

Les *Aeromonas* mobiles : quelle évolution spatiale et temporelle dans un effluent urbain et en milieu marin côtier ?

Motile *Aeromonas*: which spatial and temporal evolution in an urban effluent and in coastal marine environment?

S. MAALEJ^{1*}, A. MAHJOUBI¹, A. KAMMOUN¹, A. BAKHROUF-FADHILA²

SUMMARY

Bacteriological analyse of surface water in an urban effluent and in coastal marine environment showed a seasonal contamination of this water by motile *Aeromonas*. Spatial and seasonal changes of *Aeromonas* abundances were studied, in relation to several environmental factors, in the purified effluent and in seawater.

The motile *Aeromonas spp.* and the fecal coliform distributions in the sewage treatment effluent showed the same seasonal cycles with a maximum occurring in winter (mean: $29 \cdot 10^6$ UFC/100 ml) and a minimum in summer (mean of $6 \cdot 10^6$ UFC/100 mL). The abatement of *Aeromonas* abundances was correlated with a strong irradiation and a low turbidity.

In the coastal marine water, there was an inversion of the motile *Aeromonas spp.* cycle in comparison with that of fecal coliforms, with high levels in hot periods (mean: 56 CFU/100 mL for S₃) and low levels in cold periods (mean of 5 CFU/100 mL for S₃). Salinity appeared responsible for the destabilisation of the seasonal sequences of *Aeromonas* and their reduction with non detectable concentrations in water analysed volumes.

The presence of these bacteria in the purified effluent, sometimes with concentrations higher than those of the fecal coliforms, poses a problem of health hazard and clearly show that fecal contamination bacteria cannot be predictive for the presence or the absence of *Aeromonas* and, consequently, cannot be considered as good indicators of pollution.

Key-words: *Aeromonas*, fecal coliforms, seasonal evolution, sewage, seawater.

-
1. Laboratoire de microbiologie, Faculté des sciences, Route sokra, km : 3.5, 3038, Sfax, Tunisie.
 2. Laboratoire de microbiologie, Faculté de pharmacie, Monastir, Tunisie.

* Correspondance. E-mail : Sami.Maalej@fss.rnu.tn

RÉSUMÉ

L'analyse bactériologique des eaux de surface dans un effluent urbain et en milieu marin côtier montre une contamination saisonnière mais fréquente de ces eaux par les *Aeromonas* mobiles. L'évolution spatiale et temporelle des abondances de ces bactéries, en relation avec certains facteurs environnementaux, a été étudiée pendant un an dans le rejet final épuré et dans les eaux marines réceptacles de l'effluent. Ces bactéries présentent, dans les eaux lagunaires, des évolutions saisonnières identiques à celles des coliformes fécaux avec des densités élevées en période froide (moyenne : $29 \cdot 10^6$ UFC/100 mL) et faibles en période chaude (moyenne : $6 \cdot 10^6$ UFC/100 mL). L'abattement des abondances d'*Aeromonas* se trouve corrélé à une forte irradiation et à une faible turbidité.

Le déversement des eaux de la station d'épuration dans les eaux marines côtières de la région n'induit pas globalement de modifications de la forme de comportement des bactéries témoins de contamination fécale. À l'opposé, l'évolution des abondances des *Aeromonas* mobiles s'inverse pour devenir maximale en période chaude (moyenne : 56 CFU/100 mL pour S_3) et minimale en période froide (moyenne : 5 CFU/100 mL pour S_3). La salinité paraît responsable de la déstabilisation des séquences saisonnières des *Aeromonas* et de leur réduction à des concentrations non détectables dans les volumes d'eaux analysés.

La présence de ces bactéries dans les effluents épurés, parfois à des concentrations supérieures à celles des coliformes fécaux, pose un problème d'intérêt sanitaire et montre clairement que les bactéries témoins de contamination fécale ne peuvent pas être prédictives de la présence ou de l'absence d'*Aeromonas* et, par conséquent, ne peuvent pas être considérées comme un bon indicateur de pollution.

Mots clés : *Aeromonas*, coliformes fécaux, évolution saisonnière, eaux usées, eau de mer.

1 - INTRODUCTION

Les *Aeromonas* mobiles (*A. hydrophila*, *A. sobria* et *A. caviae*) sont des bactéries ubiquitaires des environnements aquatiques (ARAUJO *et al.*, 1991 ; WARBURTON *et al.*, 1994 ; BRANDI *et al.*, 1999). Ces bactéries sont maintenant connues comme des agents responsables de plusieurs infections chez l'homme et les animaux.

En effet, le pouvoir pathogène naturel des *Aeromonas* s'exprime principalement chez les poissons et les fruits de mer (HANNINEN *et al.*, 1997 ; KHALIL et MANSOUR, 1997 ; SANTOS *et al.*, 1999). Chez l'homme, ce sont des bactéries pathogènes opportunistes qui causent des infections intestinales comme les gastroentérites (ALAVANDI *et al.*, 1998 ; TROWER *et al.*, 2000) ou extra-intestinales comme les infections cutanées (HICKMAN-BRENNER *et al.*, 1998).

Un certain nombre de facteurs de virulence contribue à la pathogénicité des *Aeromonas*. À côté d'enzymes favorisant l'infection (protéases, lipases, DNase...), les *Aeromonas* mobiles présentent des capacités d'adhésion et produisent diverses toxines (PIN *et al.*, 1995 ; KUHN *et al.*, 1997).

Plusieurs études ont montré la capacité des *Aeromonas* à survivre dans différents types d'eau. En effet, les *Aeromonas* ont été isolées des eaux de rivière (KERSTERS *et al.*, 1996), de l'eau de mer (BORREL *et al.*, 1998 ; DUMONTET *et al.*, 2000), de l'eau domestique même après chloration (ALAVANDI *et al.*, 1998) et des rejets des stations d'épuration. La présence des *Aeromonas mobiles* et leur prolifération dans l'eau peuvent poser un problème de santé publique dont les risques sanitaires pourraient être liés à l'état du milieu. Si la salinité et la température peuvent influencer le comportement de ces bactéries (MONFORT et BALEUX, 1988 ; TROUSSELIER, 1989), certaines études suggèrent que les teneurs en matière organique sont également susceptibles de moduler leur comportement (RIPPEY et CABELLI, 1980 ; BIAMON et HAZEN, 1983). On peut alors s'interroger sur les conséquences éventuelles d'un rejet d'eaux usées urbaines en mer sur la distribution et la fréquence des *Aeromonas* au sein de la microflore du milieu récepteur.

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une étude générale sur les rejets urbains en mer et leurs impacts sur le milieu (côtes de Sfax, Méditerranée). Nous avons, dans un premier temps, durant un cycle annuel et en relation avec certains facteurs environnementaux, recherché quel type d'évolution d'abondances peuvent présenter les *Aeromonas* dans l'effluent de la station d'épuration de Sfax et dans le milieu marin. Cette étude a porté aussi sur les bactéries hétérotrophes revivifiables ainsi que sur les coliformes fécaux. Dans un deuxième temps, nous avons apprécié l'impact des variations saisonnières sur le niveau de contamination des deux types de milieux, lagunaire et saumâtre.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Région et stations étudiées

La région de Sfax est située au Centre-Est de la Tunisie, elle est bordée par la mer Méditerranée à l'Est. Les eaux côtières ne présentent pas de courant particulier dominant mais présente toujours deux périodes successives, l'une de « vives eaux » qui dure 10 jours et l'autre de « mortes eaux » qui dure 5 jours. Cette région comporte une seule station d'épuration de type lagunage aéré qui traite les eaux urbaines de la région (800 000 habitants). Les débits traités sont de l'ordre de 23 000 à 30 000 m³·j⁻¹ en période de pluies dont la moitié débouche, par l'intermédiaire d'un chenal d'environ 1 000 mètres, dans les eaux marines de surface du littoral.

Les stations d'échantillonnage (*figure 1*) ont été implantées au niveau des eaux sortant de la station d'épuration avant le rejet en mer (station E) et au niveau de 3 stations marines d'intérêt balnéaire ou conchylicole. Ces stations sont la station Essalloum (station S₂), la station Gargour (station S₃) et la station Echaffar (station S₄) éloignées respectivement de 11, 7 et 24 km de l'émissaire. En plus de ces 4 stations, nous avons retenu une station de référence très éloignée du rejet permanent : c'est la station d'Ellouza (station S₁), fixée à une distance de 35 km du rejet.

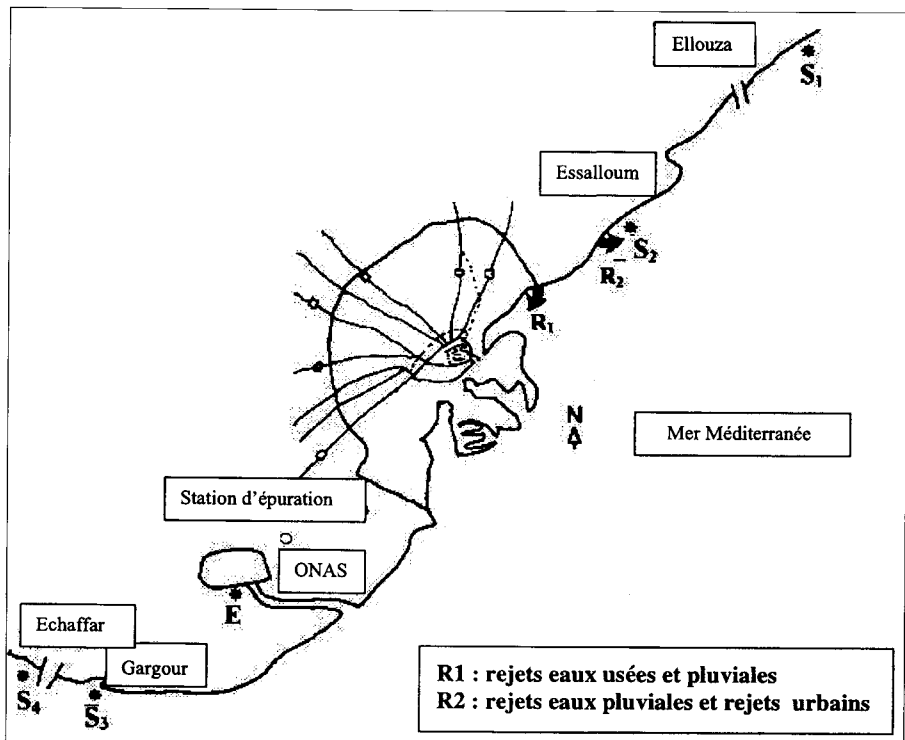


Figure 1 Localisation des sites d'échantillonnage dans l'effluent épuré (station E) et dans les eaux marines de surface (S_1 à S_4).

Localization of the sampling sites at output of the purified effluent (station E) and in surface seawater (S_1 to S_4).

2.2 Échantillonnage

Des prélèvements bi-hebdomadaires d'eaux de surface ont été régulièrement effectués dans toutes les stations à l'exception de la station de référence (S_1) où les prélèvements ont été mensuels. Ces prélèvements ont débuté au mois d'octobre 1998 et se sont poursuivis pendant un an jusqu'en septembre 1999.

Les échantillons d'eau (un litre par station et par date de prélèvement) ont été collectés dans des flacons en verre stérile, systématiquement en période de « vives eaux », approximativement à la même heure (16 h), et conservés à 4 °C pour être analysés dans les heures qui suivent leur prélèvement.

La température (en °C), la salinité (en ‰) et la turbidité (en NTU) ont été régulièrement mesurées *in situ* au moment de l'échantillonnage à l'aide d'une sonde multiparamètres modèle Horiba U.10. Les valeurs du rayonnement solaire global (en W/cm^2), pour la décade précédant le jour de prélèvement, ont été obtenues auprès de la station météorologique de Sfax.

2.3 Analyse bactériologique

1. Les abondances des bactéries hétérotrophes revivifiables (BHR) des échantillons d'eau de mer ou de l'effluent épuré ont été évaluées par ensemencement d'un volume de 1 mL en profondeur dans une gélose nutritive (Institut Pasteur Production). Ces ensemencements se font dans des boîtes de Pétri à partir d'échantillon non dilué ou de diverses dilutions faites dans de l'eau physiologique stérile.

2. Les coliformes fécaux (CF) sont isolés, des échantillons d'eau de mer filtré ou d'effluent épuré dilué, après 48 h incubation à 44,5 °C sur la gélose lactosée au tergitol et au TTC (Triphényl tétrazolium chloride – Institut Pasteur Production). Les colonies jaunes qui ne réduisent pas le TTC (souches lactose +) ont été dénombrées à la surface du milieu et sur la membrane filtrante.

3. La recherche des *Aeromonas spp.* (Ar) a été faite sur gélose Pril-xylose-Ampicilline (PXA) (ROGOL *et al.*, 1979) soit par filtration de différents volumes d'eau de mer sur membrane Millipore type HA 0,45 µm, soit après étalement de dilutions des échantillons d'eau épurée sur le même milieu sélectif.

Les colonies rouges clair (xylose négatives) sont dénombrées après incubation de 48 h à 30 °C et sont considérées, avec une forte présomption, comme des *Aeromonas* (ARCOS *et al.*, 1988). La confirmation de la présence du genre *Aeromonas* a été réalisée grâce aux réactions ci-dessous sur galerie d'identification biochimique en tubes et dont le profil type des *Aeromonas* est le suivant :

Mobilité (+) sur milieu mannitol – mobilité, coloration de Gram (-), cytochrome oxydase (+) avec disque de diméthyl paraphénylène diamine, fermentation du glucose (+) (24 h, 37 °C) sur milieu Hugh-Leifson, test de l'o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside (+) (2 h, 37 °C), arginine dihydrolase (+) et ornithine décarboxylase (-) (24 à 48 h, 30 °C) sur milieu liquide de Moeller et sensibilité à l'agent vibriostatique O/129 (-) (24 h, 30 °C). Tous les milieux et réactifs utilisés pour la confirmation du genre *Aeromonas* ont été commercialisés par l'Institut Pasteur de Paris (France).

Le nombre de micro-organismes est exprimé, pour les différents types bactériens, en unités formants colonies/100 mL d'eau (UFC/100 mL).

3 – RÉSULTATS

3.1 Caractéristiques hydroclimatiques

La région de Sfax se situe dans une zone intermédiaire qui peut être qualifiée d'aride ou semi-aride. Le total des précipitations, au cours de l'année d'étude, s'élève à 235 mm dont environ 95 % sont tombés entre le mois de novembre et le mois d'avril. Au cours des sorties, l'influence du vent n'est pas apparue primordiale et n'a pas fait l'objet de relevés systématiques.

Le rayonnement solaire global présente une évolution saisonnière marquée (figure 2A). Les valeurs les plus élevées sont observées pendant les mois de

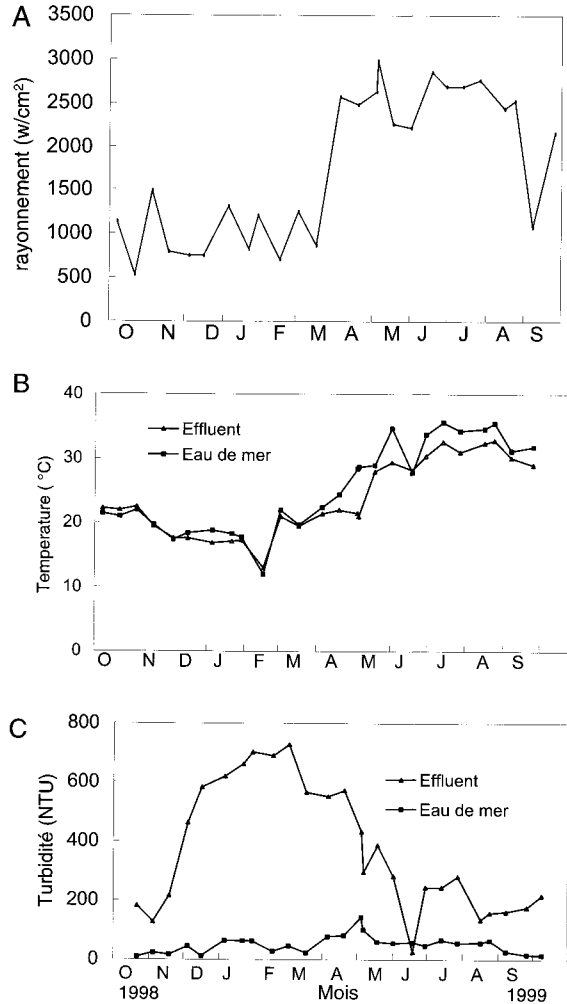


Figure 2 Évolution saisonnière de certains paramètres physico-chimiques dans l'effluent épuré et dans les eaux marines de surface du littoral de Sfax.

Seasonal evolution of some physico-chemical parameters in the purified effluent and in surface seawater in Sfax coast.

juin, juillet et août 1999. Au niveau des eaux de surface, la température fluctue corrélativement avec le rayonnement solaire global (figure 2B). La valeur moyenne annuelle est de 23,8 °C pour l'effluent épuré et de 25,5 °C pour les eaux marines. Les valeurs les plus faibles pour les deux milieux étudiés, sont observées pendant le mois de février (12,5 °C). Il en résulte deux saisons hydroclimatiques bien distinctes : une saison chaude et sèche allant de mai à octobre, et une saison froide plus humide qui dure de décembre à avril.

La quantité de matière organique et minérale, estimée indirectement par la turbidité, se maintient autour d'une valeur moyenne de 50,8 NTU au niveau du

milieu marin, tandis que dans l'effluent épuré, elle présente les valeurs maximales durant la saison froide pluvieuse (*figure 2C*).

La salinité, pour tout le cycle annuel, demeure constante autour de 3,5 ‰ pour l'effluent et 36,5 ‰ pour les eaux marines de surface.

3.2 Évolution des abondances des bactéries hétérotrophes revivifiables (BHR), des coliformes fécaux (CF) et des *Aeromonas spp.* (Ar), dans l'effluent épuré et en milieu marin côtier

3.2.1 Évolution temporelle

L'évolution temporelle des BHR au niveau de l'effluent épuré et des stations marines est présentée sur la *figure 3*. L'analyse de ces graphiques ne montre

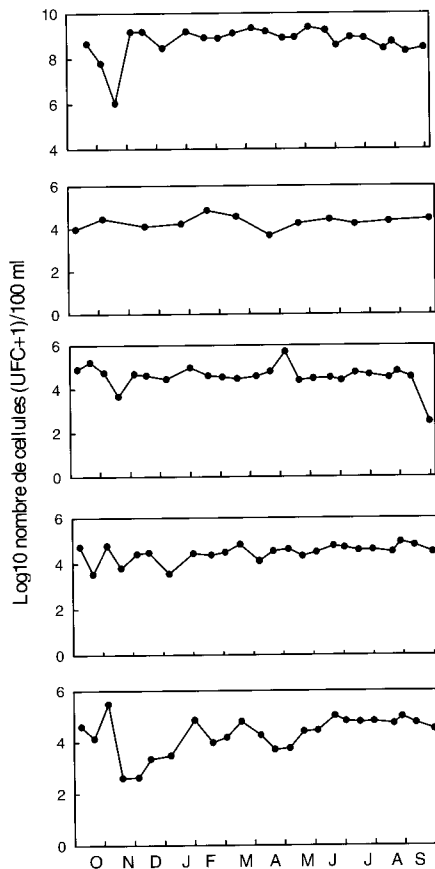


Figure 3 Évolution spatiotemporelle des abondances des bactéries hétérotrophes revivifiables dans l'effluent épuré (E) et dans les eaux marines de surface des différentes stations (S_1 à S_4).

Spatio-temporal evolution of heterotrophic bacteria abundances in the purified effluent (E) and at the surface seawater in the different stations (S_1 to S_4).

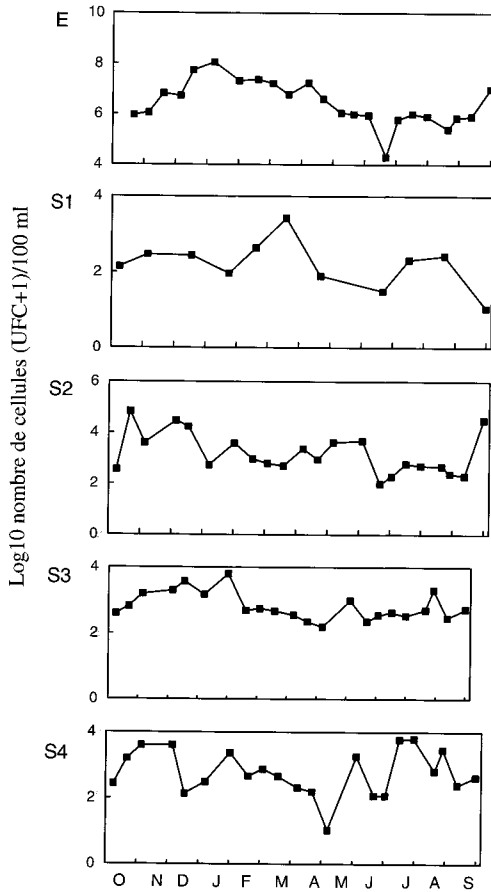


Figure 4 Évolution spatiotemporelle des abondances des coliformes fécaux dans l’effluent épuré (E) et dans les eaux marines de surface des différentes stations (S₁ à S₄).

Spatial-temporal evolution of fecal coliform abundances in the purified effluent (E) and at the surface seawater in the different stations (S₁ to S₄).

aucune périodicité significative quelle que soit la station considérée et ne suggère aucune évolution saisonnière cycliques des bactéries hétérotrophes revivifiables. La stabilité de l’évolution des abondances des BHR dans les eaux lagunaires et saumâtres se produit malgré les fluctuations cycliques de l’abondance des bactéries indicatrices de pollution et des *Aeromonas* (figures 4 et 5). Les valeurs moyennes saisonnières et les coefficients de variation ont été calculés, dans l’effluent épuré et dans l’eau de mer au niveau de la station marine la plus proche du point de rejet (S₃), pour l’ensemble du cycle annuel et pour la saison froide et la saison chaude (tableau 1). Les abondances des bactéries hétérotrophes revivifiables sont affectées de coefficients de variations comparables et très faibles au niveau des deux milieux étudiés. L’application du test de student a montré qu’il n’y a pas de différence significative ($\alpha = 0,05$) entre

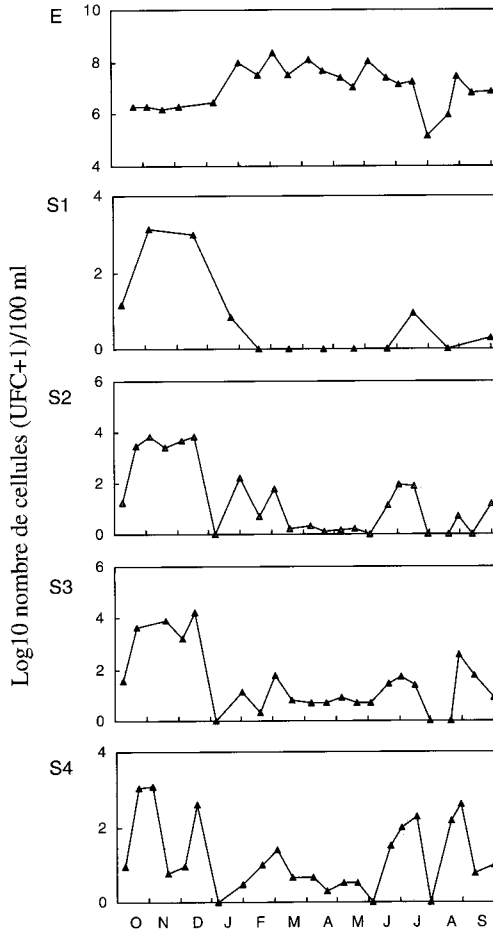


Figure 5 Évolution spatiotemporelle des abondances d'*Aeromonas spp.* dans l'effluent épuré (E) et dans les eaux marines de surface des différentes stations (S₁ à S₄).

Spatial-temporal evolution of Aeromonas spp. abundances in the purified effluent (E) and at the surface seawater in the different stations (S₁ to S₄).

les moyennes calculées pendant les deux saisons, et quel que soit le milieu considéré (tableau 1A).

L'évolution temporelle des CF au niveau de l'effluent épuré et dans les stations marines (figure 4) laisse apparaître une alternance de fortes abondances pendant la saison froide et de plus faibles concentrations en saison chaude. Inversement, à la station de référence S₁, il ne semble pas exister de périodicité saisonnière significative dans les abondances des CF. Cependant, l'apparition de densités maximales coïncident avec les abondances maximales des BHR à la même station. La comparaison des valeurs moyennes d'abondance des CF a montré que ces bactéries sont significativement ($\alpha = 0,05$) plus abon-

dantes en saison froide qu'en saison chaude aussi bien au niveau de l'effluent épuré qu'au niveau du milieu marin (*tableau 1B*). Cependant, les valeurs des coefficients de variation des abondances de ces germes sont maximales durant la saison chaude et plus importantes dans l'eau de mer (25 %) que dans l'effluent épuré (10 %).

Tableau 1 Valeurs moyennes (m) et coefficient de variation (cv) des abondances des bactéries hétérotrophes revivifiables (A), des coliformes fécaux (B) et des *Aeromonas spp.* (C) dans l'effluent épuré et dans l'eau de mer de la station S₃ et comparaison par le test t de student (significativité au seuil 5 % : S = significatif ; NS = non significatif).

Table 1 Mean values (m) and variation coefficient (cv) of heterotrophic bacteria (A), fecal coliforms (B) and motiles *Aeromonas spp.* (C) abundances in the effluent and in S₃ seawater, and values of Student's t - test. (significant 5%: S = significant; NS = No significant).

	Effluent		Eau de mer	
	m (UFC/100 mL)	cv (%)	m (UFC/100 mL)	cv (%)
A				
Ensemble des mesures	52 × 10 ⁷	7,45	43 × 10 ³	7,32
Saison froide	45 × 10 ⁷	10,7	36 × 10 ³	7,01
Saison chaude	63 × 10 ⁷	3,40	51 × 10 ³	7,64
Student (t)	- 0,40 (NS)		- 1,44 (NS)	
ddl	24		24	
B				
Ensemble des mesures	26 × 10 ⁵	12	12 × 10 ²	22
Saison froide	104 × 10 ⁵	08	19 × 10 ²	10
Saison chaude	8 × 10 ⁵	10	5 × 10 ²	25
Student (t)	4,79 (S)		2,62 (S)	
ddl	24		23	
C				
Ensemble des mesures	11 × 10 ⁶	10	21	100
Saison froide	29 × 10 ⁶	07	5	100
Saison chaude	6 × 10 ⁶	10	56	86
Student (t)	2,10 (S)		- 3,87 (S)	
ddl	20		21	

Saison froide : novembre-avril ; saison chaude : mai-octobre

La *figure 5* représente les évolutions temporelles des densités d'*Aeromonas* mobiles à chaque station de prélèvement. On note un cycle d'évolution différent entre l'effluent épuré et le milieu marin côtier. En sortie du lagunage et de la même façon que ce qui a été observé pour les CF, les évolutions des *Aeromonas* mobiles sont caractérisées par une alternance de fortes densités en période froide suivie de faibles densités en période chaude. Cependant, pour le milieu marin, contrairement aux bactéries de contamination fécale, toutes les

stations laissent apparaître une évolution saisonnière des densités d'*Aeromonas* inverse de celle observée dans l'effluent épuré, avec de fortes abondances en période chaude et de faibles densités en période froide pouvant aller jusqu'à la disparition complète de ces bactéries dans les volumes d'eau analysés. La tendance ascendante coïncide, comme pour les CF, avec la saison de baignade et se manifeste surtout à la station S₄ d'Echaffar largement fréquentée par les baigneurs de la région. Une différence significative ($\alpha = 0,05$) entre les moyennes des abondances des *Aeromonas* en saison chaude et en saison froide a été obtenue (tableau 1C). Les coefficients de variation obtenus pour le milieu marin sont nettement plus élevés que ceux calculés pour l'effluent épuré et peuvent atteindre 100 % en saison froide.

3.2.2 Évolution spatiale

La moyenne des concentrations des bactéries hétérotrophes revivifiables, pour l'ensemble des mesures, varie entre $52 \cdot 10^7$ (8,72 unités \log_{10}) dans l'effluent épuré et $43 \cdot 10^3$ UFC/100 mL (4,64 unités \log_{10}) dans le milieu marin (tableau 1A). Les concentrations moyennes sont comparables pour toutes les stations marines quelle que soit la période considérée.

Les abondances cellulaires des CF sont nettement plus faibles dans le milieu marin que dans l'effluent. La concentration moyenne, pour toute la période d'échantillonnage, passe de $26 \cdot 10^5$ dans l'effluent à $10 \cdot 10^2$ (S₂), $12 \cdot 10^2$ (S₃), $6 \cdot 10^2$ (S₄) et à $1,5 \cdot 10^2$ UFC/100 mL pour la station de référence S₁. Globalement, les abondances des coliformes fécaux diminuent au fur et à mesure de l'éloignement du point du rejet des eaux lagunaires.

Quant aux concentrations moyennes des *Aeromonas mobiles* aux différentes stations et pour tout le cycle annuel, on constate que celles ci sont maximales dans l'effluent épuré ($11 \cdot 10^6$ UFC/100 mL), minimales dans la station de référence S₁ (6,3 UFC/100 mL) et intermédiaires au niveau de la station S₃ (21 UFC/100 mL), ainsi que S₂ et S₄.

4 - DISCUSSION

Les problèmes de santé publique posés par le rejet, en zone côtière, de bactéries pathogènes par les stations d'épuration, nous a conduit à étudier le comportement et l'évolution spatiale et temporelle des *Aeromonas spp.* mobiles dans un effluent épuré et après déversement dans les eaux marines côtières de la région de Sfax.

À l'issue de ces analyses, il apparaît que ces bactéries, pathogènes opportunistes, sont présentes à des taux variables dans les eaux de surface. Différents auteurs ont également signalé une très large répartition des *Aeromonas* dans les eaux de lagunage et dans les milieux marins qui subissent l'influence des eaux douces (RIPPEY et CABELLI, 1980 ; HAZEN, 1983). Le suivi annuel a permis de mettre en évidence l'influence des variations hydroclimatiques sur l'état de pollution bactériologique des eaux lagunaires épurées et des eaux marines côtières.

Dans l'effluent épuré, les résultats obtenus montrent que les *Aeromonas* évoluent selon un cycle saisonnier qui présentent des abondances plus fortes en période hivernale qu'en période estivale, comme cela a été constaté dans d'autres études (BAHLAOU, 1990 ; MONFORT et BALEUX, 1990). Cette alternance saisonnière, en phase avec les coliformes fécaux, laisse penser que ces deux types de bactéries présentent les mêmes aptitudes de survie dans les eaux lagunaires. À partir du mois de décembre, soit au début de la saison des pluies, les eaux lagunaires de surface deviennent plus douces, moins alcalines et beaucoup plus turbides (figure 2C). Durant cette saison froide et pluvieuse, le degré de contamination par les *Aeromonas* et les coliformes fécaux augmente significativement (tableau 1B et 1C). Au cours de cette période, le ruissellement des eaux de pluie, et le lessivage des sols souillés peuvent être à l'origine de cet accroissement de la contamination qui pourrait aussi résulter de la diminution du rayonnement solaire global (figure 2A) et de son effet bactéricide comme l'a suggéré FATAL et al. (1983).

La diminution de la densité des *Aeromonas* et des coliformes fécaux durant la saison estivale sèche se trouve corrélée à une baisse significative de la turbidité et à une augmentation du rayonnement solaire global. L'effet bactéricide du rayonnement peut être direct au niveau de l'ADN qui devient destructible (BACHOFEN, 1986) ou indirect en provoquant la croissance des algues, lesquelles élèvent le pH et l'oxygène dissous durant les périodes ensoleillées par leur intense activité photosynthétique. WITKINS (1973) a montré que les pH alcalins et les fortes teneurs en oxygène dissous inactivent les bactéries coliformes mais ne semblent pas trop affecter la distribution d'*Aeromonas* qui a été isolée dans des échantillons présentant des pH compris entre 5 et 9. Ceci est en accord avec nos résultats qui montrent que, dans l'effluent épuré durant la saison chaude, les concentrations en *Aeromonas* ($6 \cdot 10^6$ CFU/100 mL) deviennent près de 8 fois plus élevées que celles des coliformes fécaux ($0,8 \cdot 10^6$ UFC/100 mL) (tableau 1B et 1C).

MEZRIOUI (1987) a étudié expérimentalement la survie comparée de *E.coli*, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Aeromonas hydrophila* dans une eau filtrée, en sortie d'un lagunage naturel. L'auteur conclut qu'*Aeromonas hydrophila* est la bactérie la plus résistante au rayonnement solaire devant *Pseudomonas aeruginosa* et *E.coli*.

Le déversement des eaux de la station d'épuration dans les eaux marines côtière n'induit pas de modification de l'abondance des coliformes fécaux qui reste toujours maximale en période hivernale et en phase avec celle existant dans les eaux épurées. L'action de la salinité, qui constitue d'évidence le changement environnemental le plus marqué, n'aurait pas d'effet sur les coliformes fécaux dans les eaux marines. La dilution des eaux explique la plus grande part d'abattement de ces germes entre l'effluent et le milieu marin.

À l'opposé, les *Aeromonas spp.* présentes dans les eaux marines montrent un cycle d'évolution inverse à celui observé dans l'effluent épuré, avec des concentrations minimales en période hivernale, voire non détectables dans les volumes d'eau analysés (figure 5). Ces observations sont en accord avec les travaux de KANEKO et COLWELL (1975) qui montrent que les bactéries pathogènes opportunistes ne sont présentes en hiver que dans les sédiments. Le phénomène de dilution n'explique pas ou peu la disparition, à partir du mois de Janvier, des *Aeromonas* dans toutes les stations marines. L'action de la salinité

paraît être importante et imposer aux populations d'*Aeromonas* qui arrivent dans l'eau de mer un stress salin. Ce stress salin, en présence de faible turbidité, de pH alcalin et d'irradiation globalement constante, explique la déstabilisation des séquences saisonnières et la disparition de cette bactérie entre le mois de janvier et le mois de juin 1999 ou sa présence en très faibles concentrations. La diminution de la densité d'*Aeromonas* à l'automne-hiver et l'augmentation occasionnelle des abondances au printemps-été dans les eaux polluées ou non polluées, mais pas dans les sédiments, ont été observées dans la baie de Chesapeake (KAPER *et al.*, 1981). L'augmentation de la densité de ces bactéries, en période chaude, semble être liée à la température et coïncide avec la saison de baignade, notamment à la station Echaffar (S₄) largement fréquentée par les baigneurs de la région de Sfax, ce qui laisse penser à une remise en suspension des bactéries piégées dans les sédiments, plus contaminés en *Aeromonas* qu'en coliformes fécaux (KANEKO et COLWELL, 1975).

Par ailleurs, les concentrations moyennes des bactéries, soit par saison, soit pour l'ensemble des mesures, dans les différentes stations, sont supérieures à celles de la station de référence S₁ (30 km du rejet final) ce qui met en évidence un effet de la distance par rapport au point du rejet.

Nos résultats montrent également qu'au-delà des contaminations fécales constantes des eaux marines côtières de la région de Sfax, la distribution du Genre *Aeromonas* varie selon l'état du milieu. L'analyse des eaux marines côtières soumises ou non au rejet permet de délimiter clairement un effet de l'apport de ces eaux usées sur les populations d'*Aeromonas* et des coliformes fécaux. L'impact de l'effluent sur le milieu marin peut aussi s'exercer par un apport de matière organique pouvant affecter la survie des bactéries allochtones ou par des échanges génétiques de ces bactéries avec la microflore autochtone (MACH et GRIMES, 1982).

Enfin, ce travail montre que l'usage des coliformes fécaux, parfois présents en concentrations inférieures à celles des *Aeromonas*, en tant que germes tests de pollution, peut être discutable dans le cas d'effluents exposés à d'importantes irradiations solaires (pays à climat aride ou semi-aride). De plus, dans les eaux marines, les témoins de contamination fécale ne peuvent pas indiquer la présence ou l'absence d'*Aeromonas*. L'absence de coévolution entre ces deux germes et la réduction significative des densités d'*Aeromonas spp.* ne permettent pas de proposer que ces bactéries soient considérées comme un indicateur de pollution comme cela a été suggéré par différents auteurs (BONDE, 1977 ; HAZEN, 1979).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALAVANDI S., ANANTHAN S., KANG G., 1998. Prevalence, in vitro secretory activity and cytotoxicity of *Aeromonas* species associated with childhood gastroenteritis in Chennai (Madr), India. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 1, 1-12.
- ARAJO R. M., ARRIBAS R. M., PARES R., 1991. Distribution of *Aeromonas* species in water with different levels of pollution. *J. Appl. Bacteriol.*, 71, 182.
- ARCOS M.L., DE VINCENTE A., MORNINGO M.A., ROMERO P., BORREGO J.J., 1988. Evaluation of selective media for recovery of *Aeromonas hydrophila* from polluted waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 2786.

- BACHOFEN R., 1986. Microorganisms in extreme environments. *Experientia*, 42, 1179-1182.
- BAHLAOUI M.A., 1990. Lagunage à haut rendement expérimental : Dynamique de différents groupes bactériens et performances épuratoires sanitaires. *Th. Doct. Univ. Montpellier II*, 186 p.
- BIAMON E.J., HAZEN T.C., 1983. Survival and distribution of *Aeromonas hydrophila* in near-Shore Coastal of Puerto-Rico receiving rum distillery effluent. *Water. Res.*, 17, 319-326.
- BONDE G.J., 1977. Bacterial indication of water pollution. In: DROOP M.R., JANASCH H.W. (Ed.), *Advances in aquatic microbiology*, Academic Press, New York, 273-364.
- BORREL N., FIGUERA M.J., GUARRO J., 1998. Phenotypic identification of *Aeromonas* genomospecies from clinical and environmental sources. *Can. J. Microbiol.*, 44, 103-108.
- BRANDI G., SISTI M., GIARDINI F., SCHIAVANO G.F., ALBANO A., 1999. Survival ability of cytotoxic strains of motile *Aeromonas* spp. in different types of water. *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 211-215.
- DUMENTET S., KROVACEK K., SVENSON S.B., PASQUALE V., BALODA S.B., FIGLIUOLO G., 2000. Prevalence and diversity of *Aeromonas* and *Vibrio* spp. in coastal waters of southern Italy. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 23, 53-72.
- FATAL B., VASL R., KATZENELSON E., SHUVAL H., 1983. Survival of bacterial indicator organisms and enteric virus in the Mediterranean coastal waters of Tel-Aviv. *Wat. Res.*, 4, 397-402.
- HANNINEN M.L., OVANEN P., HIRVELA-KOSKI V., 1997. *Aeromonas* species in fish eggs shrimps and fresh water. In: *J. Food. Microbiol.*, 34, 17-26.
- HAZEN T.C., 1979. Ecology of *Aeromonas hydrophila* in a south Carolina cooling reservoir. *Microb. Ecol.*, 5, 179-195.
- HAZEN T.C., 1983. Effect of effluent from a nitrogen fertilizer factory and a pulp mill on the distribution and abundance of *Aeromonas hydrophila* in Albermale sound, north Carolina. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 31-42.
- HICKMAN-BRENNER F.W., FANNING G.R., ARDUINO M.J., BRENNER D.J., FARMER J.J., 1988. *Aeromonas schubertii*, a new mannitol-negative species found in human clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 1561.
- KANEKO T., COLWELL R.R., 1975. Incidence of *Vibrio paraheamolyticus* in Chesapeake Bay. *Appl. Environ. Microbiol.*, 30, 251-257.
- KAPER J.B., LOCKMAN H., COLWELL R.R., 1981. *Aeromonas hydrophila*: Ecology and toxigenicity of isolates from an estuary. *J. Appl. Bacteriol.*, 50, 359-377.
- KERSTERS I., HUYS G., VAN DUFFEL H., VANCANNEYET M., KERSTERS K., VERSTRAETE W., 1996. Survival potential of *Aeromonas hydrophila* in fresh waters and nutrient-poor waters in comparison with other bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 80, 266-276.
- KHALIL A.H., MANSOUR E.H., 1997. Toxicity of crude extracellular products of *Aeromonas hydrophila* in Tilapia, *Tilapia nilotica*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 25, 369-373.
- KHUN I., ALBERT M.J., AN SARUZZAMAN M., BHUIYAN N.A., ALABI S.A., ISLAM M.S., NEOGI P.K., HUYS G., JANSSEN L., KERSTERS K., MOLLBY R., 1997. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhea from healthy controls and from surface water in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 369-373.
- MACH P.A., GRIMES D.J., 1982. R-plasmid transfer in a wastewater treatment plant. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 1395-1403.
- MEZRIQUI N., 1987. Étude expérimentale des effets du pH, du rayonnement et de la température sur la disparition des bactéries d'intérêt sanitaire et évaluation de la résistance aux antibiotiques d'*Escherichia coli* lors de l'épuration des eaux usées. *Diplôme de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du languedoc, Montpellier II*, 180 p.
- MONFORT P., BALEUX B., 1988. Évaluation de deux milieux de culture pour l'isolement et le dénombrement des *Aeromonas* mobiles dans différents types d'eaux. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 307, 523-527.
- MONFORT P., BALEUX B., 1990. Dynamics of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* and *Aeromonas caviae* in a sewage treatment pond. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1999-2006.

- PIN C., MARIN M.L., SELEGAS D., GARCIA M.L., TORMO J., CASAS C., 1995. Differences in production of several extracellular virulence factors in clinical and food *Aeromonas* spp. strains. *J. Appl. Bacteriol.*, 78, 175-179.
- RIPPEY S.R., CABELLI V.J., 1980. Growth characteristics of *Aeromonas hydrophila* in limnetic waters of varying trophic state. *Arch. Hydrobiol.*, 104, 311-319.
- ROGOL M., SECHTER I., GRINBERG L., GERICHTER C.B., 1979. Pril xylose ampicillin agar, a new selective medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *J. Med. Microbiol.*, 12, 229-231.
- SANTOS J.A., GONZALES C.J., OTERO A., GARCIA-LOPEZ M.L., 1999. Hemolytic activity and siderophore production in different *Aeromonas* species isolated from fish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 5612-5617.
- TROUSSELIER P., 1989. Dynamics of fecal coliform and culturable heterotroph densities in an eutrophic ecosystem: stability of models and evolution of these bacterial groups. *Microb. Ecol.*, 17, 227-235.
- TROWER C.J., ABOS S., MAJEED K.N., VON ITZSTEIN M., 2000. Production of an enterotoxin by a gastro-enteritis associated *Aeromonas* strain. *J. Med. Microbiol.*, 49, 121-126.
- WARBURTON D.W., Mc CORMICK J.K., BOWEN B., 1994. Survival and recovery of *Aeromonas hydrophila* in water: development of methodology for testing bottled water in Canada. *Can. J. Microbiol.*, 40, 145-148.
- WATKINS S.H., 1973. Coliform bacteria growth and control in aerated stabilization basins. *Environmental protection Agency. Report N°*, EPA-660/2-73-028, 280 p.