

# CAPACITÉ DE SURVIE DES STREPTOCOQUES FÉCAUX EN EAU DE MER TRAITÉE

par Yves FAUVEL

A notre connaissance, aucune étude particulière n'a été effectuée sur la faculté de survie de ces germes, dans une eau de mer traitée. Sur le plan pratique, cette question a cependant une réelle importance. Doit-on, en effet, considérer une eau de mer comme acceptable pour l'épuration des coquillages en se basant sur la disparition des seuls *Escherichia coli* ?

C'est pour répondre à cette question que nous avons réalisé en laboratoire diverses expériences, portant sur la faculté de survie comparée des Streptocoques fécaux et d'*Escherichia coli* en eau de mer traitée.

## a) Méthodes employées.

*Recherche des Streptocoques fécaux.* Le milieu choisi est celui de ROTHE et LITSKY, modifié par BUTTIAUX (1958), à l'azohydrate de sodium. Pour chaque analyse il a été procédé successivement au test présomptif, puis au test confirmatif fondé sur l'emploi de l'éthyl-violet.

*Recherche d'Escherichia coli.* La méthode employée décrite par BUTTIAUX (1958) consiste en une recherche des coliformes totaux sur bouillon lactosé ordinaire incubé 48 heures à 30°. Après ce temps initial, *Escherichia coli* a été mis en évidence par repiquage d'une ose bouclée du contenu de chaque tube positif (fermentation du lactose avec production nette de gaz), sur eau peptonée ordinaire d'une part et sur bouillon lactosé bilié au vert brillant d'autre part. L'ensemble a été soumis à une incubation en bain-marie de 24 heures à 44°. *Escherichia coli* est alors caractérisé par un test d'Eijkman positif (gaz) et par la production d'indole à 44° (MACKENZIE, TAYLOR et GILBERT, 1948).

*Ensemencement et dénombrement.* Dans les deux cas, recherche d'*E. coli* et des Streptocoques fécaux, les milieux répartis en deux séries de cinq tubes ont été ensemencés; les milieux de la seconde série étant une dilution au 1/10. Des volumes d'ensemencements différents ont été employés, ceux-ci étant fonction de la qualité bactériologique présumée de l'échantillon analysé. Le dénombrement a été effectué en se rapportant aux tables de BOURY (1955).

*Technique et matériel.* De l'eau de mer possédant une densité de pollution initiale connue (canaux de Sète) a été traitée séparément au chlore (hypochlorite) et à l'ozone.

**1) Traitement au chlore.** L'eau de mer a été répartie, en quantités égales, dans des récipients de verre stériles, puis traitée par addition d'un hypochlorite (eau de Javel). Ce produit a été ajouté en proportion telle <sup>(1)</sup> que l'eau de chaque récipient renferme une dose de chlore actif différente, allant de 0,2 mg à 3 mg/l. On sait en effet (LADOUCE, FAUVEL et BOURY, 1958) que la dose de chlore actif couramment utilisée dans les stations d'épuration, pour le traitement de l'eau de mer, n'excède pas 3 mg/l.

Les récipients contenant l'eau traitée, ainsi qu'un récipient témoin n'ayant pas reçu d'hypochlorite, ont été laissés à la température ambiante (15°) durant 12 heures, dans des conditions semblables à celles tolérées dans les stations de traitement.

Après ce délai jugé nécessaire, durant lequel le mélange eau de mer-hypochlorite est maintenu en contact, une solution d'hyposulfite (23 g/l) a été ajoutée dans chaque récipient afin de neutraliser l'excès de chlore existant.

(1) La quantité d'hypochlorite à employer est déterminée par le degré chlorométrique. Chaque degré correspond à un litre de chlore actif par litre d'eau de Javel; un litre de chlore pèse 3,18 g à 0°C sous la pression normale.

2) **Traitement à l'ozone.** L'eau de mer utilisée a été traitée au moyen de l'ozoneur Trailigaz-Welsbach (FAUVEL, 1965). On a fait varier la puissance en watt de l'appareil pour obtenir des concentrations différentes d'ozone, tout en gardant un débit d'air fixe (100 l/h).

Pour chaque concentration essayée, un échantillon d'eau traitée a été recueilli dans un récipient de verre stérile.

Dans les deux cas, la présence des Streptocoques fécaux et des *Escherichia coli* a alors été recherchée dans chaque flacon, par ensemencement de l'eau prélevée, sur les milieux précédemment cités (ROTHER et LITSKY, modifié par BUTTIAUX, 1958; MACKENZIE, TAYLOR et GILBERT, 1948).

**b) Résultats.**

1) **Eau traitée au chlore.** Les résultats obtenus dans six séries d'observations (tabl. 1), faites sur le comportement comparé des *Escherichia coli* et des Streptocoques fécaux, en eau de mer traitée au chlore, font apparaître chez ces germes :

Désignation des germes	Densité initiale en germes/l	Concentrations en mg/l de chlore libre					
		0,2	0,5	1	1,5	2	3
<i>E. coli</i> .....	1 300 000	+	+	—	—	—	—
St fécaux .....	200 000	+	+	+	—	—	—
<i>E. coli</i> .....	400 000	+	+	—	—	—	—
St fécaux .....	160 000	+	+	+	—	—	—
<i>E. coli</i> .....	40 000	+	+	—	—	—	—
St fécaux .....	50 000	+	+	—	—	—	—
<i>E. coli</i> .....	550 000	+	+	—	—	—	—
St fécaux .....	300 000	+	+	—	—	—	—
<i>E. coli</i> .....		+	+	+	—	—	—
St fécaux .....		+	+	+	+	—	—

TABL. 1. — Eau de mer traitée au chlore : recherche de la présence d'*E. coli* et des Streptocoques fécaux.

- a) une capacité de résistance similaire à des doses de chlore libre inférieures ou égales à 0,5 mg/l;
- b) une survie possible en présence de concentrations supérieures comprises entre 0,5 et 1 mg/l; cette possibilité est plus marquée chez les Streptocoques qui, dans un cas, sont encore présents dans une eau ayant reçu une dose de chlore libre de 1,5 mg/l.

2) **Eau traitée à l'ozone.** Les résultats obtenus dans quatre séries d'observations (tabl. 2), faites sur le comportement comparé des *Escherichia coli* et des Streptocoques fécaux en eau de mer traitée à l'ozone, font apparaître chez ces germes :

- a) d'une façon générale, une capacité de résistance similaire à des concentrations d'ozone dans l'eau voisine de 2,10 mg/l;
- b) une survie possible en présence de concentrations supérieures aussi bien chez les Streptocoques fécaux que chez les *E. coli*.

Il serait prématuré d'établir une conclusion sur la capacité de survie des Streptocoques fécaux en eau chlorée ou ozonée en se basant seulement sur les quelques expériences précédentes.

En eau chlorée, ceux-ci semblent offrir des possibilités de résistance plus grandes qu'*E. coli*, par contre l'action épuratrice de l'ozone paraît avoir une efficacité égale sur les deux germes considérés : *Escherichia coli* et Streptocoques fécaux.

Cette conclusion préliminaire n'est pas éloignée de celle présentée par BUTTIAUX sur le « comportement des germes-tests de contamination fécale dans les eaux douces traitées ». Cet auteur indique en effet qu'après une chloration, javellisation ou usage des chloramines, on peut trouver certaines races résistantes d'Entérocoques, alors que dans une eau bien ozonée la disparition de ces germes est aussi totale que celle d'*Escherichia coli*.

Il est intéressant de noter que la concentration de chlore libre utilisée dans les stations d'épuration (3 mg/l) est largement supérieure à la « dose d'alerte » déterminée dans ces expériences pour une eau fortement polluée aux environs de 1,5 mg/l.

Désignation des germes	Densité initiale en germes/l	Concentrations en mg/l d'ozone				
		0,75	1,50	2,10	2,60	3,10
<i>E. coli</i> .....	250 000	+	+	+	—	—
St. fécaux .....	100 000	+	+	+	—	—
<i>E. coli</i> .....	210 000	+	+	+	—	—
St. fécaux .....	160 000	+	+	+	+	—
<i>E. coli</i> .....	1 000 000	+	+	+	+	—
St. fécaux .....	150 000	+	+	+	—	—
<i>E. coli</i> .....	100 000	+	+	+	—	—
St. fécaux .....	40 000	+	+	+	—	—

TABL. 2. — Eau de mer traitée à l'ozone : recherche de la présence d'*E. coli* et des *Streptocoques fécaux*.

### Comportement des streptocoques fécaux dans le processus d'épuration des coquillages.

Présence comparée des *Streptocoques fécaux* et d'*E. coli* dans l'eau de mer et dans les coquillages.

MAZIÈRES (1963) a rarement mis en évidence l'Entérocoque en l'absence d'*E. coli* dans des échantillons d'eau et d'huîtres prélevés en rivière d'Auray et sur le littoral. Les Entérocoques sont quelquefois absents ou en petit nombre dans les prélèvements à colimétrie élevée.

BUTIAUX et FERRAND (1965), donnant les résultats de leurs recherches effectuées en 1955 sur la salubrité de la baie de Lazaret notent la présence prépondérante d'*E. coli* dans l'eau mais par contre enregistrent une quantité plus importante de *Streptococci D* dans les moules prélevées à cet endroit.

Résultats	Eau		Moules		Huîtres	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Absence de Strepto. et d' <i>E. coli</i> .....	10	20	1	4	2	13
Nb de Strepto. = Nb <i>E. coli</i> .....	2	4	0	0	0	0
Présence de Strepto. Absence <i>E. coli</i> .....	1	2	3	12	0	0
Présence d' <i>E. coli</i> . Absence Strepto. ....	4	8	0	0	2	13
Nb de Strepto. > Nb <i>E. coli</i> .....	13	26	17	68	6	40
Nb d' <i>E. coli</i> > Nb Strepto. ....	20	40	4	16	5	34
Nb total d'échantillons .....	50		25		15	

TABL. 3. — Incidence des *Streptocoques fécaux* et d'*Escherichia coli* dans les échantillons d'eau de mer, de moules et d'huîtres. Nb : nombre d'échantillons, % : pourcentage des échantillons suivant le résultat.

WOOD (1965) fait la même observation sur des huîtres prélevées à proximité d'un égout de décharge. Il estime la quantité de Streptocoques contenue dans ces mollusques deux fois supérieure à celle d'*E. coli*.

Nos observations personnelles ont été faites sur 50 échantillons d'eau de mer et 40 échantillons de coquillages : *Mytilus galloprovincialis* (LMK) et *Crassostrea angulata* (L.) prélevés dans l'étang de Thau.

Les résultats fournis, par chaque analyse d'échantillon, ont été répartis (tabl. 3) en fonction de la quantité d'*E. coli* et de Streptocoques, rencontrée dans chacun d'eux.

Ces données mettent en évidence la présence prépondérante d'*E. coli* dans l'eau (48 %) ainsi

que la situation inverse rencontrée chez les mollusques, où les Streptocoques sont en plus grand nombre (60 %). Ce dernier fait est particulièrement marquant chez *Mytilus galloprovincialis* où le nombre de Streptocoques est plus élevé dans 80 % des cas.

*Processus comparés d'élimination des Streptocoques fécaux et d'E. coli chez les coquillages en cours d'épuration.*

Parmi les expériences réalisées dans ce domaine, dont les résultats sont comparables entre eux, nous citerons deux d'entre elles, effectuées sur *Mytilus galloprovincialis* et *Crassostrea angulata*.

**a) Matériel et technique.**

Dans deux bacs contenant chacun trois cents litres d'eau de mer préalablement ozonée (FAUVEL, 1965) ont été placés 5 kg de moules (bac 1) et 5 kg d'huîtres (bac 2), quantité de moitié inférieure à celle habituellement traitée (30 kg au mètre cube).

La densité en *E. coli* et en Streptocoques contenue dans les coquillages immergés étant connue à l'origine, des dénombrements successifs pour les deux sortes de germes ont été effectués toutes les 24 heures, avant le renouvellement de l'eau des bacs. Le milieu a été soumis à une aération artificielle durant toute la durée de l'expérience.

Les méthodes employées pour la recherche et le dénombrement des *E. coli* et des Streptocoques fécaux sont celles utilisées pour les expériences portant sur l'eau.

**b) Résultats.**

Les résultats de ces expériences sont consignés dans le tableau 4.

Durée du traitement (en heures)	Nombre de germes/litre			
	moules		huîtres	
	<i>E. coli</i>	Strepto.	<i>E. coli</i>	Strepto.
Origine	120 000	150 000	180 000	150 000
24	12 000	6 000	18 000	12 000
48	960	1 500	1 500	6 000
72	0	150	150	660

TABL. 4. — *Processus comparés d'élimination des Streptocoques fécaux et des E. coli chez les coquillages en cours d'épuration (T°C : 21°).*

Les données fournies par ce tableau font apparaître :

a) pour les huîtres et les moules, des processus rapides d'élimination des germes à peu près comparables durant les premières 24 heures de traitement; la diminution de la densité de pollution est cependant légèrement plus sensible pour les Streptocoques;

b) un ralentissement du mouvement d'épuration après 24 heures nettement marqué en ce qui concerne les Streptocoques, alors que les *E. coli* sont éliminés avec la même rapidité qu'en début d'opération.

Selon certains auteurs, et d'après nos propres observations, *E. coli* se trouvait en plus grand nombre que les germes du groupe *Streptococci* D dans l'eau de mer. Par contre, une situation inverse se présentait souvent chez les mollusques où les Streptocoques fécaux étaient en plus grand nombre que les *E. coli*. Ce phénomène apparemment contraire à la logique n'a pas été expliqué.

Un fait nouveau semble être mis en évidence par nos observations préliminaires sur la comparaison des processus d'élimination des Streptocoques fécaux et d'*E. coli* chez les mollusques soumis à l'épuration. Il s'agit du ralentissement observé dans la disparition des Streptocoques après 24 heures de traitement.

En l'absence d'information valable sur la viabilité de ces derniers dans l'eau de mer on pourrait penser que ces phénomènes sont dus, entre autres causes à une réaction différente des mollusques

selon les espèces de germes rencontrées. Il faut noter toutefois que la vitesse de filtration de l'eau par les divers mollusques intervient, du moins en partie, pour expliquer chez eux la présence prolongée de certains germes.

### Conclusion.

Des méthodes récentes permettent de réaliser la détection directe des germes ayant un pouvoir pathogène fréquent chez l'homme (*Salmonella* et *Shigella*). Cependant la recherche de bons indicateurs de contamination fécale, aussi résistants, mais plus facilement détectables, reste utile. Leur absence rend en effet probable celle des germes pathogènes dont l'isolement est souvent rendu difficile.

Une étude des différents germes-tests a été effectuée en fonction de leur spécificité, de leur présence dans les contenus intestinaux, de leur résistance aux milieux extérieurs et de leur facilité de détection.

Parmi ceux-ci, de nombreux auteurs ont estimé que dans l'étude de la contamination de l'eau et des produits d'alimentation, les Streptocoques fécaux constituaient un bon indice de souillure fécale. Dans le milieu marin où leur comportement est moins connu, SLANETZ (1965) leur accorde une bonne valeur indicative de souillure récente.

Nous avons effectué plusieurs séries d'observations sur le comportement des Streptocoques fécaux en eau de mer traitée et sur leur élimination de la masse viscérale des mollusques en cours d'épuration. Elles nous ont permis de mettre en évidence les faits suivants.

1) En eau de mer traitée, la résistance des Streptocoques fécaux à l'action du chlore est généralement comparable à celle d'*E. coli*, pour des concentrations en chlore libre inférieures ou égales à 0,5 mg/l. Leur capacité de survie est cependant possible en présence de concentrations supérieures (1 à 1,5 mg/l) pour lesquelles on note la disparition totale d'*E. coli*.

L'action de l'ozone semble, par contre, avoir une efficacité comparable sur les deux germes considérés. Compte tenu de la pollution initiale rencontrée dans nos expériences, une concentration de 3,10 mg/l d'ozone provoque une disparition totale des Streptocoques fécaux et des *E. coli*. Ce fait vient confirmer les observations que nous avons pu faire antérieurement sur les avantages incontestables de l'emploi de l'ozone comme agent épurateur pour le traitement des eaux.

2) Les dénombrements d'*E. coli* et de Streptocoques fécaux que nous avons pu faire sur divers échantillons d'eau de mer et de mollusques mettent en évidence :

- a) la présence prépondérante d'*E. coli* dans l'eau de mer,
- b) la présence en plus grand nombre de Streptocoques fécaux chez les mollusques.

En outre, à l'épuration, les Streptocoques fécaux sont plus difficilement éliminés de la masse viscérale des mollusques traités.

Il apparaît donc utile, dans l'état des connaissances actuelles, de recommander, dans la recherche des contaminations du milieu marin non seulement *Escherichia coli* mais encore les Streptocoques fécaux. Ces derniers, en effet, peuvent dans certains cas se maintenir dans l'eau de mer (après traitement au chlore) et dans la masse viscérale des mollusques, alors que l'on constate la disparition totale d'*Escherichia coli*.

### BIBLIOGRAPHIE

- BARNES (E. M.), 1956. — Methods for the isolation of faecal *Streptococci* (LANCEFIELD Group D) from bacon factories. — *J. appl. Bacteriol.*, **19** : 193-203.
- BARNES (E. M.) et INGRAM (M.), 1955. — The identity and origin of faecal streptococci in canned hams. — *Ann. Inst. Pasteur Lille*, **7**, 115 p.
- BARTLEY (C. H.) et SLANETZ (L. W.), 1960. — Types and sanitary significance of faecal streptococci isolated from feces, sewage and water. — *Amer. J. Publ. Health*, **50**, 1545 p.
- BOURY (M.), 1955. — Méthode pondérée de dénombrement bactériologique en milieu liquide. — *Inst. Pêches marit.*, Paris, instructions internes.

- BRISOU (J.), 1955. — Microbiologie du milieu marin. — Paris Edit. médic., FLAMMARION, 271 p.
- BURMAN (N. P.), 1961. — Some observations on coli-aerogenes bacteria and Streptococci in water. — *J. appl. Bacteriol.*, **24** (3) : 368-376.
- BUTTIAUX (R.), 1958. — La standardisation des méthodes d'analyse bactériologique de l'eau. — *Rev. Hyg. Méd. soc.*, **6**, n° 2 : 170-192.
- 1959. — The value of the association *Escherichiac*, group D Streptococci in the diagnosis of contamination in foods. — *J. appl. Bacteriol.*, **22** (1) : 153-158.
- BUTTIAUX (R.) et FERRAND (R.), 1965. — L'auto-épuration des moules de Méditerranée. Son utilité. Sa réalisation. Les résultats obtenus. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Symp. Pollut. mar. par Microorgan. Prod. pétrol.* : 299-306.
- BUTTIAUX (R.) et MOSSEL (D. A. A.), 1961. — The significance of various organisms of faecal origin in foods and drinking water. — *J. appl. Bacteriol.*, **24** : 353-364.
- BUTTIAUX (R.), BEERENS (H.) et TACQUET (A.), 1962. — Manuel de techniques bactériologiques. — Paris, Ed. médic. FLAMMARION, 505 p.
- CIOGLIA (L.) et LODDO (B.), 1962. — The processes of self purification in the marine environment. III. The resistance of some enteroviruses. — *Nuovi Ann. d'Igiene et Microbiol.*, **13** : 11-29.
- COOPER (K. E.) et RAMADAN (P. M.), 1955. — Studies in the differentiation between human animal pollution by means of faecal Streptococci. — *J. gen. microbiol.*, **12** : 180-190.
- DEIBEL (R. H.), 1964. — The group D Streptococci. — *Bacteriological Rev.*, **28** (3) : 330-366.
- FASQUELLE (R.), 1957. — Bactériologie médicale. — Paris, Ed. médic. FLAMMARION, 384 p.
- FAUVEL (Y.), 1963. — Utilisation de l'ozone comme agent stérilisateur de l'eau de mer pour l'épuration des coquillages. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Rapp. et P. V.* **17** (3) : 701-706.
- 1965. — Nouvelles observations sur l'utilisation de l'ozone comme agent stérilisateur de l'eau de mer pour l'épuration des coquillages. — *Ibid., Symp. Pollut. mar. par Microorgan. Prod. pétrol.* : 293-298.
- GÉVAUDAN (P.), TAMALET (J.) et GAY (R.), 1957. — Etude de la survie comparée d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhi* dans l'eau de mer du littoral méditerranéen. — *Ann. Inst. Pasteur Lille*, **9** : 128-137.
- HAENEL (H.) et DAWIDOWSKI (B.), 1961. — Mikroökologische Untersuchungen zum Vorkommen von Proteus bei Erwachsenen. — *Zbl. Bakt. Abt. 1 Orig.* : 182-183.
- HAJNA (A. A.) et PERRY (C. A.), 1943. — Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for faecal Streptococci. — *Amer. J. Publ. Health.*, **33**, 550 p.
- HANNAY (C. L.) et NORTON (I. L.), 1947. — Enumeration, isolation and study of faecal Streptococci from river water. — *Proc. Soc. appl. Bact.*, n° 1, p. 39.
- HOBBS (B. C.), 1961. — The public health significance of *Salmonella* carriers in livestock and birds. — *J. appl. Bacteriol.*, **24**, 340 p.
- KELLY (C. B.) et ARCISZ (W.), 1954. — Survival of enteric organisms in shellfish. — *Publ. Health Rep., Washington*, **69**, 1205 p.
- KENNER (B. A.), CLARK (H. F.) et KLABER (P. W.), 1960. — Faecal Streptococci. II. Quantification of Streptococci in feces. — *Amer. J. Publ. Health*, **50**, 1553 p.
- KJELLANDER (J.), 1960. — Enteric Streptococci as indicators of fecal contamination of water. — *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, suppl. 136, **48** : 1-133.
- LADOUCE (R.), FAUVEL (Y.) et BOURY (M.), 1958. — Technique de l'épuration des coquillages. — *Bull. Inform. Doc. Inst. Pêches, Science et Pêche*, n° 58, 12 p.
- MACKENZIE (E. F. W.), TAYLOR (E. W.) et GILBERT (W. E.), 1948. — *J. gen. microbiol.*, **2**, 197 p.
- MAZIÈRES (J.), 1963. — Les coliformes dans les eaux marines et les huîtres. Application à l'hygiène ostréicole. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **27** (1), 111 p.
- 1965. — Les germes-tests de contamination et l'appréciation de la qualité bactériologique des huîtres. — *Comm. int. Explor. sci. Mer Médit., Symp. Pollut. mar. par Microorgan., Prod. pétrol.* : 265-275.
- OSTROLENK (M.) et HUNTER (A.C.), 1946. — The distribution of enteric streptococci. — *J. Bact.*, **51**, 735 p.
- OSTROLENK (M.), KRAMER (N.) et CLEVERDON (R. C.), 1947. — Comparative studies of Enterococci and *Escherichia coli* as indices of pollution. — *J. Bact.*, **53**, 197 p.
- SCHARDINGER (F.), 1892. — Ueber das Vorkommen Gährung erregender Spaltpilze in Trinkwasser und ihre Bedeutung für die hygienische Beursheilung desselben. — *Wien. Klin. Wschr.*, **5** : 403-421.
- SLANETZ (L. W.), 1965. — Survival of fecal Streptococci in sea water. — *Labo. Sci.*, **2**, n° 3 : 142-148.
- TAYLOR (E. W.), 1949. — Examination of waters and water supplies. — Londres, CHURCHILL éditeur, 6° édit.
- WOOD (P. C.), 1965. — A preliminary appraisal of the use of faecal Streptococci in the sanitary control of shellfish. — *Cons. int. Explor. Mer, Shellfish Com.* n° 94.

IMPRIMERIE DE FRANCE  
4 ter, rue Rollin-Régner  
94 - Choisy-le-Roi

---