

RECHERCHE ET NUMERATION DES STREPTOCOQUES FECAUX DANS LES EAUX DE CONSOMMATION EN UTILISANT LES MEMBRANES FILTRANTES

P. SUREAU et R. RABESOA

Nous avons employé, pour la recherche et la numération des streptocoques fécaux dans les eaux de consommation, la méthode récemment publiée par SLANEZ et BARTLEY (1).

Les premiers résultats obtenus (2) nous ont convaincus des avantages de cette méthode en faveur de laquelle nous avons abandonné l'ancienne technique de HANNA et PERRY.

Matériel et méthodes : Les membranes sont stérilisées par ébullition, comme dans la méthode de colimétrie sur membranes.

Les échantillons d'eau à analyser sont filtrés sur un appareil « Coli 5 » muni d'un réservoir de 30 ml et branché sur une pompe à vide (30 cm Hg). Le réservoir est rincé, après filtration avec 30 ml d'eau distillée stérile. Les membranes sont ensuite déposées à la surface du milieu coulé en boîtes de Petri de 70 mm de diamètre, après séchage préalable de la surface du milieu à l'éthuve.

Les boîtes sont ensuite incubées quarante-huit heures à l'éthuve à 37°. Après ce délai, les colonies sont examinées et comptées, à l'œil nu et à la loupe.

Milieu de culture : Le milieu « M-Enterococcus Agar » de SLANEZ et BARTLEY est de préparation facile :

Peptone tryptique (dryptose-Bileco).....	2	p. 100
Extrait de levure.....	0,5	p. 100
Glucose.....	0,2	p. 100
Phosphate bipotassique.....	0,1	p. 100
Azide de sodium.....	0,01	p. 100
Chlorure de 2, 3, 5 Triphényltétrazolium.....	0,01	p. 100
Gélose.....	1	p. 100

Dissoudre la peptone, l'extrait de levure, le glucose, le phosphate bipotassique et l'azide de sodium dans une quantité appropriée d'eau distillée; ajuster si nécessaire le pH à 7,2. La gélose est ensuite ajoutée et la solution chauffée à ébullition douce jusqu'à dissolution de la gélose. Après léger refroidissement, ajouter, pour 100 ml de ce milieu, 1 ml d'une solution de TTC à 1 p. 100 dans l'eau distillée (cette solution est stérilisée au préalable vingt minutes à 120°).

Le milieu est ensuite coulé directement en boîtes de Petri de 70 mm de diamètre. Il n'est pas nécessaire de stériliser ce milieu autrement que par l'ébullition nécessaire pour dissoudre la gélose.

Il est commode de préparer ce milieu par fraction de 1 litre. Le milieu coulé en boîtes se conserve bien au réfrigérateur à $\pm 4^{\circ}$.

Nous exposons ici l'ensemble des résultats obtenus en 1958, au Laboratoire d'analyses des eaux, en utilisant la méthode de SLANETZ et BARTLEY conjointement avec la colimétrie sur membranes filtrantes.

1^{re} SENSIBILITE COMPAREE DE LA METHODE DE SLANETZ ET BARTLEY ET DE LA METHODE DE HAJNA ET PERRY

Du 1^{er} mars au 31 décembre 1958 ont été pratiquées soixante-dix-huit analyses bactériologiques de l'eau, non traitée, du lac Mandrozeza qui sert de réservoir d'alimentation à l'usine des eaux de la ville de Tananarive. Ces analyses ont comporté : colimétrie sur membranes avec le milieu lactosé au TTC et Tergitol 7, recherche et numération des streptocoques fécaux sur membrane avec le milieu de SLANETZ et BARTLEY, recherche et numération des *Clostridium* sulfito-réducteurs en gélose sulfitée ferreuse.

Cette même eau avait fait l'objet, pendant la période correspondante de 1957 de 82 analyses comportant : colimétrie sur eau peptonée phéniquée de VINCENT et lactose-broth, recherche et numération des streptocoques fécaux sur milieu de HAJNA et PERRY, recherche et numération des *Clostridium* sulfito-réducteurs sur gélose sulfitée ferreuse.

Le tableau suivant permet la comparaison des résultats obtenus.

TABLEAU I

	L. coli		Coliformes		Clostridium		Total	0 0
1957								
Strepto	7	0	7	0	7	0	7	8,5
Strepto	70	5	71	1	75	0	75	91,5
TOTAL	77	5	78	1	82	0	82	
1958								
Strepto	73	1	77	0	71	6	77	93,7
Strepto	1	0	1	0	1	0	1	1,3
TOTAL	74	1	78	0	72	6	78	

Les chiffres trouvés pour les *Escherichew* (*E. coli* et coliformes) et pour les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont peu différents d'une année à l'autre.

Par contre, les résultats obtenus pour la recherche des streptocoques fécaux sont tout à fait dissemblables : avec la méthode de

HAJNA et PERRY les streptocoques fécaux n'avaient été trouvés que dans 8,5 p. 100 des échantillons alors que par la méthode de SLANETZ et BARTLEY leur présence est décelée dans 98,7 p. 100 des prélèvements examinés.

En outre, le nombre des streptocoques numérés dans les eaux les contenant est de 75 par 100 ml en moyenne avec la méthode de SLANETZ et BARTLEY alors qu'il était de 15 par 100 ml avec la technique de HAJNA et PERRY. De plus, l'utilisation des membranes permet une numération exacte des colonies alors que la technique utilisant les milieux liquides ne permet qu'une estimation approchée.

La sensibilité des divers tests de contamination fécale peut être comparée, pour les deux années et compte tenu des techniques différentes utilisées.

TABLEAU II

	1957		1958	
	Nombre des échantillons positifs	0, 0	Nombre des échantillons positifs	0, 0
<i>E. coli</i>	77	94	74	95
Coliformes	78	95	78	100
Strepto. fécaux	7	8,5	77	98,7
<i>Clostridium</i> sulfiréd	82	100	72	92,3
TOTAL DES ANALYSES	82		78	

La grande sensibilité obtenue pour le test «streptocoques fécaux» en utilisant la méthode de SLANETZ et BARTLEY va de pair avec une spécificité certaine qui est démontrée par le fait que dans tous les cas (77) où des streptocoques fécaux ont été décelés, ils étaient associés à d'autres tests de contamination fécale.

TABLEAU III

Streptocoques fécaux	<i>E. coli</i>	Coliformes	<i>Clostridium</i> sulfito-réd.	Nombre de cas	0 0
				67	87
	0			1	5,2
			0	6	7,3
				74	

Le tableau III montre qu'il existe une association à *E. coli* dans 73 cas sur 77 (95 p. 100), à des coliformes dans 100 p. 100 des cas et à des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans 71 cas (92 p. 100).

2^e ETUDE DES RESULTATS OBTENUS EN 1958 POUR
565 ÉCHANTILLONS D'EAU SOUMIS AUX TROIS RECHERCHES
CI-DESSUS MENTIONNEES

Nous avons exclu de cette étude les eaux du lac Mandrozeza qui font l'objet du paragraphe précédent. Les 565 eaux étudiées avaient les origines suivantes :

Puits, forages	60
Sources	23
Lacs et rivières.....	14
Eaux de distribution non traitées par les antiseptiques..	434
Eaux en bouteilles.....	34

565

Les résultats obtenus à l'analyse de ces eaux sont résumés dans le tableau IV.

TABLEAU IV

<i>E. coli</i>	Coli- formes	Strepto- coques- fécaux	<i>Clostri- dium</i> Sul. R.	Puits	Sources	Lacs rivières	Distri- bution	Eaux en bou- teilles	Total	TA (1)
		0		26	3	7	33	0	74	
		0		0	1	0	6	0	7	
		0	0	4	1	3	24	0	35	
		0	0	1	1	1	4	0	7	
		Total..		31	14	11	67	0	123	
0				5	2	3	16	0	26	
0		0		1	0	0	22	0	26	
0			0	1	3	0	15	0	22	
0		0	0	2	2	0	29	0	33	
		Total..		15	7	3	82	0	107	
0	0			3	0	0	11	0	14	
0	0	0		1	0	0	61	5	70	
0	0		0	2	0	0	19	1	22	
0	0	0	0	5	2	0	194	23	229	
		Total..		14	2	0	285	31	335	
TOTAL GÉNÉRAL.....				60	23	14	434	31	565	

(1) Deux ou plus de deux tests de contamination fécale associés.

a. Sur 123 eaux contenant *E. coli* (associé dans tous les cas à d'autres coliformes) :

109 contiennent des streptocoques fécaux (88,6 p. 100);
- 81 contiennent des *Clostridium* (65,8 p. 100),
avec association des deux tests dans 74 cas (60 p. 100).

b. Sur 107 eaux contenant des coliformes (à l'exclusion d'*E. coli*) :

48 contiennent des streptocoques fécaux (44,8 p. 100) ;

52 contiennent des *Clostridium* (48,6 p. 100),

avec association des deux tests dans 26 cas (24,3 p. 100),

c. Sur 335 eaux ne contenant ni *E. coli*, ni coliformes :

36 contiennent des streptocoques fécaux (10,7 p. 100) ;

84 contiennent des *Clostridium* (25 p. 100),

avec association des deux tests dans 14 cas (4 p. 100).

Si l'on considère comme contaminées par des matières fécales les eaux contenant *E. coli* ou une association de deux ou plus de deux tests de contamination (coliformes, streptocoques fécaux, *Clostridium* sulfito-réducteurs), 211 eaux rentrent dans cette catégorie. Pour ces eaux, il a été trouvé :

<i>E. coli</i>	123 fois soit dans 58,3 p. 100
Coliformes	197 fois soit dans 93,3 p. 100
Streptocoques fécaux	171 fois soit dans 81 p. 100
<i>Clostridium</i>	147 fois soit dans 70 p. 100

La sensibilité du test «streptocoques fécaux» apparaît, ici aussi, supérieure à celle du test «*E. coli*» et du test «*Clostridium*», les coliformes restant au test plus sensible.

Des streptocoques fécaux ont été décelés dans 193 des eaux analysées :

a. Ils coexistaient avec d'autres tests de contamination fécale dans 171 cas (88,6 p. 100), réalisant les associations que présente le tableau V.

TABLEAU V

Streptocoques fécaux	<i>E. coli</i>	Coliformes	<i>Clostridium</i> sulf. réduc.	Nombre de cas	0 0
				71	13,2
			0	35	20
0				26	15,2
0			0	22	12,4
0	0	0		14	3,1
				171	

Soit, association avec *E. coli* dans 109 cas sur 171 (63,7 p. 100), avec des coliformes dans 157 cas (91,8 p. 100) et à des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans 114 cas (66,6 p. 100).

Ces chiffres confirment la spécificité du test «streptocoques fécaux» ;

b. Le nombre d'eaux examinées contenant des streptocoques fécaux à l'exclusion des autres tests de contamination fécale a été de 22 sur 193 (soit 11,3 p. 100). Pour dix-huit de ces eaux, nous

avons eu l'occasion de pratiquer un autre examen qui a décelé d'autres tests de contamination fécale :

<i>E. coli</i> - coliformes	<i>Clostridium</i>	2 fois
<i>E. coli</i> - coliformes	1 fois
coliformes	<i>Clostridium</i>	3 fois
coliformes	5 fois
	<i>Clostridium</i>	4 fois

La présence de streptocoques fécaux dans une eau, mise en évidence par la méthode de SLANETZ et BARTLEY, constitue donc, même en l'absence d'autre test, une suspicion valable de contamination fécale. BUTTAX, en utilisant le procédé de LITSKY, a publié récemment des conclusions analogues (3).

CONCLUSION

Après une année de pratique quotidienne de cette méthode, nous croyons pouvoir confirmer les conclusions de nos premières recherches (2) et dire que, parmi les techniques modernes récemment proposées pour remplacer l'ancien procédé de HALLA et PERRY, la recherche et la numération des streptocoques fécaux sur membranes filtrantes selon SLANETZ et BARTLEY constituent une méthode d'exécution simple, assurant économie de temps et de matériel et procurant rapidement des résultats valables.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) SLANETZ L.-W. et BARTLEY C.-H. — Numbers of enterococci in water, sewage, and feces determined by the membrane filter technique with an improved medium. *J. Bact.* 1957, 74, 591-595.
- (2) SUBEAU P. — Recherche et numération des streptocoques fécaux dans les eaux en utilisant les membranes filtrantes. *Ann. Inst. Pasteur* 1958, 95, 768-772.
- (3) BUTTAX R. — Les streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation. Recherche, espèces rencontrées, signification. *Ann. Inst. Pasteur* 1958, 95, 142-148.