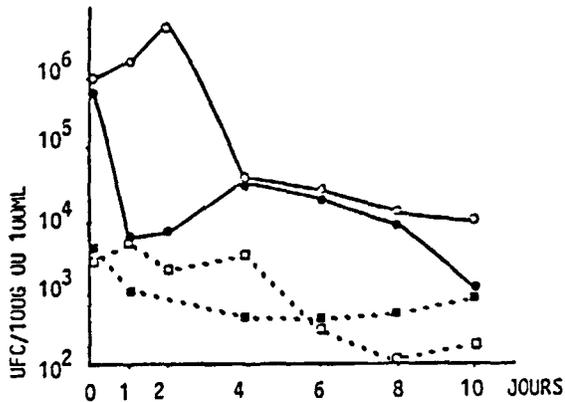
Ces résultats confirment ceux trouvés lors d'expériences précédentes (DEA 1985).

La répartition des flores bactériennes semble donc relativement homogène entre l'eau et le sédiment et aucun passage préférentiel d'un type de flore n'est mis en évidence.

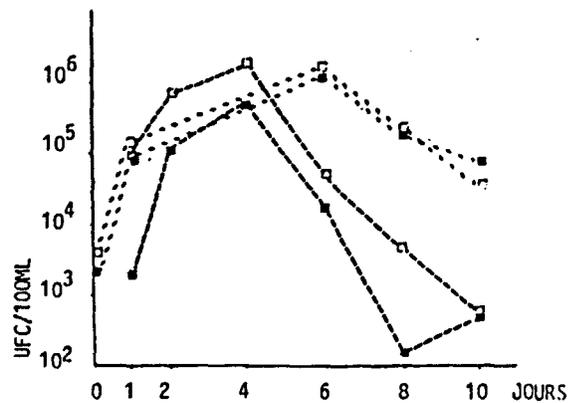
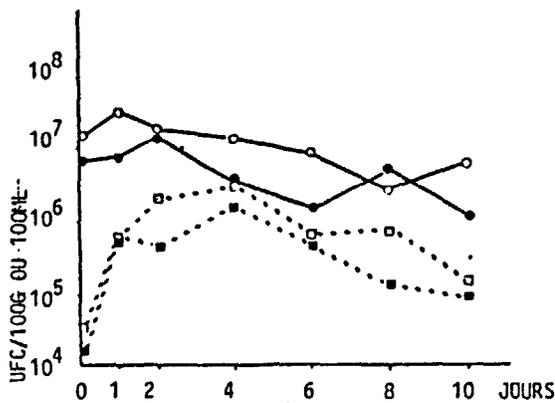
Gélose Trypticase  
incubée à 37°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 37°C.



Gélose Trypticase  
incubé à 25°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 25°C.

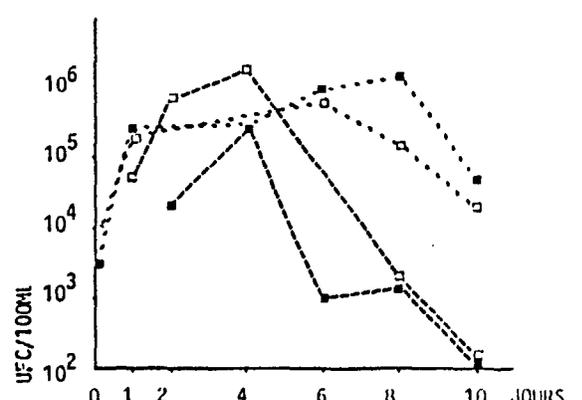
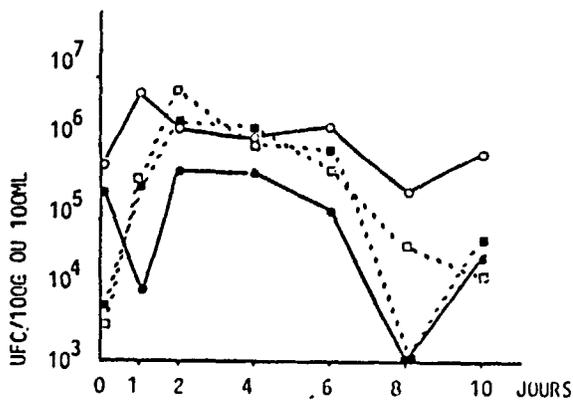


Fig.16: Mode de contamination de l'eau.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (· · ■) et de l'eau de surface (· · □).

Etude par les filtrations différentielles sur 3μm en eau de profondeur (· · ■), en eau de surface (· · □), et sur 0,22μm en eau de profondeur (---■) en eau de surface (---□).

### 3) *Mode de contamination de l'eau*

Les expériences précédentes montrent que le passage des bactéries dans l'eau est quasiment immédiat.

Cette contamination de l'eau se fait elle par passage de bactéries sous forme libre ou associé au matériel particulaire?

Nous avons remarqué que lorsque l'eau est coulée sur le sédiment, malgré toutes les précautions prises pour ne pas créer de remise en suspension, une fine pellicule de particules se retrouve à la surface. Ce phénomène est par ailleurs observable en milieu extérieur à marée montante.

Pour répondre à cette question, parallèlement au suivi des populations de l'eau et du sédiment sur milieu solide, nous avons réalisés des filtrations différentielles sur les prélèvements d'eau. Cette technique nous permet de mettre en évidence l'existence de bactéries libres ou de bactéries associées aux particules.

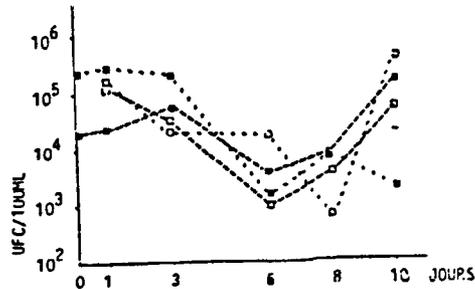
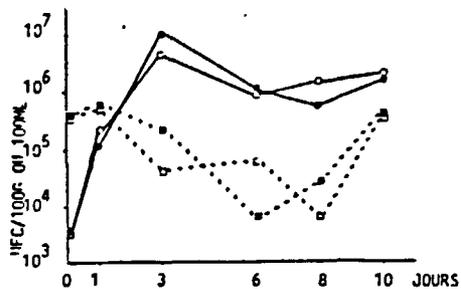
La flore de contamination, isolée sur gélose Trypticase et milieu de Drigalski, incubés à 37°C, contamine relativement peu l'eau, comme nous l'avons observé lors de la précédente expérience (fig 16).

Les filtrations différentielles montrent qu'après 2 jours, les bactéries adhérentes aux matières en suspension diminuent en eau de surface alors qu'elles restent constantes en eau de profondeur. Par contre la diminution est la même pour les bactéries libres en eau de surface et en profondeur.

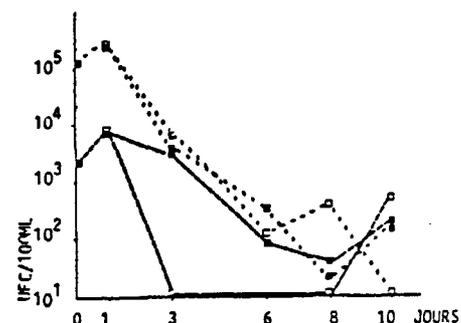
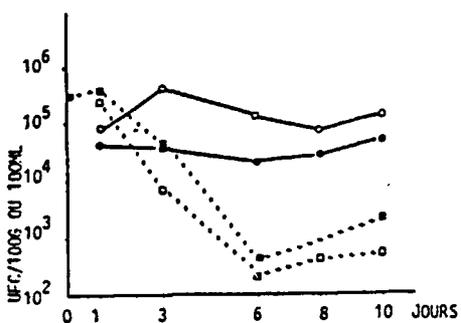
La flore autochtone, isolée sur gélose Trypticase ou milieu de Drigalski incubé à 25°C, a un comportement différent. La contamination de l'eau est tout aussi immédiate mais la charge bactérienne est quasiment identique après 48h dans l'eau et le sédiment (environ  $10^6$  à  $10^7$  UFC/100ml) (fig 16).

Ceci est confirmé par l'étude des flores après filtrations différentielles: ces bactéries croissent pendant 4 jours sous forme libre et jusqu'à 6 jours lorsqu'elles sont associées au matériel particulaire. Puis apparait une différence notable: la survie des bactéries adhérentes est largement supérieure à celle des bactéries libres.

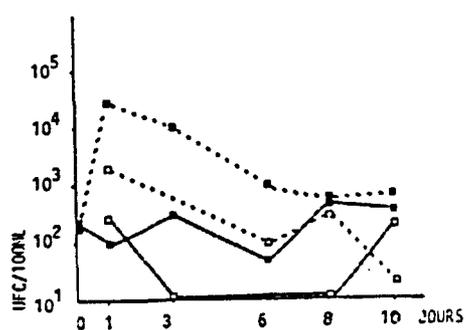
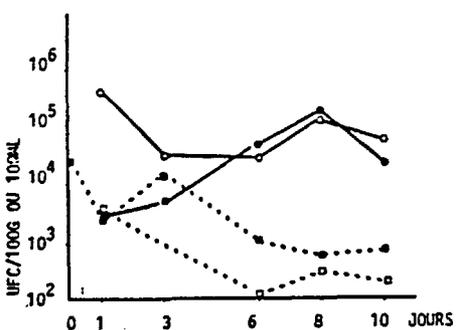
Gélose Trypticase  
incubée à 37°C.



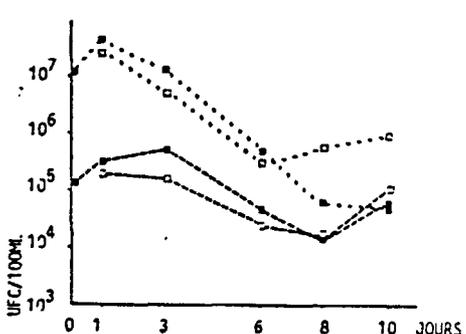
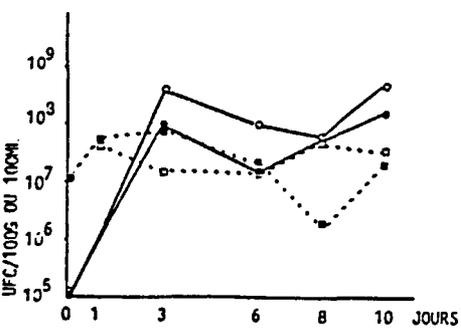
Milieu de Drigalski  
incubé à 37°C.



Milieu de TCBS  
incubé à 37°C.



Gélose Trypticase  
incubé à 25°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 25°C.

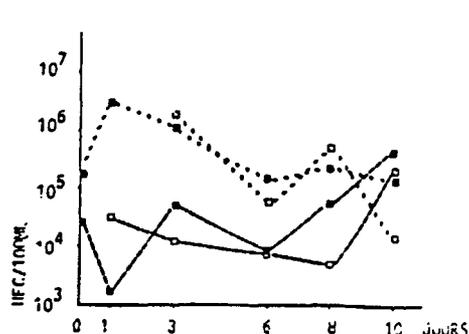
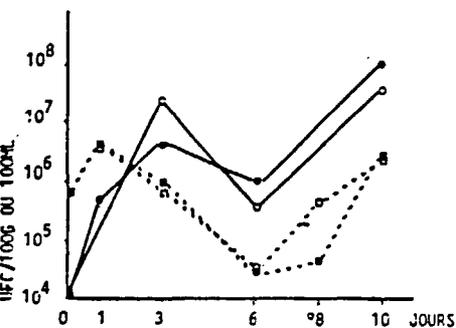


Fig.17: Contamination du sédiment par l'eau de mer.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (- -■) et de l'eau de surface (- -□).

Etude par les filtrations différentielles sur 3μm en eau de profondeur (- -■), en eau de surface (- -□), et sur 0,22μm en eau de profondeur (---■) en eau de surface (---□).

Il existe donc des différences de comportement entre la flore isolée à 37°C et celle isolée à 25°C: les bactéries ne semblent pas adhérer aux mêmes types de particules et surtout celles se développant à 25°C, qu'elles soient libres ou liées, sont capable de se multiplier dans l'eau. Dans ces conditions on peut penser que ces bactéries adaptées vont croître ce qui aura pour conséquence un appauvrissement du milieu qui pourrait expliquer la décroissance de la flore de contamination isolée à 37°C.

La flore associée au matériel particulaire paraît prédominante pour la contamination de l'eau mais les bactéries libres y contribuent également.

## II CONTAMINATION DU SEDIMENT PAR L'EAU DE MER

Pour étudier l'influence de l'eau sur la contamination du sédiment nous avons mis en contact une eau de mer contaminée sur du sédiment stérile (obtenu par autoclavage pendant 1heure à 121°C).

### *1) Contamination du sédiment.*

La contamination du sédiment est rapide et importante (24h) (fig.17).

Pour les bactéries allochtones, isolées sur milieu de Trypticase ou milieu de Drigalski incubé à 37°C, la survie est meilleure dans le sédiment: après 3 jours, la population est de 10 à 100 fois supérieure à celle de l'eau.

Les bactéries autochtones, isolées après incubation à 25°C sur gélose Trypticase ou milieu de Drigalski additionné en chlorure de sodium, survivent aussi bien dans l'eau que dans le sédiment.

L'eau utilisée pour cette expérimentation est relativement chargées en bactéries liées aux particules. Cette notion est importante , en effet la sédimentation de ces particules peut expliquer à la fois la contamination du sédiment et la disparition des bactéries de l'eau.

La flore de contamination de l'eau isolée à 37°C ne présente aucune phase de croissance tandis que la flore allochtone et en particulier les vibrions isolés sur milieu de TCBS se multiplient pendant les 24 premières heures. Cette croissance peut être expliquée par l'augmentation de la température entre le milieu extérieur et le laboratoire. Ces bactéries sont donc capable de trouver les nutriments nécessaire à leur développement dans l'eau.

## 2) Etude de la flore.

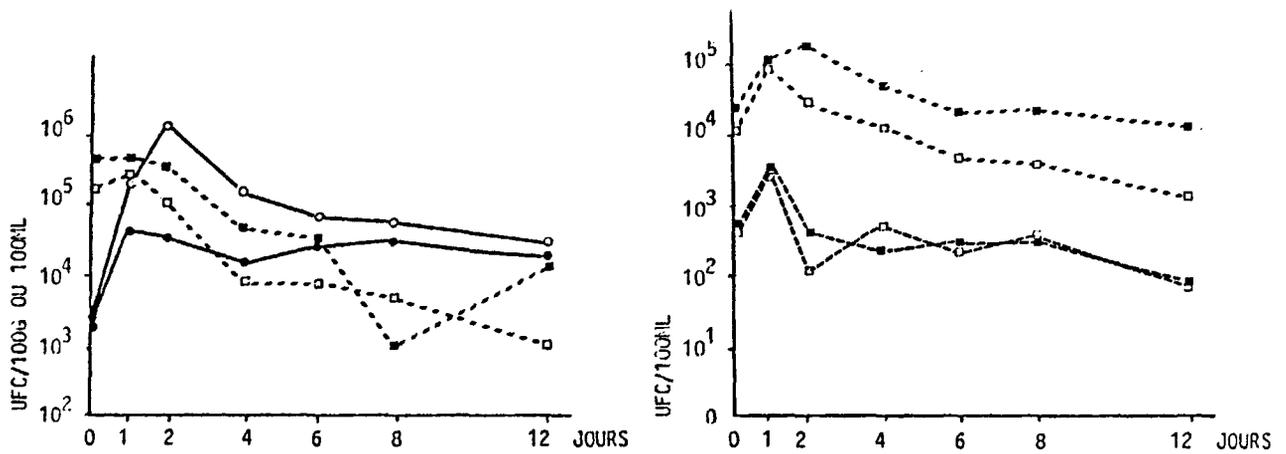
En fin d'expérimentations, les colonies les plus représentatives obtenues lors des numérations ont été isolées et identifiées. Les résultats obtenues sont contenus dans le tableau ci-dessous.

ESPECE BACTERIENNE	SEDIMENT		EAU
	profondeur	surface	
<u>Pseudomonas</u>	8	11	8
<u>Bacillus</u>	3	1	1
<u>Aeromonas</u>	3	2	3
<u>Vibrio</u>	2	2	1
divers	1	6	3
entérobactéries	2	4	2
nb total d' identifications	18	23	18

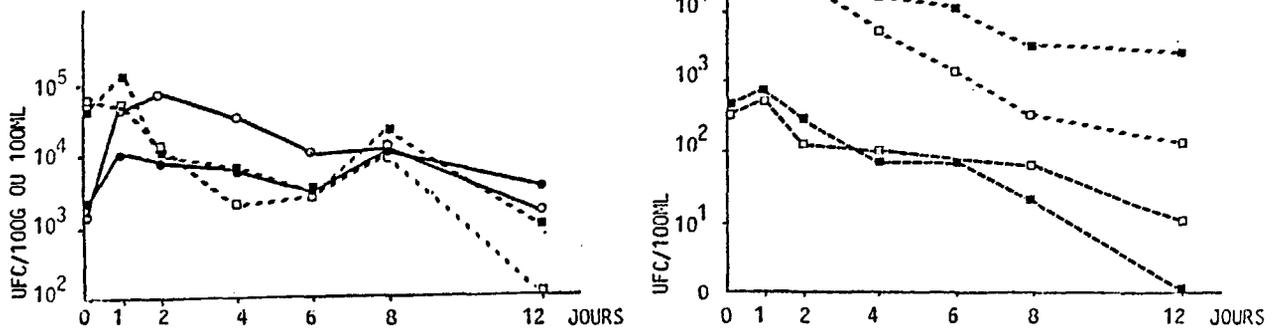
Tableau 5: Espèces identifiées lors de la contamination du sédiment par l'eau de mer.

Les différentes espèces bactériennes s'implantent uniformément dans le sédiment. Le genre *Pseudomonas* prédomine dans tout le système, tandis que les entérobactéries sont surtout présentes dans le sédiment.

Pendant la durée de l'expérimentation il ne semble pas y avoir de pression de sélection.



Milieu de Drigalski  
incubé à 37°C.



Milieu de Drigalski  
incubé à 42°C.

Fig.18: Suivi des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (- - ■) et de l'eau de surface (- - □).

Etude par les filtrations différentielles sur 3μm en eau de profondeur (- - ■), en eau de surface (- - □), et sur 0,22μm en eau de profondeur (---■) en eau de surface (---□).

### 3) *Suivi des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski.*

Lors de l'étude de la répartition de la flore, nous avons trouvé une majorité d'entérobactéries dans le sédiment. Nous avons donc renouvelé l'expérimentation en suivant plus particulièrement le devenir des colonies fermentant le lactose sur milieu de Drigalski à 37°C et à 42°C (fig.18).

L'expérimentation s'est déroulée dans les mêmes conditions que précédemment: l'évolution des diverses flores isolées à 37°C sur gélose Trypticase ou à 25°C sur gélose Trypticase ou milieu de Drigalski additionné de chlorure de sodium est semblable à celle reportée figure 18. Ne sont représentées ici que les numérations des colonies lactoses + sur milieu de Drigalski incubé à 37°C et à 42°C, les numérations des autres flores sont données dans l'annexe "table des résultats".

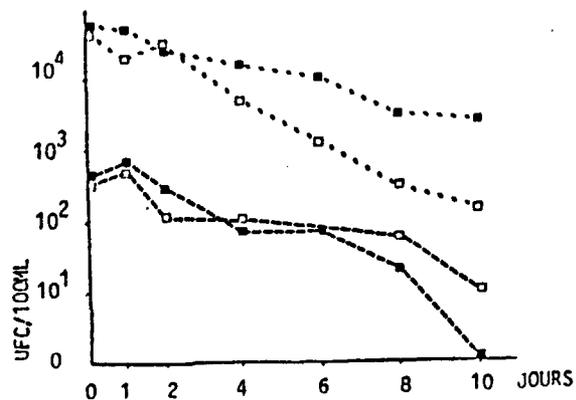
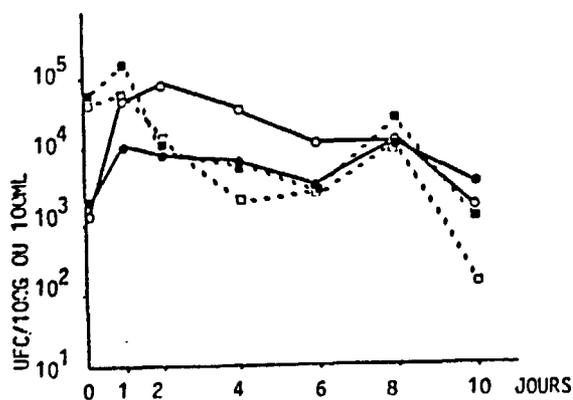
La flore initiale fermentant le lactose de l'eau se développant à 37°C est plus riche que celle se développant à 42°C.

Leur devenir dans l'eau est par la suite semblable: absence de croissance puis disparition assez rapide des bactéries libres.

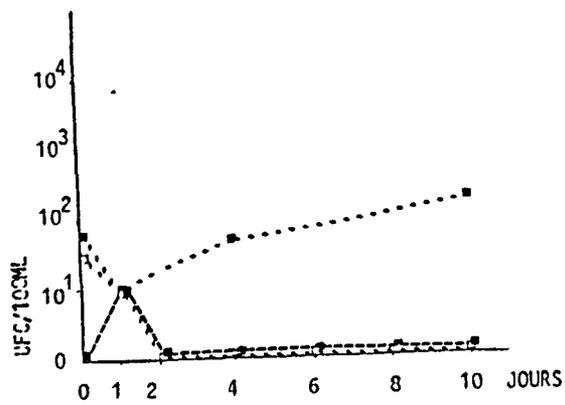
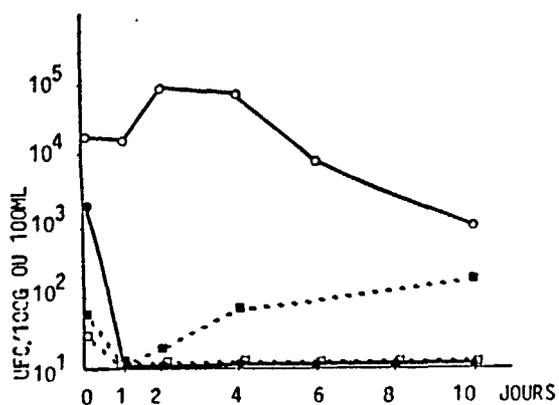
Le nombre de bactéries liées aux particules est majoritaire, et là encore, les phénomènes de sédimentation peuvent être important pour la disparition de ces bactéries de l'eau.

La contamination du sédiment est rapide: en 24h la concentration dans le sédiment est la même que celle de l'eau.

Passée cette phase de contamination, cette flore entre dans une phase de survie et à la fin de l'expérimentation les populations observées sont pratiquement identique à celles observées après le premier jour.



Sédiment stérile/eau de mer naturelle



Sédiment naturel/eau de mer stérile

Fig.19a: Numération des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski incubé à 42°C.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●), du sédiment de surface (—○), de l'eau de profondeur (---■) et de l'eau de surface (---□).

Etude par les filtrations différentielles sur 3μm en eau de profondeur (---■), en eau de surface (---□), et sur 0,22μm en eau de profondeur (---■), en eau de surface (---□).

### III EVOLUTION DES ENTEROBACTERIES ET DES ENTEROCOQUES

Nous avons réalisé un suivi en parallèle du devenir des entérobactéries assimilées aux colonies fermentant le lactose sur milieu de Drigalski incubé à 42°C et les entérocoques isolés sur milieu de Slanetz incubé à 37°C dans le cas de la contamination de l'eau par le sédiment et dans le cas de la contamination du sédiment par l'eau de mer.

Les prélèvements pour ces deux expérimentations étant réalisé au même endroit et en même temps, les différences dues à la nature du sédiment, de l'eau, à la température sont éliminées, ainsi que celles dues aux variations de flore.

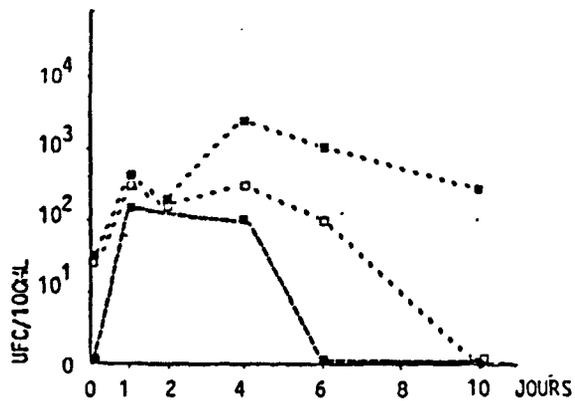
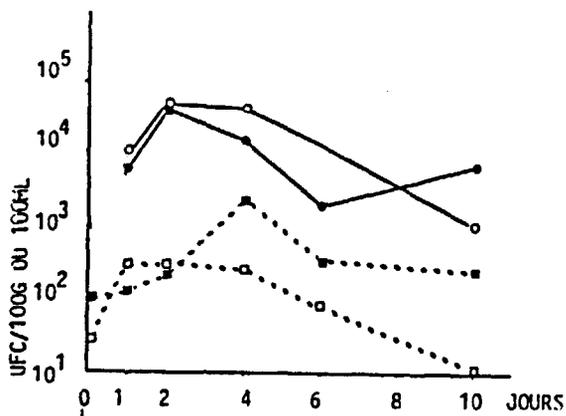
Les résultats concernant les flores totales sont donnés dans la partie "table des résultats": l'évolution des différentes flores est identique aux observations précédentes. Nous ne reportons fig.19 a et b que les numérations obtenues sur milieu de Slanetz ainsi que les numérations correspondantes aux colonies lactose + obtenues sur milieu de Drigalski incubé à 42°C.

Lors de la contamination de l'eau par le sédiment, le passage de ces flores est relativement faible ( $1.10^2$ UFC/100ml sur milieu de Slanetz, et  $2.10^1$ UFC/100ml sur milieu de Drigalski pour l'eau de surface ) (fig.19a,b).

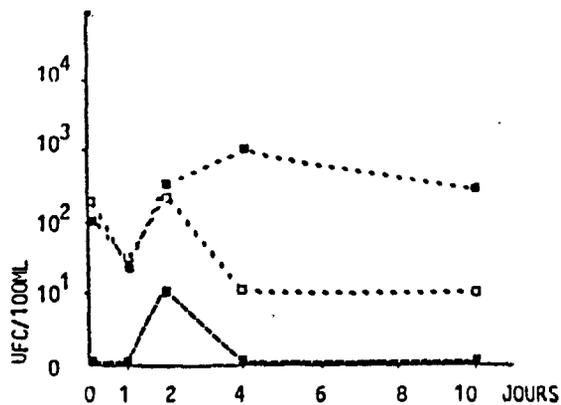
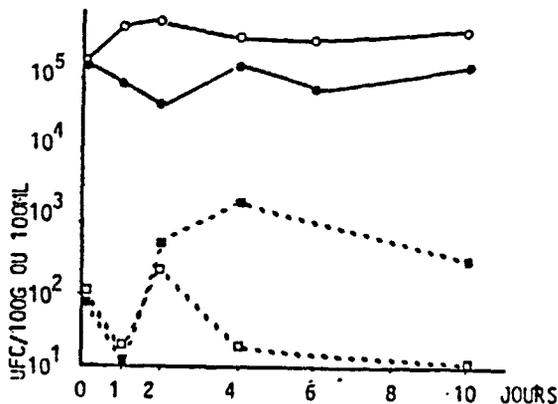
L'étude par les filtrations différentielles, montrent que ces germes survivent dans l'eau essentiellement associé au particulaire.

Dans le sédiment, les populations restent stables pendant toute la durée de l'expérimentation. Par exemple au niveau du sédiment de surface, la numération sur milieu de Drigalski varie de  $1.10^4$ UFC/100g à  $2.10^3$ UFC/100g, et sur milieu de Slanetz  $1.10^5$ UFC/100g à  $2.10^5$ UFC/100g.

Un point remarquable est la diminution rapide des entérobactéries au niveau du sédiment de profondeur. Ceci confirme les résultats antérieurs et les données de la littérature: la survie des bactéries de contamination est plus importante dans la couche superficielle du sédiment et les concentrations diminuent avec la profondeur dans le sédiment.



Sédiment stérile/eau de mer naturelle



Sédiment naturel/eau de mer stérile

Fig.19b: Numération sur milieu de Slanetz.

Evolution des populations bactériennes au niveau du sédiment de profondeur (—●—), du sédiment de surface (—○—), de l'eau de profondeur (- - ■) et de l'eau de surface (- - □).

Etude par les filtrations différentielles sur 3 $\mu$ m en eau de profondeur (- - ■), en eau de surface (- - □), et sur 0,22 $\mu$ m en eau de profondeur (---■), en eau de surface (---□).

L'eau de mer est un contaminant important pour le sédiment. En effet dans le système sédiment stérile/eau de mer naturelle le passage de ces flores de contamination est rapide et important.

On observe une légère différence de comportement entre ces 2 flores contaminantes: sur milieu de Slanetz les numérations du sédiment sont environ 100 fois plus élevées que celles de l'eau ( $4.10^4$ UFC/100g dans le sédiment et  $2.10^3$ UFC/100ml dans l'eau), tandis que sur milieu de Drigalski les populations eau/sédiment restent plus semblables ( $5.10^4$ UFC/100g dans le sédiment et  $1.10^4$ UFC/100ml dans l'eau). Dans le système précédent, les numérations de coliformes fécaux dans l'eau étaient plus faibles.

Les entérocoques semblent bien adaptés à la survie dans le sédiment. En effet leur concentration dans un sédiment naturel est relativement élevé et lorsque l'on contamine un sédiment stérile par une eau de mer contaminée, le taux de colonisation du sédiment après quelques jours de contact devient bien supérieur à celui de l'eau.

#### IV DISCUSSION

La contamination de l'eau de mer stérile par un sédiment contaminé met en évidence une différence de comportement entre les flores se développant à 25°C sur milieux additionné en chlorure de sodium ou à 37°C sur milieu sans addition de chlorure de sodium.

Quelle que soit la flore étudiée, la contamination de l'eau est précoce: les bactéries associées au matériel particulaire contribuent autant à la contamination de l'eau que les bactéries libres. Il s'agit, en fait, d'une remise en suspension de particules, de bactéries ou de matière organique. Dans ce processus, les phénomènes mécaniques jouent un rôle prépondérant.

Les différences entre la flore hétérotrophe et la flore allochtone sont importantes dans le sédiment mais elles sont encore plus marquées dans l'eau.

Si la flore autochtone, isolée à 25°C, est dans le sédiment au moins 10 fois supérieure à la flore allochtone se développant à 37°C, dans l'eau, cet écart s'accroît: la différence observée varie de 100 à 1000 fois.

Dans le sédiment, les deux types de flore sont remarquablement stable ce qui confirme pour la flore de contamination des conditions de survie plus adaptées dans le sédiment que dans l'eau.

Au niveau de l'eau, la flore autochtone atteint le même niveau de contamination que dans le sédiment.

Les bactéries associées au matériel particulaire se multiplient pendant environ 6 jours contre 4 jours lorsqu'elles sont sous forme libre. La diminution de ces dernières est par ailleurs plus rapide.

La flore de contamination isolée à la température de 37°C colonise à un moindre degré l'eau de mer. Son devenir est essentiellement lié aux particules en suspension dans l'eau de profondeur. Deux phénomènes nouveaux par rapport à l'étude de la flore se développant à 25°C sont mis en évidence ici:

- une sédimentation des bactéries adhérentes aux particules
- une disparition des bactéries libres.

L'hypothèse que les 2 flores ne sont pas adhérentes au même type de particules peut être avancée ainsi qu'une sensibilité plus grande au manque d'éléments nutritifs dans l'eau de mer de la part des bactéries isolées à 37°C: les bactéries se développant à 25°C trouvent apparemment plus aisément les nutriments nécessaires à leur survie dans l'eau de mer.

Les entérocoques (isolés sur milieu de Slanetz) et les entérobactéries correspondantes aux colonies fermentant le lactose sur milieu de Drigalski incubé à 42°C, présentent la même évolution: stabilité dans le sédiment et faible passage dans l'eau, localisé essentiellement à l'eau de profondeur, associé au matériel particulaire.

Le sédiment permet le maintien ou la croissance des diverses flores bactériennes autochtones ou de contamination, l'épuration y est très lente. Certains paramètres intervenus lors de nos expériences tels que l'augmentation de la température ou la remise en suspension de particules peuvent être rencontrés en milieu naturel. En été, à marée basse ou lors de faibles coefficients de marée, le soleil peut réchauffer la partie superficielle du sédiment: une croissance bactérienne est alors possible. À marée montante, on observe souvent à la surface de l'eau sur le rivage une fine pellicule particulaire provenant du sédiment. Ces 2 facteurs sont donc importants pour notre région où les phénomènes de marée sont importants.

L'eau est elle capable de contaminer le sédiment?

La paroi en plexiglas de notre système permet de visualiser l'infiltration de l'eau dans les couches sédimentaires lors de la mise en place d'une eau de mer naturelle sur du sédiment stérilisé. Ce phénomène provoque une contamination immédiate, suivi d'une croissance bactérienne importante pendant les 2 jours suivants (de 1000 à 10000 fois). Après ces 2 jours, le système revient au même équilibre que précédemment: flore isolée à 25°C de 10 à 100 fois supérieure à celle isolée à 37°C.

Les coliformes fécaux semblent mieux persister dans l'eau que les streptocoques fécaux. Ceci, qui n'était pas apparu auparavant, peut être du à la stérilisation du sédiment. En effet l'autoclavage libère la matière organique adsorbée aux particules et la rend ainsi plus facilement assimilable (GERBA et Mc LEODS ,1976, CHAN et al , 1979, LALIBERTE et GRIMES,1982).

L'eau est donc hautement contaminante pour le sédiment. Ceci est très important pour les germes de contamination d'origine humaine qui, s'ils survivent simplement dans l'eau trouvent dans le sédiment les nutriments nécessaires à leur survie et même parfois à leur développement.

Ces constatations nous ont amené à étudier dans la seconde partie de notre travail la survie d'un germe de contamination tel qu'*Escherichia coli* dans notre système expérimental.

G ETUDE DE L'IMPLANTATION D'UNE SOUCHE D'E.COLI

## **G ETUDE DE L'IMPLANTATION D'UNE SOUCHE D'E.COLI.**

Que devient *E.coli* après son rejet en milieu marin ?

Les données précédentes, expérimentales et bibliographiques, montrent que les entérobactéries persistent longtemps dans les sédiments. Il nous a donc semblé intéressant d'étudier le devenir d'une bactérie de contamination dans notre système expérimental.

Notre choix s'est porté sur une souche d'*E.coli* germe témoin de contamination fécale. Avant d'étudier l'influence des compétitions de flore sur son implantation en milieu naturel, nous avons évalué le rôle du matériel particulaire sur sa survie et les mécanismes d'adhérence utilisés en milieu hostile.

### **I RÔLE DU MATERIEL PARTICULAIRE.**

#### *1) Rappel du protocole utilisé.*

La souche d'*E.coli* après 24h de culture en bouillon Trypticase soja est récupérée par centrifugation puis lavée 3 fois en eau physiologique stérile. Elle est alors mise en suspension dans l'eau de mer et laissée pendant 8 ou 15 jours à température du laboratoire à l'obscurité.

Après ce temps de latence, la suspension est mise en contact avec le matériel particulaire préparé selon le protocole p.29. Pour chaque type de particule, un flacon contenant 50g de matériel particulaire additionné de caséine, et un flacon contenant 50g de matériel particulaire reçoivent 100ml de la suspension bactérienne. Le suivi de la souche bactérienne dans l'eau de mer s'effectue dans un flacon sans addition de matériel particulaire.

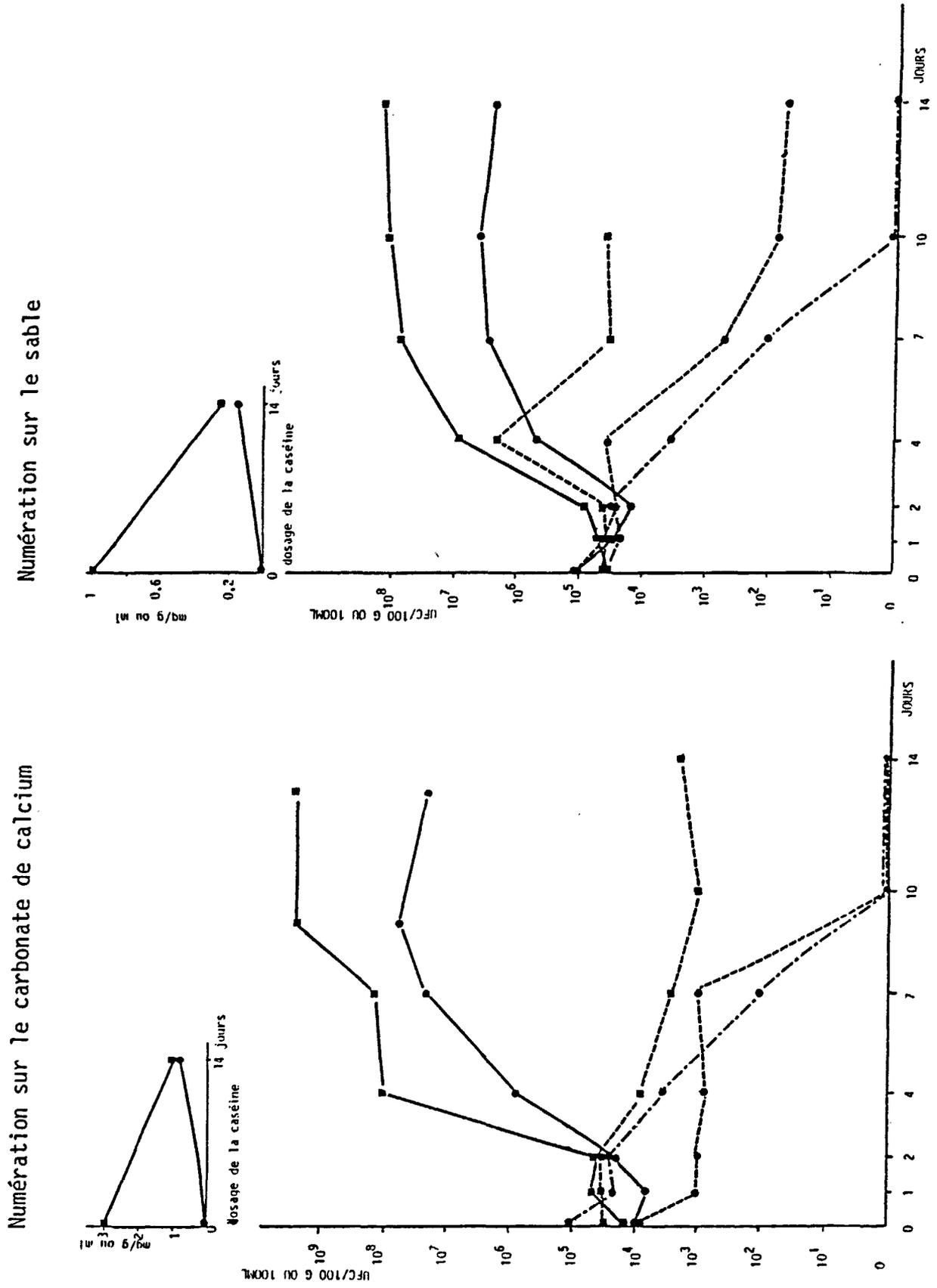


Fig.20: Adhésion de la souche d'*E.coli* depuis 8 jours dans l'eau de mer.

Evolution de la population bactérienne dans l'eau (●) et dans le sédiment (■), dans les flacons additionnés de caséine (—), dans les flacons témoins (---) et dans le témoin eau de mer (----).

Les flacons sont laissés pendant 15 jours à la température du laboratoire à l'obscurité. Des prélèvements sont effectués régulièrement et incubés à 37°C après étalement sur milieu de Drigalski. Les échantillons ne sont pas lavés avant l'ensemencement, et à aucun moment de l'expérimentation les flacons ne sont agités.

## 2) *E.coli* depuis 8 jours dans l'eau de mer

### a) dosage de la caséine

Les dosages ont été réalisés le jour de la mise en oeuvre de l'expérimentation (J=0) et à la fin (J=14). Nous obtenons les résultats suivants:

JOUR	SABLE DE MER		CARBONATE DE CALCIUM	
	particules (mg/g)	eau (mg/ml)	particules (mg/g)	eau (mg/ml)
0	1,00	0,00	3,00	0,00
14	0,24	0,16	1,00	0,78

### b) résultats

#### \* Carbonate de calcium:

Dans le flacon avec caséine, pendant 48h on observe peu de variation puis la croissance est très rapide (fig.20).

Au niveau du matériel particulaire, la population bactérienne est multipliée par 1000 en 48h puis cette croissance se ralentit pour se stabiliser après 10 jours.

Dans l'eau surnageante, la souche se multiplie également mais de façon plus modérée et pendant moins longtemps. En fin d'expérimentation, la population de l'eau est 100 fois plus faible que celle du matériel particulaire.

Dans le flacon témoin, la souche survie dans le matériel particulaire tandis qu'elle disparaît dans l'eau surnageante.

Dans le flacon témoin eau de mer, la souche disparaît également.

\* **Sable de mer:**

Dans le flacon avec caséine, la croissance débute après 48h de contact eau/matériel particulaire. La multiplication est ici aussi légèrement plus faible dans l'eau par rapport à celle observée au niveau du matériel particulaire. En fin d'expérimentation la population de l'eau est 100 fois plus faible que celle du matériel particulaire.

Dans le flacon témoin, la souche diminue dans l'eau. Au niveau du matériel particulaire, les variations sont plus importantes: après 48h de contact on observe une croissance suivie aussitôt d'une diminution. Le seuil de sensibilité de la méthode pour le sédiment ( $10^3$ UFC/100G) ne nous a pas permis la détermination de la concentration dans le sédiment en fin d'expérimentation.

Dans les deux cas, la caséine provoque une croissance. Les bactéries associées au matériel particulaire sont plus nombreuses que dans l'eau. Par ailleurs, dans le milieu sans matière organique, le matériel particulaire permet une survie des bactéries pendant au moins 10 jours, tandis que dans le flacon témoin la souche disparaît.

3) *E.coli* depuis 15 jours dans l'eau de mer.

a) dosage de la caséine.

Comme pour la précédente expérience, les dosages de la caséine ont été réalisés en début et en fin d'expérimentation.

JOUR	SABLE DE MER		CARBONATE DE CALCIUM	
	particules (mg/g)	eau (mg/ml)	particules (mg/g)	eau (mg/ml)
0	1,12	0,00	1,90	0,00
15	0,28	0,13	1,40	0,36

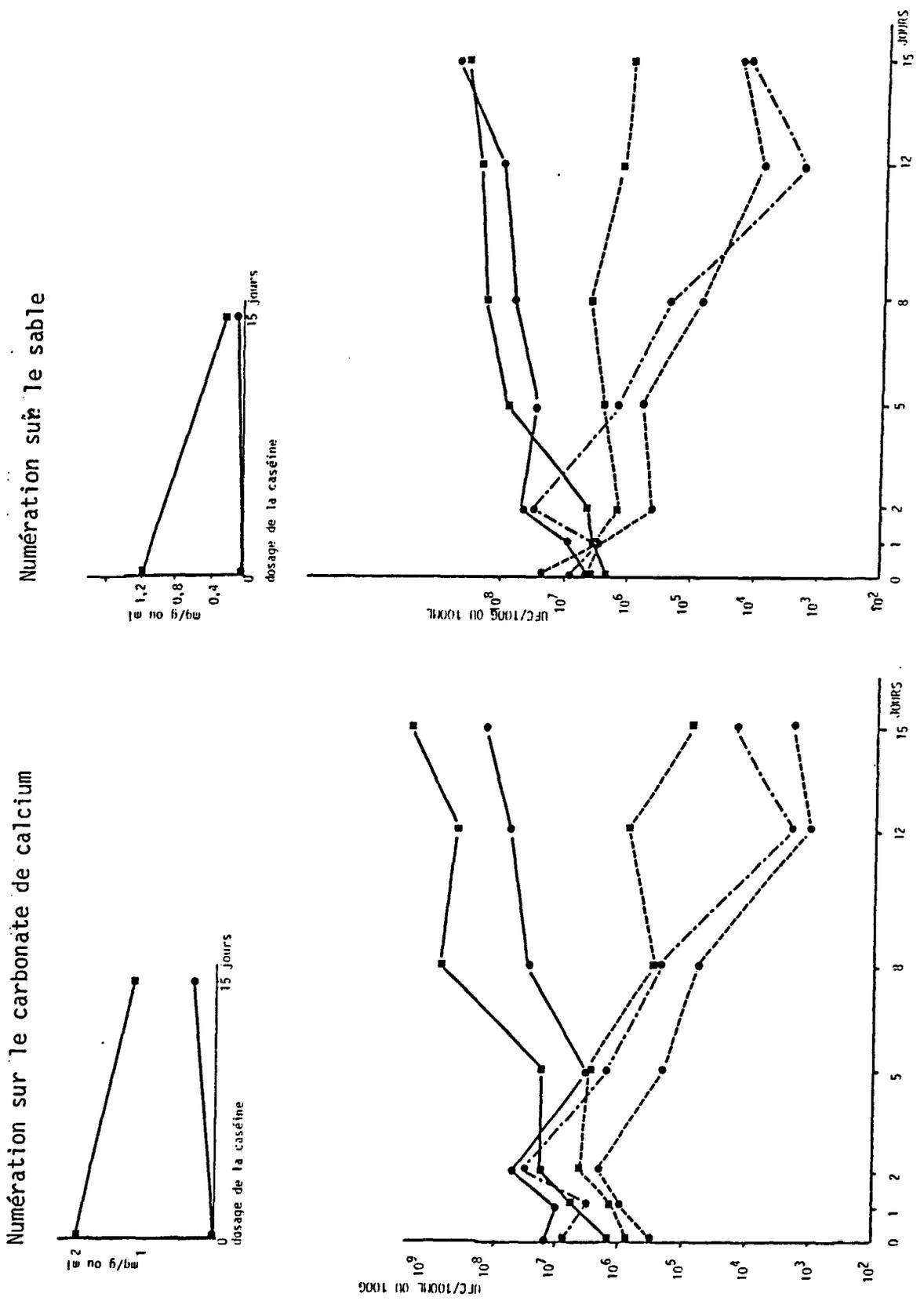


Fig.21: Adhésion de la souche d'*E.coli* depuis 15 jours dans l'eau de mer.

Evolution de la population bactérienne dans l'eau (●) et dans le sédiment (■), dans les flacons additionnés de caséine (—), dans les flacons témoins (---) et dans le témoin eau de mer (-.-).

## b) résultats

### \* Carbonate de calcium

Dans le flacon avec caséine, la croissance au niveau du matériel particulaire débute après 5 jours et reste relativement faible (fig.21).

Dans l'eau surnageante, la concentration diminue puis la croissance reprend.

Dans le flacon témoin, la population reste stable au niveau du matériel particulaire, dans l'eau la décroissance commence après 48h de contact.

La concentration diminue également dans le flacon témoin eau de mer.

### \* Sable de mer

Dans le flacon avec caséine, la croissance est modérée (la population est multipliée par 100 dans l'eau et le matériel particulaire entre le début et la fin de l'expérimentation).

Cette multiplication est un peu plus tardive au niveau des particules que dans l'eau.

Dans le flacon témoin, la souche survit très bien au niveau du matériel particulaire et diminue dans l'eau surnageante.

## 3) synthèse

Pour cette étude, deux types de particules ont été choisies, le carbonate de calcium (particules fines) et le sable de mer (grosses particules anguleuses).

La source d'enrichissement est la caséine, protéine favorisant l'adhésion des bactéries sur des lames de verre (MEADOWS, 1971). Il est important que la souche d'E.coli soit implantée pendant 48 h au moins dans l'eau de mer avant le début de l'expérimentation, l'inoculum final doit être de  $10^4$  UFC/100 ml.

Les résultats obtenus montrent que :

- en absence de tout apport de source d'énergie, la souche d'*E.coli* persiste mieux dans le sédiment que dans l'eau. Plus la population est faible, plus la différence est grande.

- en présence de caséine, cette différence est moins nette, ceci étant du à la solubilisation de la caséine dans l'eau. Dans ce cas on a une forte croissance de la souche.

La caséine joue donc un rôle important comme source d'énergie et de nutriments. Ceci confirme qu'*E.coli* survit dans l'eau de mer en particulier en présence de sédiment.

L'état physiologique du *E.coli* semble peu important: les différences obtenues sur les 2 expériences réalisées (après 8 et 15 jours) sont faibles.

Lorsque les bactéries ont été maintenues pendant 15 jours dans l'eau de mer filtrée, croissance et décroissance sont moins marquées. Le nombre de bactéries capable de croître lors d'un apport en matière organique le font moins longtemps et moins rapidement qu'après 8 jours dans l'eau de mer. En même temps si elles survivent en étant associées au matériel particulaire, la décroissance dans l'eau est nettement plus faible que dans le cas précédent.

La survie en milieu marin se traduit comme l'ont montré MUNRO et al. (1987) par une diminution des capacités d'assimilation de la part de la bactérie.

## II MODE D'ADHESION

Par quel mécanisme la souche d'*E.coli* adhère-t-elle aux surfaces en milieu marin?

Pour étudier ce problème après avoir fait adhérer la souche sur des lames de verre, nous avons testé différents produits susceptibles de rompre les liaisons développées par le micro-organisme pour adhérer au support.

### 1) Rappel du protocole utilisé

- \* Préparation de la suspension bactérienne: une culture de 24h de la souche en bouillon Trypticase soja incubé à 37°C, est centrifugée et remise en suspension dans de l'eau de mer filtrée sur 0,22µm. La concentration finale obtenue est de l'ordre de 10<sup>7</sup> bactéries/ml.

\* Préparation des lames de verre: les lames sont lavées dans une solution de Teepol à 1% pendant 1h sous agitation magnétique, rincées 20 fois à l'eau distillée stérile puis immergées dans un bain d'alcool. Ces lames sont flambées extemporanément avant d'être immergées dans la suspension bactérienne.

\* Phase d'adhésion: les lames sont immergées dans la suspension bactérienne pendant 2h ou 24h à température du laboratoire. Après ce temps de contact elles sont lavées en eau distillée stérile filtrée pendant 5 minutes sur un agitateur rotatif.

\* Test: les lames sont plongées pendant 1h dans le réactif à tester en solution stérile et dans l'eau distillée stérile.

Dans le cas de réactif chimique, ce test est réalisé à température du laboratoire tandis que dans le cas d'enzymes, l'incubation est réalisée à 37°C. Tous les tests sont réalisés en double et les résultats exprimés correspondent à la moyenne des valeurs obtenues.

Les dénombrements sont réalisés par coloration directe de la lame à l'orange d'acridine et lecture au microscope sous lumière U.V. (grossissement 100 sous immersion).

L'efficacité d'un traitement pour éliminer les bactéries adhérentes est appréciée par le pourcentage de décrochement, calculé à partir des numérations obtenues. Ce pourcentage est obtenu par le rapport du nombre de bactéries adhérentes sur la lame témoin diminué du nombre de bactéries adhérentes sur la lame testée, au nombre de bactéries adhérentes sur la lame témoin que multiplie 100.

## *2) Essai de décrochement par des réactifs chimiques*

Nous avons essayé quelques réactifs chimiques cités dans la littérature comme ayant des effets sur le décrochement de diverses bactéries. Nous avons sélectionné :

- le tween 80 (1%) (SIGMA).
- l'urée (1%) (SIGMA).
- le mercapto-éthanol (0,1%) (SIGMA).
- le lauryl-Sulfate de sodium (SDS) (0,1%) (L.K.B.).
- l'EDTA (1%) (SIGMA).
- le périodate de sodium (0,1%) (SIGMA).

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 6a et 6b.

	suspension bactérienne bactéries/ml	lames traitées par réactif eau bactéries/mm <sup>2</sup>		% d' efficacité
Tween 80	2,2 10 <sup>7</sup>	3,9 10 <sup>2</sup>	7,3 10 <sup>2</sup>	46
Urée	9,0 10 <sup>6</sup>	1,5 10 <sup>2</sup>	7,2 10 <sup>2</sup>	79
M.-2-éthanol	1,3 10 <sup>7</sup>	1,5 10 <sup>3</sup>	1,7 10 <sup>3</sup>	11
EDTA	2,1 10 <sup>7</sup>	1,1 10 <sup>2</sup>	2,0.10 <sup>2</sup>	45
SDS	5,9.10 <sup>6</sup>	1,9.10 <sup>2</sup>	5,4.10 <sup>2</sup>	64
Periodate de Na	1,9 10 <sup>7</sup>	1,7 10 <sup>1</sup>	7,1 10 <sup>2</sup>	97

Tableau 6a: Essais de décrochement par les réactifs chimiques de la souche adhérente depuis 2h.

	suspension bactérienne bactéries/ml	lames traitées par réactif eau bactéries/mm <sup>2</sup>		% d' efficacité
Tween 80	2,3 10 <sup>7</sup>	2,0 10 <sup>3</sup>	5,0 10 <sup>3</sup>	60
Urée	3,0 10 <sup>7</sup>	4,3 10 <sup>3</sup>	8,9 10 <sup>3</sup>	51
M.-2- éthanol	2,0 10 <sup>7</sup>	3,8 10 <sup>3</sup>	4,2 10 <sup>3</sup>	9
EDTA	1,7 10 <sup>7</sup>	2,3 10 <sup>3</sup>	3,2 10 <sup>3</sup>	28
SDS	5,9.10 <sup>6</sup>	6,6.10 <sup>2</sup>	8,7.10 <sup>2</sup>	24
Périodate de Na	1,9 10 <sup>7</sup>	1,1 10 <sup>1</sup>	1,1 10 <sup>3</sup>	99

Tableau 6b: Essais de décrochement par les réactifs chimiques de la souche adhérente depuis 24h.

Tous ces produits, sauf un, ont une activité faible ou nulle.

Certains réactifs, tels que le mercapto-2-éthanol et l'EDTA ont le même effet sur les lames ayant été immergées pendant 2h ou 24h dans la suspension bactérienne. Par contre, l'urée et le SDS présentent une meilleure efficacité sur les lames immergées pendant 2h. Enfin seul le Tween 80 est plus efficace sur les lames immergées pendant 24h dans la suspension bactérienne.

Un seul produit, le périodate de sodium est réellement efficace : il permet en effet l'élimination de 97 à 99% des bactéries.

### 3) Essai de décrochement par les enzymes

Les enzymes sont utilisées dans certaines techniques pour décrocher les bactéries des particules. BRISOU (1980), CORPE (1973) et DANIELSSON (1977) ont testé différents enzymes sur des cellules adhérentes à des lames de verre.

Nous avons testé :

- une protéase
- la cellulase
- le lysozyme
- l'alpha-amylase
- la pronase
- la trypsine

Tous ces enzymes proviennent de chez BOERINGHER.

Ces enzymes sont utilisés en solution à 0,1% dans l'eau distillée stérile filtrée.

Les lames après lavage sont mises à incuber pendant 1h à 37°C avec :

- la solution enzymatique
- l'eau distillée stérile

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux 7a et 7b.

	suspension bactérienne bactéries/ml	lames traitées par réactif eau bactéries/mm <sup>2</sup>		% d' efficacité
Protéase	1,9 10 <sup>7</sup>	2,8 10 <sup>2</sup>	4,7 10 <sup>2</sup>	40
Cellulase	1,1 10 <sup>7</sup>	2,0 10 <sup>1</sup>	6,2 10 <sup>2</sup>	96
α amylase	1,2 10 <sup>7</sup>	7,8 10 <sup>2</sup>	2,5 10 <sup>3</sup>	69
Lysozyme	1,5 10 <sup>8</sup>	8,7 10 <sup>2</sup>	1,1 10 <sup>3</sup>	21
Pronase	4,3.10 <sup>7</sup>	9,1.10 <sup>2</sup>	1,1.10 <sup>3</sup>	17
Trypsine	4,3.10 <sup>7</sup>	1,0.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>3</sup>	9

Tableau 7a: Essais de décrochement par les enzymes de la souche adhérente depuis 2h.

	suspension bactérienne bactéries/ml	lames traitées par réactif eau bactéries/mm <sup>2</sup>		% d' efficacité
Protéase	1,4 10 <sup>7</sup>	2,1 10 <sup>3</sup>	3,2 10 <sup>3</sup>	34
Cellulase	1,4 10 <sup>7</sup>	2,8 10 <sup>2</sup>	3,0 10 <sup>3</sup>	90
α amylase	1,2 10 <sup>7</sup>	1,4 10 <sup>3</sup>	2,7 10 <sup>3</sup>	48
Lysozyme	2,0 10 <sup>7</sup>	4,4 10 <sup>3</sup>	2,6 10 <sup>3</sup>	41
Pronase	4,3.10 <sup>7</sup>	9,0.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>4</sup>	18
Trypsine	4,3.10 <sup>7</sup>	8,0.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>4</sup>	27

**Tableau 7b:** Essais de décrochement par les enzymes de la souche adhérente depuis 24h.

Les divers enzymes peuvent être regroupés selon leurs effets:

- la pronase et la protéase exercent une action faible mais identique sur les lames immergées pendant 2h ou 24h dans la suspension bactérienne.

- le lysozyme et la trypsine sont plus efficaces sur les lames ayant été immergées pendant 24h dans la suspension bactérienne.

- l'alpha amylase par contre est plus efficace sur les lames immergées pendant 2h que sur celles immergées pendant 24h. Cette enzyme agit en hydrolysant les liaisons alpha 1-4 glucosidiques des polysaccharides.

Seule la cellulase est réellement efficace pour décrocher les bactéries de la lame de verre quelque soit le temps d'immersion de la lame dans la suspension bactérienne.

#### *4) Effet de la cellulase en fonction du temps*

Nous avons testé plusieurs temps de contact de l'enzyme sur des lames immergées pendant 24h dans la suspension bactérienne.

Les tests ont été également réalisés avec l'enzyme inactivé par chauffage pendant 1/2h au bain-marie à 100°C.

Les résultats sont donnés dans le tableau 8.

Temps de contact (heure)	lames traitées par			% d' efficacité
	enzyme	enzyme inactivé (bactéries/mm <sup>2</sup> )	eau	
0,5	4,1 10 <sup>3</sup>	1,0 10 <sup>4</sup>	8,9 10 <sup>3</sup>	54%
1h	3,4 10 <sup>3</sup>	1,7 10 <sup>4</sup>	1,6 10 <sup>4</sup>	78%
2h	2,7 10 <sup>3</sup>	3,0 10 <sup>3</sup>	1,2 10 <sup>4</sup>	77%
4h	1,1 10 <sup>3</sup>	4,2 10 <sup>3</sup>	6,8 10 <sup>4</sup>	98%
6h	2,0 10 <sup>3</sup>	1,1 10 <sup>4</sup>	8,2 10 <sup>3</sup>	75%
8h	6,7 10 <sup>3</sup>	nappe	3,2 10 <sup>3</sup>	-
12h	nappe	nappe	2,6 10 <sup>3</sup>	-

concentration suspension bactérienne:  $1,15 \cdot 10^7$  bactéries/ml

Tableau 8a: Effet de la cellulase en fonction du temps.

L'effet maximal de l'enzyme est atteint en 4h. A partir de 6h de contact, l'effet diminue et à 8h, la lame témoin dans l'enzyme inactivée présente une croissance des bactéries. Après 12h de contact, toutes les lames au contact de l'enzyme sont entièrement recouvertes d'une nappe bactérienne.

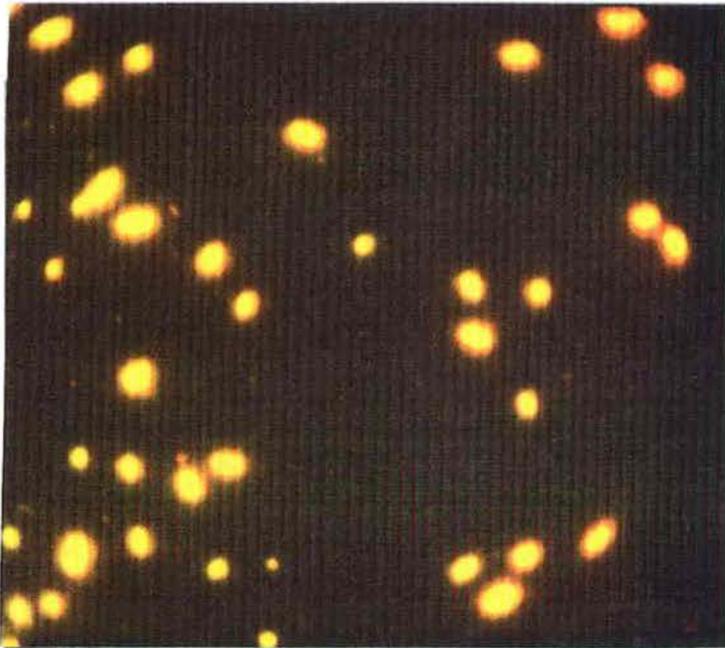
Nous avons renouvelé cette expérience en tampon pH 7 (Tableau 8b).

Temps de contact (heure)	lames traitées par			% d' efficacité
	enzyme	enzyme inactivé (bactéries/mm <sup>2</sup> )	eau	
1	5,7 10 <sup>2</sup>	9,0 10 <sup>2</sup>	9,6 10 <sup>2</sup>	40
2	2,3 10 <sup>1</sup>	3,3 10 <sup>2</sup>	3,4 10 <sup>2</sup>	93
4	8,1 10 <sup>1</sup>	2,2 10 <sup>2</sup>	2,1 10 <sup>2</sup>	62
6	1,6 10 <sup>2</sup>	2,9 10 <sup>2</sup>	2,0 10 <sup>2</sup>	18
12	2,5 10 <sup>4</sup>	3,6 10 <sup>3</sup>	3,6 10 <sup>2</sup>	-
24	1,9 10 <sup>4</sup>	1,0 10 <sup>4</sup>	3,6 10 <sup>2</sup>	-

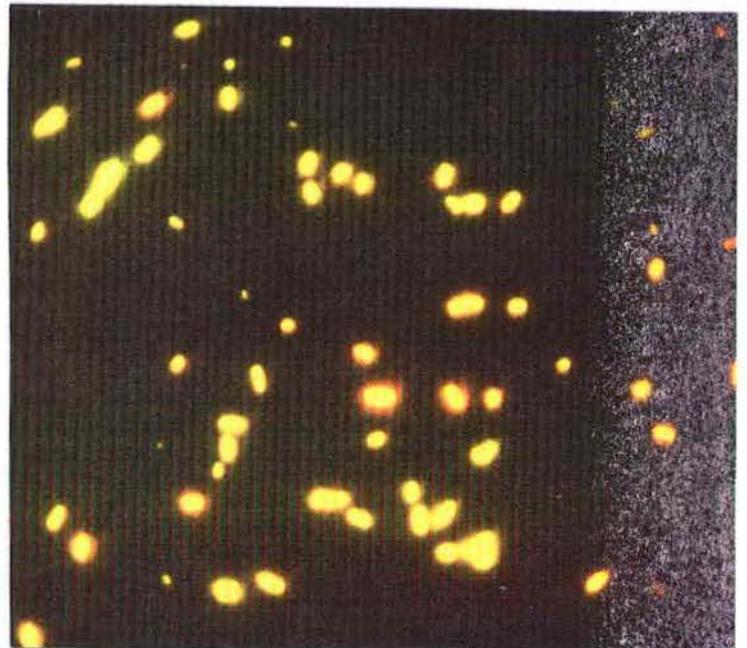
concentration suspension bactérienne:  $7,9 \cdot 10^6$  bactéries/ml

Tableau 8b: Effet de la cellulase en fonction temps en milieu tamponné.

**Lames après incubation dans l'eau**

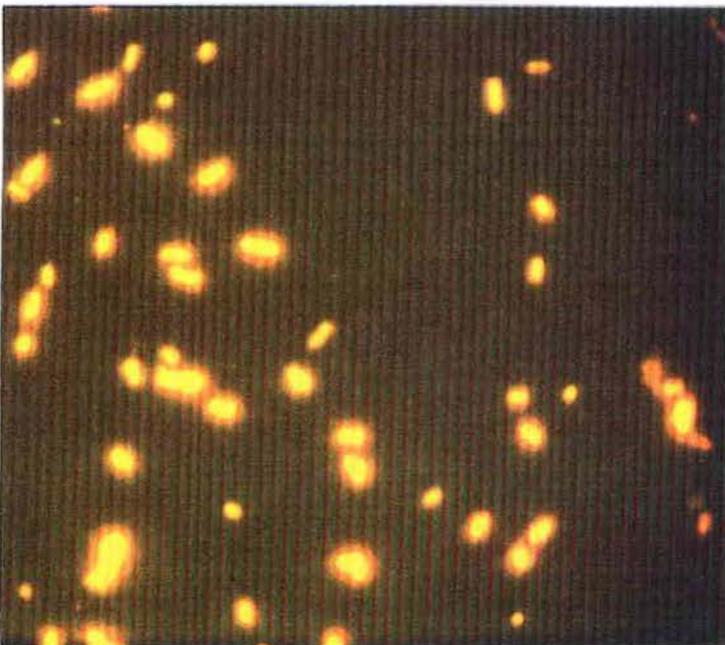


depuis 2 h



depuis 27 h

**Lames après traitement par la cellulase**



après 1 h de contact



après 4 h de contact

**Fig.22:** Adhésion de la souche d'*E.coli* sur les lames de verre.

L'effet maximal de l'enzyme est obtenu après 2h de contact. La croissance commence après 6h de contact. En 12h, la population sur la lame est multipliée par 100 et semble rester stable. On peut envisager que les bactéries utilisent l'enzyme comme source de substrat. L'observation microscopique montre qu'après 6h de contact avec l'enzyme, les corps bactériens s'arrondissent et leur volume augmente.

### 5) Discussion

Pour étudier le mécanisme d'adhésion d'*E.coli*, nous avons préféré travailler sur des lames de verre afin de visualiser directement les phénomènes d'adhésion (fig.22). La coloration à l'orange d'acridine permet le dénombrement par observation au microscope. Cette technique est largement utilisée et le verre permet d'utiliser des composés chimiques (DANIELSSON et al., 1976, DAWSON, 1981, CORPE, 1983, ALLISON et SUTHERLAND, 1984).

La densité des bactéries adhérentes obtenues est de l'ordre de  $10^3$  bactéries/mm<sup>2</sup> et peut être comparée à celles obtenues par MARSHALL et al. (1971), et STANLEY (1983).

Il est maintenant bien établi que l'adhésion bactérienne en milieu extérieur est associée à la biosynthèse d'un composé adhésif de la bactéries et le substrat solide (MARSHALL et al., 1971, CORPE, 1972, FLETCHER et FLOODGATE, 1973). Selon MARSHALL et al. (1971), les liens créés entre le polymère et le support d'adhésion seraient plus fort que ceux existant entre le polymère et la paroi bactérienne. Cette éventualité doit être prise en considération car certains produits peuvent provoquer le détachement des bactéries non pas par action sur la liaison polymère-substrat, mais en désorganisant la paroi.

Cette hypothèse peut expliquer l'action des réactifs chimiques que nous avons testé: l'EDTA, le mercapto-2-éthanol, l'urée, le lauryl-sulfate de sodium et le tween 80 sont tous susceptible d'agir au niveau de la paroi bactérienne. Par exemple, l'EDTA provoque la disparition de la partie externe de la paroi vraisemblablement en éliminant les ions calciums qui la stabilisent. Les détergents, l'urée et le mercapto-2-éthanol affectent profondément la paroi d'un *Pseudomonas* marin en rompant la double couche de la paroi (FORGE et al., 1973).

Parmi tous les produits testés, seul le périodate de sodium est réellement efficace. Il a été utilisé avec succès pour décrocher un *Pseudomonas* (CORPE, 1973), *Enterobacter cloacae* et *Chromobacterium* sp (McELDOWNEY et FLETCHER, 1986). ce composé est un oxydant puissant qui possède entre autres la propriété de dénaturer les polysaccharides en oxydant et en clivant les groupes hydroxyles caractéristiques des hydrates de carbone.

L'action plus spécifique des enzymes nous permet de tirer plus de conclusion. Ainsi, par exemple, les deux enzymes protéolytiques testées (trypsine et pronase), n'ayant pas d'effet une adhésion de type protéique peut être éliminée. La pronase, enzyme non spécifique, coupe les amino-acides au niveau des groupes peptides tandis que la trypsine qui est une carboxypeptidase hydrolyse les liaisons peptides sur le groupe carboxyle des acides aminés basiques L arginine et L trypsine.

Le lysozyme hydrolyse les liaisons osidiques reliant les résidus de N acétyl-glucosamine et d'acide N acétyl-muramiques: ces liaisons ne sont pas primordiales dans l'adhésion de la souche étudiée.

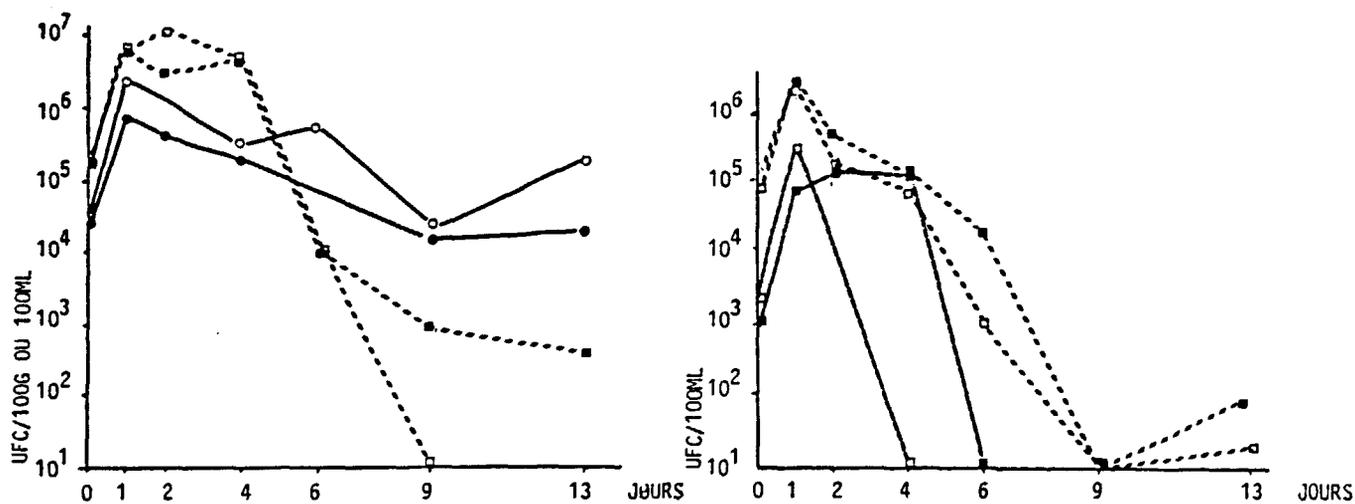
L'alpha amylase, qui hydrolyse les liaisons  $\alpha$  1-4 glycosidiques des polysaccharides est relativement efficace. L'effet maximal est obtenu avec la cellulase qui provoque la rupture des liaisons  $\beta$  1-4 glycosidiques.

La désorption par la cellulase des bactéries adhérentes implique la présence de polysaccharides, hypothèse confirmée par l'action du périodate de sodium.

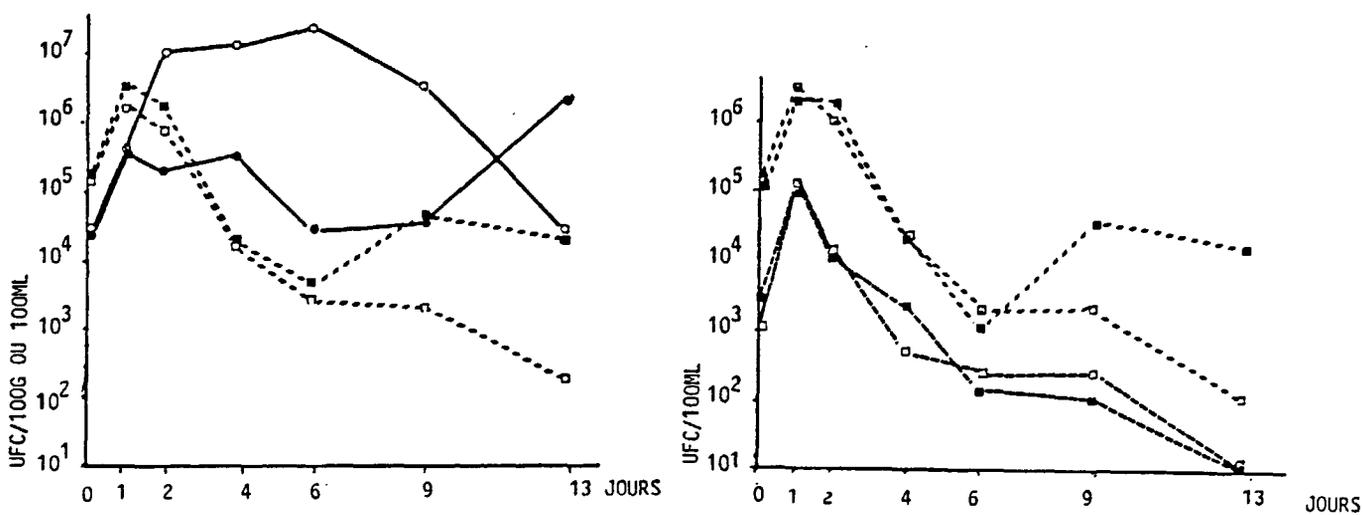
### III INFLUENCE DE LA COMPETITION DE FLORES SUR L'IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'*E. COLI*

Nous avons testé l'influence des flores du sédiment ou de l'eau de mer sur l'implantation de la souche d'*E.coli* . La souche est introduite au niveau du sédiment ou de l'eau.

Les différentes expériences sont réalisées deux fois, la plus représentative est discutée ci-dessous (cf annexe pour les numérations des autres expérimentations).



a. Implantation en milieu stérile.



b. Implantation en présence de la flore de l'eau.

Fig.23: Implantation de la souche d'*E.coli*, contamination par l'eau.

Evolution de la population bactérienne dans le sédiment de profondeur (—●), le sédiment de surface (—○), l'eau de profondeur (· · ■) et l'eau de surface (· · □).

Etude par les filtrations différentielles sur  $3\mu\text{m}$  en eau de profondeur (· · ■), en eau de surface (· · □), et sur  $0,22\mu\text{m}$  en eau de profondeur (- - ■), en eau de surface (- - □).

## *A) CONTAMINATION PAR L'EAU.*

### *1) Implantation en milieu stérile.*

La contamination du sédiment est immédiate: juste après la fin de la mise en place de l'eau, la concentration du sédiment est seulement 10 fois plus faible que celle de l'eau. Pendant 24h, la souche se multiplie dans le sédiment de surface puis la population diminue légèrement (fig.23a). La survie de la souche au niveau du sédiment est importante.

Dans l'eau, la croissance est parallèle à celle du sédiment pendant 24h puis les numérations se stabilisent pendant 3 jours. La diminution de la population est alors très rapide, spécialement dans l'eau de surface.

L'étude des filtrations différentielles, montre que les bactéries adhérentes jouent un rôle prépondérant. Le nombre de bactéries libres est beaucoup plus faible et leur disparition est rapide: la population est inférieure à 10 UFC/100ml après 4 jours en surface et 6 jours en profondeur.

### *2) Implantation en présence de la flore de l'eau*

Dans le sédiment, la population augmente pendant 24h en profondeur et 48h en surface pour atteindre le seuil de contamination de l'eau (fig.23b). La survie de la souche est plus importante dans le sédiment de surface.

Dans l'eau, comme dans le sédiment de profondeur, la phase de croissance dure 24h. La disparition de la souche commence 48h après la mise en oeuvre de l'expérimentation contre 96h dans l'expérience précédente.

La grande majorité des bactéries sont adhérentes aux matières en suspension, mais il existe cependant une certaine survie des bactéries libres.

### *3) Implantation en présence de la flore du sédiment.*

Du sédiment naturel est mis en contact avec l'eau de mer stérile contaminée par la souche.

La contamination du sédiment est immédiate. En profondeur, la population diminue après 5 jours, tandis qu'en surface la population est très stable (fig.23c).

Dans l'eau, la population diminue rapidement sans phase de croissance. aucune bactérie libre n'a été dénombrée, le seuil de sensibilité de la méthode étant de 10UFC/100ml. Le devenir du *E.coli* est donc ici, essentiellement lié au matériel particulaire. L'eau de mer ayant été stérilisée par filtration sur  $0,22\mu\text{m}$ , les particules sur lesquelles adhèrent *E.coli* proviennent d'une remise en suspension du sédiment. Ce phénomène a pu avoir eu lieu lors de la mise en place de l'expérimentation.

#### 4) *Implantation en milieu naturel.*

La souche de *E.coli* est implantée comme auparavant dans de l'eau de mer naturelle puis mis en présence des flores du sédiment.

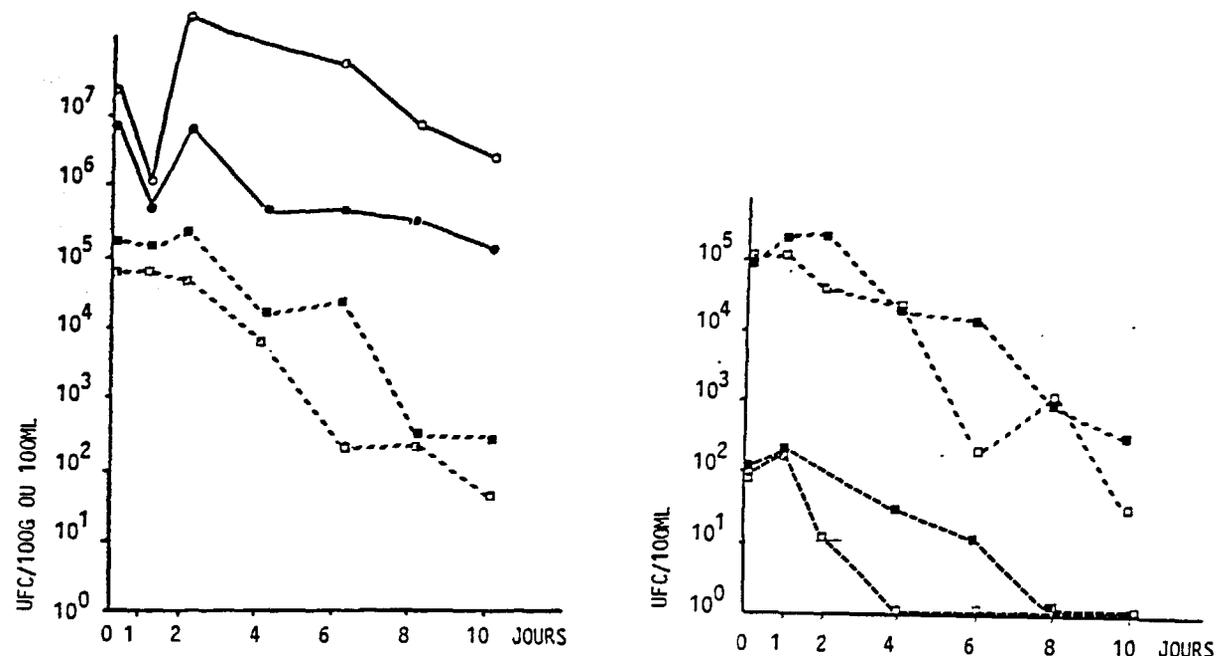
L'évolution de la souche dans le système est semblable aux observations précédentes: la contamination du sédiment est immédiate et la souche y survit très bien (fig.23d). Après 9 jours de contact il n'y a pratiquement pas eu de mortalité.

Dans l'eau, la disparition de la souche commence dès la mise en contact eau/sédiment. Les seules bactéries dénombrées sont, ici aussi, associées aux matières en suspension. La disparition que nous observons est donc vraisemblablement due à la sédimentation de ces particules.

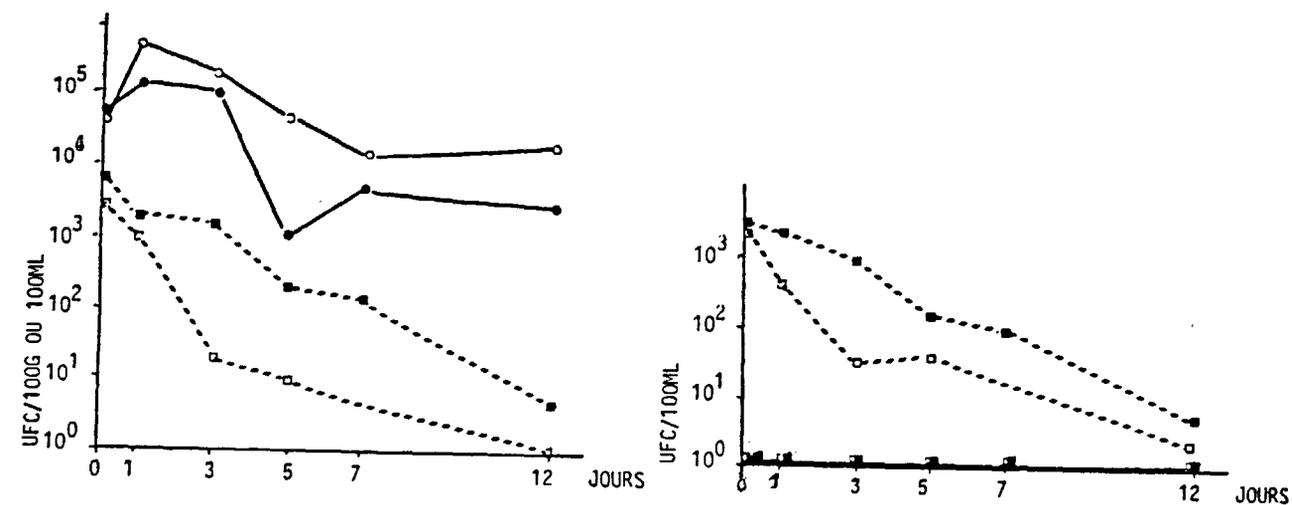
### *B) CONTAMINATION PAR LE SEDIMENT*

Il nous a semblé intéressant d'étudier l'influence du niveau de la source des rejets. En effet, un émissaire reposant sur le sol rejette ses souches pathogènes non pas dans l'eau mais dans le sédiment. IZZO et al.(1982) ont trouvé dans ce cas, une meilleure survie des coliformes fécaux et streptocoques fécaux.

Après prélèvement, le sédiment est inondé par un litre d'eau de mer fortement chargée en *E.coli* ( $10^7$ UFC/100ml). Après agitation pour bien remettre en suspension la couche superficielle du sédiment le système est laissé pendant 12h afin d'obtenir une bonne décantation. L'eau surnageante est ensuite aspirée et l'eau de mer est coulée sur le sédiment.



a. Implantation en présence de la flore du sédiment.



b. Implantation en milieu naturel.

Fig.24: Implantation de la souche d'*E.coli*, contamination par le sédiment.

Evolution de la population bactérienne dans le sédiment de profondeur (—●—), le sédiment de surface (—○—), l'eau de profondeur (---■) et l'eau de surface (·-·-□).

Etude par les filtrations différentielles sur 3 $\mu$ m en eau de profondeur (---■), en eau de surface (·-·-□), et sur 0,22 $\mu$ m en eau de profondeur (---■), en eau de surface (·-·-□).

### *1) Implantation en présence de la flore du sédiment.*

Dans le sédiment de surface, la souche se multiplie faiblement puis survit (fig.24a). Dans le sédiment de profondeur, la population diminue après 5 jours d'expérimentation.

Dans l'eau la contamination est rapide mais reste faible: la concentration est inférieure de 2 Log à celle du sédiment. L'étude des filtrations différentielles montrent que la plupart des bactéries sont associées aux particules ce qui peut expliquer la disparition rapide des bactéries par sédimentation (fig.24a).

### *2) Implantation en milieu naturel.*

Dans le sédiment de surface la souche se multiplie puis survit: en fin d'expérimentation la population est de même importance que l'inoculum apporté au départ (fig.24b). Dans le sédiment de profondeur, la décroissance de la population est un peu plus importante.

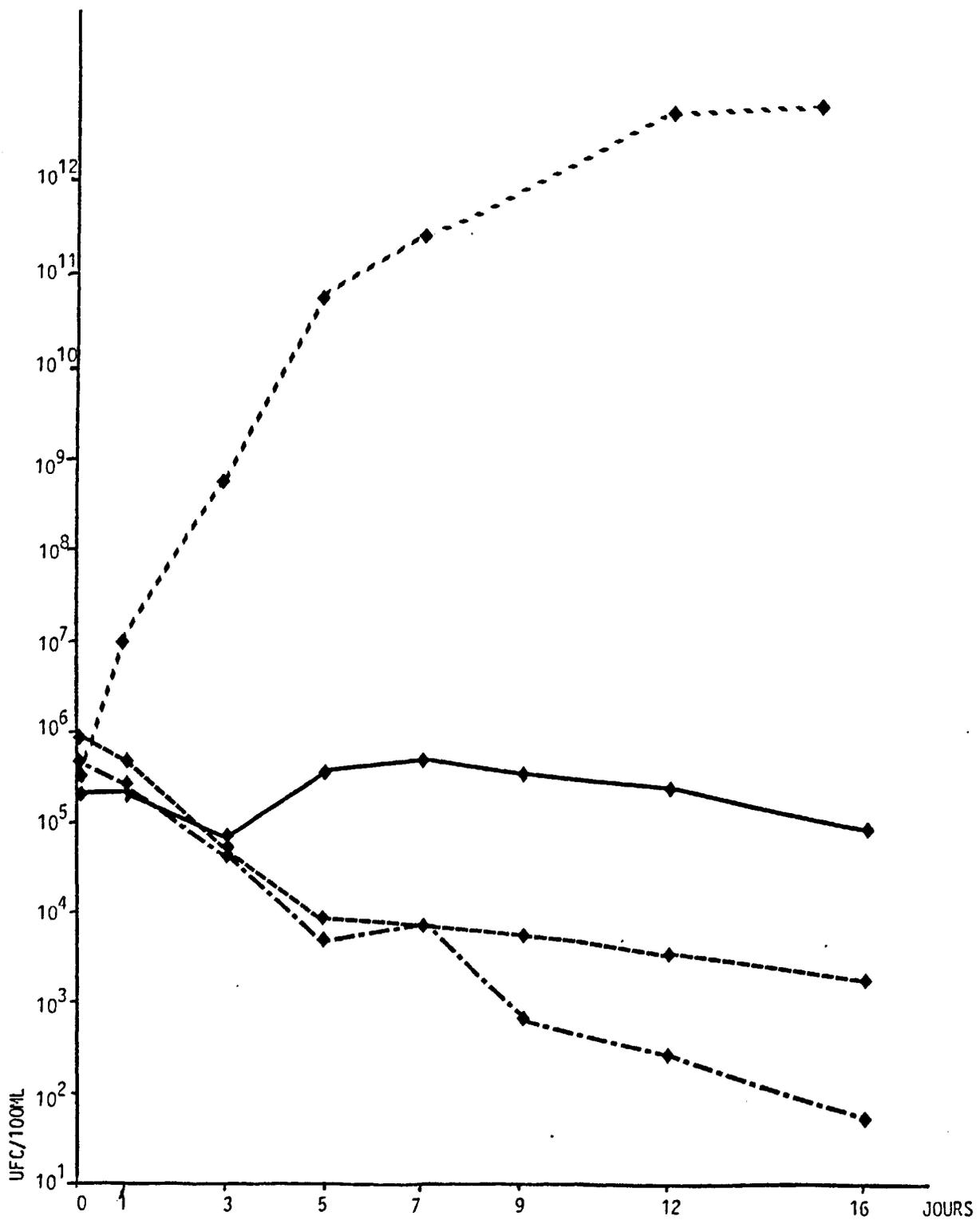
La contamination de l'eau est immédiate mais les populations restent plus faibles par rapport à celles observées dans le sédiment (fig.24b).

La contamination de l'eau est essentiellement due à un passage de bactéries associées aux particules: la sédimentation de ces dernières entraînent donc la disparition des bactéries.

La même expérience réalisée avec un inoculum plus fort du sédiment entraîne des concentrations plus élevées dans l'eau, en surface et en profondeur. Il y a donc une influence du niveau de contamination du sédiment sur la contamination de l'eau.

### *C INFLUENCE DE LA STERILISATION DU SEDIMENT.*

Lors des expériences réalisées sur sédiment stérilisé, une phase de croissance de la souche d'*E.coli* est observée. Ce phénomène n'étant pas visible sur sédiment naturel, il nous a semblé intéressant de voir l'influence de la stérilisation du sédiment sur la croissance de la souche.



**Fig.25:** Influence de la stérilisation du sédiment.

Evolution de la souche dans l'eau de mer (---), l'eau douce (....), l'eau de décantation du sédiment naturel (—) et l'eau de décantation du sédiment stérilisé (- · - ·).

Des échantillons (50g) de sédiment stérile et naturel ont été mis sous agitation pendant 2h avec 150ml d'eau de mer stérilisée par filtration. Après décantation, le surnageant est filtré sur  $0,22\mu\text{m}$ . La souche d'*E.Coli* est alorsensemencée à  $5.10^5\text{UFC}/100\text{ml}$ . Des témoins sont réalisés dans l'eau de mer et l'eau douce. Les résultats obtenus sont représentés fig.25.

Dans l'eau douce et l'eau de mer, flacons témoins, la population diminue pendant toute la durée de l'expérimentation.

Dans l'eau de décantation du sédiment naturel, la souche survit: après 15 jours, la population est sensiblement la même que celle observée le jour de la mise en oeuvre de l'expérimentation.

Dans l'eau de décantation du sédiment stérilisé: la croissance est immédiate et très importante. Ceci confirme les données de la littérature qui incriminent la stérilisation comme facteur de libération de la matière organique. Ceci est observable à l'oeil nu : l'eau de décantation du sédiment stérile présente une couleur différente de celle du sédiment naturel.

## *D DISCUSSION*

La disparition des entérobactéries dans l'environnement littoral est la résultante d'un grand nombre de facteurs aussi bien physique que chimiques mais aussi biologiques. La connaissance de ces divers facteurs, de leur action spécifique et de leur importance relative permettra d'évaluer les possibilités de survie des germes de contamination après leur rejet.

Nous avons, lors de notre étude, voulu évaluer l'impact des compétitions de flore autochtones de l'eau de mer ou du sédiment sur une souche d'*E.coli*. Le travail en pilote au laboratoire permet d'éliminer de nombreux paramètres pouvant influencer la survie de la souche tels que la température, les courants de marée, les rayons U.V....

La souche utilisée pour cette étude provenant d'une coproculture humaine, nous pouvons supposer que ses probabilités d'adaptation au milieu marin sont faibles, et l'on se retrouve ainsi dans le cas d'une souche rejetée par une station d'épuration.

Les résultats obtenus montrent que la souche persiste longtemps dans le sédiment. Par exemple, dans le sédiment stérile, il faut attendre environ 40 jours pour avoir un abattement de 1 log de la population. Dans le sédiment naturel, ce délai est réduit de moitié (environ 20 jours).

Ces temps deviennent de plus en plus courts avec la profondeur dans le sédiment: par exemple, à 30 cm de profondeur l'abattement de 1 log est obtenu après 6 jours dans un sédiment naturel.

Dans l'eau, la survie de la souche est nettement plus brève: l'abattement de 1 log de la population apparaît dans les 2-3 jours. Les temps de survie sont légèrement plus élevés dans l'eau de profondeur, ceci doit être relié à la teneur plus élevée de matière en suspension.

L'influence des compétitions de flore y est la plus marquée. En effet en absence de la flore autochtone on observe une légère phase de croissance pendant 48h qui n'existe pas lorsque la flore marine est présente.

Cette influence peut être expliquée par le manque d'éléments nutritifs au niveau de l'eau: les bactéries marines adaptées au milieu utilisent la faible quantité de matière organique présente au détriment des bactéries de contamination. Ceci est confirmé par l'observation que ces bactéries de contamination sont surtout présentes sur les particules qui leur procurent les éléments nutritifs nécessaire à leur survie.

Cette phase de multiplication est favorisée non seulement par l'élimination de la flore compétitive et des microorganismes prédateurs mais aussi par la chélation des métaux toxiques et par une augmentation de la disponibilité des nutriments (MITCHELL, 1976, HENDRICKS, 1970, GERBA et McLEODS, 1976).

L'absence d'éléments nutritifs semble bien l'élément limitant pour la survie d'*E.coli* en eau de mer.

Au niveau du sédiment, les bactéries de contamination trouvent les éléments nutritifs nécessaire pour leur survie: la matière organique disponible est suffisante pour éliminer les notions de compétitions de flore. En particulier, à proximité des rejets de station les sédiments sont très riches en matière organique ce qui favorise la survie des bactéries rejetées.

Ces résultats sont en accord avec la littérature. BAUERFEIND et al., (1981), BURTON et al., (1987) confirment la persistance de *E.coli* dans les sédiments.

GERBA et McLEODS (1976) ont étudié la survie d'une souche d'*E.coli* au laboratoire dans l'eau de mer en présence ou non de sédiment. Leurs résultats montrent que la souche ne se multiplie qu'en présence de sédiment.

FAUST et al., (1975), lors d'une étude en chambre de survie sur le devenir d'une souche d'*E.coli* mettent en évidence l'importance de la présence de particules et de matière organique pour la survie de la souche.

LALIBERTE et GRIMES (1982) notent également une croissance de ce germe dans le sédiment et une survie étendue.

HOOD et NESS (1982) montrent qu'*E.coli* disparaît rapidement de l'eau de mer mais persiste longtemps dans le sédiment.

RODHES et KATOR (1988), démontrent, lors d'une étude en chambre de diffusion, qu'*E.coli* peut survivre et même se multiplier dans l'environnement estuarien.

Enfin, PEREZ-ROSAS et HAZEN (1988) ont montré qu'*E.coli* survit et persiste sous forme métaboliquement active plus longtemps dans le sédiment que dans l'eau.

H CONCLUSION

## H CONCLUSION

Le littoral breton se révèle original si l'on considère l'ensemble du littoral français, mais on peut retrouver des situations analogues dans différents pays comme en Ecosse pour l'Angleterre ou dans la Chesapeake bay aux Etats Unis.

Cette région côtière se caractérise par une succession de baies profondes et d'estuaires, zones où la sédimentation est un phénomène important. De ce fait, il s'y accumule une très grande quantité de matières organiques d'origine terrestre ou marine, phénomène amplifié par une pollution chimique et organique dont les conséquences sont reconnues par la prolifération d'algues vertes, ainsi que de zooplancton ou phytoplancton.

Les phénomènes de marée sont également une caractéristique de ces zones littorales bretonnes et provoquent des variations importantes et originales de la teneur en sel et matière organique.

Le littoral est désormais la zone d'activité préférentielle de la région Bretagne marquée par une croissance quasiment exponentielle au détriment d'une quasi "désertification" du centre.

Ce développement est de peu d'intérêt pour l'écologiste lorsqu'il s'agit d'industrie électronique ou informatique mais devient nettement plus préoccupant lorsque celui-ci concerne l'élevage, l'industrie agro-alimentaire ou le tourisme, sources de pollution bactérienne et organique auxquelles s'additionne une contamination liée à la croissance parallèle de la population.

Lors d'études antérieures réalisées sur la rade de Brest (Etude d'Acceptabilité du Milieu Marin), nous avons constaté une survie des bactéries sur une durée et à des distances considérées à l'époque comme peu en rapport avec les normes en vigueur, et ces études ne concernaient que l'eau.

Parmi les raisons invoquées pour cette survie prolongée de la flore bactérienne dans l'eau, l'hypothèse du relargage par le sédiment avait été envisagée suite à l'observation d'une augmentation anormale de la contamination de l'eau après les tempêtes. Nous avons alors supposé une remise en suspension du sédiment, d'autant plus que ce dernier riche en matière organique paraissait susceptible de jouer le rôle de piège pour les bactéries de contamination et de constituer une zone de survie.

Des études *in situ* et *in vitro* ont donc été réalisées afin d'apprécier la capacité de contamination du sédiment et les possibilités de survie des bactéries de contamination.

Ces études ont porté sur la flore hétérotrophe aérobie ou aérobie facultative du sédiment et accessoirement de l'eau. La mise en évidence de ces flores a été faite par culture des échantillons prélevés. En effet si dans l'eau, la grande majorité des bactéries sont sous forme viables mais non cultivables et sont donc préférentiellement mises en évidence par les techniques de fluorescence, dans le sédiment, les bactéries, conservant une activité métabolique, sont davantage susceptibles de croître sur des milieux gélosés appropriés.

Deux paramètres nous ont paru pouvoir sélectionner la flore de contamination et la flore autochtone : la teneur en chlorure de sodium et la température d'incubation. En fait, il s'avère que la température d'incubation permet une sélection plus efficace que la teneur en sel. En effet, une grande majorité des bactéries du milieu terrestre et des eaux douces tolèrent des teneurs en sel proche de celle de l'eau de mer soit par leur halotolérance intrinsèque soit par l'accumulation d'osmoprotecteur.

Les études *in situ* réalisées dans la rivière de Morlaix montrent que le sédiment joue effectivement le rôle de piège à bactéries puisque les numérations bactériennes y sont de 100 à 1000 fois supérieures à celles de l'eau. Les numérations les plus élevées sont observées en surface du sédiment (1cm). Si l'on considère que le sédiment de profondeur est plus ancien que le sédiment de surface, on pourrait envisager une auto-épuration au niveau du sédiment. Cette hypothèse toute satisfaisante qu'elle soit n'a pu être confirmée dans notre étude *in vitro* car si les compétitions de flore existent, les conséquences sont longues à apparaître et n'ont pu être mises en évidence lors de nos expérimentations se déroulant sur 15 jours.

La station d'épuration constitue le principal contaminant de la rivière, la contamination est relativement stable dans l'estuaire proprement dit et diminue brutalement à 3km du point de rejet. Ce phénomène apparaît nettement lié à la granulométrie : les zones contaminées correspondent à du sédiment fin et la zone peu contaminée à une zone sableuse pauvre en matière organique.

Cette contamination apparaît relativement stable. Ainsi, la flore de contamination et la flore hétérotrophe autochtone ne subissent aucune variation saisonnière: au cours de l'année, le taux de contamination reste semblable. Seuls les vibrionacés, germes d'origine marine, subissent l'influence des saisons.

De même, l'influence des marées de vives eaux ne se traduit que par une extension sur environ 200m de la contamination.

Les paramètres hydrodynamiques jouent donc un rôle fondamental dans la sédimentation des bactéries de contamination après leur rejet, et conduisent à une quasi "saturation" de l'estuaire.

Les études *in vitro* réalisées ont pour but d'analyser et d'expliquer les phénomènes observés *in situ*. Un des principaux problèmes réside au niveau des échanges eau/sédiment.

La contamination du sédiment par une eau de mer naturelle est extrêmement rapide. La stérilisation réalisée par la chaleur accélère sans doute ce phénomène en provoquant une déshydratation qui permet ultérieurement une diffusion de l'eau support de la contamination à travers les différentes couches du sédiment mais également par son effet sur "l'assimilabilité" de la matière organique.

La principale observation réside dans le fait que les numérations bactériennes du sédiment sont supérieures ou égales à celles observées dans l'eau. On peut donc envisager qu'à la température de l'expérimentation, les bactéries de contamination se multiplient dans le sédiment où elles trouvent les nutriments assimilables nécessaires. Elles y trouvent aussi probablement des osmoprotectants qui leur permettent de se développer en milieu salé.

Le sédiment peut devenir à son tour source de contamination pour l'eau. Le simple fait de couler très doucement de l'eau de mer stérile sur du sédiment remet en effet en suspension une fine couche de particules et permet ainsi la contamination. Ce paramètre est très important pour nos régions: en effet, à marée montante, on observe in situ cette fine couche de particule à la surface de l'eau. La contamination est causée principalement par des bactéries associées à des particules.

La flore autochtone hétérotrophe est susceptible de croissance en eau de mer filtrée donc débarrassée de la matière organique particulaire. Cette phase de multiplication observée pendant les premiers jours est suivie d'une décroissance relativement rapide, causée vraisemblablement par un épuisement en matières nutritives du milieu.

Le devenir de la flore de contamination est essentiellement lié au matériel particulaire. En effet, sous forme libre, ces bactéries moins bien adaptées au milieu marin que la flore autochtone, ne survivent pas. Par contre, sous forme adhérente aux particules, elles persistent dans le milieu principalement en eau de profondeur proche de l'interface eau/sédiment riche en matériel particulaire.

Ces constatations sur la flore de contamination nous ont conduit à étudier la survie d'un modèle: *E.coli*. L'utilisation d'un mutant résistant d'origine hospitalière permet de supposer que ses probabilités d'adaptation au milieu marin sont faibles.

La survie d'*E.coli* est favorisée par l'adhérence au matériel particulaire que celui-ci soit enrichi ou non en matière organique. Le système d'adhésion est vraisemblablement de nature polysaccharidique car l'action de la cellulase permet de décrocher la grande majorité des bactéries adhérentes.

Cette souche mise en contact avec du sédiment s'y implante de suite et est même capable de s'y développer, ce qui confirme l'existence au niveau du sédiment de nutriments assimilables. Les résultats comparables obtenus avec du sédiment stérile ou du sédiment naturel montrent que les compétitions de flore dans ce milieu riche en matière organique sont de peu d'importance. En effet, il faut attendre 20 jours dans un sédiment naturel et 40 jours dans un sédiment stérile pour obtenir un abattement de 1 log de la population.

Dans l'eau par contre, l'influence des compétitions de flore est plus marquée: la disparition de la souche est plus rapide en présence de la flore autochtone.

Le devenir de la souche est essentiellement lié aux particules.

Ces études *in vitro* confirment donc les phénomènes observés dans l'estuaire de Morlaix à savoir que les échanges eau/sédiment sont importants et que les bactéries de contamination sont susceptibles de survivre et même de se multiplier dans le sédiment.

Les temps de survie élevé (de l'ordre de 1 mois) d'un germe de contamination tel qu'*E.coli* observé *in vitro* expliquent la contamination importante et étendue dans l'estuaire. En effet, les apports quotidiens dus à la station d'épuration associé à la survie des germes entretiennent cette contamination.

Cette survie au niveau du sédiment présente plusieurs conséquences importantes. Tout d'abord, les animaux ou coquillages vivants au contact de ce sédiment sont susceptibles d'être contaminés. Cette contamination pouvant, par la suite, atteindre l'homme lors de la consommation de ces produits de la mer.

Dans un second temps, ce sédiment peut contaminer l'eau surnageante. Dans ces zones littorales, les causes de remise en suspension du sédiment sont multiples: les marées, les tempêtes, les crustacés... mais aussi les activités de pêche, nautisme, baignade... Les germes se retrouvent ainsi dans l'eau associé aux particules, ce qui leur assure une persistance suffisante pour éventuellement contaminer soit des coquillages, soit l'homme, ou encore un nouveau site...

La conséquence pratique serait donc d'éviter le rejet d'eaux contaminées, même chimiquement épurées en milieu littoral riche en sédiment susceptible d'entretenir et éventuellement d'accroître la contamination bactérienne.

NOM ET PRENOM :

LE GUYADER Françoise

TITRE DE LA THESE

COLONISATION BACTERIENNE ET IMPLANTATION DE B.COLI DANS LE  
SEDIMENT D'ORIGINE LITTORALE.

RENNES, le

Le Président de thèse

*M. Cormier*

24 MAI 1989

Vu et permis d'imprimer

Le Président de l'Université

Pour le Président et p.d.  
Le Premier Vice-Président,

*M. Cormier*

M. CORMIER

## BIBLIOGRAPHIE

## BIBLIOGRAPHIE

- ALBRIGHT L.J., Mc CRAE S.K., MAY B.E.  
Attached and free-floating bacterioplankton in Howe sound, British columbia, a coastal Marine Fjord-Embayment.  
Appl.Environ.Microbiol. 1986,51(3): 614-621
- ALLEN G.P., CASTAING P., SALOMON J.C.  
Effets de la marée sur les mouvements de l'eau et des sédiments dans les estuaires.  
Mem.Sol.Geol. 1982,144: 5-16
- ALLISON D.G., SUTHERLAND I.W.  
A staining technique for attached bacteria and its correlation to extracellular carbohydrate production.  
J.Microb.Meth. 1984,2: 93-99
- ALLISON D.G., SUTHERLAND I.W.  
The role of exopolysaccharides in adhesion of freshwater bacteria.  
J.Gen.Microbiol. 1987,133: 1319-1327
- ANSON A.E., WARE G.C.  
Survey of distribution of bacterial pollution in the Bristol channel.  
J.Appl.Bacteriol. 1974,37: 657-661
- AYRES P.A.  
The use of faecal bacteria as a tracer for sewage sludge disposal in the sea.  
Mar.Poll.Bull. 1977,8(12): 283-285
- BABINCHAK J.A., GRAIKOSKI J.T., DUDLEY S., NITKOWSKI M.F.  
Distribution of faecal coliforms in bottom sediments of the New York Bight.  
Mar.Bioll.Bull. 1977,8(7): 150-153
- BATOOSINGH E., ANTHONY E.H.  
Direct and indirect observations of bacteria on marine pebbles.  
Can.J.Microb. 1971,17: 655-664
- BAUERFEIND S., HERHARDT G.G., RHEINHEIMER G.  
Survival of faecal bacteria in experiments with and without sediment addition.  
Biol.Abstra. 1982,74: 364-374
- BELL C.R., ALBRIGHT L.J.  
Attached and free-floating bacteria in the Fraser river estuary, British Columbia Canada.  
Mar.Ecol.Prog.series. 1981,6: 317-327
- BELLA P.A., RAMM A.E., PETERSON P.E.  
Effets of tidal flats on estuarine water quality.  
J.WPCF. 1972,44: 541-556

BELLAIR J.T., PARR-SMITH G.A., WALLIS I.G.

Significance of diurnal variations in faecal coliform die-off rates in the design of ocean outfalls.

J.WPCF. 1977, 2022-2030

BENT E.J., GOULDER R.

Planktonic bacteria in the Humber estuary ; seasonal variation in population density and heterotrophic activity

Mar.Biol. 1981,62: 35-45

BERMAN D., RICE E.W., HOFF J.C.

Inactivation of particle associated coliforms by chlorine and monochloramine.

Appl.Environ.Microb. 1988,54(2): 507-512

BIANCHI A.J.M.

Distribution de certaines bactéries hétérotrophes aérobies dans les sédiments profonds de Méditerranée Orientale.

Mar.Biol. 1971,11: 106-117

BIANCHI A.J.M.

Variations de la concentration bactérienne dans les eaux et les sédiments littoraux.

Mar.Biol.1973,22: 23-29

BIANCHI A.J.M.

Distribution quantitative et qualitative des populations bactériennes à l'interface eau/sédiment.

Colloque International CNRS : "Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau/sédiment marin".

25-27 Avril 1979.

BOLTER M., MEYLER-REIL L.A., DAWSON R., LIEBEZEIT G, WOLTER K, SZWERINSKI H.

Structure analysis of shallow water ecosystems : interaction of microbiological, chemical and physical characteristics measured in the overlying waters of sandy beach sediments.

Estuar.Coast.Shelf.Sci. 1981,13(5): 579-589

BONDE G.J.

Studies on the dispersion and disappearance phenomena of enteric bacteria in the marine environment.

Rev.Int.Oceanogr.Med. 1968,9: 17-44

BORREGO J.J., ARRABAL F., VICENTE A., GOMEZ L.F., ROMERO P.

Study of microbial inactivation in the marine environment.

J.WPCF., 1983,55(3): 297-302

BOWDEN W.B.

Comparison of two direct-count techniques for enumerating aquatic bacteria.

Appl.Environ.Microbiol. 1977,33(5): 1229-1232

BRACEWELL L.W., OSWALD S., SELLEK R.E., CARTER R.

Contribution of wastewater discharges to ocean surface particulates.

J.WPCF., 1980,52(8): 2230-2245

BRIGHT J.J., FLETCHER M.

Amino acid assimilation and electron transport system activity in attached and free-living marine bacteria.

App.Environ.Microbiol. 1983,45(3): 818-825

BRISOU J.F.

Débusquement enzymatique des bactéries fixées sur les sédiments marins.  
C.R.Acad.Sc.Paris. 1980,290(22): 1421-1424

BROTHERTON J.E., EMERY A., RODWELL V.W.

Characterization of sand as a support for immobilized enzymes.  
Biotechnol.Bioengineer. 1976,18: 527-543

BRYANT R.D., COSTERTON J.W., LAISHLEY E.J.

The role of *Thiobacillus albertis* glycocalyx in the adhesion of cells to elemental sulfur.  
Can.J.Microbiol. 1983,30: 81-90

BURNISON B.K.

Microbial ATP studies  
Verh.Int.Verein.Limnol. 1975,19: 286-290

BURTON G.A., GUNNISON D., LANZA G.R.

Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments.  
Appl.Environ.Microbiol. 1987,53(4): 633-638

CAMMEN L.M.

Effect of particle size on organic content and microbiol abundance within four marine sediments.  
Mar.Ecol.Prog.Ser. 1982,9: 273-280

CAMMEN L.M., WALKER J.A.

Distribution and activity of attached and free-living suspended bacteria in the Bay of Fundy.  
Can.J.Fisch.Aquat.Sci. 1982,39: 1655-1663

CHAN K.Y., WONG S.H., MAK C.Y.

Effects of bottom sediments on the survival of *Enterobacter aerogenes* in seawater.  
Mar.Poll.Bull. 1979,10: 205-210

CHARACKLIS W.G.

Attached microbial growths I attachment and growth.  
Wat.Res. 1973,7: 1113-1117

CHEVRIER M.C.

Etude de l'action d'enzymes sur les numérations des populations bactériennes d'eaux douces et marines et de sédiments.  
DEA de Microbiologie. université de Paris sud- UER d'Hygiène et de Protection de l'Homme et de son Environnement. octobre 1983.

CHRISTENSEN B.E., KJOSBAKKEN J., SMIDSROD O.

Partial chemical and physical characterization of two extracellular polysaccharides produced by marine, periphytic *Pseudomonas sp* strain NCMB 2021.  
Appl.Environ.Microb. 1985,50(4): 837-845

CHURCHLAND L.M., KAN G., AGES A.

Variation in fecal pollution indicators through tidal cycles in the Fraser River estuary.  
Can.J.Microbiol. 1982,28(2): 239-247

CLARKE K.R., JOINT I.R.

Methodology for estimating numbers of free-living and attached bacteria in estuarine water.  
Appl.Environ.Microb. 1986,51(5): 1110-1120

CLAVIER-RAULT F.

Numération par épifluorescence des bactéries viables du sédiment marin. Observation directe des sites bactériens.

C.R.Acad.Sci.Ser.3 ISSN 502685. 1981,292(9): 599-602

COLWELL R.R., BRAYTON P.R., GRIMES D.J. ROZSAK D.B., HUQ S.A., PALMER L.M.

Viable but non culturable *Vibrio cholerae* and related pathogens in the environment : implications for release of genetically engineered micro-organisms.

Biotechnology, 1985,3(9): 817-820

CORMIER M., BASSOULET P., POMMEPUY M.

Etude au microscope électronique à balayage des relations entre bactéries et matières en suspension en milieu marin.

2d colloque international de bactériologie marine - Brest - 1-5 Octobre 1984.

Actes de colloques, 1986,3: 237-241

CORPE W.A.

Attachment of marine bacteria to solid surfaces.

in: Adhesion in biological systems, MANLY R.S.(ed.), Academic Press - NEW YORK. 1970, chap.4: 73-87

CORPE W.A.

Detachment of marine periphytic bacteria from surfaces of glass slides.

Dev.Inol.Microbiol. 1973,15: 251-287

CORPE W.A.

Microbial surface components involved in adsorption of microorganisms onto surfaces.

in: Adsorption of microorganisms to surfaces.G.BITTON and K.C.MARSHALL (ed.) J.WILEY and sons.INC New-York,1980, :105-144.

COSTERTON J.W., GEESEY G.G., CHENG K.J.

Comment collent les bactéries ?

Pour la Science. 1978,5: 100-110

COSTERTON J.W., GESSEY G.G.

Microbial contamination of surfaces.

Surface contamination. MITTAL K.L.(ed.) Plenum Press Publishing. NEW-YORK 1979, 211-221

COSTERTON J.W.

Some techniques involved in study of adsorption of microorganisms to surface.

in: Adsorption of microorganisms to surfaces.G.BITTON and K.C.MARSHALL (ed.) J.WILEY and sons.Inc New-York,1980, :403-423.

COSTERTON J.W., IRVIN R.T.

The bacterial glycocalyx in nature and disease.

Annu.Rev.Microbiol. 1981,35: 299-324

DALE N.G.

Bacteria in intertidal sediments: factors related to their distribution

Limnol.Oceanogr. 1974,19: 509-518

DALEY R.J.

Direct epifluorescence enumeration of native aquatic bacteria: uses, limitation and comparative accuracy.

in: Native aquatic bacteria: enumeration, activity and ecology W.J.COSTERTON and R.R.COLWELL (ed.). ASTM Spec.Tech.Publ. 1979,695: 29-45

DANIELS S.L.

Mechanisms involved in sorption of microorganisms to solid surfaces.

in: Adsorption of microorganisms to surfaces. BITTON G. AND MARSHALL K.C. (ed.)  
J.WILEY and sons Inc New-York: 7-58.

DANIELSSON A., NORKRANS B., BJORNSSON A.

On bacterial adhesion. The effect of certain enzymes on adhered cells of a marine  
*Pseudomonas* sp.

Botanica Marina. 1977, 20(1): 13-17

DAUMAS R.

Echanges trophiques des sédiments superficiels dans la communauté benthique.

Oceanis, 1984, 10(4): 429-435

DAVIDSON A.M., FRY J.C.

A mathematical model for the growth of bacterial microcolonies on marine sediments.

Microb.Ecol. 1987, 13: 31-45

DAWSON M.P., HUMPHREY B., MARSHALL K.C.

Adhesion : a tactic in the survival strategy of a marine vibrio during starvation.

Curr.Microbiol. 1981, 6: 195-201

DEFLAUN M.F., MAYER L.

Relationship between bacteria and grain surfaces in intertidal sediments.

Limnol.Oceanogr. 1983, 28(5): 873-881

DORIA E.V., BIANCHI A.

Comparaison de deux méthodes d'extraction des bactéries des sédiments marins.

C.R.Acad.Sci.Ser.3 Sci.Vie. ISSN 0249-6313. 1982, 294(11): 467-470

DOYLE J.D., TUNNICLIFF B., KRAMER R.E., BRICKLER S.K.

Analysis of sample preparation procedures for enumerating faecal coliforms in coarse  
Southwestern US bottom sediments by the most probable number method.

Appl.Environm.Microb. 1984, 48(4): 881-883

DUPRAY E., CORMIER M.

Optimal enrichment time for isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from sea-food.

Appl.Environ.Microbiol. 1983, 46(5): 1234-1235

ELLERY W.N., SCHLEYER M.H.

Comparison of homogenization and ultrasonication as techniques in extracting attached  
sedimentary bacteria.

Mar.Ecol.prog.Ser. 1984, 15: 247-250

ELLWOOD D.C., KEEVIL C.W., MARSH P.D., BROWN C.M., WARDELL J.N.

Surface associated growth.

Phil.Trans.R.Soc.Lond. 1982, 297: 517-532

ERIKSSON L., AXBERG C.

Direct influence of wastewater pollutants on flocculation and sedimentation behaviour in  
biological wastewater treatment. I model system *E.coli* B.

Wat.Research. 1981, 15: 421-431

ERKENBERGER C.W.

Sediment bacterial indicators in an urban shell fishing estuary of the lower Chesapeake  
bay.

Appl.Environm.Microb. 1981, 42(3): 484-492

FAUST M.A., AOTAKY A.E., HARGADON M.T.

Effect of physical parameters on the in situ survival of *E.coli* MC.6 in an estuarine environment.

Appl.Microbiol. 1975,30(5): 800-806

FERGUSON R.L., RUBLEE P.

Contribution of bacteria to coastal microplankton standing crop.

Limnol.Oceanogr. 1976,21: 141-145

FERGUSON R.L., PALUMBO A.V.

Distribution of suspended bacteria in neritic water south of Long Island during stratified conditions.

Limnol.Oceanogr. 1979,24: 697-705

FLETCHER M.

The effects of proteins on bacterial attachment to polystyrène

J.Gen.Microbiol. 1975,94: 400-404

FLETCHER M.

The effects of culture concentration and age, time and temperature on bacterial attachment to polystyrène.

Can.J.Microbiol. 1977,23(1): 1-6

FLETCHER M.

The attachment of bacteria to solid surfaces in aquatic environments.

in: Adhesion of micro-organisms to surfaces. ELLWOOD D.C., MELLING J., and RULLER P (ed.).Academic Press - NEW YORK. 1979, 86-107

FLETCHER M.

Measurement of glucose utilization by *Pseudomonas fluorescens* that are free-living and that are attached to surfaces.

Appl.Envirom.Microb. 1986,52(4): 672-676

FLETCHER M., FLOODGATE G.D.

An electron microscopic demonstration of an acidic polysaccharide involved in the adhesion of a marine bacterium to solid surfaces.

J.Gen.Microbiol. 1973,74: 325-334

FLETCHER M., Mc ELDOWNEY S.

Microbial attachment to non biological surfaces.

in: Current Perspectives in microbial ecology. KLUG M.J. and REDDY C.A.(ed.). 1984, 124-129

FLETCHER M., MARSCHALL K.C.

Bubble contact angle method for evaluating substraction interfacial characteristics and its relevance to bacterial attachment.

Appl.Envirom.Microbiol. 1982,44(1): 184-192

FLETCHER M., PRINGLE J.H.

The effect of surface free energy and medium surface tension on bacterial attachment to solid surfaces.

J.Colloid.Interface Sci. 1983,10(41) : 5-14

FLOODGATE G.D.

The mechanism of bacterial attachment to detritus in aquatic systems.

Mem.Ist.Ital.Idrobiol. 1972,29 suppl.: 309-323

FORGE A., COSTERTON J.W., ANN-KERR J.

Biophysical examination of the cell wall of a gram negative marine pseudomonas. The effects of various treatments on the isolated double-track layer.  
Can.J.Microbiol. 1973,19: 451-459

FUKANI K., SIMIDU U., TAGA N.

Distribution of heterotrophic bacteria in relation to the concentration of particular organic matter in seawater.  
Can.J.Microb. 1983,29: 570-575

GAUTHIER M.J., FLATAU G.N., BREITTMAYER J.P., MATHIEU A., CLEMENT R.

Influence des bactéries aérobies ou anaérobies sur la fixation du cadmium et du vanadium par un sédiment artificiel en eau de mer.  
Environ.Technol.Let. 1984,5: 441-452

GEESEY G.G., RICHARDSON W.T., YEOMANS H.G., IRVIN R.T., COSTERTON J.W.

Microscopic examination of natural sessile bacterial populations from an alpine stream  
Can.J.Microbiol. 1977,23:1733-1736

GEESEY G.G., COSTERTON J.W.

Microbiology of a northern river: bacterial distribution and relation ship to suspended sediment and organic carbon.  
Can.J.Microbiol. 1979,25: 1058-1062

GERBA C.P., Mc LEOD J.S.

Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in marine waters.  
Appl.Environ.Microbiol.1976,32: 114-120

GERBA C.P., GOYAL S.M., SMITH E.M., MELNICK J.L.

Distribution of viral and bacterial pathogens on a coastal canal community.  
Mar.Pollut.Bull. 1977,8: 279-282

GORDON A.S., GERCHAKOV S.M., MILLERO F.J.

Effects of inorganic particles on metabolism by a periphytic marine bacterium.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45:411-417

GORDON A.S., MILLERO F.J.

Electrolyse effects on attachment of an estuarine bacterium.  
Appl.Environ.Microbiol. 1984, 47(3): 495-499

GOULDER R.

Relation-ships between suspended solids and standing crops and activities of bacteria in an estuary during a Neap-Spring-Neap Tidal cycle.  
Oecologia. 1976,24: 83-90

GOULDER R.

Attached and free bacteria on an estuary with abundant suspended solids.  
J.Appl.Bacteriol. 1977,43: 399-405

GOULDER R., BENT E.J., BOAK A.C.

Attachment to suspended solids as a strategy of estuarine bacteria.  
in: Feeding and survival strategies of estuarine organisms Jones N.V., WOLFF W.J. (Eds).Plenum Press - NEW YORK. 1981, 1-15

GOYAL S.M. GERBA C.P., MELNICK J.L.  
Occurrence and distribution of bacterial indicators and pathogens in canal communities along the Texas coast.  
Appl. Environ. Microbiol. 1977, 34: 139-149

GRIMES D.J.  
Bacteriological water quality effects of hydraulically dredging contaminated upper Mississippi river bottom sediment.  
Appl. Environ. Microbiol. 1980, 39(4): 782-789

GRIMES D.J., COLWELL R.R.  
Survival of pathogenic organisms in the Anacostia and Potomac river and the Chesapeake bay estuary.  
J. Washington Acad. Sciences. 1983, 73(2): 45-50

GRIMES D.J., ATWELL R.W., BRAYTON P.R., PALMER L.M., ROLLINS D.M., ROSZAK D.B., SINGLETON F.L., TAMPLIN M.L., COLWELL R.R.  
The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments.  
Microb. Sci. 1986, 3(11): 324-329

GUTHRIE R.K., SCOVILL M.A.  
Recovery of *E. coli* and *V. cholerae* from aquatic microcosms.  
Wat. Res. 1984, 18(8): 1055-1057

GUDDING R., KROGSTAD O.  
The persistence of *E. coli* and *S. typhimurium* in fine-grained soil.  
Acta Agric. Scand. 1975, 25: 285-288

HALL K.J., KLEIBER P.M., YESAKI I.  
Heterotrophic uptake of organic solutes by micro-organisms in the sediment.  
Mem. Ist. Ital. Iotrobiol. 1972, 29 suppl.: 441-471

HARGRAVE B.T.  
Aerobic decomposition of sediment and detritus as a function of particle surface area and organic content.  
Limnol Oceanogr. 1972, 17: 583-596

HARVEY R.W., YOUNG L.Y.  
Enrichment and association of bacteria and particulates in salt marsh surface water.  
Appl. Environ. Microbiol. 1980, 39(4): 894-899

HENDRICKS C.W.  
Increased recovery rate of *Salmonellae* from stream bottom sediments versus surface waters.  
Appl. Microbiol. 1971, 21: 379-380

HERSON D.S., Mc GONIGLE B., PAYER M.A., BAKER K.H.  
Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from chlorination.  
Appl. Environ. Microbiol. 1987, 53(5): 1178-1180

HOBBIE J.E., DALEY R.J., JASPER J.  
Use of Nucleopore<sup>R</sup> filters for counting bacteria by fluorescence microscopy.  
Appl. Environ. Microbiol. 1977, 33(5): 1225-1228

HOBBIE J.E., HOLM-HANSEN O. PACKARD T.T., POMEROY L.R., SHELDON R.W., THOMAS J.P., WIEBE W.J.  
A study of the distribution and activity of micro-organisms in ocean water.  
Limnol. Oceanogr. 1972, 17: 544-555

HOOD M.A., NESS G.E.

Survival of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in estuarine waters and sediments.  
Appl.Environ.Microbiol. 1982,43(3): 578-584

HUMPHREY B., KJELLEBERG S., MARSHALL K.C.

Responses of marine bacteria under starvation conditions at a solid water interface.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45(1): 43-47

HUMPHRIES M., NEMCEK J., CANTWELL J.B., GERRARD J.J.

The use of graphed copolymers to inhibit the adhesion of bacteria to solid surfaces.  
FEMS Microbiol.Ecol. 1987,45:297-304

IRIBERRI J., UNANUE M., BARCINA I., EGEA L.

Seasonal variation in population density and hétérotrophic activity of attached and free-living bacteria in coastal waters.

Appl.Environ.Microbiol. 1987,53(10): 2308-2314

IRVING T.E.

Preliminary investigations on the effects of particulate matter on the fate of sewage bacteria in the sea.

Wat.Res.Cent.technical report. 1977, 1-21

IZZO G., TOSTI E., VOLTERRA L.

Faecal contamination of marine sediments in a stretch of the gulf of Naples

Wat.Air.Soil.Poll. 1982,20: 191-198

JACQ E., PRIEUR D.

Distribution comparée des bactéries libres et fixées aux particules au niveau du système frontal d'Ouessant.

Oceanis. 1985,11(3): 223-234

JANNASCH H.W., JONES G.E.

Bacterial population in sea-water as determined by different methods of enumeration.

Limnol.Oceanogr. 1959,4: 128-139

JANNASCH H.W., PRITCHARD P.H.

The role of inert particulate matter in the activity of aquatic micro-organisms

Mem.Ist.Ital.Idrobiol. 1972,29suppl.: 289-308

JARMAN T.R., PACE G.W.

Energy requirements for microbial exopolysaccharides synthesis.

Archives Microbiol. 1984,137: 231-235

JOHNSON R.G.

Particulate matter at the sediment water interface in coastal environments.

J.Mar.Res. 1974,32: 313-330

JONES K.L., RHODES-ROBERTS M.E.

The survival of marine bacteria under starvation conditions.

J.Appl.Bacteriol. 1981,50: 247-258

JORGENSEN N.O.G.

Microbial activity in the water-sediment interface assimilation and production of dissolved free amino acids.

Oceanis. 1984,10(4): 347-365

- KAPER J., KOWKNAN M., COLWELL R.R., JOSEPH S.W.  
Ecology serology and enterotoxin production of *Vibrio cholerae* on Chesapeake bay.  
Appl.Environ.Microbiol. 1979,37(1): 91-103
- KAPER J.b., REMMERS E.F., LOCKMAN H., COLWELL R.  
Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake bay during the summer season.  
Estuaries. 1981,4(4): 321-327
- KAPUSCINSKI R.B., MITCHELL R.  
Solar radiation induces sublethal injury in *Escherichia coli* in seawater.  
Appl.Environ.Microbiol. 1981,41: 670-674
- KIRCHMAN D.  
The production of bacteria attached to particles suspended in a freshwater pond.  
Limno.Oceanogr. 1983,25: 719-732
- KIRCHMAN D., MITCHELL R.  
Contribution of particle-bound bacteria to total micro-heterotrophic activity in five ponds and two marshes.  
Appl.Environ.Microbiol. 1982,43: 200-209
- KIRCHMAN D., SIGDA J., KAPUSCINSKI R., MITCHELL R.  
Statistical analysis of the direct count method for enumerating bacteria.  
Appl.Environ.Microbiol. 1982,44:376-382
- KJELLEBERG S., HUMPHREY B.A., MARSHALL K.C.  
Effect of interface on small, starved marine bacteria  
Appl.Environ.Microbiol. 1982,43(5): 1166-1172
- KJELLEBERG S., HERMANSSON M.  
Starvation induced effects on bacterial surface characteristics.  
Appl.Environ.Microbiol. 1984,48(3) : 497-503
- KJELLEBERG S., MARSHALL K.C., HERMANSSON M.  
Oligotrophic and copiotrophic marine bacteria observations related to attachment.  
FEMS Microbiol.Ecol. 1985,31: 89-96
- KJELLEBERG S., HERMANSSON M., MARDEN P.  
The transient phase between growth and nongrowth of heterotrophic bacteria, with emphasis on the marine environment  
Ann.Rev.Microbiol. 1987,41: 25-49
- KOGURE K., SIMIDU U., TAGA N.  
A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria.  
Can.J.Microbiol. 1979,25: 415-420
- KOGURE K., SIMIDU U., TAGA N.  
Bacterial attachment to phytoplankton in sea water.  
J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 1982,56: 197-204
- KOGURE K., SIMIDU U., TAGA N., COLWELL R.  
Correlation of direct viable counts with heterotrophic activity for marine bacteria.  
Appl.Environ.Microbiol. 1987,53(10): 2332-2337
- LAANBROEK H.J., VERPLANKE J.C.  
Seasonal changes in percentages of attached bacteria enumerated in a tidal and stagnant coastal basin: relation to bacterioplankton productivity.  
F.E.M.S.Microbiol.Ecol. 1986,38: 87-98

LALIBERTE F., GRIMES D.J.

Survival of *E.coli* in lake bottom sediments.  
Appl.Environ.Microbiol. 1982,43(3): 623-628

LARSEN J.L., WILLEBERG G.P.

The impact of terrestrial and estuarial factors on the density of environmental bacteria (vibrionaceae) and faecal coliforms in coastal water.  
Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.B. 1984,179(4): 308-323

LEGENDRE P., BALEUX B., TROUSSELLIER M.

Dynamics of pollution-indicator and heterotrophic bacteria in sewage treatment lagoons.  
Appl.Environ.Microbiol. 1984,48(3): 586-593

LE GUYADER F.

Devenir de la flore bactérienne du sédiment et contamination de l'eau en zone littorale.  
DEA Microbiologie. UER d'Hygiène et de Protection de l'Homme et de son Environnement. Université de Paris sud. octobre 1985

LESSARD E.J., SIEBURTH J.McN.

Survival of natural sewage populations of enteric bacteria in diffusion and batch chambers in the marine environment.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45(3): 950-959

LOUTIT M.W., LEWIS G.

Faecal bacteria from sewage effluent in sediments around an ocean outfall.  
New Zealand J.Mar.Freshwater.Research. 1985,19: 179-185

McCAMBRIDGE J., McMEEKIN T.A.

Effect of solar radiation and predacious micro-organisms on survival of faecal and other bacteria.  
Appl.Environm.Microbiol. 1981,41(5): 1083-1087

McELDOWNEY S., FLETCHER M.

Effect of growth conditions and surface characteristics of aquatic bacteria on their attachment to solid surfaces.  
J.Gen.Microbiol. 1985,132: 513-523

MARSH D.H., ODUM W.E.

Effect of suspension and sedimentation on the amount of microbial colonization of salt marsh microdetritus.  
Estuaries 1979,2: 184-188

MARSHALL K.C.

Adsorption of microorganisms to soils and sediments.  
in: Adsorption of microorganisms to surfaces.G.BITTON and K.C.MARSHALL (ed), John Wiley and sons, Inc.New-York 1980: 317-329

MARSHALL K.C., STOUT R., MITCHELL R.

Selective sorption of bacteria from seawater.  
Can.J.Microbiol. 1971,17: 1413-1416

MARTIN Y.P., BONNEFONT J.L.

Conditions de décroissance en milieu marin des bactéries fécales des eaux usées urbaines.  
Oceanis 1986,12(6): 403-418

- MARTIN Y.P., LELONG P.P.  
Modelisation de la dynamique des communautés bactériennes d'un écosystème planctonique marin expérimental.  
Oceanol.Acta. ISSN 0399 1784 1981,4(4): 433-443
- MATSON E.A., HORNER S.G., BUCK J.D.  
Pollution indicators and other organisms in river sediment.  
J.Water.Poll.Control.Fed. 1978,50: 13-19
- MAYER L.M., ROSSI P.M.  
Specific areas in coastal sediments: relation-ship with other textural factors  
Mar.Geol. 1982,45: 241-252
- MEADOWS P.S., ANDERSON J.G.  
Microorganisms attached to marine and freshwater sand grains.  
Nature. 1966,198: 610-611
- MEADOWS P.S.  
The attachment of bacteria to solid surfaces.  
Arch.Microbiol. 1971,75: 374-381
- MEYER-REIL L.A.  
Autoradiography and epifluorescence microscopy combined for the determination of number and spectrum of activity metabolizing bacteria in natural waters.  
Appl.Environ.Microbiol. 1978,44: 945-953
- MEYER-REIL L.A., DAWSON R., LIEBEZEIT G., TIEDGE H.  
Fluctuations and interactions of bacterial activity in sandy beach sediments and overlying waters.  
Mar.Biol. 1978,48: 161-171
- MEYER-REIL L.A., BOLTER M., DAWSON R., LIEBEZEIT G., SZWERINSKI H., WOLTER K.  
Interrelationships between microbiological and chemical parameters of sandy beach sediments, a summer aspect.  
Appl.Environ.Microbiol. 1980,39(4): 797-802
- MILLS A.L., MAUBREY R.  
Effect of mineral composition on bacterial attachment to submerged rock surfaces.  
Microb.Ecol. 1981,7: 315-322
- MILNE D.P., CURRAN J.C., WILSON L.  
Effect of sedimentation on removal of faecal coliform bacteria from effluents in estuarine waters.  
Wat.Res. 1986,20(12): 1493-1496
- MITCHELL R.  
Factors affecting the decline of non-marine micro-organisms in sea-water.  
Wat.Res. 1968,2: 535-543
- MOREL P.  
Le pouvoir auto-épurateur de l'eau de mer.  
Nuis.Environ. 1972,15: 45-50
- MORITA R.Y.  
Starvation-survival of heterotrophs in the marine environment.  
Adv.Microb.Ecol. 1982,6: 171-198

- MUNRO P.M., GAUTHIER M.J., LAUMOND F.M.  
Changes in *Escherichia coli* cells starved in sea water or grown in sea water-waste water mixtures.  
Appl.Environ.Microbiol. 1987,53(7): 1476-1481
- NICKELS J.S., BOBBIE R.J., MARTZ R.F., SMITH G.A., WHITE D.C., RICHARDS N.  
Effect of silicate grain shape, structure, and location on the biomass and community structure of colonizing marine microbiota.  
Appl.Environ.Microbiol. 1981,41(5): 1262-1268
- NIEPOLD F., CONRAD R., SCHLEGEL H.G.  
Evaluation of the efficiency of extraction for the quantitative estimation of hydrogen bacteria in soil.  
Antonie.Van.Leeuwenhoek 1979,45: 485-497
- NOVITSKY J.A.  
Microbial activity at the sediment water interface in Halifax Harbor, Canada.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45(6): 1761-1766
- NOVITSKY J.A.  
Heterotrophic activity throughout a vertical profile of sea water and sediment in Halifax harbor, Canada.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45(6): 1753-1760
- NOVITSKY J.A., MORITA R.Y.  
Possible strategy for the survival of marine bacteria under starvation conditions.  
Mar.Biol. 1978,48: 289-295
- NOVITSKY J.A., KARL D.M.  
Characterization of microbial activity in the surface layers of a coastal sub-tropical sediment.  
Mar.Ecol.Prog.Series. 1986,28: 49-55
- OLAH J.  
Bacterial gradient at the sediment-water interface of shallow lakes.  
Annal.Biol.Tihany. 1973,40: 219-225
- O'MALLEY M.L., LEAR D.W., ADAMS W.N., GAINES J., SAWYER T., LEWIS E.J.  
Microbial contamination of continental shelf sediments by wastewater.  
J.WPCF. 1982,54(9): 1311-1317
- OVIAT C.A., NIXON S.W.  
Sediment resuspension and sedimentation in Narragansett bay.  
Est.Coast.Mar.Sci. 1975,3: 201-217
- PAERL H.W.  
Microbial attachment to particles in marine and freshwater ecosystems.  
Microbiol.Ecol. 1975,2: 73-83
- PALUMBO A.V., FERGUSON R.L., RUBLEE P.A.  
Size of suspended bacterial cells and association of heterotrophic activity with size fractions of particles in estuarine and coastal waters.  
Appl.Environ.Microbiol. 1984,48(1): 157-164
- PAUL J.H.  
Effects of antimetabolites on the adhesion of an estuarine *Vibrio sp* to polystyrene.  
Appl.Environ.Microbiol. 1984,48(5): 924-929

PEDROS-ALIO C., BROCK T.D.

The importance of attachment to particles for planktonic bacteria.  
Arch.Hydrobiol. 1983,98(3): 354-379

PETRILLI F.L., DE RENZI G.P., ORLANDO P., DE FLORA S.

Microbial evaluation of coastal water quality in the Tyrrhenian sea.  
Prog.Wat.Tech. 1980,12(1): 129-136

PEREZ-ROSAS N., HAZEN T.

In situ survival of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in tropical coral reefs.  
Appl.Environ.Microbiol. 1988,54(1): 1-9

PLUMMER D.H., OWENS N.J.P., HERBERT R.

Bacteria particle interactions in turbid estuarine environments.  
Continental.Shelf.Research. 1987,7(11/12): 1429-1433

POMMEPUY M.

Evolution de la flore bactérienne de l'estuaire de l'Elorn.  
DEA Microbiologie. UER d'Hygiène et de Protection de l'Homme et de son  
Environnement. université de Paris sud. octobre 1983

POMMEPUY M., CORMIER M., BRUNEL L., BRETON M.

Etude de la flore bactérienne d'un estuaire breton (Elorn, rade de Brest, France).  
Oceanol.Acta. 1987,10(2): 187-196

PRIEUR D., TROUSSELIER M., ROMANA A., CHAMROUX S., MEVEL G.,  
BALEUX B.

Evolution des peuplements bactériens selon un gradient de salinité en zone  
estuarienne.  
Oceanis 1984,10(4): 329-345

PRIEUR D., BARBOSA T., MARHIC A.

Les communautés bactériennes des mollusques bivalves et du sédiment en rade de  
Brest.  
Oceanis. 1985,11(3): 287-294

PRINGLE J.H., FLETCHER M., ELLWOOD D;C.

Selection of attachment mutants during the continuous culture of *Pseudomonas  
fluorescens* and relationship between attachment ability and surface composition.  
J.Gen.Microbiol. 1983,129: 2557-2569

PRINGLE J.H., FLETCHER M.

Influence of substratum hydration and adsorbed macromolecules on bacterial attachment  
to surfaces.  
Appl.Environ.Microbiol. 1986,51(6): 1321-1325

PULEO J.R., FAVERO M.S., PETERSEN N.J.

Use of ultrasonic energy in assessing microbial contamination on surfaces.  
Appl.Microbiol. 1967,15(6): 1345-1351

RAM N., ULITZUR S., AVNIMELECH Y.

Microbial and chemical changes occurring at the mud interface in an experimental fish  
aquarium.  
ISR-ISSN 0005-4577, 1981,33(3): 71-86

RAMSAY A.J.

Extraction of bacteria from soil : efficiency of shaking or ultrasonication as indicated by direct counts and autoradiography.  
Soil.Biol.Biochem. 1984,16(5): 475-481

RHEINHEIMER G.

Regional and seasonal distribution of saprophytic and coliform bacteria.  
Ecol.Studies. 1977,25: 121-137

RIEMANN B.

Differentiation between heterotrophic and photosynthetic plankton by size fractionation, glucose uptake, ATP and chlorophyll content.  
Oikos. 1978,31: 358-367

ROBERTS K., WENNERBERG A.M., FRIBERG S.

The influence of added saccharide, protein and lipid on the sedimentation of *E.coli* bacteria using aluminium sulphate and polyacrylamides.  
Wat.Res. 1974,8: 61-65

ROGERS H.J.

Adhesion of microorganisms to surfaces : some general considerations of the role of the envelope.  
in: Adhesion of microorganisms to surfaces. Published for the society for General Microbiology by Academic Press London-New york. 1979, 29-55

ROPER M.M., MARSHALL K.C.

Modification of the interaction between *Escherichia coli* and bacteriophage in saline sediments.  
Microbiol.ecol. 1974,1: 1-14

ROPER M.M., MARSHALL K.C.

Effects of salinity on sedimentation and of particulates on survival of bacteria in estuarine habitats.  
Geo.Microbiol.J. 1979,1(2): 103-116

ROSZAK D;B., COLWELL R.R.

Survival strategies of bacteria in the natural environment.  
Microbiol.Rev. 1987,51(3): 365-379

RUBLEE P.A.

Bacteria and microbial distribution in estuarine sediments.  
in: Estuarine comparisons. V.S.Kendy (ed.) Ac.Press 1982, 159-182

RUBLEE P.A., DORNSEIF B.E.

Direct counts of bacteria in the sediments of a North carolina salt marsh.  
Estuaries 1978,1(3): 188-191

SAYLER G.S., NELSON J.D., JUSTICE J.R.A., COLWELL R.R.

Distribution and significance of fecal indicator organism in the upper Chesapeake bay.  
Appl.Microbiol. 1975,30(4): 625-638

SCHRODER H.G.J., VAN ES F.B.

Distribution of bacteria in intertidal sediments of the Ems Dollard estuary Netherlands.  
Neth.J.Sea.Res. 1980,14: 268-287

SCHUMACHER -ERDREAU F., PETERS G.

Les facteurs d'adhérence bactérienne.  
Med.Mal.Infect. 1987,17: 330-333

SEBASTIANI ANNICHIARICO L., SIMONETTI D'ARCA A., CARUSO M.C.,  
PAGNOTTA R.

Terrestrial and autochthonous flora of sea water : simultaneous study in sediment and surface waters.

Nuovi.An.Ig.Microbiol. 1982,33(4-6): 853-867

SHIARIS M.P., REX A.C., PETTIBONE G.W., KEAY K., McMANUS P., REX M.A.,  
EBERSOLE J., GALLAGHER E.

Distribution of indicator bacteria and *Vibrio parahaemolyticus* in sewage polluted intertidal sediments.

Appl.Environ.Microbiol. 1987,53(8): 1756-1761

SIEBURTH J.McN.

Seasonal selection of estuary bacteria by water temperature.

J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 1967,1: 98-121

SINCLAIR J.L., ALEXANDER M.

Role of resistance to starvation in bacterial survival in sewage and lake water;

Appl.Environ.Microbiol. 1984,48: 410-415

SINGLETON F.L., ATTWELL R.W., JANGI M.S., COLWELL R.R.

Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of *Vibrio cholerae* in aquatic microcosms.

Appl.Environ.Microbiol. 1982,43(5): 1080-1085

SOROKIN Y.I.

Bacterial populations as components of oceanic ecosystems.

Mar.Biol. 1971,11: 101-105

STANLEY P.M.

Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel.

Can.J.Microbiol. 1983,29: 1493-1499

SUTHERLAND I.W.

Microbial exopolysaccharides, their role in microbial adhesion in aqueous systems.

Crit.Rev.Microbiol. 1983,10(2): 173-201

SZYBALSKI W., BRYSON V.

Genetic studies on microbial cross resistance to toxic agents I Cross resistance of *Escherichia coli* to fifteen antibiotics.

J.Bacteriol. 1952,64: 489-499

TANOUE E., HANDA N.

Differential sorption of organic matter by various sized sediment particles in recent sediment from the Bering sea;

J.Oceanogr.Soc.Jap. 1979,35: 199-208

TEMPLE K.L., CAMPER A.K., McFETERS G.S.

Survival of two enterobacteria in feces buried in soil under field conditions.

Appl.Environ.Microbiol. 1980,40(4): 794-797

TROUSSELIER M., BALEUX B.

Structure des peuplements bactériens : approche méthodologique et premiers résultats en milieux lagunaires.

2d Coll.Microbiol.Mar. Marseille, 24-25 juin 1981, publ.CNEXO 1982,13: 71-84

TUFAIL A.

Microbial aggregates on sand grains in enrichment media.  
Bot.Mar. 1985,28(5): 209-211

UHLINGER D.J., WHITE D.C.

Relationship between physiological status and formation of extracellular polysaccharide glycoalex in *Pseudomonas atantica*.  
Appl.Environ.Microbiol. 1983,45(1) : 64-70

VAN DONSEL D.J., GELDREICH E.E.

Relations of *Salmonellae* to fecal coliforms in bottom sediments.  
Water.Res. 1971,5: 1079-1087

VELJI M.I., ALBRIGHT L.J.

The dispersion of adhered marine bacteria by pyrophosphate and ultrasound prior to direct counting.

GERBAM. 2eme coll.Intern.Bact.Mar. CNRS Brest, 1-5 octobre 1984, IFREMER Actes de colloques 1986,3: 249-259

VERSTRAETE W., VOETS J.P.

Comparative study of *Escherichia coli* in two aquatic ecosystems.  
Water.Res. 1976,10: 129-136

VOLTERRA L., TOSTI E., VERO A., IZZO G.

Microbiological pollution of marine sediments in the southern stretch of the gulf of Naples.

Water.Air.Soil.Pollut. 1985,26(2): 175-184

WARDELL J.N., BROWN C.M., FLANNIGAN B.

Microbes and surfaces.

in: Microbes in their natural environment. symposia of the Society for General Microbiology. 1983,34: 351-378

WIEBE W.J., POMMEROY L.R.

Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: a microscopic study.

proceeding of the IBP UNESCO Symposium on detritus and its role in aquatic systems. Pallanza, Italy May 23-27

Mem.Ist.Ital.Idrobiol. 1972,29suppl.: 325-352

WEISE W., RHEINHEIMER G.

scanning electron microscopy and epifluorescence investigation of bacterial colonization of marine sand sediments.

Microbiol.Ecol. 1978,4: 175-188

WILSON C.A., STEVENSON L.H.

The dynamics of the bacterial population associated with a salt marsh.

J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 1980,48: 123-135

WRANGSTADH M., CONWAY P.L., KJELLEBERG S;

The production and release of an extracellular polysaccharide during starvation of a marine *Pseudomonas sp.* and the effect thereof on adhesion.

Arch.Microbiol. 1986,145: 220-227

WRIGHT R.T.

Measurement and significance of specific activity in the heterotrophic bacteria of natural waters.

Appl.Environ.Microbiol. 1978,36: 297-305

WRIGHT R.T., COFFIN R.B.

Planktonic bacteria in estuaries and coastal waters of northern Massachusetts: spatial and temporal distribution.

Mar.Ecol.Prog.Ser. 1983,11: 205-216

XU H.S., ROBERTS N., SINGLETON F.L., ATTWELL R.W., GRIMES D.J., COLWELL R.R.

Survival and viability of non-culturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment.

Microbiol.Ecol. 1982,8: 313-323

YAMAMOTO N., LOPEZ G.

Bacterial abundance in relation to surface area and organic content of marine sediments.

J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 1985,90: 209-220

ZAIDI B.R., BARD R.F., TOSTESON T.R.

Microbial specificity of metallic surface exposed to ambient seawater.

Appl.Environ.Microbiol. 1984,48(3): 519-524

ZIMMERMAN R.

Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy.

in: Microbial ecology of a brackish water environment. G.RHEINHEIMER (ed.) Springer Verlag New York. 1977, 103-120

ZOBELL C.E.

Studies on the bacterial flora of marine bottom sediments.

J.Sediment.Petrol. 1938,8: 10-18

ZOBELL C.E.

The effect of solid surfaces upon bacterial activity.

J.Bacteriol. 1943,46: 39-56

**ANNEXES**

## FORMULES DES MILIEUX DE CULTURE UTILISES

### Drigalski ( gélose lactosée de ) INSTITUT PASTEUR PRODUCTION

formule pour 1 l d'eau distillée:

- peptone	15g
- extrait de viande	3g
- extrait de levure	3g
- desoxycholate de sodium	1g
- thiosulfate de sodium	1g
- lactose	15g
- cristal violet	0,005g
- bleu de bromothymol	0,08g
- agar	11g

pH final: 7,4 (environ)

incubation 24h à 37° ou à 42°C

Ce même milieu préparé à partir d'eau de mer est incubé 48h à 25°C.

### Slanetz et Bartley (milieu de ) INSTITUT PASTEUR PRODUCTION

formule pour 1 l d'eau distillée:

- hydrolysats tryptique de caséine	20g
- extrait de levure	5g
- phosphate disodique	4g
- azide de sodium	0,4g
- chlorure de triphényltétrazolium	0,1g
- glucose	2g
- agar	10g

pH final: 7,2 (environ)

incubation 48h à 25°C

### Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (gélose de ) DIFCO

formule pour 1 l d'eau distillée:

- extrait de levure	5g
- protéose peptone	10g
- citrate de sodium	10g
- thiosulfate de sodium	10g
- citrate de fer	1g
- bile de boeuf	8g
- saccharose	20g
- chlorure de sodium	10g
- bleu de bromothymol	0,04g
- bleu de thymol	0,04g
- agar	15g

pH final: 8,6 (environ)

incubation 24h à 37°C.

**Trypto-caseine-soja (gélose de ) BIO-MERIEUX**

formule pour 1 l d'eau distillée:

- hydrolisat trypsique de caséine 17g
- peptone de soja 5g
- chlorure de sodium 5g
- agar 15g

pH final: 7,3 (environ)

incubation 24h à 37°C ou 48h à 20°C.

Ce même milieu préparé à partir d'eau de mer est incubé à 25° pendant 48h.

**Trypto caséine soja (bouillon) BIO-MERIEUX**

formule pour 1 l d'eau distillée:

- hydrolisat trypsique de caséine 17g
- peptone de soja 3g
- chlorure de sodium 5g
- phosphate de sodium 2,5g
- glucose 2,5g

pH final: 7,3 (environ)

incubation 24h à 37°C

## TABLE DES RESULTATS

### LEGENDES DES TABLEAUX

Les valeurs données correspondent aux numérations observées lors des diverses expérimentations et sont exprimées sous forme de puissance de 10.

Par exemple:  $1,4 \overline{7} = 1,4 \cdot 10^{\overline{7}}$  (1,4: nantisse et  $\overline{7}$ : exposant)

Abréviations utilisées:

tem: témoin

BSA: albumine bovine

gluc: glucose

sed.: sédiment

prof.: profondeur

surf.: surface

E DE M: eau de mer

MX DE CULT: milieu de culture

TD: gélose Trypticase incubée à 37°C.

TS: gélose Trypticase incubée à 25°C (+ 40g/l NaCl).

DD: milieu de Drigalski incubé à 37°C.

D42: milieu de Drigalski incubé à 42°C.

Lact+: colonies lactose positives.

Lact-: colonies lactose négatives.

DS: milieu de Drigalski incubé à 25°C (+ 40g/l NaCl).

TCBS: milieu de TCBS incubé à 37°C.

Sl: milieu de Slanetz incubé à 37°C.

C: milieu de Chapman incubé à 25°C.

tot.: numération totale sur l'eau de mer.

3 $\mu$ m: numération après filtration sur 3 $\mu$ m de l'eau de mer.

0,22 $\mu$ m: numération après filtration sur 0,22 $\mu$ m de l'eau de mer.

TESTS PRELIMINAIRES - EXPERIENCE A.  
fig.6.

	CARBONATE DE CALCIUM			BENTONITE		
	tém.	BSA	gluc.	tém.	BSA	gluc.
			<u>jour 1</u>			
sediment	1.4 $\frac{7}{8}$	1.1 $\frac{8}{8}$		1.6 $\frac{8}{8}$	9.0 $\frac{7}{7}$	
eau	< $\frac{8}{8}$	6.0 $\frac{8}{8}$		3.2 $\frac{7}{7}$	3.0 $\frac{7}{7}$	
			<u>jour 2</u>			
sediment	8.3 $\frac{7}{8}$	2.0 $\frac{8}{8}$	5.1 $\frac{8}{8}$	2.1 $\frac{8}{8}$	7.9 $\frac{7}{7}$	4.7 $\frac{8}{8}$
eau	2.2 $\frac{8}{8}$	1.6 $\frac{8}{8}$	2.5 $\frac{7}{7}$	7.1 $\frac{7}{7}$	5.0 $\frac{7}{7}$	1.8 $\frac{7}{7}$
			<u>jour 3</u>			
sediment	4.7 $\frac{7}{7}$	1.3 $\frac{8}{8}$	1.0 $\frac{7}{7}$	3.1 $\frac{7}{7}$	1.6 $\frac{8}{8}$	1.3 $\frac{8}{8}$
eau	8.6 $\frac{7}{7}$	3.1 $\frac{8}{8}$	8.0 $\frac{7}{7}$	1.3 $\frac{8}{8}$	1.8 $\frac{8}{8}$	5.3 $\frac{7}{7}$
			<u>jour 5</u>			
sediment	5.0 $\frac{7}{7}$	3.6 $\frac{8}{8}$	4.0 $\frac{8}{8}$	> $\frac{8}{8}$	5.0 $\frac{8}{8}$	5.0 $\frac{8}{8}$
eau	3.4 $\frac{7}{7}$	8.0 $\frac{7}{7}$	9.0 $\frac{6}{6}$	1.5 $\frac{8}{8}$	8.8 $\frac{7}{7}$	1.2 $\frac{7}{7}$
			<u>jour 7</u>			
sediment	1.9 $\frac{7}{7}$	1.4 $\frac{8}{8}$	3.3 $\frac{8}{8}$	2.8 $\frac{8}{8}$	1.4 $\frac{8}{8}$	1.6 $\frac{7}{7}$
eau	1.0 $\frac{7}{7}$	9.4 $\frac{7}{7}$	1.9 $\frac{7}{7}$	4.0 $\frac{7}{7}$	6.0 $\frac{7}{7}$	2.8 $\frac{7}{7}$
			<u>jour 9</u>			
sediment	1.9 $\frac{6}{6}$	2.0 $\frac{8}{8}$	1.9 $\frac{8}{8}$	3.7 $\frac{8}{8}$	3.1 $\frac{8}{8}$	2.5 $\frac{7}{7}$
eau	2.8 $\frac{6}{6}$	4.2 $\frac{7}{7}$	2.3 $\frac{7}{7}$	2.3 $\frac{7}{7}$	5.4 $\frac{7}{7}$	2.1 $\frac{7}{7}$
			<u>jour 12</u>			
sediment	7.8 $\frac{6}{6}$	1.2 $\frac{9}{9}$	2.6 $\frac{8}{8}$	5.0 $\frac{7}{7}$	1.9 $\frac{9}{9}$	2.4 $\frac{8}{8}$
eau	9.5 $\frac{6}{6}$	6.5 $\frac{7}{7}$	3.3 $\frac{6}{6}$	3.1 $\frac{7}{7}$	1.2 $\frac{8}{8}$	4.2 $\frac{6}{6}$

	MICA			SABLE DE FONTAINEBLEAU		
	tem.	BSA	gluc.	tem.	BSA	gluc.
sediment eau	2.7 $\frac{8}{8}$	6.0 $\frac{7}{8}$	<u>jour 1</u>	2.0 $\frac{7}{8}$	1.9 $\frac{8}{8}$	
	1.0 $\frac{8}{8}$	2.9 $\frac{8}{8}$		< $\frac{8}{8}$	1.2 $\frac{9}{8}$	
sediment eau	1.7 $\frac{8}{6}$	5.1 $\frac{7}{8}$	<u>jour 2</u>	1.0 $\frac{6}{7}$	2.3 $\frac{8}{8}$	2.5 $\frac{8}{7}$
	5.0 $\frac{6}{6}$	1.3 $\frac{8}{8}$	1.3 $\frac{7}{6}$	1.4 $\frac{7}{7}$	2.0 $\frac{8}{8}$	2.3 $\frac{7}{7}$
sediment eau	7.0 $\frac{6}{6}$	1.8 $\frac{8}{8}$	<u>jour 3</u>	4.0 $\frac{5}{5}$	2.5 $\frac{8}{8}$	5.0 $\frac{7}{7}$
	9.3 $\frac{6}{6}$	2.1 $\frac{8}{8}$	3.8 $\frac{7}{6}$	4.0 $\frac{5}{5}$	2.8 $\frac{8}{8}$	1.7 $\frac{8}{8}$
sediment eau	2.9 $\frac{7}{7}$	4.4 $\frac{8}{8}$	<u>jour 5</u>	2.2 $\frac{5}{5}$	6.3 $\frac{8}{8}$	5.7 $\frac{7}{7}$
	2.7 $\frac{7}{7}$	2.4 $\frac{8}{8}$	6.6 $\frac{7}{7}$	2.7 $\frac{5}{5}$	5.3 $\frac{8}{8}$	8.3 $\frac{7}{7}$
sediment eau	1.6 $\frac{7}{6}$	5.2 $\frac{8}{8}$	<u>jour 7</u>	6.0 $\frac{4}{4}$	1.1 $\frac{9}{7}$	7.2 $\frac{6}{7}$
	9.3 $\frac{6}{6}$	1.1 $\frac{8}{8}$	9.0 $\frac{6}{7}$	4.0 $\frac{4}{4}$	9.1 $\frac{7}{7}$	2;6 $\frac{7}{7}$
sediment eau	9.9 $\frac{6}{6}$	3.1 $\frac{8}{7}$	<u>jour 9</u>	1.0 $\frac{4}{4}$	3.0 $\frac{8}{8}$	3.1 $\frac{7}{7}$
	6.3 $\frac{6}{6}$	5.0 $\frac{7}{7}$	2.7 $\frac{6}{6}$	1.9 $\frac{4}{4}$	1.5 $\frac{8}{8}$	1.5 $\frac{7}{7}$
sediment eau	9.9 $\frac{6}{6}$	1.9 $\frac{6}{8}$	<u>jour 12</u>	7.9 $\frac{5}{5}$	7.5 $\frac{8}{8}$	6.8 $\frac{7}{7}$
	3.3 $\frac{7}{7}$	1.8 $\frac{8}{8}$	1.4 $\frac{7}{5}$	1.1 $\frac{5}{5}$	1.7 $\frac{8}{8}$	1.9 $\frac{7}{7}$

	SABLE DE MER			EAU DE MER		
	tem.	BSA	gluc.	tem.	BSA	gluc.
sediment eau	7.0 $\frac{7}{8}$	2.9 $\frac{8}{8}$	<u>jour 1</u>	2.0 $\frac{8}{8}$	5.0 $\frac{8}{8}$	
	6.8 $\frac{8}{8}$	6.0 $\frac{8}{8}$				
sediment eau	1.3 $\frac{7}{8}$	2.4 $\frac{8}{7}$	<u>jour 2</u>	2.2 $\frac{8}{8}$	1.6 $\frac{8}{8}$	2.5 $\frac{8}{8}$
	2.1 $\frac{8}{8}$	9.0 $\frac{7}{7}$	1.8 $\frac{8}{7}$			
sediment eau	1.6 $\frac{7}{7}$	3.9 $\frac{8}{8}$	<u>jour 3</u>	5.8 $\frac{7}{7}$	1.5 $\frac{8}{8}$	3.1 $\frac{7}{7}$
	9.2 $\frac{7}{7}$	2.2 $\frac{8}{8}$	4.3 $\frac{7}{8}$			
sediment eau	1.9 $\frac{8}{7}$	9.1 $\frac{8}{8}$	<u>jour 5</u>	7.3 $\frac{6}{6}$	8.0 $\frac{7}{7}$	2.2 $\frac{7}{7}$
	4.8 $\frac{7}{7}$	1.4 $\frac{8}{8}$	1.8 $\frac{8}{7}$			
sediment eau	3.5 $\frac{7}{7}$	4.7 $\frac{8}{7}$	<u>jour 7</u>	1.2 $\frac{7}{7}$	9.7 $\frac{7}{7}$	5.5 $\frac{7}{7}$
	1.3 $\frac{7}{7}$	5.1 $\frac{7}{7}$	2.6 $\frac{7}{7}$			
sediment eau	4.7 $\frac{7}{6}$	9.2 $\frac{8}{8}$	<u>jour 9</u>	5.3 $\frac{7}{7}$	2.7 $\frac{7}{7}$	1.3 $\frac{7}{7}$
	4.0 $\frac{6}{6}$	4.2 $\frac{8}{8}$	4.2 $\frac{7}{6}$			
sediment eau	8.0 $\frac{7}{7}$	6.1 $\frac{8}{8}$	<u>jour 12</u>	2.3 $\frac{8}{8}$	4.6 $\frac{8}{8}$	1.3 $\frac{8}{8}$
	2.1 $\frac{7}{7}$	3.0 $\frac{8}{8}$	2.1 $\frac{8}{5}$			

TESTS PRELIMINAIRES - EXPERIENCE B  
fig.7.

	CARBONATE DE CALCIUM			BENTONITE			
	tem.	BSA	gluc.	tem.	BSA	gluc.	
			<u>jour 0</u>				
sediment	1.0 $\frac{3}{4}$	2.0 $\frac{3}{4}$	<	3.0 $\frac{3}{4}$			
eau	3.4 $\frac{3}{4}$	4.5 $\frac{4}{4}$	4.8 $\frac{4}{4}$	8.3 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{3}{4}$	3.0 $\frac{3}{4}$	
			<u>jour 1</u>				
sediment	1.3 $\frac{4}{4}$	2.4 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{3}{4}$	2.2 $\frac{5}{4}$	3.7 $\frac{5}{4}$	1.9 $\frac{5}{4}$	
eau	1.0 $\frac{4}{4}$	2.1 $\frac{5}{4}$	4.7 $\frac{4}{4}$	2.9 $\frac{4}{4}$	3.5 $\frac{4}{4}$	7.2 $\frac{4}{4}$	
			<u>jour 3</u>				
sediment	8.0 $\frac{3}{4}$	1.8 $\frac{6}{6}$	5.6 $\frac{6}{6}$	8.0 $\frac{5}{5}$	1.5 $\frac{6}{6}$	> $\frac{7}{6}$	
eau	2.6 $\frac{4}{4}$	1.8 $\frac{6}{6}$	1.0 $\frac{6}{6}$	3.3 $\frac{5}{5}$	1.3 $\frac{6}{6}$	5.4 $\frac{6}{6}$	
			<u>jour 7</u>				
sediment	6.5 $\frac{6}{6}$	4.9 $\frac{7}{7}$	3.2 $\frac{8}{8}$	1.8 $\frac{6}{6}$		1.9 $\frac{8}{8}$	
eau	5.0 $\frac{3}{3}$	5.9 $\frac{6}{6}$	7.5 $\frac{6}{6}$	4.9 $\frac{6}{6}$	3.2 $\frac{5}{5}$	2.3 $\frac{8}{8}$	
			<u>jour 9</u>				
sediment	8.4 $\frac{6}{6}$	4.6 $\frac{8}{8}$	1.9 $\frac{8}{8}$	1.5 $\frac{6}{6}$	1.5 $\frac{8}{8}$	1.9 $\frac{9}{9}$	
eau	3.7 $\frac{3}{3}$	2.0 $\frac{6}{6}$	1.4 $\frac{7}{7}$	7.3 $\frac{6}{6}$	9.5 $\frac{6}{6}$	5.1 $\frac{7}{7}$	

	MICA			SABLE DE FONTAINEBLEAU			
	tem.	BSA	gluc.	tem.	BSA	gluc.	
			<u>jour 0</u>				
sediment	1.0 $\frac{3}{4}$	1.0 $\frac{3}{4}$	<	2.0 $\frac{3}{4}$			
eau	4.0 $\frac{4}{4}$	1.3 $\frac{4}{4}$	4.3 $\frac{4}{4}$	< $\frac{3}{4}$	9.0 $\frac{3}{4}$	5.7 $\frac{4}{4}$	
			<u>jour 1</u>				
sediment	< $\frac{3}{3}$	4.9 $\frac{4}{4}$	<	5.6 $\frac{4}{4}$			
eau	< $\frac{3}{3}$	1.2 $\frac{4}{4}$	1.8 $\frac{4}{4}$	< $\frac{3}{3}$	1.4 $\frac{6}{4}$	2.7 $\frac{4}{4}$	
			<u>jour 3</u>				
sediment	< $\frac{3}{4}$	5.9 $\frac{6}{6}$	2.1 $\frac{6}{6}$	3.6 $\frac{5}{4}$	1.1 $\frac{7}{6}$	6.4 $\frac{6}{6}$	
eau	1.2 $\frac{4}{4}$	3.2 $\frac{6}{6}$	1.6 $\frac{7}{7}$	7.1 $\frac{4}{4}$	7.2 $\frac{6}{6}$	4.6 $\frac{6}{6}$	
			<u>jour 7</u>				
sediment	< $\frac{3}{2}$	3.5 $\frac{7}{6}$	1.3 $\frac{8}{7}$	2.7 $\frac{7}{5}$	3.2 $\frac{8}{7}$	4.4 $\frac{8}{5}$	
eau	1.0 $\frac{2}{2}$	4.8 $\frac{6}{6}$	5.6 $\frac{7}{7}$	6.6 $\frac{5}{5}$	5.4 $\frac{7}{7}$	7.0 $\frac{5}{5}$	
			<u>jour 9</u>				
sediment	< $\frac{3}{1}$	4.3 $\frac{7}{6}$	1.4 $\frac{7}{7}$	1.9 $\frac{8}{6}$	1.6 $\frac{8}{6}$	1.4 $\frac{8}{6}$	
eau	4.0 $\frac{1}{1}$	5.3 $\frac{6}{6}$	1.7 $\frac{7}{7}$	1.6 $\frac{6}{6}$	1.8 $\frac{6}{6}$	4.0 $\frac{6}{6}$	

	SABLE DE MER			EAU DE MER		
	tem.	BSA	gluc.	tem.	BSA	gluc.
<u>jour 0</u>						
sediment	2.0 <u>3</u>	5.0 <u>3</u>	6.0 <u>3</u>			
eau	5.1 <u>4</u>	4.4 <u>4</u>	4.4 <u>4</u>	5.2 <u>4</u>	3.1 <u>4</u>	4.5 <u>4</u>
<u>jour 1</u>						
sediment	1.1 <u>5</u>	1.1 <u>6</u>	2.4 <u>5</u>			
eau	1.9 <u>4</u>	4.7 <u>5</u>	9.7 <u>4</u>	1.2 <u>5</u>	1.9 <u>5</u>	2.5 <u>4</u>
<u>jour 3</u>						
sediment	1.7 <u>6</u>	9.6 <u>6</u>	4.9 <u>6</u>			
eau	4.8 <u>5</u>	6.4 <u>4</u>	5.1 <u>6</u>	4.3 <u>6</u>	3.4 <u>6</u>	2.5 <u>6</u>
<u>jour 7</u>						
sediment	3.2 <u>6</u>	3.1 <u>7</u>	2.9 <u>8</u>			
eau	5.6 <u>4</u>	2.0 <u>7</u>	4.1 <u>7</u>	4.9 <u>5</u>	4.0 <u>6</u>	2.0 <u>4</u>
<u>jour 9</u>						
sediment	2.2 <u>7</u>	1.2 <u>8</u>	4.8 <u>8</u>			
eau	1.4 <u>4</u>	8.2 <u>6</u>	2.8 <u>8</u>	1.0 <u>4</u>	3.2 <u>5</u>	2.4 <u>5</u>

TESTS PRELIMINAIRES - EXPERIENCE C  
fig.8.

Avec caseine.

jour	SABLE		CARB. DE CA.	
	eau	sed	eau	sed
1	1.6 <u>8</u>	2.1 <u>7</u>	1.8 <u>8</u>	3.7 <u>7</u>
3	1.1 <u>8</u>	1.6 <u>7</u>	8.0 <u>7</u>	5.1 <u>7</u>
6	9.6 <u>7</u>	1.1 <u>8</u>	3.5 <u>7</u>	1.4 <u>7</u>
11	1.4 <u>7</u>	4.2 <u>8</u>	3.0 <u>6</u>	3.2 <u>8</u>

Témoins.

jour	SABLE		CARB. DE CA		E DE M.
	eau	sed	eau	sed	eau
1	7.5 <u>7</u>	1.2 <u>8</u>	2.5 <u>6</u>	1.0 <u>5</u>	5.2 <u>7</u>
3	4.0 <u>7</u>	1.7 <u>7</u>	> <u>8</u>	> <u>8</u>	2.4 <u>7</u>
6	4.1 <u>7</u>	5.2 <u>7</u>	2.8 <u>8</u>	3.2 <u>8</u>	5.2 <u>7</u>
11	2.9 <u>7</u>	3.5 <u>7</u>	1.0 <u>6</u>	5.0 <u>8</u>	8.8 <u>7</u>

CONTAMINATION DU SEDIMENT DE L'ESTUAIRE DE MORLAIX.  
situation en mortes eaux.  
fig.10.

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		SI	
			Lact +	Lact -	Lact +	Lact -		sacch +	sacch -		
A.03.2.	a :	$5,72 \cdot 10^8$	$5,8 \cdot 10^9$	:	$6,8 \cdot 10^6$	$3,84 \cdot 10^7$	$4,6 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^5$	$1,77 \cdot 10^7$	
	b :	$3 \cdot 10^8$	$1,14 \cdot 10^{10}$	:	:	:	:	$4 \cdot 10^4$	$8,8 \cdot 10^5$	$3,37 \cdot 10^7$	
	c :	$1 \cdot 10^9$	$4,26 \cdot 10^9$	:	$1,4 \cdot 10^7$	$2,96 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^4$	$4,4 \cdot 10^5$	$3,64 \cdot 10^7$	
A.04.2.	a :	$9 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^8$	$8,8 \cdot 10^6$	$1,24 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^6$	$1,72 \cdot 10^7$	$3,4 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^6$
	b :	$3 \cdot 10^8$	$5,4 \cdot 10^8$	$5,2 \cdot 10^6$	$2,52 \cdot 10^7$	$8,8 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$4,68 \cdot 10^7$	$9 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^5$	$6,8 \cdot 10^6$
	c :	$1,54 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$	$6,8 \cdot 10^6$	$9,2 \cdot 10^6$	$1,92 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	$1,19 \cdot 10^7$
A.05.2.	a :	$5 \cdot 10^7$	$4,3 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^6$	$4,8 \cdot 10^6$	$3,8 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^6$	:	$1,5 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^6$
	b :	$3,5 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^8$	$3,2 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^4$	$6,2 \cdot 10^6$	:	$1,1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$
	c :	$4 \cdot 10^7$	$9 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$4,7 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^6$
A.05.3.	a :	$3 \cdot 10^8$	$5,2 \cdot 10^8$	$2,5 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$7,9 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^5$	$6,8 \cdot 10^6$
	b :	$2,5 \cdot 10^8$	$4,8 \cdot 10^8$	$3,2 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^6$	$2,7 \cdot 10^6$	$4,92 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$
	c :	$3,2 \cdot 10^8$	$1,12 \cdot 10^9$	$2,8 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^6$	$3,2 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^6$
A.06.2.	a :	$1,72 \cdot 10^8$	$7,7 \cdot 10^8$	:	:	$9,6 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^7$	$5,9 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^4$	$3,7 \cdot 10^5$	$1,35 \cdot 10^7$
	b :	$1,5 \cdot 10^8$	$7,8 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^7$	$3,8 \cdot 10^6$	$9,8 \cdot 10^6$	$4,48 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4$	$1,15 \cdot 10^5$	$7,5 \cdot 10^6$
	c :	$1,7 \cdot 10^8$	$1,54 \cdot 10^9$	$4,5 \cdot 10^6$	$2,75 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^6$	$6,5 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^6$
A.07.3.	a :	$1,6 \cdot 10^8$	$6,9 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^6$	$3,3 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^6$
	b :	$1,3 \cdot 10^8$	$4,2 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$	$2,96 \cdot 10^7$	:	$1,2 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^6$
	c :	$2 \cdot 10^8$	$5,7 \cdot 10^8$	$2,4 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^7$	$1,14 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^6$	$1,92 \cdot 10^7$	:	$1,2 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^6$

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		S1
			Lact +	Lact -	Lact +	Lact -		sacch +	sacch -	
A.09.3.	a : $1,09 \cdot 10^8$	: $3,3 \cdot 10^8$	: $1 \cdot 10^7$	: $1,04 \cdot 10^7$	: $1,6 \cdot 10^6$	: $4,1 \cdot 10^6$	: $2,33 \cdot 10^7$	:	: $2,6 \cdot 10^5$	: $5,5 \cdot 10^6$
	b : $5,6 \cdot 10^7$	: $1,4 \cdot 10^8$	: $8,7 \cdot 10^6$	: $5,4 \cdot 10^6$	: $2,3 \cdot 10^6$	: $3,7 \cdot 10^6$	: $1,11 \cdot 10^7$	:	: $1,3 \cdot 10^5$	: $3,1 \cdot 10^6$
	c : $7,5 \cdot 10^7$	: $6,2 \cdot 10^8$	: $3,6 \cdot 10^6$	: $1,2 \cdot 10^6$	: $1 \cdot 10^6$	: $6 \cdot 10^5$	: $1 \cdot 10^7$	:	: $1,6 \cdot 10^5$	: $4,8 \cdot 10^6$
A.11.3.	a : $3,4 \cdot 10^7$	: $6,8 \cdot 10^8$	: $3,1 \cdot 10^6$	: $7,6 \cdot 10^6$	: $2,9 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $1,3 \cdot 10^7$	: $9 \cdot 10^4$	: $2,4 \cdot 10^5$	: $3,2 \cdot 10^6$
	b : $5 \cdot 10^7$	: $3,8 \cdot 10^8$	: $1,2 \cdot 10^6$	: $1,1 \cdot 10^6$	: $9 \cdot 10^5$	: $2,1 \cdot 10^6$	: $9,1 \cdot 10^6$	: $1,4 \cdot 10^5$	: $1,9 \cdot 10^5$	: $2,7 \cdot 10^6$
	c : $3,8 \cdot 10^7$	: $2,2 \cdot 10^8$	: $3,9 \cdot 10^6$	: $2,6 \cdot 10^6$	: $1,7 \cdot 10^6$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $1,92 \cdot 10^7$	: $8 \cdot 10^4$	: $1,1 \cdot 10^5$	: $4,8 \cdot 10^6$
A.13.3.	a : $8,1 \cdot 10^7$	: $1 \cdot 10^{10}$	: $8 \cdot 10^6$	: $1,96 \cdot 10^7$	: $4,2 \cdot 10^6$	: $5,8 \cdot 10^6$	: $1,1 \cdot 10^7$	: $3,5 \cdot 10^5$	: $3,2 \cdot 10^5$	: $1,88 \cdot 10^7$
	b : $6,2 \cdot 10^7$	: $1,6 \cdot 10^9$	: $6 \cdot 10^5$	: $3 \cdot 10^6$	: $2,2 \cdot 10^6$	: $1,7 \cdot 10^6$	: $1,9 \cdot 10^7$	: $1,8 \cdot 10^5$	: $1,9 \cdot 10^5$	: $2,7 \cdot 10^6$
	c : $7,8 \cdot 10^7$	: $1,8 \cdot 10^9$	: $4,2 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $7 \cdot 10^6$	: $5 \cdot 10^6$	: $1,91 \cdot 10^7$	: $3,4 \cdot 10^5$	: $1,3 \cdot 10^5$	: $4,88 \cdot 10^7$
A.17.3.	a : $7,5 \cdot 10^7$	: $4,5 \cdot 10^8$	: $8 \cdot 10^6$	: $1,32 \cdot 10^7$	: $5 \cdot 10^6$	: $1,44 \cdot 10^7$	: $3 \cdot 10^7$	:	: $2,6 \cdot 10^5$	: $1 \cdot 10^6$
	b : $7 \cdot 10^7$	: $1,8 \cdot 10^8$	: $1,5 \cdot 10^6$	: $4,8 \cdot 10^6$	: $1,15 \cdot 10^7$	: $2,28 \cdot 10^7$	: $1,5 \cdot 10^7$	: $5 \cdot 10^4$	: $2,4 \cdot 10^5$	: $3,5 \cdot 10^6$
	c : $1,7 \cdot 10^7$	: $2,4 \cdot 10^8$	: $5,2 \cdot 10^6$	: $1,12 \cdot 10^7$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $4,7 \cdot 10^6$	: $1,47 \cdot 10^7$	: $2 \cdot 10^4$	: $3,4 \cdot 10^5$	: $3,3 \cdot 10^6$
A.20.2	a : $1,18 \cdot 10^8$	: $5,6 \cdot 10^8$	: $7,2 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $2,5 \cdot 10^6$	: $2,6 \cdot 10^6$	: $1,88 \cdot 10^7$	: $3 \cdot 10^4$	: $1,9 \cdot 10^5$	: $4,5 \cdot 10^6$
	b : $8 \cdot 10^7$	: $1,8 \cdot 10^8$	: $5,2 \cdot 10^6$	: $8,6 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $7,2 \cdot 10^6$	: $2,19 \cdot 10^7$	: $2 \cdot 10^4$	: $1,3 \cdot 10^5$	: $4,1 \cdot 10^6$
	c : $1,29 \cdot 10^8$	: $2,3 \cdot 10^8$	: $1 \cdot 10^7$	: $1,2 \cdot 10^7$	: $7,2 \cdot 10^6$	: $4 \cdot 10^6$	: $3,04 \cdot 10^7$	:	: $1,3 \cdot 10^5$	: $7,5 \cdot 10^6$
A.23.3	a : $2,6 \cdot 10^7$	: $3,3 \cdot 10^8$	: $8 \cdot 10^5$	: $1,4 \cdot 10^6$	: $9 \cdot 10^5$	: $1 \cdot 10^6$	: $6,51 \cdot 10^6$	: $1,2 \cdot 10^5$	: $9 \cdot 10^4$	: $2 \cdot 10^6$
	b : $7,8 \cdot 10^7$	: $4,5 \cdot 10^8$	: $4 \cdot 10^6$	: $1,06 \cdot 10^7$	: $1,2 \cdot 10^6$	: $1,63 \cdot 10^7$	: $1,43 \cdot 10^7$	: $1,4 \cdot 10^5$	: $2,4 \cdot 10^5$	: $4,8 \cdot 10^6$
	c : $7,5 \cdot 10^7$	: $4,1 \cdot 10^8$	: $2,2 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $7,5 \cdot 10^6$	: $6 \cdot 10^5$	: $1,82 \cdot 10^7$	: $1,2 \cdot 10^5$	: $2,5 \cdot 10^5$	: $5,3 \cdot 10^6$

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		S1
			Lact +	Lact -	Lact +	Lact -		sacch +	sacch -	
A.27.3.	a :	1,8.10 <sup>9</sup>	4,2.10 <sup>7</sup>	8.10 <sup>6</sup>	2,3.10 <sup>6</sup>	2,5.10 <sup>6</sup>	1,6.10 <sup>7</sup>	3.10 <sup>4</sup>	4.10 <sup>4</sup>	3,2.10 <sup>6</sup>
	b :	1,62.10 <sup>8</sup> : 3.10 <sup>9</sup>	1,62.10 <sup>7</sup>	1,15.10 <sup>7</sup>	1,1.10 <sup>6</sup>	2,9.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>7</sup>	2.10 <sup>4</sup>	1,7.10 <sup>5</sup>	5,8.10 <sup>6</sup>
	c :	1,2.10 <sup>8</sup> : 1,93.10 <sup>9</sup>	5.10 <sup>6</sup>	9.10 <sup>6</sup>	2,4.10 <sup>6</sup>	3,4.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>7</sup>	3.10 <sup>4</sup>	2,2.10 <sup>5</sup>	9,5.10 <sup>6</sup>
A.31.2.	a :	2,32.10 <sup>8</sup> : 3,52.10 <sup>9</sup>	5,8.10 <sup>6</sup>	7,5.10 <sup>6</sup>	5.10 <sup>6</sup>	5.10 <sup>5</sup>	3,36.10 <sup>7</sup>	6,9.10 <sup>5</sup>	.	1,31.10 <sup>7</sup>
	b :	1,73.10 <sup>8</sup> : 2,5.10 <sup>8</sup>	3,5.10 <sup>6</sup>	1,24.10 <sup>7</sup>	1,07.10 <sup>7</sup>	.	2,48.10 <sup>7</sup>	.	5,6.10 <sup>5</sup>	1,68.10 <sup>7</sup>
	c :	1,13.10 <sup>8</sup> : 3,4.10 <sup>8</sup>	3,7.10 <sup>6</sup>	8,4.10 <sup>6</sup>	1,03.10 <sup>7</sup>	2,2.10 <sup>6</sup>	1,5.10 <sup>7</sup>	1,8.10 <sup>5</sup>	5,8.10 <sup>5</sup>	1,03.10 <sup>7</sup>
A.35.2.	a :	6.10 <sup>7</sup> : 1,3.10 <sup>8</sup>	3.10 <sup>5</sup>	1,3.10 <sup>6</sup>	5.10 <sup>5</sup>	4.10 <sup>5</sup>	2,8.10 <sup>6</sup>	2,4.10 <sup>4</sup>	3,6.10 <sup>5</sup>	1,2.10 <sup>6</sup>
	b :	6,7.10 <sup>7</sup> : 3,6.10 <sup>8</sup>	8.10 <sup>5</sup>	2,5.10 <sup>6</sup>	9.10 <sup>5</sup>	1,2.10 <sup>6</sup>	1,8.10 <sup>7</sup>	6.10 <sup>4</sup>	2,2.10 <sup>5</sup>	3,1.10 <sup>6</sup>
	c :	2,33.10 <sup>8</sup> : 3,6.10 <sup>8</sup>	3,3.10 <sup>6</sup>	6,7.10 <sup>6</sup>	3,6.10 <sup>6</sup>	9.10 <sup>5</sup>	8,3.10 <sup>6</sup>	2.10 <sup>5</sup>	6.10 <sup>5</sup>	3,2.10 <sup>6</sup>
A.41.2.	a :	1,4.10 <sup>7</sup> : 1,5.10 <sup>8</sup>	4.10 <sup>5</sup>	1,1.10 <sup>6</sup>	5.10 <sup>5</sup>	1,69.10 <sup>6</sup>	6.10 <sup>6</sup>	6.10 <sup>4</sup>	2.10 <sup>4</sup>	5,9.10 <sup>5</sup>
	b :	2,1.10 <sup>7</sup> : 2,1.10 <sup>8</sup>	6.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>5</sup>	2,8.10 <sup>5</sup>	3,8.10 <sup>5</sup>	3,9.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>4</sup>	1,2.10 <sup>5</sup>	3,6.10 <sup>5</sup>
	c :	1,09.10 <sup>8</sup> : 4,3.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>5</sup>	8.10 <sup>5</sup>	2,5.10 <sup>5</sup>	7,2.10 <sup>5</sup>	1,5.10 <sup>7</sup>	2.10 <sup>5</sup>	2,4.10 <sup>5</sup>	7,7.10 <sup>5</sup>
A.46.3.	a :	5,2.10 <sup>7</sup> : 2,8.10 <sup>8</sup>	1,2.10 <sup>6</sup>	2.10 <sup>5</sup>	2,1.10 <sup>5</sup>	2,9.10 <sup>5</sup>	3,5.10 <sup>6</sup>	2,3.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>5</sup>	5,2.10 <sup>5</sup>
	b :	2,2.10 <sup>7</sup> : 3,4.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>6</sup>	1,2.10 <sup>5</sup>	7.10 <sup>4</sup>	5,7.10 <sup>6</sup>	6.10 <sup>4</sup>	1,7.10 <sup>5</sup>	2,6.10 <sup>5</sup>
	c :	2,5.10 <sup>7</sup> : 3,7.10 <sup>8</sup>	4.10 <sup>5</sup>	6.10 <sup>5</sup>	7.10 <sup>4</sup>	4.10 <sup>4</sup>	7,6.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>4</sup>	3,6.10 <sup>5</sup>	4,4.10 <sup>5</sup>
A.47.2.	a :	3.10 <sup>6</sup> : 2,8.10 <sup>7</sup>	1,3.10 <sup>5</sup>	1,8.10 <sup>5</sup>	8.10 <sup>4</sup>	4.10 <sup>4</sup>	1,6.10 <sup>6</sup>	2.10 <sup>4</sup>	1.10 <sup>5</sup>	5.10 <sup>4</sup>
	b :	7,2.10 <sup>6</sup> : 6,6.10 <sup>7</sup>	1.10 <sup>5</sup>	2,2.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>4</sup>	1.10 <sup>4</sup>	3,2.10 <sup>6</sup>	3.10 <sup>4</sup>	5.10 <sup>4</sup>	6.10 <sup>4</sup>
	c :	4.10 <sup>6</sup> : 2,1.10 <sup>7</sup>	< 10 <sup>4</sup>	2.10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>4</sup>	1.10 <sup>4</sup>	3.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>4</sup>	7.10 <sup>4</sup>	< 10 <sup>4</sup>

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		S1	
			Lact +	Lact -	Lact +	Lact -		sacch +	sacch -		
A.50.3.	a :	$7.10^6$	$2,7.10^7$	$1,2.10^5$	$5.10^4$	$7.10^4$	$5.10^4$	$2,1.10^6$	$< 10^4$	$2.10^4$	$9.10^4$
	b :	$1,1.10^7$	$3,5.10^5$	$2,3.10^5$	$3.10^4$	$1,7.10^5$	$8.10^4$	$3.10^6$	$< 10^4$	$< 10^4$	$1,4.10^5$
	c :	$9.10^5$	$4,8.10^7$	$1.10^5$	$1,8.10^5$	$3.10^4$	$< 10^4$	$3,7.10^6$	$< 10^4$	$1.10^4$	$4.10^4$
A.56.2.	a :	$1,5.10^7$	$2.10^7$	$1.10^4$	$3.10^4$	$2.10^4$	$< 10^4$	$1,6.10^6$	$< 10^4$	$1.10^4$	$3.10^4$
	b :	$3,2.10^7$	$3,3.10^7$	$1,1.10^5$	$< 10^4$	$5.10^4$	$3.10^4$	$2,7.10^6$	$< 10^4$	$7.10^4$	$9.10^4$
	c :	$3.10^7$	$3,8.10^7$	$2,3.10^5$	$1.10^4$	$2.10^5$	$3.10^4$	$4,1.10^6$	$1.10^4$	$< 10^4$	$5.10^4$
A.59.3.	a :	$4,7.10^6$	$1,8.10^8$	$2.10^3$	$1,02.10^5$	$2.10^3$	$1,6.10^6$	$1,84.10^6$	$2,2.10^4$	$6.10^3$	$6.10^4$
	b :	$9,8.10^6$	$3,4.10^7$	$4.10^3$	$6.10^4$	$4.10^3$	$1.10^4$	$2.10^6$	$1,6.10^4$	$2.10^4$	$2,6.10^4$
	c :	$4,5.10^6$	$6,8.10^8$	$4.10^3$	$1,64.10^5$	$8.10^3$	$2.10^4$	$2,8.10^6$	$4.10^3$	$3.10^4$	$3,4.10^4$
A.61.2.	a :	$2,3.10^5$	$2,6.10^6$	$< 10^3$	$4.10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$1,7.10^5$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$
	b :	$2.10^5$	$1.10^6$	$< 10^3$	$4.10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$3.10^4$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$
	c :	$4,3.10^6$	$2,7.10^6$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$2,6.10^5$	$< 10^3$	$< 10^3$	$2.10^3$
A.64.3.	a :	$3,6.10^5$	$3,5.10^6$	$2.10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$4.10^3$	$1,1.10^5$	$< 10^3$	$2.10^3$	$< 10^3$
	b :	$4.10^5$	$2,5.10^6$	$2.10^3$	$6.10^3$	$< 10^3$	$2.10^3$	$1,1.10^5$	$< 10^3$	$< 10^3$	$6.10^3$
	c :	$3,3.10^5$	$3,3.10^6$	$< 10^3$	$1.10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$	$4,2.10^5$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$
A.64.6.	a :	$9,6.10^5$	$1,3.10^7$	$2.10^3$	$< 10^3$	$1,2.10^4$	$< 10^3$	$3,7.10^5$	$< 10^3$	$< 10^3$	$2.10^3$
	b :	$1.10^6$	$1,6.10^7$	$6.10^3$	$2.10^3$	$2.10^3$	$< 10^3$	$8,2.10^5$	$2.10^3$	$8.10^3$	$6.10^3$
	c :	$8,8.10^5$	$8.10^6$	$2.10^3$	$< 10^3$	$6.10^3$	$2.10^3$	$5.10^5$	$6.10^3$	$7.10^3$	$4.10^3$
A.66.4.	a :	$7,8.10^5$	$8,3.10^7$	$2.10^3$	$8.10^3$	$< 10^3$	$2.10^3$	$7.10^5$	$2.10^3$	$1.10^3$	$< 10^3$
	b :	$.6.10^5$	$7,7.10^6$	$1,2.10^4$	$4.10^3$	$< 10^3$	$2.10^3$	$5.10^4$	$< 10^3$	$< 10^3$	$< 10^3$
	c :	$3,6.10^5$	$3,8.10^6$	$4.10^3$	$6,6.10^4$	$< 10^3$	$2.10^3$	$3,4.10^5$	$< 10^3$	$2.10^3$	$< 10^3$

CONTAMINATION DU SEDIMENT DE L'ESTUAIRE DE MORLAIX.  
situation en vives eaux.  
fig.12.

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		SI
			Lact +	Lact -	Lact +	Lact -		sacch +	sacch -	
B.04.2.	a : $5 \cdot 10^8$	: $1,68 \cdot 10^8$	: $3,6 \cdot 10^7$	: $8,4 \cdot 10^7$	: $3 \cdot 10^6$	: $2 \cdot 10^6$	: $1,1 \cdot 10^7$	: $5 \cdot 10^4$	: $1,5 \cdot 10^5$	: $5 \cdot 10^6$
	b : $1,51 \cdot 10^8$	: $1,3 \cdot 10^8$	: $4 \cdot 10^7$	: $7,4 \cdot 10^7$	: $1,5 \cdot 10^7$	: $4,3 \cdot 10^7$	: $4,7 \cdot 10^7$	: $1,7 \cdot 10^5$	: $1,7 \cdot 10^5$	: $7,7 \cdot 10^6$
	c : $2,8 \cdot 10^8$	: $1,2 \cdot 10^9$	: $6,8 \cdot 10^7$	: $6,8 \cdot 10^7$	: $1,2 \cdot 10^7$	: $3,9 \cdot 10^7$	: $2,8 \cdot 10^7$	: $4 \cdot 10^4$	: $1,6 \cdot 10^5$	: $7,1 \cdot 10^6$
B.06.2.	a : $1,67 \cdot 10^8$	: $1,8 \cdot 10^8$	: $2,8 \cdot 10^6$	: $2,32 \cdot 10^7$	: $2,6 \cdot 10^6$	: $1,9 \cdot 10^6$	: $2,9 \cdot 10^7$	: $9 \cdot 10^4$	: $3,1 \cdot 10^5$	: $2,9 \cdot 10^6$
	b : $1,67 \cdot 10^8$	: $3,6 \cdot 10^8$	: $2,8 \cdot 10^6$	: $3,12 \cdot 10^7$	: N	: N	: $2,6 \cdot 10^7$	: $9 \cdot 10^4$	: $3,1 \cdot 10^5$	: $4,4 \cdot 10^6$
	c : $1,63 \cdot 10^8$	: $1,8 \cdot 10^8$	: $5,6 \cdot 10^6$	: $2,6 \cdot 10^7$	: $2,5 \cdot 10^6$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $4,2 \cdot 10^7$	: $4 \cdot 10^4$	: $1,3 \cdot 10^5$	: $1,7 \cdot 10^6$
B.09.3.	a : $1,1 \cdot 10^8$	: $7,6 \cdot 10^7$	: $3,8 \cdot 10^6$	: $8,6 \cdot 10^6$	: $5 \cdot 10^5$	: $< 10^5$	: $3,1 \cdot 10^7$	: $3,8 \cdot 10^5$	: $3,2 \cdot 10^5$	: $3,4 \cdot 10^6$
	b : $1,57 \cdot 10^8$	: $9,2 \cdot 10^7$	: $2,2 \cdot 10^6$	: $1,6 \cdot 10^7$	: $2,1 \cdot 10^6$	: $1,6 \cdot 10^6$	: $3,8 \cdot 10^7$	: $6 \cdot 10^5$	: $2,2 \cdot 10^6$	: $1,8 \cdot 10^6$
	c : $3,6 \cdot 10^7$	: $5,4 \cdot 10^7$	: $2,3 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $2,1 \cdot 10^6$	: $2,1 \cdot 10^6$	: $5,5 \cdot 10^6$	: $1,1 \cdot 10^5$	: $2,8 \cdot 10^5$	: $2,4 \cdot 10^6$
B.14.2.	a : $5,4 \cdot 10^7$	: $1,6 \cdot 10^8$	: $3 \cdot 10^6$	: $4,2 \cdot 10^6$	: $4 \cdot 10^5$	: $5 \cdot 10^5$	: $3,1 \cdot 10^6$	: $2 \cdot 10^4$	: $9 \cdot 10^4$	: $2,4 \cdot 10^6$
	b : $3,6 \cdot 10^7$	: $2,6 \cdot 10^8$	: $1 \cdot 10^7$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $1 \cdot 10^6$	: $8 \cdot 10^5$	: $2,7 \cdot 10^6$	: $2 \cdot 10^4$	: $3 \cdot 10^4$	: $7 \cdot 10^5$
	c : $6,6 \cdot 10^7$	: $1,9 \cdot 10^8$	: $2,7 \cdot 10^6$	: $4 \cdot 10^6$	: $< 10^5$	: $4 \cdot 10^5$	: $5 \cdot 10^6$	: $5 \cdot 10^4$	: $6 \cdot 10^4$	: $3,7 \cdot 10^6$
B.20.2.	a : $7,8 \cdot 10^7$	: $2,4 \cdot 10^8$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $7,2 \cdot 10^6$	: $2,3 \cdot 10^6$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $1,6 \cdot 10^7$	: $3 \cdot 10^4$	: $9 \cdot 10^4$	: $5,7 \cdot 10^6$
	b : $6,2 \cdot 10^7$	: $5,6 \cdot 10^7$	: $2,5 \cdot 10^6$	: $4,4 \cdot 10^6$	: $1,5 \cdot 10^6$	: $1,4 \cdot 10^6$	: $1,8 \cdot 10^7$	: $2 \cdot 10^4$	: $7 \cdot 10^4$	: $3,7 \cdot 10^6$
	c : $5,5 \cdot 10^7$	: $1 \cdot 10^8$	: $1,1 \cdot 10^6$	: $3,4 \cdot 10^6$	: $1,4 \cdot 10^6$	: $3,2 \cdot 10^6$	: $1,7 \cdot 10^7$	: $3 \cdot 10^4$	: $1,1 \cdot 10^5$	: $4,1 \cdot 10^6$

	TD	TS	D37		D42		DS	TCBS		S1	
			Lact+	Lact-	Lact+	Lact-		sacch+	sacch-		
B.27.3.	a :	1,23.10 <sup>8</sup>	: 1,36.10 <sup>8</sup>	: 6,8.10 <sup>6</sup>	: 1,52.10 <sup>7</sup>	: 1,6.10 <sup>6</sup>	: 1,8.10 <sup>6</sup>	: 1,3.10 <sup>7</sup>	: 1,8.10 <sup>6</sup>	: 9.10 <sup>5</sup>	: 3.10 <sup>6</sup>
	b :	1,13.10 <sup>8</sup>	: 1,6.10 <sup>8</sup>	: 2,8.10 <sup>6</sup>	: 1,08.10 <sup>7</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 1,4.10 <sup>6</sup>	: 1,9.10 <sup>7</sup>	: 2.10 <sup>5</sup>	: 10 <sup>5</sup>	: 5,2.10 <sup>6</sup>
	c :	1,24.10 <sup>8</sup>	: 9,2.10 <sup>7</sup>	: 6,4.10 <sup>6</sup>	: 8.10 <sup>6</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 1,2.10 <sup>7</sup>	: 1.10 <sup>5</sup>	: 1.10 <sup>5</sup>	: 2,2.10 <sup>6</sup>
B.35.2.	a :	9,1.10 <sup>7</sup>	: 3.10 <sup>8</sup>	: 3,6.10 <sup>6</sup>	: 7,6.10 <sup>6</sup>	: 1,4.10 <sup>6</sup>	: 2,3.10 <sup>6</sup>	: 9,4.10 <sup>6</sup>	: 5.10 <sup>5</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 2,7.10 <sup>6</sup>
	b :	2,1.10 <sup>8</sup>	: 3,9.10 <sup>8</sup>	: 7,2.10 <sup>6</sup>	: 1,8.10 <sup>7</sup>	: 1,3.10 <sup>6</sup>	: 6.10 <sup>5</sup>	: 1,7.10 <sup>7</sup>	: 6.10 <sup>5</sup>	: 1.10 <sup>6</sup>	: 1,8.10 <sup>6</sup>
	c :	1.10 <sup>8</sup>	: 3,3.10 <sup>8</sup>	: 8.10 <sup>6</sup>	: 5,6.10 <sup>6</sup>	: 4,1.10 <sup>6</sup>	: 4,5.10 <sup>6</sup>	: 1,36.10 <sup>7</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 4.10 <sup>5</sup>	: 2,4.10 <sup>6</sup>
B.41.2.	a :	6,6.10 <sup>7</sup>	: 1,6.10 <sup>8</sup>	: 4.10 <sup>6</sup>	: 8,4.10 <sup>6</sup>	: 1,9.10 <sup>6</sup>	: 5,9.10 <sup>6</sup>	: 5,4.10 <sup>6</sup>	: 2,9.10 <sup>5</sup>	: 4.10 <sup>4</sup>	: 1,8.10 <sup>6</sup>
	b :	6.10 <sup>7</sup>	: 8.10 <sup>7</sup>	: 3,6.10 <sup>6</sup>	: 1,24.10 <sup>7</sup>	: 1,3.10 <sup>6</sup>	: 7,5.10 <sup>6</sup>	: 5,3.10 <sup>6</sup>	: 9.10 <sup>5</sup>	: 9.10 <sup>5</sup>	: 1,5.10 <sup>6</sup>
	c :	7,9.10 <sup>7</sup>	: 1,5.10 <sup>8</sup>	: 2,8.10 <sup>6</sup>	: 1,08.10 <sup>7</sup>	: 1,9.10 <sup>6</sup>	: 6,6.10 <sup>7</sup>	: 6,4.10 <sup>6</sup>	: 8.10 <sup>4</sup>	: 1,7.10 <sup>5</sup>	: 2.10 <sup>6</sup>
B.46.3.	a :	7,3.10 <sup>7</sup>	: 1,16.10 <sup>8</sup>	: 4.10 <sup>6</sup>	: 4.10 <sup>6</sup>	: 8.10 <sup>5</sup>	: 5,6.10 <sup>6</sup>	: 1.10 <sup>7</sup>	: 5.10 <sup>4</sup>	: 2.10 <sup>4</sup>	: 1,4.10 <sup>6</sup>
	b :	3.10 <sup>7</sup>	: 4,4.10 <sup>7</sup>	: 1,3.10 <sup>6</sup>	: 1,4.10 <sup>6</sup>	: 4.10 <sup>5</sup>	: 5.10 <sup>5</sup>	: 3.10 <sup>6</sup>	: 10 <sup>4</sup>	: 2.10 <sup>4</sup>	: 6.10 <sup>5</sup>
	c :	3,6.10 <sup>7</sup>	: 7,2.10 <sup>7</sup>	: 4.10 <sup>6</sup>	: 3,9.10 <sup>6</sup>	: 1,2.10 <sup>6</sup>	: 1,7.10 <sup>6</sup>	: 5,3.10 <sup>7</sup>	: 10 <sup>4</sup>	: 10 <sup>4</sup>	: 1,2.10 <sup>6</sup>
B.50.3.	a :	3,2.10 <sup>6</sup>	: 1,8.10 <sup>7</sup>	: 4.10 <sup>4</sup>	: 5,2.10 <sup>4</sup>	: 2,8.10 <sup>4</sup>	: 8.10 <sup>3</sup>	: 2,1.10 <sup>5</sup>	: 8.10 <sup>3</sup>	: 2.10 <sup>3</sup>	: 9,2.10 <sup>4</sup>
	b :	3,8.10 <sup>6</sup>	: 2,2.10 <sup>7</sup>	: 6,4.10 <sup>4</sup>	: 1,12.10 <sup>5</sup>	: 2,8.10 <sup>4</sup>	: 4.10 <sup>3</sup>	: 3,6.10 <sup>5</sup>	: 1,2.10 <sup>4</sup>	: 4.10 <sup>3</sup>	: 8,8.10 <sup>4</sup>
	c :	3.10 <sup>6</sup>	: 2.10 <sup>7</sup>	: 4.10 <sup>4</sup>	: 1.10 <sup>5</sup>	: 4,2.10 <sup>4</sup>	: 1,8.10 <sup>4</sup>	: 3,7.10 <sup>5</sup>	: 10 <sup>3</sup>	: 8.10 <sup>3</sup>	: 5,8.10 <sup>4</sup>

VARIATIONS SAISONNIERES AU NIVEAU DU SEDIMENT  
fig.13.

Numération des colonies lactoses + isolées sur milieu de Drigalski incubé à 42°C.

point	Février	Juin	Octobre	Mars
4.2	1,2 $\frac{7}{5}$	3,0 $\frac{7}{5}$	1,2 $\frac{7}{5}$	6,0 $\frac{7}{5}$
6.2	2,6 $\frac{6}{5}$	4,8 $\frac{6}{5}$	1,1 $\frac{7}{5}$	1,0 $\frac{7}{5}$
13.2	4,0 $\frac{5}{5}$	4,8 $\frac{6}{5}$	8,0 $\frac{6}{5}$	4,8 $\frac{5}{5}$
27.3	8,0 $\frac{5}{5}$	1,4 $\frac{6}{5}$	3,7 $\frac{6}{5}$	1,5 $\frac{5}{5}$
41.2	1,9 $\frac{6}{5}$	1,0 $\frac{6}{5}$	6,0 $\frac{4}{5}$	8,0 $\frac{4}{5}$
47.2	8,0 $\frac{5}{5}$	1,6 $\frac{4}{5}$	6,0 $\frac{4}{5}$	8,0 $\frac{4}{5}$
7		7,0 $\frac{3}{5}$	2,0 $\frac{4}{5}$	7,0 $\frac{3}{5}$
8		8,0 $\frac{3}{5}$	< $\frac{3}{5}$	3,0 $\frac{3}{5}$
9		< $\frac{3}{5}$	< $\frac{3}{5}$	< $\frac{3}{5}$

Numération sur milieu de TCBS

point	Février	Juin	Octobre	Mars
4.2	2,0 $\frac{5}{5}$		9,0 $\frac{6}{5}$	7,6 $\frac{6}{5}$
6.2	4,0 $\frac{5}{5}$	6,7 $\frac{5}{5}$	7,2 $\frac{6}{5}$	5,4 $\frac{6}{5}$
13.2	5,0 $\frac{4}{5}$	7,3 $\frac{5}{5}$	2,5 $\frac{6}{5}$	3,2 $\frac{6}{5}$
27.3	3,0 $\frac{5}{5}$	4,2 $\frac{5}{5}$	3,0 $\frac{6}{5}$	7,7 $\frac{6}{5}$
41.2	3,1 $\frac{5}{5}$	3,2 $\frac{5}{5}$	1,3 $\frac{6}{5}$	2,4 $\frac{6}{5}$
47.2	3,0 $\frac{4}{5}$	3,0 $\frac{5}{5}$	1,0 $\frac{6}{5}$	8,0 $\frac{5}{5}$
7		2,1 $\frac{4}{5}$	9,5 $\frac{5}{5}$	1,5 $\frac{6}{5}$
8		3,0 $\frac{3}{5}$	4,7 $\frac{4}{5}$	1,0 $\frac{6}{5}$
9		8,0 $\frac{3}{5}$	2,0 $\frac{4}{5}$	< $\frac{3}{5}$

Numération sur gélose Trypticase incubée à 25°C.

point	Février	Juin	Octobre	Mars
4.2	1,7 $\frac{8}{8}$	6,5 $\frac{8}{8}$	1,3 $\frac{9}{9}$	3,7 $\frac{9}{9}$
6.2	1,8 $\frac{8}{8}$	4,5 $\frac{8}{8}$	1,8 $\frac{9}{9}$	1,1 $\frac{9}{9}$
13.2	1,9 $\frac{8}{8}$	3,8 $\frac{8}{8}$	6,0 $\frac{8}{8}$	1,9 $\frac{9}{8}$
27.3	1,4 $\frac{8}{8}$	2,0 $\frac{8}{8}$	3,3 $\frac{8}{8}$	3,2 $\frac{8}{8}$
41.2	1,5 $\frac{8}{8}$	2,6 $\frac{8}{8}$	2,0 $\frac{8}{8}$	3,7 $\frac{8}{8}$
47.2	7,2 $\frac{7}{7}$	1,0 $\frac{8}{8}$	5,4 $\frac{7}{7}$	9,6 $\frac{7}{7}$
7		2,2 $\frac{7}{7}$	5,0 $\frac{7}{7}$	5,4 $\frac{7}{7}$
8		6,9 $\frac{7}{7}$	5,0 $\frac{7}{7}$	1,5 $\frac{8}{8}$
9		2,3 $\frac{7}{7}$	8,0 $\frac{5}{5}$	7,0 $\frac{6}{6}$

INFLUENCE DE LA STRUCTURE DU SEDIMENT  
 structure conservée (Bac)  
 fig.14.

MX DE CULT.	SEDIMENT		EAU	
	prof.	surf.	prof.	surf.
<u>jour 0</u>				
TD	1.0 <u>5</u>	2.8 <u>5</u>	2.0 <u>4</u>	2.1 <u>4</u>
TS	4.1 <u>4</u>	1.7 <u>6</u>	1.7 <u>5</u>	1.3 <u>5</u>
DS	9.0 <u>3</u>	1.2 <u>6</u>	2.7 <u>4</u>	2.3 <u>4</u>
C				
<u>jour 1</u>				
TD	1.9 <u>5</u>	3.0 <u>6</u>	7.4 <u>4</u>	5.8 <u>4</u>
TS	> <u>7</u>	> <u>7</u>	6.0 <u>6</u>	7.1 <u>6</u>
DS	1.6 <u>5</u>	3.1 <u>6</u>	6.0 <u>4</u>	4.0 <u>4</u>
C	2.8 <u>5</u>	2.0 <u>6</u>	1.9 <u>6</u>	2.3 <u>6</u>
<u>jour 2</u>				
TD	1.1 <u>6</u>	6.0 <u>5</u>	2.0 <u>5</u>	9.0 <u>4</u>
TS	2.3 <u>6</u>	1.7 <u>7</u>	2.2 <u>7</u>	6.3 <u>7</u>
DS	< <u>4</u>	1.1 <u>5</u>	2.1 <u>6</u>	8.1 <u>6</u>
C	2.8 <u>5</u>	1.0 <u>5</u>	6.0 <u>6</u>	7.9 <u>6</u>
<u>jour 3</u>				
TD	4.0 <u>5</u>	7.7 <u>5</u>	5.0 <u>4</u>	6.2 <u>4</u>
TS	1.5 <u>6</u>	> <u>8</u>	5.4 <u>7</u>	1.1 <u>8</u>
DS	1.6 <u>5</u>	2.3 <u>6</u>	1.8 <u>7</u>	1.1 <u>7</u>
C	8.0 <u>5</u>	1.3 <u>6</u>	1.6 <u>7</u>	9.5 <u>6</u>
<u>jour 5</u>				
TD	2.4 <u>5</u>	3.5 <u>5</u>	2.0 <u>3</u>	1.0 <u>3</u>
TS	3.5 <u>5</u>	< <u>6</u>	< <u>6</u>	< <u>6</u>
DS	2.0 <u>3</u>	2.0 <u>5</u>	2.0 <u>5</u>	< <u>5</u>
C	1.2 <u>5</u>	3.6 <u>5</u>	2.0 <u>5</u>	
<u>jour 7</u>				
TD	2.5 <u>5</u>	3.7 <u>5</u>	9.0 <u>3</u>	1.0 <u>3</u>
TS	2.5 <u>5</u>	2.4 <u>6</u>	3.8 <u>6</u>	4.1 <u>6</u>
DS	4.0 <u>4</u>	4.0 <u>5</u>	1.8 <u>5</u>	3.6 <u>5</u>
C	8.7 <u>4</u>	2.9 <u>5</u>	1.2 <u>6</u>	1.3 <u>6</u>
<u>jour 9</u>				
TD	1.3 <u>5</u>	8.9 <u>5</u>	3.0 <u>3</u>	3.6 <u>2</u>
TS	1.9 <u>5</u>	3.6 <u>6</u>	7.8 <u>6</u>	5.0 <u>5</u>
DS	1.1 <u>4</u>	8.0 <u>5</u>	3.4 <u>5</u>	2.9 <u>5</u>
C	9.3 <u>4</u>	1.7 <u>6</u>	2.1 <u>6</u>	1.8 <u>6</u>

Structure mélangée (Aquarium)  
fig.14.

MX DE CULT.	SEDIMENT		EAU	
	prof.	surf.	prof.	surf.
<u>jour 0</u>				
TD	1.1 <u>5</u>	1.5 <u>5</u>	1.6 <u>4</u>	8.0 <u>3</u>
TS	5.0 <u>5</u>	> <u>7</u>	6.0 <u>4</u>	5.1 <u>4</u>
DS	1.8 <u>4</u>	3.1 <u>4</u>	5.3 <u>4</u>	6.0 <u>3</u>
C	< <u>3</u>	1.0 <u>4</u>	< <u>3</u>	< <u>3</u>
<u>jour 1</u>				
TD	5.9 <u>5</u>	1.3 <u>6</u>	2.3 <u>4</u>	1.1 <u>4</u>
TS	3.0 <u>6</u>	8.1 <u>6</u>	1.3 <u>6</u>	2.7 <u>6</u>
DS	1.8 <u>5</u>	4.4 <u>5</u>	8.6 <u>5</u>	6.6 <u>5</u>
C	1.2 <u>5</u>	1.4 <u>6</u>	4.1 <u>5</u>	1.1 <u>6</u>
<u>jour 2</u>				
TD	1.3 <u>5</u>	8.7 <u>5</u>	1.0 <u>5</u>	< <u>3</u>
TS	3.9 <u>6</u>	2.3 <u>7</u>	6.3 <u>7</u>	7.9 <u>7</u>
DS	3.0 <u>4</u>	3.0 <u>5</u>	4.3 <u>6</u>	3.5 <u>6</u>
C	5.0 <u>5</u>	8.0 <u>5</u>	1.9 <u>6</u>	1.1 <u>7</u>
<u>jour 3</u>				
TD	1.3 <u>6</u>	1.3 <u>6</u>	8.9 <u>4</u>	1.0 <u>5</u>
TS	> <u>8</u>	2.0 <u>6</u>	1.1 <u>8</u>	1.1 <u>8</u>
DS	1.5 <u>6</u>	1.5 <u>6</u>	4.5 <u>6</u>	3.0 <u>5</u>
C	7.6 <u>5</u>	5.4 <u>6</u>	9.2 <u>6</u>	2.6 <u>7</u>
<u>jour 5</u>				
TD	8.7 <u>5</u>	1.2 <u>5</u>	1.0 <u>3</u>	< <u>3</u>
TS	8.0 <u>6</u>	2.4 <u>7</u>	1.9 <u>7</u>	2.2 <u>7</u>
DS	3.7 <u>5</u>	1.0 <u>5</u>	3.0 <u>5</u>	1.8 <u>5</u>
C	6.7 <u>5</u>	2.1 <u>6</u>	2.5 <u>6</u>	2.9 <u>6</u>
<u>jour 7</u>				
TD	4.0 <u>5</u>	3.4 <u>5</u>	1.0 <u>3</u>	< <u>3</u>
TS	7.0 <u>5</u>	2.4 <u>7</u>	8.0 <u>5</u>	1.1 <u>6</u>
DS	1.6 <u>5</u>	2.9 <u>6</u>	1.0 <u>5</u>	1.7 <u>5</u>
C	3.1 <u>5</u>	2.2 <u>6</u>	1.8 <u>6</u>	5.0 <u>5</u>
<u>jour 9</u>				
TD	1.1 <u>6</u>	1.6 <u>5</u>	1.1 <u>4</u>	1.0 <u>3</u>
TS	1.4 <u>7</u>	3.2 <u>7</u>	1.9 <u>6</u>	1.2 <u>6</u>
DS	1.0 <u>5</u>	3.6 <u>5</u>	1.4 <u>5</u>	7.1 <u>4</u>
C	1.1 <u>6</u>	4.8 <u>6</u>	1.2 <u>6</u>	6.2 <u>5</u>

ETUDE DE LA FLORE  
fig.15.

MX DE CULT.	SEDIMENT		EAU	
	prof.	surf.	prof.	surf.
		<u>jour 0</u>		
TD	1.3 <sub>5</sub>	1.3 <sub>5</sub>	2.0 <sub>3</sub>	2.0 <sub>3</sub>
TS	7.2 <sub>5</sub>	1.2 <sub>6</sub>	2.3 <sub>5</sub>	1.5 <sub>5</sub>
DS	1.1 <sub>4</sub>	9.4 <sub>4</sub>	8.5 <sub>4</sub>	< <sub>3</sub>
C	8.6 <sub>4</sub>	2.8 <sub>5</sub>	1.0 <sub>5</sub>	4.3 <sub>4</sub>
TCBS	< <sub>3</sub>	1.0 <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>	6.0 <sub>3</sub>
		<u>jour 1</u>		
TD	3.7 <sub>5</sub>	1.3 <sub>6</sub>	3.6 <sub>4</sub>	4.7 <sub>4</sub>
TS	9.6 <sub>5</sub>	4.9 <sub>5</sub>	7.2 <sub>5</sub>	5.6 <sub>6</sub>
DS	6.1 <sub>4</sub>	9.7 <sub>5</sub>	1.9 <sub>6</sub>	
C	4.3 <sub>5</sub>	1.5 <sub>6</sub>	7.6 <sub>5</sub>	5.0 <sub>4</sub>
TCBS	< <sub>3</sub>	9.0 <sub>3</sub>	8.0 <sub>3</sub>	8.0 <sub>3</sub>
		<u>jour 2</u>		
TD	4.1 <sub>5</sub>	1.3 <sub>6</sub>	6.9 <sub>6</sub>	1.0 <sub>5</sub>
TS	7.0 <sub>5</sub>	1.5 <sub>7</sub>	1.4 <sub>7</sub>	1.9 <sub>7</sub>
DS	5.3 <sub>4</sub>	1.0 <sub>5</sub>	1.8 <sub>6</sub>	3.2 <sub>6</sub>
C	3.0 <sub>5</sub>	3.1 <sub>6</sub>	5.1 <sub>6</sub>	3.7 <sub>6</sub>
TCBS	< <sub>3</sub>	1.6 <sub>4</sub>	7.0 <sub>3</sub>	1.1 <sub>4</sub>
		<u>jour 3</u>		
TD	1.0 <sub>6</sub>	9.0 <sub>5</sub>	2.2 <sub>5</sub>	6.3 <sub>4</sub>
TS	6.0 <sub>5</sub>	1.4 <sub>7</sub>	9.6 <sub>6</sub>	2.2 <sub>7</sub>
DS	6.0 <sub>5</sub>	6.0 <sub>5</sub>	1.2 <sub>6</sub>	1.2 <sub>6</sub>
C	2.0 <sub>5</sub>	2.3 <sub>5</sub>	9.8 <sub>6</sub>	5.1 <sub>6</sub>
TCBS	< <sub>3</sub>	1.2 <sub>6</sub>	3.4 <sub>5</sub>	5.2 <sub>5</sub>
		<u>jour 6</u>		
TD	5.0 <sub>5</sub>	1.0 <sub>6</sub>	1.0 <sub>4</sub>	4.0 <sub>3</sub>
TS	7.9 <sub>5</sub>	> <sub>8</sub>	9.0 <sub>5</sub>	< <sub>6</sub>
DS	< <sub>3</sub>	1.4 <sub>6</sub>	1.7 <sub>5</sub>	2.0 <sub>5</sub>
C	2.3 <sub>5</sub>	9.0 <sub>6</sub>	5.0 <sub>5</sub>	2.0 <sub>5</sub>
TCBS	2.0 <sub>3</sub>	3.8 <sub>4</sub>	< <sub>3</sub>	1.0 <sub>3</sub>
		<u>jour 8</u>		
TD	3.2 <sub>5</sub>	1.4 <sub>5</sub>	9.0 <sub>3</sub>	8.0 <sub>3</sub>
TS	9.2 <sub>3</sub>	6.7 <sub>6</sub>	1.2 <sub>7</sub>	6.4 <sub>5</sub>
DS	< <sub>5</sub>	1.7 <sub>5</sub>	1.1 <sub>5</sub>	1.7 <sub>5</sub>
C	3.7 <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>	3.8 <sub>3</sub>	5.1 <sub>5</sub>
TCBS	< <sub>3</sub>	2.0 <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>
		<u>jour 10</u>		
TD	1.8 <sub>5</sub>	1.5 <sub>5</sub>	5.0 <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>
TS	1.1 <sub>6</sub>	1.1 <sub>7</sub>	6.3 <sub>6</sub>	1.7 <sub>6</sub>
DS	2.7 <sub>4</sub>	3.4 <sub>5</sub>	2.3 <sub>5</sub>	1.1 <sub>5</sub>
C	6.2 <sub>5</sub>	4.3 <sub>6</sub>	2.6 <sub>6</sub>	1.1 <sub>6</sub>
TCBS	9.0 <sub>3</sub>	1.4 <sub>4</sub>	< <sub>3</sub>	< <sub>3</sub>

MODE DE CONTAMINATION DE L'EAU  
fig.16.

MX DE CULT.	SEDIMENT		EAU							
	prof.	surf.	tot.	prof.		surf.		tot.	3µm	0,22µ
				3µm	0,22µ	3µm	0,22µ			
<u>jour 0</u>										
TD	2.8 <sub>6</sub>	4.2 <sub>6</sub>	1.4 <sub>4</sub>	2.5 <sub>3</sub>	<	3	6.0 <sub>3</sub>	2.0 <sub>3</sub>	<	3
TS	7.4 <sub>6</sub>	1.6 <sub>7</sub>	1.5 <sub>4</sub>	2.0 <sub>3</sub>	<	3	3.3 <sub>4</sub>	4.0 <sub>4</sub>	<	3
DS	2.9 <sub>5</sub>	6.5 <sub>5</sub>	6.0 <sub>3</sub>	3.1 <sub>3</sub>	<	3	5.0 <sub>3</sub>	7.0 <sub>3</sub>	<	3
C	2.9 <sub>5</sub>	6.5 <sub>5</sub>	6.0 <sub>3</sub>	2.8 <sub>3</sub>	<	3	5.0 <sub>3</sub>	7.0 <sub>3</sub>	<	3
DD	6.9 <sub>5</sub>	1.0 <sub>6</sub>	5.0 <sub>3</sub>	4.7 <sub>3</sub>	2.8	2	3.0 <sub>3</sub>	4.5 <sub>3</sub>	4.6	2
<u>jour 1</u>										
TD	1.0 <sub>7</sub>	2.0 <sub>5</sub>	9.0 <sub>3</sub>	5.0 <sub>3</sub>	<	3	7.0 <sub>3</sub>	1.0 <sub>3</sub>	<	3
TS	8.0 <sub>6</sub>	3.5 <sub>7</sub>	6.0 <sub>5</sub>	9.1 <sub>4</sub>	2.0	3	6.2 <sub>5</sub>	1.5 <sub>5</sub>	9.2	4
DS	1.0 <sub>4</sub>	5.8 <sub>6</sub>	2.4 <sub>5</sub>	2.7 <sub>5</sub>	<	3	4.2 <sub>5</sub>	2.0 <sub>5</sub>	5.6	4
C	3.0 <sub>6</sub>	1.3 <sub>7</sub>	6.1 <sub>5</sub>	1.0 <sub>4</sub>	<	3	5.5 <sub>5</sub>	2.0 <sub>5</sub>	5.6	4
DD	6.0 <sub>3</sub>	1.6 <sub>6</sub>	1.0 <sub>3</sub>	1.5 <sub>3</sub>	<	3	5.0 <sub>3</sub>	3.0 <sub>3</sub>	<	2
<u>jour 2</u>										
TD	4.0 <sub>6</sub>	1.6 <sub>6</sub>	9.0 <sub>3</sub>	9.0 <sub>3</sub>	1.1	3	2.6 <sub>4</sub>	1.1 <sub>4</sub>	3.1	3
TS	1.6 <sub>7</sub>	1.9 <sub>7</sub>	4.4 <sub>6</sub>	>	7	1.1	2.0 <sub>7</sub>	>	7.0	5
DS	4.7 <sub>5</sub>	1.9 <sub>6</sub>	2.2 <sub>6</sub>	>	7	2.1	6.8 <sub>6</sub>	>	7.0	5
C	3.6 <sub>6</sub>	2.7 <sub>6</sub>	4.7 <sub>6</sub>	>	6	1.1	8.3 <sub>6</sub>	1.0 <sub>6</sub>	1.2	5
DD	7.0 <sub>3</sub>	5.7 <sub>6</sub>	<	4.6	3	2.6	2.0 <sub>3</sub>	5.6 <sub>3</sub>	2.3	3
<u>jour 4</u>										
TD	4.2 <sub>6</sub>	2.1 <sub>6</sub>	8.0 <sub>3</sub>	<	3	3.0	1.4 <sub>4</sub>	<	3	2.0
TS	3.5 <sub>5</sub>	1.5 <sub>7</sub>	1.6 <sub>7</sub>			4.5	3.0 <sub>7</sub>		1.8	6
DS	4.3 <sub>5</sub>	1.2 <sub>6</sub>	2.0 <sub>6</sub>			3.0	1.2 <sub>6</sub>		1.7	6
C	1.9 <sub>6</sub>	3.6 <sub>6</sub>	9.0 <sub>6</sub>			1.2	1.1 <sub>7</sub>		8.0	4
DD	3.2 <sub>4</sub>	3.7 <sub>4</sub>	4.4 <sub>2</sub>				3.2 <sub>3</sub>		1.4	2
<u>jour 6</u>										
TD	2.9 <sub>6</sub>	1.3 <sub>6</sub>	<	8.2	3	<	3.0	5.0	<	2
TS	1.6 <sub>6</sub>	8.3 <sub>6</sub>	4.4 <sub>6</sub>	1.1	6	1.7	6.5 <sub>6</sub>	1.6	5.0	4
DS	1.3 <sub>5</sub>	1.8 <sub>6</sub>	4.8 <sub>5</sub>	8.7	5	1.0	9.1 <sub>5</sub>	6.0	<	4
C	2.1 <sub>6</sub>	9.7 <sub>6</sub>	4.5 <sub>6</sub>	8.4	5	1.0	2.7 <sub>6</sub>	1.5	1.7	3
DD	2.0 <sub>4</sub>	2.6 <sub>4</sub>	4.2 <sub>2</sub>	7.5	3	<	2.9	1.0	<	1
<u>jour 8</u>										
TD	2.5 <sub>6</sub>	1.2 <sub>6</sub>	4.5 <sub>4</sub>	3.6	3	6.0	1.6 <sub>4</sub>	1.6	2.0	1
TS	5.0 <sub>6</sub>	2.7 <sub>6</sub>	1.3 <sub>6</sub>	1.8	5	1.4	7.7 <sub>6</sub>	2.3	5.0	3
DS	1.0 <sub>3</sub>	2.6 <sub>5</sub>	4.2 <sub>4</sub>	1.3	6	1.4	1.0 <sub>3</sub>	1.6	1.8	3
C	1.5 <sub>6</sub>	1.9 <sub>6</sub>	1.5 <sub>5</sub>	7.8	4	1.0	2.4 <sub>5</sub>	2.4	2.0	2
DD	8.3 <sub>3</sub>	1.2 <sub>4</sub>	5.0 <sub>2</sub>	7.1	3	1.0	7.0 <sub>1</sub>	2.4	<	1
<u>jour 10</u>										
TD	1.2 <sub>6</sub>	1.1 <sub>6</sub>	<	1.0	2	6.0	1.0	1.9	2.0	1
TS	1.1 <sub>4</sub>	6.4 <sub>5</sub>	9.1 <sub>4</sub>	7.8	4	4.6	1.4 <sub>5</sub>	3.4	5.1	2
DS	3.0 <sub>4</sub>	7.5 <sub>5</sub>	1.5 <sub>4</sub>	5.0	4	2.0	5.5 <sub>4</sub>	2.2	1.7	2
C	1.0 <sub>6</sub>	1.7 <sub>6</sub>	5.7 <sub>5</sub>	1.6	3	5.0	2.5 <sub>5</sub>	3.7	1.3	2
DD	<	1.0 <sub>4</sub>	8.4 <sub>2</sub>	5.2	2	2.0	1.8	2.5	3.0	1

CONTAMINATION DU SEDIMENT PAR L'EAU DE MER NATURELLE  
fig.17.

MX DE CULT	SEDIMENT			EAU						
				prof.			surf.			
	prof.	surf.	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m		
<u>jour 0</u>										
TD	3.0	<u>3</u>	3.0	<u>3</u>	4.0	<u>5</u>	2.4	<u>5</u>	2.0	<u>4</u>
TS	<	<u>3</u>	<	<u>3</u>	1.2	<u>7</u>	1.0	<u>7</u>	1.2	<u>5</u>
DS	<	<u>3</u>	<	<u>3</u>	6.6	<u>5</u>	1.9	<u>5</u>	2.9	<u>4</u>
C	<	<u>3</u>	<	<u>3</u>	2.9	<u>7</u>	2.0	<u>7</u>	8.0	<u>3</u>
DD	<	<u>2</u>	<	<u>2</u>	3.0	<u>5</u>	1.3	<u>5</u>	2.2	<u>3</u>
TCBS	<	<u>2</u>	<	<u>2</u>	1.7	<u>4</u>	2.0	<u>2</u>	2.2	<u>2</u>
<u>jour 1</u>										
TD	1.2	<u>5</u>	2.1	<u>5</u>	6.2	<u>5</u>	3.0	<u>5</u>	2.3	<u>4</u>
TS	>	<u>8</u>	>	<u>8</u>	5.4	<u>7</u>	4.5	<u>7</u>	3.2	<u>5</u>
DS	4.0	<u>5</u>	>	<u>8</u>	4.3	<u>6</u>	3.3	<u>6</u>	1.7	<u>3</u>
C	>	<u>8</u>	>	<u>8</u>	5.2	<u>7</u>	5.0	<u>7</u>	2.9	<u>5</u>
DD	4.1	<u>4</u>	7.9	<u>4</u>	3.7	<u>5</u>	2.8	<u>5</u>	8.0	<u>3</u>
TCBS	3.0	<u>3</u>	3.8	<u>5</u>	3.0	<u>3</u>	3.0	<u>4</u>	1.0	<u>2</u>
<u>jour 3</u>										
TD	1.1	<u>7</u>	4.4	<u>6</u>	2.1	<u>5</u>			5.8	<u>4</u>
TS	9.4	<u>7</u>	3.8	<u>8</u>	6.9	<u>7</u>	1.2	<u>7</u>	5.2	<u>5</u>
DS	4.3	<u>6</u>	2.3	<u>7</u>	1.0	<u>5</u>	1.1	<u>6</u>	5.5	<u>4</u>
C	4.0	<u>7</u>	7.0	<u>7</u>	4.0	<u>6</u>	1.0	<u>6</u>	8.0	<u>4</u>
DD	3.4	<u>4</u>	4.1	<u>5</u>	4.0	<u>4</u>	4.0	<u>3</u>	3.0	<u>3</u>
TCBS	5.0	<u>3</u>	3.0	<u>4</u>	1.3	<u>4</u>	1.0	<u>4</u>	3.1	<u>2</u>
<u>jour 6</u>										
TD	1.0	<u>6</u>	7.8	<u>5</u>	6.0	<u>3</u>	1.4	<u>3</u>	4.0	<u>3</u>
TS	1.6	<u>7</u>	8.5	<u>7</u>	1.8	<u>7</u>	5.0	<u>5</u>	5.0	<u>4</u>
DS	9.0	<u>5</u>	3.5	<u>5</u>	2.5	<u>4</u>	1.6	<u>5</u>	9.0	<u>3</u>
C	6.5	<u>6</u>	1.1	<u>7</u>	3.6	<u>5</u>	3.0	<u>5</u>	1.0	<u>4</u>
DD	1.9	<u>4</u>	1.2	<u>5</u>	4.0	<u>2</u>	3.5	<u>2</u>	9.0	<u>1</u>
TCBS	4.6	<u>4</u>	2.9	<u>4</u>	1.0	<u>3</u>	1.0	<u>3</u>	5.0	<u>1</u>
<u>jour 8</u>										
TD	5.4	<u>5</u>	1.3	<u>6</u>	2.5	<u>4</u>	7.0	<u>3</u>	7.9	<u>3</u>
TS	5.0	<u>7</u>	5.2	<u>7</u>	1.7	<u>6</u>	6.5	<u>4</u>	1.5	<u>4</u>
DS	>	<u>7</u>	>	<u>7</u>	4.0	<u>4</u>	2.4	<u>5</u>	5.9	<u>4</u>
C	1.9	<u>6</u>	4.4	<u>6</u>	1.0	<u>5</u>	4.6	<u>4</u>	1.5	<u>4</u>
DD	2.5	<u>4</u>	6.9	<u>4</u>	<	<u>3</u>	2.0	<u>1</u>	3.8	<u>1</u>
TCBS	1.7	<u>5</u>	1.2	<u>5</u>	6.0	<u>2</u>	6.0	<u>2</u>	5.1	<u>2</u>
<u>jour 10</u>										
TD	1.5	<u>6</u>	1.9	<u>6</u>	4.4	<u>5</u>	1.9	<u>3</u>	1.4	<u>5</u>
TS	1.6	<u>8</u>	4.5	<u>8</u>	1.9	<u>7</u>	5.6	<u>5</u>	6.4	<u>5</u>
DS	1.0	<u>8</u>	3.6	<u>7</u>	2.7	<u>6</u>	1.5	<u>5</u>	4.9	<u>5</u>
C	2.8	<u>6</u>	9.2	<u>6</u>	7.5	<u>5</u>	1.5	<u>4</u>	1.0	<u>4</u>
DD	4.7	<u>4</u>	1.1	<u>5</u>	2.0	<u>3</u>	1.9	<u>3</u>	2.0	<u>3</u>
TCBS	2.1	<u>4</u>	5.3	<u>4</u>	<	<u>3</u>	7.0	<u>2</u>	4.0	<u>2</u>

SUIVI DES COLONIES LACTOSES + ISOLEES SUR MILIEU DE DRIGALSKI  
fig.18.

MX DE. CULT	SEDIMENT			EAU												
	prof.		tot.	prof.			surf.									
	prof.	surf.		3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm								
	jour 0															
TD	5.0	<u>4</u>	3.0	<u>4</u>	4.7	<u>5</u>	8.0	<u>4</u>	6.0	<u>3</u>	5.2	<u>5</u>	1.8	<u>5</u>	3.1	<u>3</u>
TS					2.4	<u>7</u>	4.4	<u>6</u>	8.0	<u>4</u>	1.0	<u>7</u>	2.0	<u>7</u>	5.0	<u>4</u>
DS	1.7	<u>4</u>	2.4	<u>4</u>	3.2	<u>6</u>	6.0	<u>4</u>	1;3	<u>3</u>	1.6	<u>5</u>			5.0	<u>4</u>
C	2.0	<u>5</u>	9.5	<u>4</u>			1.6	<u>5</u>	4.4	<u>3</u>	2.5	<u>6</u>	1.6	<u>6</u>	2.0	<u>3</u>
DD	1.9	<u>3</u>	2.2	<u>3</u>	4.5	<u>5</u>	2.4	<u>4</u>	5.0	<u>2</u>	1.7	<u>5</u>	>	<u>4</u>	4.1	<u>2</u>
L+	1.9	<u>3</u>	1.2	<u>3</u>	6.0	<u>4</u>	>	<u>4</u>	4.5	<u>2</u>	4.4	<u>4</u>	<	<u>4</u>	3.4	<u>2</u>
	jour 1															
TD	9.0	<u>5</u>	3.4	<u>6</u>	6.0	<u>5</u>	2.2	<u>6</u>	2.5	<u>4</u>	2.2	<u>6</u>	6.0	<u>6</u>	2.4	<u>4</u>
TS	1.9	<u>7</u>	7.3	<u>7</u>	4.0	<u>8</u>	>	<u>9</u>	2.9	<u>5</u>	1.3	<u>8</u>	7.8	<u>8</u>	1.1	<u>5</u>
DS	8.0	<u>5</u>	3.0	<u>6</u>	4.8	<u>7</u>	>	<u>8</u>	1.0	<u>5</u>	1.2	<u>7</u>	>	<u>8</u>	1.6	<u>5</u>
C	1.6	<u>6</u>	2.7	<u>6</u>	3.2	<u>7</u>	>	<u>7</u>	6.9	<u>4</u>	2.2	<u>7</u>	2.7	<u>6</u>	8.0	<u>4</u>
DD	4.3	<u>4</u>	2.1	<u>5</u>	4.6	<u>5</u>	1.2	<u>5</u>	3.5	<u>3</u>	2.7	<u>5</u>	9.5	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>
L+	1.0	<u>4</u>	4.4	<u>4</u>	1.5	<u>5</u>	5.2	<u>4</u>	7.0	<u>2</u>	4.8	<u>4</u>	2.0	<u>4</u>	5.0	<u>2</u>
	jour 2															
TD	9.7	<u>6</u>	3.2	<u>7</u>	5.0	<u>5</u>	1.2	<u>6</u>	3.0	<u>4</u>	3.4	<u>5</u>			<	<u>4</u>
TS	2.4	<u>8</u>	1.5	<u>9</u>	1.5	<u>8</u>	8.8	<u>9</u>	<	<u>5</u>	1.3	<u>8</u>	1.2	<u>9</u>	1.8	<u>6</u>
DS	4.0	<u>6</u>	2.4	<u>8</u>	1.7	<u>7</u>	4.4	<u>8</u>	<	<u>4</u>	6.0	<u>6</u>	3.6	<u>6</u>	1.0	<u>4</u>
C	4.0	<u>6</u>	4.4	<u>7</u>	1.9	<u>7</u>	4.0	<u>7</u>	<	<u>3</u>	1.5	<u>7</u>	<	<u>6</u>	<	<u>3</u>
DD	3.5	<u>4</u>	1.4	<u>6</u>	3.3	<u>5</u>	1.8	<u>5</u>	4.0	<u>2</u>	9.6	<u>4</u>	3.0	<u>4</u>	1.0	<u>2</u>
L+	8.0	<u>3</u>	8.0	<u>4</u>	9.0	<u>3</u>	2.6	<u>4</u>	2.9	<u>2</u>	1.2	<u>4</u>	3.3	<u>4</u>	1.2	<u>2</u>
	jour 4															
TD	1.2	<u>7</u>	6.8	<u>7</u>	1.3	<u>8</u>	6.0	<u>5</u>	5.0	<u>3</u>	6.5	<u>4</u>	7.0	<u>4</u>	4.0	<u>3</u>
TS	3.1	<u>8</u>	1.0	<u>9</u>	2.9	<u>8</u>	4.7	<u>9</u>	5.0	<u>4</u>	4.0	<u>7</u>	3.6	<u>9</u>		
DS	5.3	<u>6</u>	8.8	<u>7</u>	1.8	<u>7</u>	>	<u>9</u>	3.0	<u>3</u>	3.0	<u>5</u>	1.2	<u>7</u>	8.0	<u>4</u>
C	1.6	<u>7</u>	6.1	<u>6</u>	3;1	<u>7</u>	4.0	<u>6</u>	1.4	<u>2</u>	4.3	<u>6</u>	7.2	<u>5</u>	2.0	<u>4</u>
DD	1.6	<u>4</u>	1.6	<u>5</u>	4.8	<u>4</u>	4.7	<u>4</u>	2.1	<u>2</u>	8.0	<u>3</u>	1.2	<u>4</u>	4.8	<u>2</u>
L+	6.0	<u>3</u>	3.6	<u>4</u>	6.0	<u>3</u>	1.7	<u>4</u>	7.0	<u>1</u>	3.0	<u>3</u>	1.2	<u>3</u>	<	<u>1</u>
	jour 6															
TD	1.2	<u>7</u>	1.6	<u>7</u>	6.6	<u>5</u>	2.0	<u>5</u>	1.5	<u>3</u>	6.5	<u>4</u>	7.0	<u>4</u>	4.0	<u>3</u>
TS	1.2	<u>8</u>	3.1	<u>8</u>	3.4	<u>7</u>	3.8	<u>8</u>	5.6	<u>4</u>	2.2	<u>7</u>	1.5	<u>8</u>	4.3	<u>4</u>
DS	3.3	<u>6</u>	8.0	<u>6</u>	5.9	<u>6</u>			2.0	<u>4</u>	1.3	<u>6</u>			1.7	<u>4</u>
C	8.1	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	1.9	<u>7</u>	3.0	<u>6</u>	3.4	<u>3</u>	2.2	<u>6</u>	4.6	<u>5</u>	1.2	<u>3</u>
DD	2.6	<u>4</u>	6.7	<u>4</u>	3.2	<u>4</u>	2.0	<u>4</u>	2.7	<u>2</u>	8.0	<u>3</u>	1.2	<u>4</u>	4.8	<u>2</u>
L+	3.0	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	7.0	<u>1</u>	3.0	<u>3</u>	1.2	<u>3</u>	<	<u>1</u>
	jour 8															
TD	3.8	<u>6</u>	8.0	<u>6</u>	6.4	<u>4</u>	9.0	<u>4</u>	4.7	<u>3</u>	1.7	<u>4</u>	1.2	<u>4</u>	4.2	<u>3</u>
TS	1.0	<u>8</u>	9.4	<u>8</u>	1.3	<u>8</u>	3.0	<u>8</u>	1.2	<u>5</u>	4.6	<u>7</u>	8.0	<u>8</u>	8.8	<u>4</u>
DS	2.0	<u>7</u>	3.3	<u>7</u>	1.0	<u>5</u>	1.2	<u>5</u>	1.5	<u>4</u>	3.1	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	9.4	<u>4</u>
C	3.7	<u>6</u>	1.8	<u>7</u>	1.0	<u>7</u>	1.0	<u>7</u>	2.4	<u>4</u>	1.1	<u>6</u>	5.2	<u>5</u>		
DD	3.1	<u>4</u>	4.9	<u>4</u>	1.0	<u>3</u>	2.1	<u>4</u>	2.8	<u>2</u>	5.0	<u>3</u>	3.5	<u>3</u>	3.3	<u>2</u>
L+	1.0	<u>4</u>	1.1	<u>4</u>	2.2	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>	2.0	<u>1</u>	9.0	<u>3</u>	3.0	<u>2</u>	6.0	<u>1</u>
	jour 11															
TD	2.5	<u>6</u>	3.0	<u>6</u>	4.3	<u>4</u>	4.0	<u>4</u>	5.0	<u>2</u>	2.0	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>	6.5	<u>4</u>
TS	2.7	<u>8</u>	5.4	<u>8</u>	5.4	<u>7</u>	1.4	<u>7</u>	2.0	<u>5</u>	4.7	<u>7</u>	8.0	<u>7</u>	2.5	<u>5</u>
DS	5.9	<u>7</u>	1.5	<u>8</u>	2.2	<u>6</u>	1.0	<u>7</u>	2.5	<u>4</u>	2.4	<u>5</u>	1.3	<u>6</u>	1.0	<u>5</u>
C	1.3	<u>6</u>	9.4	<u>6</u>	4.5	<u>5</u>	5.0	<u>6</u>	8.0	<u>2</u>	2.6	<u>5</u>	1.1	<u>6</u>	6.0	<u>2</u>
DD	1.8	<u>4</u>	2.7	<u>4</u>	1.5	<u>4</u>			7.0	<u>1</u>	1.0	<u>3</u>	1.1	<u>3</u>	6.0	<u>1</u>
L+	3.0	<u>3</u>	1.6	<u>3</u>	1.0	<u>3</u>	2.2	<u>3</u>	<	<u>1</u>	1.0	<u>2</u>	1.3	<u>2</u>	1.0	<u>1</u>

## EVOLUTION DES ENTEROBACTERIES ET DES ENTEROCOQUES

Numération sur milieu de Drigalski  
fig.19a.

Sédiment stérile/eau de mer naturelle.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m
0	1.9 $\frac{3}{4}$	1.2 $\frac{3}{4}$	6.0 $\frac{4}{5}$		4.5 $\frac{2}{4}$	4.4 $\frac{4}{4}$		3.4 $\frac{2}{2}$
1	1.0 $\frac{4}{4}$	4.7 $\frac{4}{4}$	1.5 $\frac{5}{5}$	5.2 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{2}{2}$	4.8 $\frac{4}{4}$	2.0 $\frac{4}{4}$	5.0 $\frac{2}{2}$
2	8.0 $\frac{3}{3}$	8.0 $\frac{4}{4}$	9.0 $\frac{3}{3}$	2.6 $\frac{4}{4}$	2.9 $\frac{4}{4}$	1.2 $\frac{4}{4}$	3.3 $\frac{4}{4}$	1.2 $\frac{2}{2}$
4	6.0 $\frac{3}{3}$	3.6 $\frac{4}{4}$	6.0 $\frac{3}{3}$	1.7 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{1}{1}$	2.0 $\frac{3}{3}$	5.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{2}{2}$
6	3.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{4}{4}$	3.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{1}{1}$	3.0 $\frac{3}{3}$	1.2 $\frac{3}{3}$	
8	1.0 $\frac{4}{4}$	1.1 $\frac{4}{4}$	2.2 $\frac{4}{4}$	3.0 $\frac{3}{3}$	2.0 $\frac{1}{1}$	9.0 $\frac{3}{3}$	3.0 $\frac{2}{2}$	6.0 $\frac{1}{1}$
10	3.0 $\frac{3}{3}$	1.6 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{3}{3}$	2.2 $\frac{3}{3}$		1.4 $\frac{2}{2}$	1.3 $\frac{2}{2}$	1.0 $\frac{1}{1}$

Sédiment naturel/eau de mer stérile.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m
0	2.0 $\frac{3}{3}$	1.9 $\frac{4}{4}$	6.0 $\frac{1}{1}$	6.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	3.0 $\frac{1}{1}$	3.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$
1	< $\frac{3}{3}$	1.7 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$				
2	< $\frac{3}{3}$	9.0 $\frac{4}{4}$	2.0 $\frac{1}{1}$	2.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$		< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$
4	< $\frac{3}{3}$	7.0 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{1}{1}$	5.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	1.0 $\frac{1}{1}$	1.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$
6	< $\frac{3}{3}$	8.0 $\frac{3}{3}$			< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$
10	< $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{3}{3}$	1.8 $\frac{2}{2}$	1.7 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$

Numération sur milieu de Slanetz.  
fig.19b.

Sédiment stérile/eau de mer naturelle.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m
0	< $\frac{3}{3}$	< $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{2}{2}$	3.0 $\frac{1}{1}$	1.0 $\frac{1}{1}$	3.0 $\frac{1}{1}$	3.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$
1	6.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{4}{4}$	1.2 $\frac{2}{2}$	4.1 $\frac{2}{2}$		3.0 $\frac{2}{2}$	3.0 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$
2	4.1 $\frac{4}{4}$	5.0 $\frac{4}{4}$	2.2 $\frac{2}{2}$	1.8 $\frac{2}{2}$	1.4 $\frac{2}{2}$	3.0 $\frac{2}{2}$	1.7 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$
4	1.4 $\frac{4}{4}$	4.0 $\frac{4}{4}$	2.2 $\frac{3}{3}$	2.3 $\frac{3}{3}$	< $\frac{1}{1}$	2.7 $\frac{2}{2}$	3.0 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$
6	2.0 $\frac{3}{3}$		3.6 $\frac{2}{2}$	1.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{2}{2}$	9.0 $\frac{1}{1}$	1.0 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$
10	7.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{3}{3}$	2.5 $\frac{2}{2}$	2.6 $\frac{2}{2}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$	< $\frac{1}{1}$

Sédiment naturel/eau de mer stérile.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.				surf.							
	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm				
0	1.5	<u>5</u>	1.7	<u>5</u>	8.0	<u>1</u>	2.2	<u>2</u>	<	<u>1</u>	1.1	<u>2</u>	7.0	<u>1</u>	<	<u>1</u>
1	8.2	<u>4</u>	6.6	<u>5</u>	1.0	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	<	<u>1</u>	2.0	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	<	<u>1</u>
2	4.0	<u>4</u>	7.0	<u>5</u>	5.4	<u>2</u>	3.3	<u>2</u>	1.0	<u>1</u>	2.3	<u>2</u>	2.8	<u>2</u>	<	<u>1</u>
4	1.7	<u>5</u>	4.0	<u>5</u>	1.8	<u>3</u>	1.0	<u>3</u>	<	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	1.1	<u>2</u>	<	<u>1</u>
6	7.1	<u>4</u>	3.5	<u>5</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>
10	1.3	<u>5</u>	4.3	<u>5</u>	3.0	<u>2</u>	2.9	<u>2</u>	<	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	<	<u>1</u>

## Numérations des flores totales

Sédiment stérile/eau de mer naturelle.

jour	SEDIMENT				EAU											
	profondeur		surface		profondeur				surface							
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS				
0	4.0	<u>4</u>	2.5	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	6.0	<u>3</u>	6.0	<u>4</u>	5.0	<u>3</u>	2.0	<u>4</u>
1	2.0	<u>5</u>	5.6	<u>6</u>	2.5	<u>5</u>	8.0	<u>6</u>	1.4	<u>6</u>	>	<u>8</u>	7.1	<u>5</u>	<	<u>8</u>
2	8.0	<u>7</u>	3.6	<u>8</u>	2.7	<u>7</u>	7.2	<u>8</u>	4.0	<u>6</u>	4.8	<u>8</u>	2.2	<u>6</u>	4.0	<u>7</u>
4	3.1	<u>8</u>	7.8	<u>8</u>	8.0	<u>6</u>	6.0	<u>7</u>	1.0	<u>8</u>	1.3	<u>9</u>	2.7	<u>6</u>	2;1	<u>7</u>
6	7.8	<u>8</u>	7.4	<u>9</u>	2.0	<u>7</u>	2.5	<u>8</u>	1.0	<u>5</u>	<	<u>8</u>	1.0	<u>6</u>	4.0	<u>7</u>
10	5.0	<u>6</u>	3.7	<u>8</u>	3.0	<u>6</u>	4.0	<u>6</u>	3.3	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>	2.3	<u>4</u>	2.4	<u>8</u>

Sédiment naturel/eau de mer stérile.

jour	SEDIMENT				EAU											
	profondeur		surface		profondeur				surface							
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS				
0	7.6	<u>6</u>	1.2	<u>8</u>	1.2	<u>6</u>	4.3	<u>7</u>	1.0	<u>3</u>	2.3	<u>5</u>	4.0	<u>4</u>	3.2	<u>5</u>
1	1.0	<u>7</u>	3.6	<u>7</u>	1.4	<u>7</u>	1.2	<u>9</u>	3.0	<u>4</u>	6.4	<u>6</u>	1.6	<u>4</u>	2.2	<u>6</u>
2	1.0	<u>7</u>	3.9	<u>8</u>	2.4	<u>7</u>	8.0	<u>8</u>	1.7	<u>4</u>	7.4	<u>7</u>	6.8	<u>5</u>	1.6	<u>8</u>
4	2.2	<u>7</u>	1.9	<u>8</u>	3.0	<u>7</u>	2.8	<u>8</u>	1.4	<u>8</u>	2.7	<u>8</u>	1.6	<u>4</u>	2.0	<u>7</u>
6	8.0	<u>6</u>	7.2	<u>7</u>	1.8	<u>7</u>	1.5	<u>8</u>	<	<u>3</u>	<	<u>6</u>	<	<u>3</u>	<	<u>5</u>
10	6.6	<u>5</u>	2.5	<u>7</u>	6.1	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>	5.3	<u>3</u>	2.0	<u>4</u>	2.5	<u>2</u>	6.0	<u>5</u>

ADHESION DE LA SOUCHE D'E.coli DEPUIS 8 JOURS DANS L'EAU de  
MER.  
fig.20.

Avec caséine.

jour	SABLE		CARB.DE CALCIUM	
	eau	sed	eau	sed
0	1.0 $\frac{4}{4}$	3.6 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{4}{4}$	1.6 $\frac{4}{4}$
1	2.8 $\frac{4}{4}$	4.9 $\frac{4}{4}$	7.0 $\frac{3}{3}$	5.2 $\frac{4}{4}$
2	1.6 $\frac{4}{4}$	7.7 $\frac{4}{4}$	2.0 $\frac{4}{4}$	4.5 $\frac{4}{4}$
4	5.0 $\frac{5}{5}$	8.0 $\frac{6}{6}$	8.0 $\frac{5}{5}$	1.0 $\frac{8}{8}$
7	2.8 $\frac{6}{6}$	6.8 $\frac{7}{7}$	2.2 $\frac{7}{7}$	1.8 $\frac{8}{8}$
10	4.0 $\frac{6}{6}$	1.0 $\frac{8}{8}$	5.8 $\frac{7}{7}$	2.3 $\frac{9}{9}$
14	2.6 $\frac{6}{6}$	1.4 $\frac{8}{8}$	2.2 $\frac{7}{7}$	2.5 $\frac{9}{9}$

Témoins.

jour	SABLE		CARB.DE CALCIUM		E.DE MER
	eau	sed	eau	sed	eau
0	1.1 $\frac{5}{4}$	4.0 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{4}{4}$	3.2 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{5}{5}$
1	4.4 $\frac{4}{4}$	3.0 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{3}{3}$	3.4 $\frac{4}{4}$	2.2 $\frac{4}{4}$
2	2.5 $\frac{4}{4}$	3.8 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{3}{3}$	4.8 $\frac{4}{4}$	2.6 $\frac{4}{4}$
4	3.8 $\frac{4}{4}$	2.1 $\frac{6}{6}$	8.0 $\frac{2}{2}$	8.0 $\frac{3}{3}$	3.9 $\frac{3}{3}$
7	5.0 $\frac{2}{2}$	3.5 $\frac{4}{4}$	1.0 $\frac{3}{3}$	3.0 $\frac{3}{3}$	1.0 $\frac{2}{2}$
10	8.0 $\frac{1}{1}$	4.0 $\frac{4}{4}$	< $\frac{2}{2}$	1.0 $\frac{3}{3}$	< $\frac{1}{1}$
14	6.0 $\frac{1}{1}$	< $\frac{3}{3}$	< $\frac{1}{1}$	2.0 $\frac{3}{3}$	< $\frac{1}{1}$

ADHESION DE LA SOUCHE D'E.coli DEPUIS 15 JOURS DANS L'EAU DE  
MER.  
fig.21.

Avec caséine.

jour	SABLE		CARB.DE CALCIUM	
	eau	sed	eau	sed
0	4.2 <u>6</u>	2.3 <u>6</u>	1.4 <u>7</u>	1.3 <u>6</u>
1	9.2 <u>6</u>	3.6 <u>6</u>	1.0 <u>7</u>	6.3 <u>6</u>
2	4.7 <u>7</u>	4.4 <u>6</u>	5.0 <u>7</u>	1.7 <u>7</u>
5	3.0 <u>7</u>	8.8 <u>7</u>	3.4 <u>6</u>	1.8 <u>7</u>
8	7.3 <u>7</u>	2.0 <u>8</u>	3.0 <u>7</u>	6.9 <u>8</u>
12	1.1 <u>8</u>	3.3 <u>8</u>	6.0 <u>7</u>	3.7 <u>8</u>
15	6.3 <u>8</u>	5.1 <u>8</u>	1.4 <u>8</u>	1.9 <u>9</u>

Témoins.

jour	SABLE		CARB.DE CALCIUM		E.DE MER
	eau	sed	eau	sed	eau
0	2.6 <u>7</u>	4.2 <u>6</u>	3.0 <u>5</u>	6.8 <u>5</u>	8.0 <u>6</u>
1	2.9 <u>6</u>	2.9 <u>6</u>	1.0 <u>6</u>	1.2 <u>6</u>	3.4 <u>6</u>
2	4.1 <u>5</u>	1.5 <u>6</u>	2.1 <u>6</u>	4.3 <u>6</u>	3.3 <u>7</u>
5	6.0 <u>5</u>	2.6 <u>6</u>	2.0 <u>5</u>	3.0 <u>6</u>	1.7 <u>6</u>
8	8.0 <u>4</u>	4.2 <u>6</u>	6.0 <u>4</u>	3.0 <u>5</u>	2.4 <u>5</u>
12	9.0 <u>3</u>	1.5 <u>6</u>	1.0 <u>3</u>	8.0 <u>5</u>	2.0 <u>3</u>
15	1.8 <u>4</u>	1.1 <u>6</u>	2.0 <u>3</u>	8;0 <u>4</u>	1.7 <u>4</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN MILIEU STERILE.  
CONTAMINATION PAR L'EAU  
fig.23a.

jour	SEDIMENT			EAU												
	prof.		tot.	prof.			surf.									
	prof.	surf.		3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0	2.4	<u>4</u>	2.7	<u>4</u>	1.9	<u>5</u>			1.7	<u>5</u>						
1	8.0	<u>5</u>	2.9	<u>6</u>	7.0	<u>6</u>	6.2	<u>6</u>	8.6	<u>4</u>	7.7	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	3.2	<u>6</u>
2	4.0	<u>5</u>			3.0	<u>6</u>	5.0	<u>5</u>	1.3	<u>5</u>	1.2	<u>7</u>	2.0	<u>5</u>	1.9	<u>4</u>
4	2.0	<u>5</u>	3.0	<u>5</u>	4.8	<u>6</u>	1.4	<u>5</u>	1.2	<u>5</u>	4.8	<u>6</u>	8.0	<u>4</u>		
6	<	<u>4</u>	5.4	<u>5</u>	1.0	<u>4</u>	2.0	<u>4</u>			1.0	<u>4</u>	1.0	<u>3</u>		
9	1.6	<u>4</u>	2.2	<u>4</u>	9.0	<u>2</u>	1.0	<u>1</u>			<	<u>2</u>				
13	2.0	<u>4</u>	4.0	<u>5</u>	4.0	<u>2</u>			2.0	<u>1</u>	2.0	<u>1</u>	2.0	<u>1</u>		

Expérience non représentée.

jour	SEDIMENT			EAU												
	prof.		tot.	prof.			surf.									
	prof.	surf.		3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0			8.0	<u>5</u>	1.1	<u>6</u>			2.0	<u>6</u>						
1	1.6	<u>6</u>	1.7	<u>7</u>	1.4	<u>7</u>	3.0	<u>7</u>	1.6	<u>5</u>	6.0	<u>6</u>	1.2	<u>6</u>	8.0	<u>3</u>
2	5.0	<u>6</u>	1.0	<u>7</u>	4.0	<u>6</u>	<	<u>6</u>	1.2	<u>4</u>	1.8	<u>7</u>	1.0	<u>6</u>	3.3	<u>4</u>
4	2.0	<u>5</u>	1.8	<u>6</u>	2.9	<u>6</u>	1.0	<u>6</u>	4.0	<u>3</u>	3.8	<u>5</u>	3.0	<u>5</u>	1.8	<u>4</u>
6	2.2	<u>4</u>	9.4	<u>5</u>	5.0	<u>4</u>	<	<u>3</u>	<	<u>2</u>	2.0	<u>2</u>	<	<u>3</u>	1.1	<u>2</u>
8	1.2	<u>4</u>	9.0	<u>4</u>	1.0	<u>3</u>	7.0	<u>2</u>	1.0	<u>2</u>	9.0	<u>1</u>				
11	1.7	<u>5</u>	3.0	<u>6</u>	1.0	<u>4</u>										

Expérience non représentée

jour	SEDIMENT			EAU												
	prof.		tot.	prof.			surf.									
	prof.	surf.		3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0	3.0	<u>5</u>	1.2	<u>6</u>	5.7	<u>6</u>	8.0	<u>6</u>	1.1	<u>5</u>	5.6	<u>6</u>	4.5	<u>6</u>	4.0	<u>4</u>
1	4.0	<u>5</u>	8.0	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	6.0	<u>6</u>	7.5	<u>4</u>	8.6	<u>6</u>	7.2	<u>6</u>	3.8	<u>4</u>
3	>	<u>6</u>	3.5	<u>8</u>	5.6	<u>8</u>					>	<u>8</u>				
5	7.7	<u>7</u>	6.3	<u>8</u>	1.1	<u>10</u>	8.0	<u>9</u>	9.4	<u>7</u>	6.5	<u>9</u>	4.0	<u>9</u>	4.0	<u>7</u>
11	1.7	<u>7</u>	1.5	<u>9</u>	2.1	<u>8</u>	6.8	<u>8</u>	5.0	<u>6</u>	2.0	<u>8</u>	3.5	<u>8</u>	2.0	<u>6</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN PRESENCE DE LA FLORE DE L'EAU (CONTAMINATION PAR L'EAU).  
fig.23b.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm
0	3.0 <u>4</u>	1.9 <u>4</u>	1.6 <u>5</u>	8.0 <u>4</u>	1.0 <u>3</u>	1.2 <u>5</u>	1.6 <u>5</u>	1.6 <u>3</u>
1	1.0 <u>6</u>	4.0 <u>5</u>	3.4 <u>6</u>	2.4 <u>6</u>	1.2 <u>5</u>	1.8 <u>6</u>	3.5 <u>6</u>	1.4 <u>5</u>
2	2.0 <u>5</u>	1.0 <u>7</u>	1.8 <u>6</u>	2.0 <u>6</u>	1.0 <u>4</u>	7.3 <u>5</u>	1.1 <u>6</u>	1.2 <u>4</u>
4	3.5 <u>5</u>	1.2 <u>7</u>	2.0 <u>4</u>	2.0 <u>4</u>	2.2 <u>3</u>	1.2 <u>4</u>	2.0 <u>4</u>	5.0 <u>2</u>
6	3.0 <u>4</u>	2.3 <u>7</u>	5.0 <u>3</u>	1.0 <u>3</u>	1.4 <u>2</u>	3.0 <u>3</u>	2.0 <u>3</u>	2.5 <u>2</u>
9	4.0 <u>4</u>	3.4 <u>6</u>	4.7 <u>4</u>	3.3 <u>4</u>	1.0 <u>2</u>	2.8 <u>3</u>	2.0 <u>3</u>	2.6 <u>2</u>
13	2.7 <u>6</u>	3.1 <u>4</u>	2.4 <u>4</u>	1.4 <u>4</u>	< <u>1</u>	2.5 <u>2</u>	1.0 <u>2</u>	< <u>1</u>

Numération flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU			
	prof.		surf.		prof.		surf.	
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS
0	7.6 <u>5</u>	2.3 <u>4</u>	4.0 <u>5</u>	1.0 <u>4</u>	1.6 <u>6</u>	3.1 <u>5</u>	1.6 <u>6</u>	2.4 <u>5</u>
1	6.8 <u>7</u>	2.0 <u>7</u>	1.0 <u>8</u>	2.4 <u>7</u>	2.0 <u>9</u>	2.5 <u>8</u>	3.0 <u>8</u>	4.7 <u>7</u>
2	3.1 <u>7</u>	2.2 <u>7</u>	1.5 <u>8</u>	> <u>10</u>	2.6 <u>8</u>	6.0 <u>6</u>	7.5 <u>7</u>	< <u>7</u>
4	2.8 <u>8</u>	4.5 <u>7</u>	5.6 <u>9</u>	1.8 <u>9</u>	2.0 <u>7</u>	2.0 <u>6</u>	1.0 <u>7</u>	4.5 <u>6</u>
6	5.6 <u>8</u>	2.0 <u>8</u>	1.0 <u>9</u>	1.5 <u>8</u>	5.0 <u>6</u>	3.0 <u>4</u>	6.4 <u>6</u>	< <u>4</u>
9	3.8 <u>8</u>	7.0 <u>9</u>	3.1 <u>9</u>	1.5 <u>9</u>	9.0 <u>6</u>	3.3 <u>6</u>	2.0 <u>5</u>	5.5 <u>5</u>
13	3.7 <u>8</u>	2.7 <u>7</u>	6.4 <u>7</u>	1.8 <u>8</u>	5.1 <u>6</u>	1.0 <u>5</u>	3.5 <u>4</u>	3.0 <u>3</u>

Expérience non représentée.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm
0	1.0 <u>5</u>	1.8 <u>5</u>	2.0 <u>6</u>			2.0 <u>6</u>		
1	5.0 <u>5</u>	4.2 <u>7</u>	1.5 <u>7</u>	1.8 <u>7</u>	1.5 <u>5</u>	6.1 <u>6</u>	6.0 <u>6</u>	1.6 <u>5</u>
2	> <u>7</u>	6.0 <u>6</u>	5.0 <u>7</u>	4.0 <u>6</u>	3.0 <u>4</u>	> <u>7</u>	3.0 <u>6</u>	1.2 <u>5</u>
4	3.0 <u>5</u>	2.0 <u>6</u>	1.0 <u>6</u>	3.0 <u>6</u>		1.0 <u>5</u>	1.0 <u>5</u>	
6	1.3 <u>5</u>	2.6 <u>4</u>	1.8 <u>4</u>	1.8 <u>4</u>	1.8 <u>2</u>	1.0 <u>2</u>	5.0 <u>2</u>	
8	2.4 <u>5</u>	4.4 <u>5</u>	1.8 <u>4</u>	1.4 <u>4</u>		6.0 <u>1</u>	5.0 <u>1</u>	1.0 <u>1</u>
10	2.2 <u>4</u>	7.3 <u>5</u>	6.0 <u>2</u>	5.0 <u>2</u>	1.0 <u>1</u>	3.5 <u>2</u>	4.0 <u>2</u>	

## Numération flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	2.8	<u>5</u>			3.7	<u>5</u>	1.4	<u>6</u>	5.9	<u>6</u>	3.2	<u>7</u>	5.5	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>
1	4.6	<u>6</u>	1.7	<u>7</u>	2.5	<u>7</u>	8.6	<u>7</u>	5.0	<u>7</u>	1.4	<u>9</u>	1.5	<u>7</u>	7.4	<u>8</u>
2	3.0	<u>8</u>	3.0	<u>8</u>	2.0	<u>7</u>	2.0	<u>9</u>	1.3	<u>7</u>	3.0	<u>9</u>	3.0	<u>6</u>	8.0	<u>8</u>
4	<	<u>7</u>	1.2	<u>9</u>	1.0	<u>7</u>	1.4	<u>9</u>	1.0	<u>6</u>	1.0	<u>7</u>	5.0	<u>5</u>	7.0	<u>7</u>
6	3.2	<u>7</u>	1.0	<u>6</u>	1.5	<u>7</u>	<	<u>6</u>	8;0	<u>4</u>	1.0	<u>6</u>	<	<u>4</u>	<	<u>5</u>
8	1.2	<u>8</u>	>	<u>8</u>	1.0	<u>7</u>	>	<u>8</u>	3.3	<u>4</u>	6.0	<u>5</u>	2.0	<u>2</u>	1.0	<u>5</u>
10	4.0	<u>7</u>			4.0	<u>6</u>			1.0	<u>3</u>			1.9	<u>2</u>		

Expérience non représentée.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT		EAU													
	prof.	surf.	prof.			surf.										
			tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m	tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0	2.5	<u>5</u>	1.6	<u>6</u>	8.6	<u>6</u>	8.0	<u>6</u>	4.0	<u>4</u>	2.7	<u>6</u>	1.1	<u>6</u>	5.0	<u>4</u>
1	2.0	<u>6</u>	3.1	<u>6</u>	5.1	<u>6</u>	5.3	<u>6</u>	1.6	<u>4</u>	6.2	<u>6</u>	5.5	<u>6</u>	1.4	<u>6</u>
3	1.7	<u>5</u>	1.9	<u>6</u>	3.4	<u>5</u>	7.0	<u>5</u>	7.0	<u>2</u>	3.0	<u>5</u>	3.0	<u>5</u>	1.0	<u>2</u>
6	5.0	<u>4</u>	2.5	<u>7</u>	5.5	<u>5</u>	6.4	<u>5</u>	3.4	<u>3</u>	1.8	<u>2</u>	3.0	<u>2</u>	<	<u>1</u>
11	6.3	<u>4</u>	4.4	<u>5</u>	6.0	<u>3</u>	9.0	<u>3</u>	1.5	<u>2</u>	1.9	<u>2</u>	1.0	<u>2</u>	<	<u>1</u>

Numération flores totales

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	3.2	<u>5</u>	4.1	<u>5</u>	4.5	<u>6</u>	4.8	<u>6</u>	8.8	<u>6</u>	1.6	<u>7</u>	7.2	<u>6</u>	1.4	<u>7</u>
1	2.1	<u>6</u>	7.0	<u>6</u>	4.0	<u>7</u>	3.1	<u>7</u>	1.8	<u>7</u>	1.8	<u>8</u>	4.0	<u>7</u>	8.0	<u>7</u>
3	1.0	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	3.0	<u>6</u>	9.2	<u>7</u>	1.1	<u>6</u>	9.0	<u>6</u>	2.5	<u>6</u>	3.9	<u>7</u>
6	4.0	<u>5</u>	7.0	<u>6</u>	2.2	<u>7</u>	9.0	<u>7</u>	1.2	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>	<	<u>4</u>	2.1	<u>6</u>
11	1.1	<u>5</u>	1.0	<u>7</u>	1.5	<u>6</u>	3.8	<u>7</u>	2.0	<u>5</u>	1.4	<u>7</u>	2.0	<u>3</u>	4.0	<u>5</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN PRESENCE DE LA FLORE DU  
SEDIMENT (CONTAMINATION PAR L'EAU).

Fig.23c.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		tot.	prof.		tot.	surf.							
	prof.	surf.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m		3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m									
0	9.0	<u>4</u>	8.0	<u>4</u>	3.3	<u>5</u>	1.0	<u>6</u>	<	<u>2</u>	1.2	<u>5</u>	3.7	<u>5</u>	1.0	<u>2</u>
1	3.0	<u>4</u>	6.0	<u>4</u>	1.7	<u>5</u>	5.2	<u>5</u>	<	<u>1</u>	1.4	<u>5</u>	7.0	<u>5</u>	1.0	<u>1</u>
3	4.0	<u>4</u>	2.0	<u>5</u>	1.0	<u>5</u>	4.0	<u>4</u>	<	<u>1</u>	5.5	<u>2</u>	4.0	<u>2</u>	<	<u>1</u>
5	1.4	<u>5</u>	9.6	<u>4</u>	1.2	<u>4</u>	3.0	<u>3</u>	<	<u>1</u>	5.5	<u>2</u>	4.0	<u>2</u>	<	<u>1</u>
7	2.0	<u>3</u>	1.8	<u>5</u>	2.0	<u>2</u>	4.0	<u>2</u>	0		8.6	<u>1</u>	2.0	<u>1</u>	0	
9	1.0	<u>3</u>	2.5	<u>4</u>	9.2	<u>1</u>	7.0	<u>1</u>	0		7.4	<u>1</u>	3.0	<u>2</u>	0	
13	<	<u>3</u>	6.0	<u>4</u>	8.0	<u>1</u>	8.0	<u>1</u>	0		1.0	<u>1</u>	1.0	<u>0</u>	0	

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	3.5	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	2.8	<u>6</u>	6.2	<u>7</u>	2.0	<u>6</u>	1.5	<u>6</u>	1.0	<u>6</u>	3.2	<u>6</u>
1	5.0	<u>6</u>	8.7	<u>7</u>	3.3	<u>6</u>	6.1	<u>7</u>	3.3	<u>6</u>	3.5	<u>7</u>	5.1	<u>6</u>	3.4	<u>7</u>
3	2.2	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	3.6	<u>6</u>	3.8	<u>7</u>	1.3	<u>5</u>	8.0	<u>6</u>	4.0	<u>4</u>	8.0	<u>6</u>
5	2.8	<u>6</u>	2.3	<u>7</u>	4.5	<u>6</u>	5.5	<u>7</u>	3.2	<u>4</u>	1.3	<u>6</u>	8.0	<u>3</u>	6.0	<u>5</u>
7	6.0	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	8.4	<u>6</u>	4.8	<u>7</u>	2.4	<u>4</u>	1.9	<u>5</u>	4.0	<u>3</u>	8.4	<u>4</u>
9	2.7	<u>6</u>	2.0	<u>6</u>	2.9	<u>6</u>	4.1	<u>7</u>	5.5	<u>4</u>	3.5	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	3.4	<u>4</u>
13	3.8	<u>6</u>	1.3	<u>7</u>	4.3	<u>6</u>	5.6	<u>7</u>	6.0	<u>3</u>	1.1	<u>5</u>	2.2	<u>3</u>	1.0	<u>5</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN MILIEU NATUREL  
(CONTAMINATION PAR L'EAU).  
fig.23d.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.				surf.							
	prof.	surf.	tot.	3µm	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm						
0	<	<u>3</u>	1.0	<u>3</u>	<	<u>4</u>	<	<u>4</u>	<	<u>4</u>	5.0	<u>4</u>	5.0	<u>4</u>	<	<u>2</u>
1	3.2	<u>4</u>	4.0	<u>4</u>	1.3	<u>5</u>	1.2	<u>5</u>	<	<u>2</u>	2.5	<u>4</u>	3.0	<u>4</u>	<	<u>2</u>
3	4.0	<u>3</u>	1.4	<u>5</u>	3.0	<u>3</u>	1.1	<u>3</u>	<	<u>1</u>	6.0	<u>2</u>	2.5	<u>3</u>	<	<u>1</u>
5	4.0	<u>3</u>	1.5	<u>5</u>	3.0	<u>3</u>	1.1	<u>3</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>
7	<	<u>3</u>	5.8	<u>4</u>	2.0	<u>3</u>	1.7	<u>2</u>	<	<u>1</u>	5.0	<u>0</u>	<	<u>0</u>	0	
9	2.2	<u>4</u>	2.0	<u>3</u>	1.5	<u>2</u>	3.0	<u>1</u>	0		0		0		0	
13	<	<u>3</u>	<	<u>3</u>	4.0	<u>0</u>	4.0	<u>0</u>	0		0		0		0	

Flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	3.0	<u>6</u>	4.0	<u>6</u>	4.1	<u>6</u>	4.5	<u>6</u>	1.0	<u>5</u>	5.1	<u>5</u>	1.5	<u>5</u>	3.2	<u>5</u>
1	2.3	<u>6</u>	2.6	<u>7</u>	4.0	<u>6</u>	1.5	<u>7</u>	2.1	<u>6</u>	2.7	<u>6</u>	9.5	<u>5</u>	5.0	<u>6</u>
3	4.2	<u>6</u>	5.0	<u>7</u>	1.2	<u>7</u>	2.7	<u>9</u>	2.1	<u>5</u>	4.0	<u>7</u>	8.0	<u>4</u>	6.3	<u>7</u>
5	5.0	<u>6</u>	5.4	<u>7</u>	4.2	<u>6</u>	7.1	<u>8</u>	3.1	<u>4</u>	2.7	<u>6</u>	2.0	<u>3</u>	2.7	<u>6</u>
7	5.0	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>	4.0	<u>6</u>	7.5	<u>8</u>	3.0	<u>4</u>	3.2	<u>7</u>	2.0	<u>3</u>	2.4	<u>7</u>
9	2.6	<u>6</u>	7.4	<u>7</u>	4.7	<u>6</u>	3.0	<u>8</u>	5.1	<u>3</u>	3.6	<u>6</u>	5.0	<u>2</u>	3.2	<u>6</u>
13	5.1	<u>6</u>	1.5	<u>6</u>	2.7	<u>6</u>	2.0	<u>7</u>	2.5	<u>3</u>	1.1	<u>7</u>	1.4	<u>3</u>	1.2	<u>5</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN PRESENCE DE LA FLORE DU  
 SEDIMENT (CONTAMINATION PAR LE SEDIMENT)  
 fig.24a.

Numération sur milieu de Drigalski

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm
0	8.0 <u>6</u>	2.4 <u>7</u>	1.7 <u>5</u>	7.6 <u>4</u>	1.0 <u>2</u>	6.1 <u>4</u>	1.0 <u>5</u>	1.0 <u>2</u>
1	4.4 <u>5</u>	1.0 <u>6</u>	2.0 <u>5</u>	4.0 <u>5</u>	2.0 <u>2</u>	6.0 <u>4</u>	1.2 <u>5</u>	2.0 <u>2</u>
2	5.6 <u>6</u>	3.4 <u>8</u>	2.0 <u>5</u>	2.0 <u>5</u>		4.2 <u>4</u>	4.0 <u>4</u>	
4	3.9 <u>5</u>	< <u>7</u>	4.0 <u>4</u>	3.0 <u>4</u>	3.0 <u>1</u>	8.0 <u>3</u>	2.0 <u>4</u>	< <u>1</u>
6	4.2 <u>5</u>	5.0 <u>7</u>	2.1 <u>4</u>	1.3 <u>4</u>	1.0 <u>1</u>	2.0 <u>2</u>	2.0 <u>2</u>	< <u>1</u>
8	3.0 <u>5</u>	7.0 <u>6</u>	3.0 <u>2</u>	9.0 <u>2</u>	< <u>1</u>	2.4 <u>2</u>	1.2 <u>3</u>	1.0 <u>1</u>
10	1.3 <u>5</u>	2.2 <u>6</u>	3.0 <u>2</u>	3.2 <u>2</u>	< <u>1</u>	4.0 <u>1</u>	3.0 <u>1</u>	< <u>1</u>

Flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU			
	prof.		surf.		prof.		surf.	
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS
0	3.9 <u>7</u>	1.0 <u>8</u>	1.2 <u>8</u>	3.0 <u>8</u>	7.6 <u>6</u>	1.0 <u>5</u>	3.0 <u>5</u>	3.0 <u>4</u>
1	1.0 <u>7</u>	5.0 <u>7</u>	1.3 <u>8</u>	2.5 <u>8</u>	6.0 <u>5</u>	1.8 <u>7</u>	1.9 <u>5</u>	1.5 <u>7</u>
2	2.3 <u>7</u>	2.0 <u>8</u>	4.1 <u>8</u>	7.0 <u>8</u>	7.6 <u>5</u>	3.5 <u>7</u>	1.5 <u>5</u>	
4	7.0 <u>6</u>	4.0 <u>7</u>	3.0 <u>7</u>		4.8 <u>4</u>	2.8 <u>7</u>	3.7 <u>4</u>	5.0 <u>4</u>
6	3.5 <u>7</u>	5.4 <u>6</u>	5.4 <u>7</u>	1.0 <u>8</u>	3.1 <u>4</u>		3.0 <u>3</u>	5.0 <u>4</u>
8	5.3 <u>6</u>	1.2 <u>7</u>	7.6 <u>6</u>	1.7 <u>8</u>	2.0 <u>3</u>	2.0 <u>6</u>	2.0 <u>3</u>	7.5 <u>5</u>
10	3.6 <u>6</u>	2.7 <u>7</u>	7;0 <u>6</u>	4.0 <u>7</u>	3.0 <u>3</u>	4.5 <u>5</u>	1.5 <u>3</u>	4.3 <u>5</u>

Expérience non représentée.

numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT		EAU					
			prof.			surf.		
	prof.	surf.	tot.	3µm	0,22µm	tot.	3µm	0,22µm
0	< <u>4</u>	1.0 <u>4</u>	6.0 <u>3</u>	6.0 <u>3</u>	1.0 <u>2</u>	2.0 <u>3</u>	2.0 <u>3</u>	< <u>1</u>
1	6.5 <u>4</u>	1.0 <u>5</u>	2.7 <u>3</u>	2.5 <u>3</u>		9.0 <u>1</u>	5.6 <u>2</u>	< <u>1</u>
3	1.1 <u>4</u>	1.0 <u>5</u>	1.7 <u>3</u>	2.6 <u>3</u>	< <u>1</u>	2.0 <u>1</u>	1.0 <u>2</u>	< <u>1</u>
5	1.1 <u>4</u>	1.2 <u>5</u>	1.2 <u>2</u>	1.0 <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>
7	1.0 <u>3</u>	5.0 <u>3</u>	6.0 <u>1</u>	4.0 <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>	< <u>1</u>
12	< <u>3</u>	< <u>3</u>	5.0 <u>0</u>					

## Flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	2.3	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	6.0	<u>6</u>	2.0	<u>6</u>	1.3	<u>5</u>	1.6	<u>5</u>	2.0	<u>3</u>	5.1	<u>4</u>
1	1.8	<u>6</u>	2.8	<u>6</u>	3.3	<u>6</u>	5.4	<u>6</u>	1.1	<u>4</u>			5.0	<u>3</u>		
3	2.0	<u>6</u>	5.1	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	2.9	<u>7</u>	3.0	<u>4</u>	3.2	<u>7</u>	4.0	<u>3</u>	2.1	<u>6</u>
5	2.7	<u>6</u>	7.0	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	2.9	<u>7</u>	3.0	<u>4</u>	3.2	<u>7</u>	4.0	<u>3</u>	2.1	<u>6</u>
7	8.0	<u>5</u>	4.8	<u>6</u>	1;7	<u>6</u>	3.8	<u>6</u>	1.0	<u>4</u>	5.6	<u>6</u>	1.3	<u>3</u>	3.2	<u>6</u>
12	2.9	<u>6</u>	2.3	<u>6</u>	6.0	<u>5</u>	1.7	<u>7</u>	1;5	<u>3</u>	3.6	<u>6</u>	1.0	<u>3</u>	5.0	<u>6</u>

IMPLANTATION DE LA SOUCHE D'E.coli EN MILIEU NATUREL  
(CONTAMINATION PAR LE SEDIMENT)  
fig.24b.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		tot.	prof.			surf.							
	prof.	surf.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m		tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0	5.0	<u>4</u>	4.2	<u>5</u>	6.1	<u>3</u>	3.0	<u>3</u>	3.5	<u>2</u>	2.8	<u>3</u>	2.3	<u>3</u>	<	<u>1</u>
1	1.6	<u>5</u>	5.0	<u>5</u>	2.4	<u>3</u>	2.3	<u>3</u>	1.8	<u>2</u>	1.1	<u>3</u>	4.0	<u>3</u>	<	<u>1</u>
3	1.0	<u>5</u>	2.0	<u>5</u>	1.4	<u>3</u>	9.0	<u>2</u>	<	<u>1</u>	2.1	<u>1</u>	3.0	<u>1</u>	0	
5	1.0	<u>3</u>	5.0	<u>4</u>	2.0	<u>2</u>	1.5	<u>2</u>	<	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	1.0	<u>1</u>	0	
7	5.0	<u>3</u>	1.4	<u>4</u>	1.4	<u>4</u>	9.0	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	<	<u>1</u>	0	
12	3.0	<u>3</u>	2.1	<u>4</u>	5.0	<u>0</u>	4.0	<u>0</u>	0		1.0	<u>0</u>	1.0	<u>0</u>	0	

Flores totales.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		prof.		surf.									
	TD	TS	TD	TS	TD	TS	TD	TS								
0	3.3	<u>6</u>	3.0	<u>6</u>	2.5	<u>7</u>	5.1	<u>6</u>	2.7	<u>5</u>	3.6	<u>6</u>	3.2	<u>4</u>	5.0	<u>5</u>
1	3.0	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	6.9	<u>6</u>	5.2	<u>7</u>	2.1	<u>5</u>	1.5	<u>7</u>	8.2	<u>4</u>	4.0	<u>6</u>
3	5.2	<u>6</u>	3.5	<u>7</u>	3.1	<u>6</u>	3.3	<u>8</u>	1.8	<u>5</u>	1.8	<u>6</u>	1.0	<u>4</u>	5.0	<u>5</u>
5	3.9	<u>6</u>	1.3	<u>7</u>	5.0	<u>6</u>	2.7	<u>7</u>	2.3	<u>4</u>	3.0	<u>6</u>	6.0	<u>3</u>	1.2	<u>6</u>
7	4.3	<u>6</u>	2.3	<u>7</u>	1.9	<u>6</u>	6.3	<u>7</u>	6.6	<u>4</u>	1.3	<u>7</u>	4.1	<u>4</u>	6.0	<u>6</u>
12	3.0	<u>6</u>	4.5	<u>6</u>	2.4	<u>6</u>	4.5	<u>7</u>	7.0	<u>3</u>	3.0	<u>6</u>	8.0	<u>3</u>	1.3	<u>6</u>

Expérience non représentée.

Numération sur milieu de Drigalski.

jour	SEDIMENT				EAU											
	prof.		surf.		tot.	prof.			surf.							
	prof.	surf.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m		tot.	3 $\mu$ m	0,22 $\mu$ m								
0	7.0	<u>4</u>	7.0	<u>6</u>	2.3	<u>5</u>	5.2	<u>5</u>	1.0	<u>3</u>	2.0	<u>3</u>	3.0	<u>5</u>	1.0	<u>2</u>
1	9.0	<u>4</u>	2.4	<u>7</u>	1.2	<u>5</u>	3.5	<u>5</u>	<	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	<	<u>4</u>	0	
2	6.0	<u>4</u>	2.4	<u>7</u>	5.5	<u>4</u>	5.0	<u>4</u>	0		1.3	<u>4</u>	2.6	<u>4</u>	0	
4	2.2	<u>4</u>	1.6	<u>6</u>	6.3	<u>3</u>	5.0	<u>3</u>	0		2.0	<u>2</u>	9.0	<u>2</u>	0	
6	2.3	<u>5</u>	4.4	<u>6</u>	2.0	<u>3</u>	3.5	<u>3</u>	0		6.0	<u>2</u>	1.6	<u>3</u>	0	
8	3.8	<u>4</u>	2.6	<u>5</u>	5.0	<u>3</u>	1.0	<u>4</u>	0		1.4	<u>2</u>	3.5	<u>2</u>	0	
10	3.0	<u>4</u>	1.2	<u>5</u>	5.0	<u>2</u>	7.0	<u>2</u>	0		9.0	<u>1</u>	2.6	<u>1</u>	0	

Flores totales.

jour	SEDIMENT						EAU							
	prof.			surf.			prof.			surf.				
	TD	TS		TD	TS		TD	TS		TD	TS			
0	1.3	<u>7</u>	8.3	<u>7</u>	3.3	<u>7</u>	5.1	<u>7</u>	1.0	<u>6</u>	1.0	<u>6</u>	1.0	<u>6</u>
1	8.0	<u>6</u>	2.2	<u>7</u>	4.1	<u>7</u>	5.2	<u>7</u>	1.0	<u>5</u>	1.0	<u>7</u>	6.0	<u>4</u>
2	1.5	<u>7</u>	1.2	<u>7</u>	3.0	<u>7</u>	1.1	<u>8</u>	2.1	<u>5</u>	7.2	<u>6</u>	8.0	<u>4</u>
4	5.0	<u>6</u>	1.2	<u>7</u>	1.0	<u>7</u>	6.0	<u>7</u>	1.7	<u>5</u>	3.9	<u>5</u>	1.0	<u>4</u>
6	4.8	<u>6</u>	6.0	<u>6</u>	5.5	<u>6</u>	3.7	<u>7</u>	4.0	<u>3</u>	5.2	<u>5</u>	2.3	<u>3</u>
8	1.1	<u>6</u>	2.3	<u>6</u>	4.9	<u>6</u>	4.4	<u>7</u>	2.5	<u>4</u>	5.1	<u>5</u>	1.3	<u>3</u>
10	3.0	<u>6</u>	3.3	<u>6</u>	5.0	<u>6</u>	1.0	<u>7</u>	1.2	<u>4</u>	1.9	<u>5</u>	1.8	<u>3</u>

INFLUENCE DE LA STERILISATION DU SEDIMENT.  
fig.25.

jour	sed.non sterile	sed. stérile	eau de mer	eau douce
0	2.4 <u>5</u>	2.9 <u>5</u>	3.9 <u>5</u>	8.2 <u>5</u>
1	2.5 <u>5</u>	9.1 <u>6</u>	2.7 <u>5</u>	4.1 <u>5</u>
3	7.0 <u>4</u>	5.0 <u>8</u>	4.1 <u>4</u>	4.0 <u>4</u>
5	3.4 <u>5</u>	6.0 <u>11</u>	4.0 <u>3</u>	8.0 <u>3</u>
7	4.3 <u>5</u>	2.8 <u>11</u>	7.0 <u>3</u>	
9	3.0 <u>5</u>		6.0 <u>2</u>	4.5 <u>3</u>
12	2.0 <u>5</u>	4.8 <u>12</u>	2.5 <u>2</u>	2.0 <u>3</u>
16	7.0 <u>4</u>		5.0 <u>1</u>	1.5 <u>3</u>