

ESTIMATION DE LA CONTAMINATION BACTÉRIENNE ET FONGIQUE DE LA PLAGE DU SUD (PARC NATIONAL DE PORT-CROS, MÉDITERRANÉE, FRANCE)

Henry AUGIER **, Jacqueline AUBERT *, Sylvie MATHONNET *
et Caroline GUILLEMAUT *

Résumé : En période estivale de surfréquentation touristique, de la Plage du Sud (Parc national de Port-Cros), les teneurs en germes-tests classiques de l'eau (coliformes totaux et coliformes fécaux) ne sont pas négligeables, mais elles ne dépassent pas les normes en vigueur caractéristiques d'une eau de baignade de bonne qualité. On note, par contre, l'apparition de nombreux staphylocoques et streptocoques fécaux dont les valeurs dépassent assez largement le nombre guide des normes européennes dans trois stations de prélèvement.

Le sable présente des teneurs assez élevées en germes-tests : de juillet en août, les taux de coliformes totaux et de coliformes fécaux ont plus que décuplé, les streptocoques fécaux sont abondants et *Staphylococcus aureus* est présent dans 11 stations sur 17. Le sable contient également de nombreuses espèces de champignons pathogènes, notamment *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* et *Candida pseudo-tropicalis* qui peuvent être à l'origine de diverses mycoses de la peau et des muqueuses et également de certaines formes de vaginites, mycoses intestinales et même exceptionnellement de mycoses broncho-pulmonaires.

Il apparaît donc, que dans le cas de la Plage du Sud, le danger potentiel pour les baigneurs, vient plus de la contamination microbiologique du sable que de celle de l'eau. Bien que, en l'absence de normes et d'enquêtes épidémiologiques, il soit difficile d'apprécier les conséquences sanitaires exactes de cette situation.

Les résultats obtenus montrent enfin que la pollution microbiologique n'est pas uniformément répartie sur le site étudié et confirment donc qu'il est illusoire d'espérer réaliser une estimation valable de la pollution par l'examen d'un petit nombre d'échantillons, voire d'un seul.

Abstract : During the summer months, when there is a large presence of tourists at the Plage du Sud (Port-Cros National Park), the amounts in water of test-germs (total and faecal coliforms) are not to be neglected but they do not exceed sanitary standards in force at present for good quality bathing waters. One can observe the appearance of many *Staphylococcus* and faecal *Streptococcus* in 3 sampling sites but their rates are well beyond the sanitary European standards.

* Centre d'Etudes et de Recherches de Biologie et d'Océanographie Médicales, 1, avenue Jean-Lorrain, 06300 Nice, France, ** et Laboratoire de Biologie végétale marine, Faculté des Sciences de Luminy, 13288 Marseille cedex 9.

Some samples of sand show high contents of test-germs : from July to August, the amounts of total coliforms and faecal *Streptococcus* are abundant, and *Staphylococcus aureus* is present in 11 stations out of 17. Sand samples also contain many species of pathogenous fungi, among others *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* and *Candida pseudo-tropicalis*, these species being, responsible for some mycosis of the skin and of mucous membranes and of vaginates, intestinal mycosis and even of broncho-pulmonic mycosis.

In the case of the Plage du Sud, potential danger for swimmers would come more from microbiological contamination of the sand rather than from contamination of the water, although it is difficult to estimate exact sanitary consequences of the situation as there is a lack of sanitary standards and epidemiological surveys.

The result we obtained point out that the microbiological pollution has not a uniform repartition on our study sites and show that it is unrealistic to try to make a reliable estimation of pollution by studying just a single or even a small number of samples.

1. — INTRODUCTION

A cause de leur célébrité et en dépit des mesures de protection et de valorisation, les îles de Porquerolles et de Port-Cros n'échappent pas à la surfréquentation touristique estivale qui caractérise les zones les plus réputées de notre littoral (MORETEAU, 1981). Cet afflux touristique n'est pas sans poser de sérieux problèmes aux gestionnaires des îles, parmi lesquels les aspects sanitaires sont loin d'être négligeables. En effet, la densité des populations sur les plages entraîne forcément une pollution microbiologique des eaux et du sable.

En ce qui concerne l'île de Port-Cros, la plage du Sud est, sans conteste, le secteur le plus fréquenté et le plus favorable pour la baignade (AUGIER, 1985) ; c'est aussi une zone exempte de rejet d'eaux usées à partir de la côte. La plage du Sud constitue donc un site particulièrement favorable à l'étude de la pollution microbiologique des eaux et du sable issue essentiellement des baigneurs, des animaux domestiques et des plaisanciers (germes dermiques, urinaires et fécaux).

2. — MATERIEL ET METHODES

2.1. Echantillonnage

Les analyses ont porté sur l'eau de mer, le sable et la chair de moules ; récoltés à deux périodes différentes de l'année : en hiver (8 janvier 1985) et en été (20 juillet et 16 août 1984). Le 20 juillet, nous avons noté la présence de 150 personnes sur la plage ou dans l'eau et de 19 bateaux ; le 16 août, 150 personnes et 25 bateaux.

Le plan d'échantillonnage comprend (fig. 1) :

— Pour l'eau de mer :

- échantillons témoins récoltés dans l'axe médian du chenal entre les îles de Port-Cros et de Bagaud (T_1 et T_2) ;
- 2 échantillons recueillis dans l'échancrure située à l'ouest du ponton d'accostage (D_1 et D_2) ;
- 11 échantillons dont les emplacements sont répartis le long de 3 radiales (A, B et C) perpendiculaires à la plage du Sud.

Tous les échantillons d'eau ont été prélevés en surface.

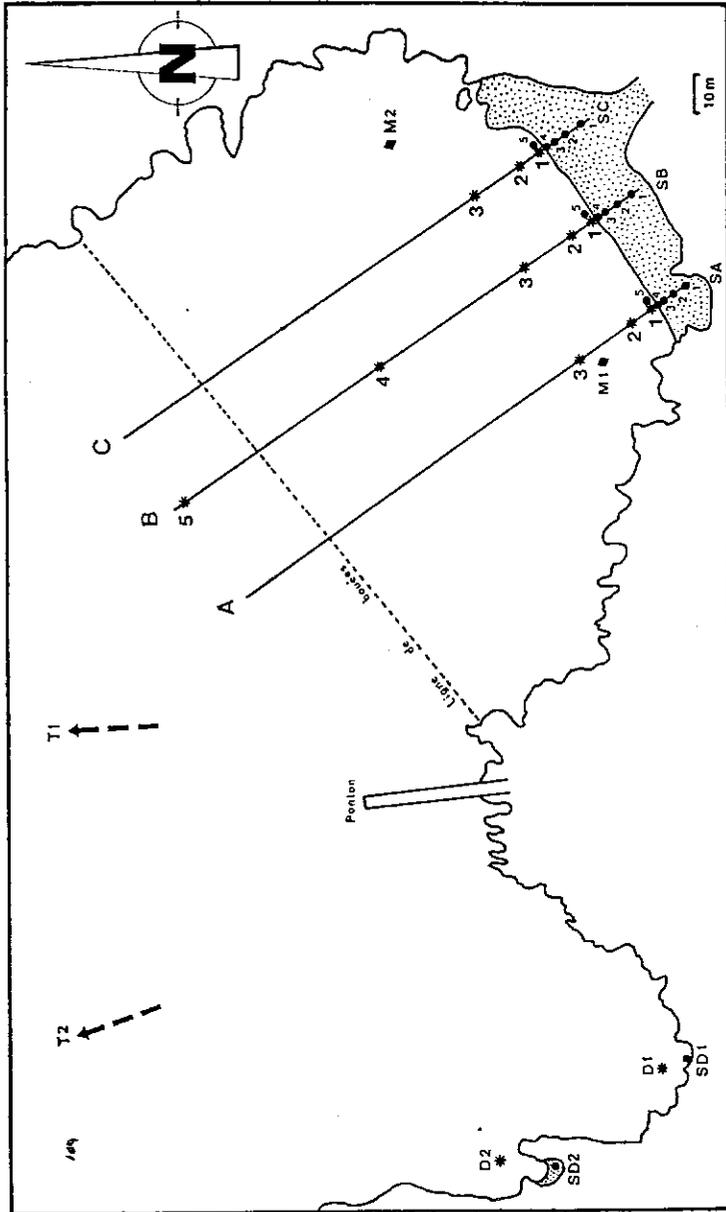


Fig. 1. — Plan d'échantillonnage dans l'anse du Sud (Ile de Port-Cros) M = moules ; caractères gras = échantillons d'eau ; chiffres en petits caractères = échantillons de sable ; A, B et C = radiales au niveau de la plage du Sud ; D₁ et D₂ = stations de l'échancrure située à l'ouest du ponton d'accostage ; T₁ et T₂ = témoins situés hors de la carte, respectivement à 350 m et 700 m de la plage. La zone en pointillés correspond à la plage du Sud).

— Pour le sable :

- 2 échantillons situés aux mêmes emplacements que pour l'eau, dans l'échancrure à l'ouest du ponton.
- 20 échantillons répartis le long des 3 radiales ayant servi à l'échantillonnage de l'eau.

Tous les échantillons de sable ont été prélevés sur une épaisseur de 0,5 cm. Les prélèvements des stations immergées (A_3 , B_3 et C_3) ont été réalisés à 10 cm de profondeur.

— Pour les moules (*Mytilus galloprovincialis* Lamark) : deux stations situées de part et d'autres de la plage (M_1 et M_2).

Les échantillons d'eau, de sable et de moules sont prélevés en flacons stériles et transportés au laboratoire dans une glacière. Il n'existe pas de moulière naturelle dans l'anse de la Plage du Sud ; deux lots de moules, prélevés à la Gabinière, ont par conséquent été placés à tremper, pendant 10 jours dans les stations à l'aide de sacs confectionnés avec du filet de pêche. L'analyse a porté sur la chair et l'eau intervalvaire.

Les expériences avec les moules n'ont pu être menées à bien en août, les sacs placés aux mêmes emplacements qu'en juillet ayant disparu à la date prévue du prélèvement.

2.2. Microbiologie

Les échantillons d'eau sont filtrés sur membrane de 5 cm de diamètre et de 0,45 micron de porosité, en utilisant des volumes de 10, 50 et 100 ml.

Les échantillons de chair de moules sont broyés et homogénéisés. 1 à 5 ml d'homogénéisat sont filtrés sur membranes présentant les mêmes caractéristiques que précédemment (1 ml d'homogénéisat correspond à 1 g de moules poids, matière humide).

Pour le sable, 50 g d'échantillon sont mis en contact avec 100 ml d'eau distillée stérilisée et 0,5 ml de tween 80 ; l'ensemble est brassé par agitation magnétique, pendant 15 minutes. Les volumes filtrés sont de 2 et 10 ml.

Les ensemencements sont réalisés à partir du surnageant par la méthode de filtration sur membrane, de porosité 0,45 micron. On effectue 2 prises d'essai par germe pour chaque échantillon, exceptionnellement 3 lorsque les deux premiers résultats ne sont pas concordants. L'ensemble de ces opérations est effectué en conditions stériles.

Les bactéries retenues par les membranes sont étudiées à l'aide des milieux spécifiques traditionnels suivants (CASSAGNE, 1961 ; Institut Pasteur, 1981) :

- Coliformes totaux : Milieu de Chapman au chlorure de triphényltétrazolium incubé à 37 °C, pendant 24 heures ;
- Coliformes fécaux : Milieu de Chapman au chlorure de triphényltétrazolium incubé à 44 °C, pendant 24 heures ;
- Staphylocoques pathogènes : Milieu de Baird-Parker, incubé à 37 °C pendant 48 heures ;
- Streptocoques fécaux : Milieu de Slanetz, pendant 48 heures, à 44 °C ;
- *Pseudomonas aeruginosa* : Milieu du bacille pyocyanique incubé à 37 °C pendant 24 heures, puis milieux de King A et B.

En ce qui concerne les champignons, diverses espèces de *Candida* ont été recherchées (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, etc.), sur milieu de Sabouraud-Actidione-Chloramphénicol incubé à 37 °C pendant 48 heures, puis identifiées sur galerie Api 20C (SECRETAIN *et al.*, 1979).

3. — RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Période estivale

3.2.1. Prélèvements de juillet

L'examen du tableau I montre que la contamination microbiologique de l'eau de la plage du Sud est extrêmement faible ; les germes tests (coliformes totaux et coliformes fécaux) présentent des valeurs caractéristiques d'une eau de bonne qualité. On note également l'absence de staphylocoques pathogènes et du *Pseudomonas aeruginosa*.

Il convient de préciser, que pour juillet, nous n'avons pas produit les résultats concernant les streptocoques fécaux à cause des valeurs obtenues et dont la cause est inexplicée (250 à 150 000 germes/100 ml, à l'exception des témoins), sinon par une pollution de type accidentel.

Les moules (tabl. II) présentent, par contre, des teneurs plus élevées en coliformes que l'eau environnante, ce qui confirme le danger de consommer ces organismes filtrants, non stabulés, qui ont le pouvoir de concentrer les polluants à partir de l'eau de mer, même quand celle-ci est très peu contaminée.

Le sable présente aussi des teneurs plus élevées que l'eau de mer en germes-tests ; les stations les plus contaminées sont, par ordre décroissant des valeurs : A₁, A₁, A₂, B₁ et D₁. On note aussi la présence, non négligeable, des champignons pathogènes *Candida tropicalis* et *Candida pseudotropicalis* (tabl. III).

3.2.2. Prélèvements d'août

En août, les teneurs en coliformes totaux et en coliformes fécaux sont nettement plus élevées qu'en juillet (tabl. IV), plus particulièrement aux stations B₁, B₂, C₂ et D₁ ; cependant, les valeurs ne dépassent toujours par les normes en vigueur caractéristiques d'une eau de bonne qualité (tabl. VI et VII). On note, par contre, l'apparition de staphylocoques pathogènes (*Staphylococcus aureus*) dont les taux sont élevés aux stations C₁, C₂, B₁ et B₂ et de streptocoques fécaux, dont les valeurs sont très élevées et dépassent largement le nombre guide des normes européennes dans les stations D₁, B₂ et C₂ (tabl. VI et VII). Comme en juillet, le *Pseudomonas aeruginosa* est absent dans toutes les stations.

Globalement, pour l'ensemble des stations, le sable paraît moins contaminé par les coliformes totaux et les coliformes fécaux, en août, qu'en juillet. Dans le détail, on note cependant, des valeurs nettement plus élevées aux stations C₂ et C₁, lesquelles ont plus que décuplé par rapport à celles de juillet. Les streptocoques fécaux se trouvent également en abondance dans le sable, avec des valeurs maximales aux stations D₁ et A₂ (tabl. V). Le *Staphylococcus aureus* est présent dans 11 stations sur 17 ; tandis que le *Pseudomonas aeruginosa* est toujours absent de l'ensemble des échantillons. En ce qui concerne les champignons pathogènes, à la présence de *Candida tropicalis* et de *Candida pseudotropicalis*, s'ajoute celle de *Candida albicans* dans les stations B₂ et B₁ et de *Candida krusei* dans la station C₁ (tabl. V).

3.2. Période hivernale de référence

En hiver, en l'absence de toute activité touristique et balnéaire, nous avons étudié un nombre réduit d'échantillons, en sélectionnant les stations estivales les plus représentatives et les plus polluées (n° T₁, T₂, B₁, B₂, B₃, D₁, D₂, A₂ pour l'eau et B₁, B₂, B₃, B₄, C₃, C₄, D₁ et D₂ pour le sable). Les résultats de nos tests ont tous été négatifs.

4. — CONCLUSION

Les analyses ont clairement montré, qu'en hiver, l'eau et le sable de la plage du Sud sont exempts de contamination microbiologique, ce qui permet, en l'absence de rejets telluriques dans le secteur, d'attribuer la pollution estivale aux seules activités balnéaires et plaisancières. On note l'absence de baigneurs et de plaisanciers en hiver, et la présence de 150 personnes et 19 à 25 bateaux en été. Ce résultat est d'ailleurs conforté par la quasi-absence de germes-tests, en été, dans les deux zones témoins situées très au large de l'anse touristique du Sud.

En août, période de fréquentation maximale, les teneurs en coliformes totaux et en coliformes fécaux de l'eau sont plus élevées dans certaines stations, qu'en juillet; cependant, pour ces deux mois, les valeurs ne dépassent pas les normes en vigueur caractéristiques d'une eau de baignade de bonne qualité (tabl. VI). On note, par contre, l'apparition de nombreux staphylocoques et streptocoques fécaux dont les valeurs dépassent assez largement le nombre guide des normes européennes (tabl. VII) dans trois stations de prélèvement.

Le sable présente des teneurs assez élevées en germes-tests que l'absence de normes rend difficile de situer au point de vue sanitaire. Il convient de souligner, notamment, que les taux de coliformes totaux et de coliformes fécaux ont plus que décuplé en août, par rapport en juillet, dans deux stations de prélèvement les streptocoques fécaux sont aussi abondants et la présence de *Staphylococcus aureus* est notée dans 11 stations sur 17, en août.

En ce qui concerne les champignons, on note la présence d'un nombre relativement important d'espèces pathogènes, notamment *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* et *Candida pseudotropicalis*. Ces organismes sont connus comme étant souvent responsables de mycoses de la peau et des muqueuses et également de certaines formes de vaginite (SEGRETAIN *et al.*, 1979). *Candida albicans* et *Candida tropicalis* peuvent aussi être à l'origine de mycoses intestinales. Enfin *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida pseudotropicalis* peuvent être impliqués dans certaines formes de mycoses broncho-pulmonaires (SEGRETAIN *et al.*, 1979).

Il apparaît donc que, dans le cas de la plage du Sud, le danger potentiel pour les baigneurs, vient plus de la contamination microbiologique du sable que de celle de l'eau. Néanmoins, en l'absence de normes, de données bibliographiques précises et d'enquêtes épidémiologiques coordonnées avec l'analyse conjointe de l'eau et du sable, il est difficile d'apprécier les conséquences sanitaires exactes de cette situation tant en ce qui concerne la contamination par les germes bactériens que celle par les champignons pathogènes.

En vue d'approfondir ce problème, nous avons comme projet de réaliser une étude semblable à celle-ci, à Porquerolles, en collaboration avec le médecin de l'île, le Dr ROUSSEL, qui est particulièrement bien placé pour engager une enquête épidémiologique liée aux résultats des analyses. Le secteur le plus favorable nous paraît être la plage d'Argent, au niveau de laquelle nous avons déjà réalisé une étude exploratoire qui a révélé une contamination bactérienne indiscutable de l'eau (AUGIER *et al.*, 1984).

Enfin, l'examen global des résultats, tous milieux confondus, montre aussi que la contamination microbiologique d'une plage comme celle de l'Anse du Sud, n'est pas uniformément répartie ; ce qui confirme le fait qu'il est illusoire d'espérer réaliser une estimation valable de la pollution par l'examen d'un petit nombre d'échantillons, voire d'un seul tel que cela est pratiqué dans la plupart des enquêtes officielles ou para-officielles.

TABLEAU I. — Recherche des bactéries dans les prélèvements d'eau de mer (prélèvements effectués le 20 juillet 1984).

Stations	Coliformes totaux (/100 ml)	Coliformes fécaux (/100 ml)	Staphylocoques pathogènes (/100 ml)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (/100 ml)
T ₁	2	—	—	—
T ₂	4	1	—	—
A ₁	14	4	—	—
A ₂	9	7	—	—
A ₃	—	—	—	—
B ₁	9	4	—	—
B ₂	12	3	—	—
B ₃	8	4	—	—
B ₄	—	—	—	—
B ₅	—	—	—	—
C ₁	3	—	—	—
C ₂	—	1	—	—
C ₃	—	—	—	—
D ₁	30	9	—	—
D ₂	7	5	—	—

TABLEAU II. — Recherche des bactéries dans les moules (*Mytilus galloprovincialis*) prélèvements effectués le 20 juillet 1984).

Stations	Coliformes totaux (/g de chair humide)	Coliformes fécaux (/g de chair humide)	Streptocoques pathogènes (/g de chair humide)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (/g de chair humide)
M ₁	51	23	—	—
M ₂	27	9	—	—

TABLEAU III. — Recherche des micro-organismes dans les prélèvements de sable (prélèvements effectués le 20 juillet 1984).

Stations	Coli-formes (/100 g)	Coli-formes fécaux (/100 g)	Bactéries		Champignons	
			Staphylocoques pathogènes (/100 g)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (/100 g)	<i>Candida albicans</i> (/100 g)	<i>Candida tropicalis</i> (/100 g)
A ₁	920	380	—	—	—	—
A ₂	740	300	—	—	—	—
A ₃	360	80	—	—	—	—
A ₄	800	320	—	—	—	—
A ₅	220	100	—	—	—	—
B ₁	320	140	—	—	—	140
B ₂	140	—	—	—	—	440
B ₃	220	140	—	—	—	700
B ₄	560	60	—	—	—	200
B ₅	200	—	—	—	—	60
C ₁	300	40	—	—	—	—
C ₂	—	—	—	—	—	—
C ₃	100	—	—	—	—	—
C ₄	180	—	—	—	—	—
C ₅	140	40	—	—	—	—
D ₁	480	240	—	—	—	—
D ₂	180	60	—	—	—	1 040

TABLEAU IV. — Recherche des bactéries dans les prélèvements d'eau de mer de surface (prélèvements effectués le 16 août 1984).

Stations	Coliformes totaux (/100 ml)	Coliformes fécaux (/100 ml)	Staphylocoques aureus (/100 ml)	Streptocoques fécaux (/100 ml)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (/100 ml)
T ₁	—	—	—	—	—
T ₂	—	—	—	4	—
A ₁	12	4	—	20	—
A ₂	4	—	—	40	—
A ₃	—	—	—	44	—
B ₁	44	4	24	10	—
B ₂	39	32	16	2 700	—
B ₃	8	—	—	12	—
B ₄	4	—	—	8	—
B ₅	—	—	—	4	—
C ₁	—	—	100	32	—
C ₂	28	20	24	800	—
C ₃	12	—	4	84	—
D ₁	20	4	12	7 200	—
D ₂	—	—	—	4	—

TABLEAU V. — Recherche des micro-organismes dans les prélèvements de sable (prélèvements effectués le 16 août 1984).

Stations	Bactéries					Champignons		
	Coliformes totaux (/100 g)	Coliformes fécaux (/100 g)	Streptocoques fécaux (/100 g)	Staphylocoques aureus (/100 g)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (/100 g)	<i>Candida albicans</i> (/100 g)	<i>Candida pseudotropicalis</i> (/100 g)	<i>Candida krusei</i> (/100 g)
A ₁	—	—	304	4	—	—	—	—
A ₂	—	—	164	—	—	—	—	—
A ₃	20	12	1200	164	—	—	—	—
A ₄	8	—	100	28	—	—	—	—
A ₅	—	12	760	8	—	—	—	—
B ₁	36	16	64	12	—	—	30	—
B ₂	44	20	440	20	—	—	10	—
B ₃	12	8	132	—	—	32	—	—
B ₄	40	8	72	4	—	8	—	—
B ₅	—	—	52	—	—	—	—	—
C ₁	20	8	108	—	—	—	—	112
C ₂	172	28	104	20	—	—	16	—
C ₃	1600	180	52	—	—	—	—	—
C ₄	2800	508	108	20	—	—	12	—
C ₅	84	24	28	16	—	—	—	—
D ₁	44	8	1960	20	—	—	—	—
D ₂	180	44	72	—	—	—	—	—

TABLEAU VI. — Normes françaises de salubrité des eaux de baignade (d'après le *Journal officiel* du 8 juillet 1969 et la circulaire du ministère de la Santé, n° 843, du 28 juin 1976).

Echelle d'appréciation	Coliformes totaux (100 ml)	<i>Escherichia coli</i> (100 ml)
Eau de très bonne qualité	0 — 50	0 — 20
Eau de bonne qualité	50 — 500	20 — 200
Eau de qualité moyenne	500 — 5000	200 — 2000
Eau impropre à la baignade	> 5000	> 2000

TABLEAU VII. — Normes européennes de salubrité des eaux de baignade (d'après le *Journal officiel des Communautés européennes*, n° L 31/5, du 5 février 1976, G = guide; I = impérative).

Paramètres microbiologiques	G	I
Coliformes totaux/100 ml	500	10 000
Coliformes fécaux/100 ml	100	2 000
Streptocoques fécaux/100 ml	100	—

TABLEAU VIII. — Normes européennes de salubrité des coquillages (d'après le *Journal officiel des Communautés européennes*, n° L 281/62, du 10 novembre 1979, G = nombre guide).

Paramètres microbiologiques	G	Méthodes d'analyse de référence
Coliformes fécaux/100 ml	< 300 dans la chair de coquillage et le liquide inter-larvaire.	Méthode de dilution avec fermentation en substrats liquides dans au moins trois tubes dans trois dilutions. Repiquage des tubes positifs sur milieu de confirmation. Dénombrement selon Npp (nombre le plus probable). Température d'incubation $44 \pm 0,5$ °C.

BIBLIOGRAPHIE

- AUGIER H., 1985. — Etude biocénotique et cartographique de l'Anse du Sud (Parc national de Port-Cros). *Trav. sci. Parc nation. Port-Cros, Fr.*, 11 (sous presse).
- AUGIER H., AUBERT J., GUILLEMAUT C., 1984. — Première contribution à l'étude de la pollution bactérienne dans les zones de grande fréquentation balnéaire estivale des îles d'Hyères. *Trav. sci. Parc nation. Port-Cros, Fr.*, 10 : 27-35.
- CASSAGNE H., 1961. — *Milieux de culture*. Institut Pasteur, Edit. Paris, F. : 1-425.
- INSTITUT PASTEUR, 1981. — *Milieux et réactifs du laboratoire Pasteur*. Institut Pasteur, Edit. Paris, Fr. : 1-589.
- MORETEAU J.-C., 1981. — La navigation de plaisance dans le Parc national de Port-Cros. *Trav. Sci. Parc nation. Port-Cros, Fr.*, 7 : 11-24.
- SEGRETAIN G., DROUHET E., MARIAT F., 1979. — *Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale. Technique de base*. Maloine S.A., Edit., Paris, Fr. : 1-148.

Accepté le 24 février 1986