

Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg. Bull. K. Belg. Inst. Nat. Wet.	Bruxelles Brussel	30-IV-1981
53	B I O L O G I E	7

ANTIBIOSE BACTERIENNE DANS LES SEDIMENTS

PAR

Zima DARTEVELLE,

Institut royal des Sciences naturelles de Belgique

et

Pierre VLAYEN,

Université Catholique de Louvain - Laboratoire d'Ecologie Animale

(Avec 7 figures dans le texte)

RESUME

L'étude de substances antibiotiques, les bactériocines, suscita dès leur découverte en 1925, un vif intérêt dans le domaine épidémiologique et, par la suite, en taxonomie et en écologie microbienne.

A partir de 1969 de nombreux travaux ont tendu à prouver l'activité antibiotique des bactéries marines vis-à-vis des germes d'origine continentale.

Nous désirons ici souligner la présence d'une nette activité bactériolytique ou bactériostatique dans les sédiments de l'étang de Virelles en Belgique. Nous avons isolé et déterminé 36 germes bactériocinogènes et 19 germes sensibles. Les premiers sont représentés principalement par les genres *Bacillus* et *Pseudomonas*.

Une étude plus détaillée contribue à la connaissance des potentialités enzymatiques des germes considérés.

Le germe le plus sensible à l'inhibition est un *Bacillus cereus* var. *mycoïdes*, qui présente par ailleurs la particularité d'envahir rapidement tout milieu nutritif s'il ne rencontre pas de compétiteurs.

1. INTRODUCTION

L'étude des substances produites par les bactéries débuta en 1925, lorsque GRATIA découvrit l'antibiose d'une souche d'*Escherichia coli* vis-à-vis d'une autre souche de la même espèce. En 1946, GRATIA et FREDERICQ proposèrent le terme de « colicine » pour ces substances

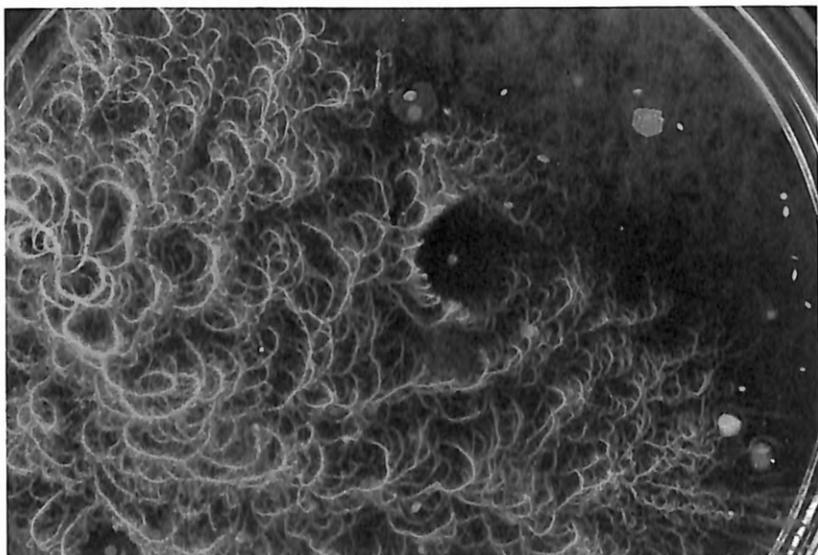


Fig. 1. — Milieu de culture envahi par *Bacillus cereus mycoïdes*, avec plage d'inhibition autour d'une colonie bactériocinogène.

Lorsqu'on s'aperçut que d'autres bactéries possédaient des propriétés analogues, le terme de « colicine » fut remplacé par celui de « bactériocine » selon la suggestion de JACOB et coll. (1953).

Parmi les travaux réalisés sur ce phénomène, ceux de A. GRATIA, P. FREDERICQ et Y. HAMON sont probablement les plus nombreux. Ils ont trait notamment à la méthodologie, aux mécanismes de transfert du pouvoir antibiotique et à la nécessité d'opérer la distinction entre lysogénie et bactériocinogénie, encore que ces dernières présentent de nombreux points communs.

Des dizaines d'autres auteurs se sont également penchés sur le problème mais il n'entre pas dans notre propos d'en établir une revue exhaustive. Beaucoup d'entre eux ont travaillé à extraire et identifier les substances en cause qui sont généralement des substances protéiques ou à groupement protéique (MAYR-HARTING et Coll., 1972; HAMON et PERON, 1977)

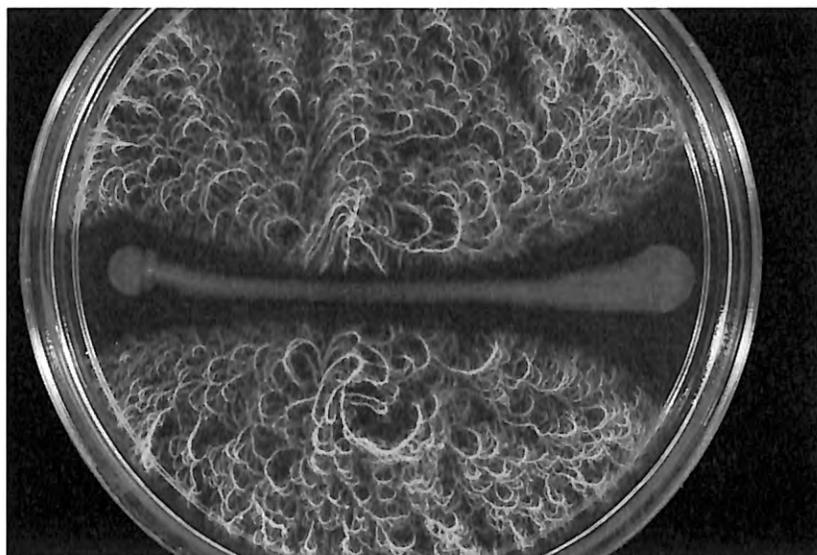


Fig. 2. — Inhibition mise en évidence par la technique des stries perpendiculaires, (cfr 2.3).

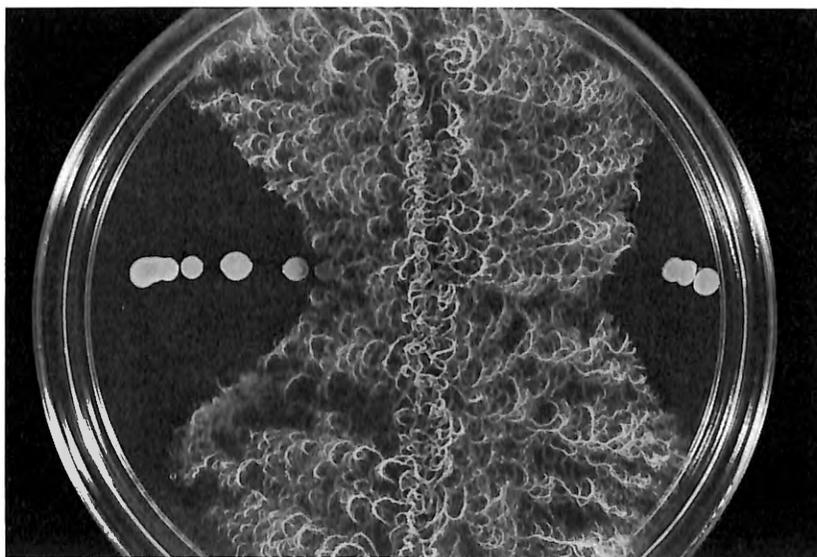


Fig. 3. — Inhibition mise en évidence par la technique des stries perpendiculaires, (cfr 2.3).

quelquefois des lipo-polysaccharides (GAUTHIER, 1970) ou des polymères contenant de l'acide β -glucuronique (BERNARD et PETTAZZI, 1977).

Actuellement il existe un regain d'intérêt pour les bactériocines dans le domaine épidémiologique, depuis que GRATIA et FREDERICQ (1946), SHANNON (1957), HAMON (1958), LINTON (1960), GILLIES (1978), BRANDIS (1978), TRAUB (1978) et d'autres encore, ont montré l'intérêt évident du pouvoir antibiotique dans le typage des bactéries. Il permet d'aider au diagnostic lorsque celui-ci n'est pas possible par les techniques sérologiques habituelles, les techniques biochimiques ou le typage par bactériophage.

KRASSILNIKOV propose déjà en 1956 une classification des Actinomycètes basée sur les antibiotiques qu'ils produisent.

Différentes recherches, depuis celles de ZOBELL (1935), CARLUCCI et FRAMER (1960), KRASSILNIKOVA (1961), AUBERT (1966), BAAM et coll. (1966), JANNASH (1968), LEBEDEVA et MARKIANOVIC (1971), BERNARD ET PETTAZZI (1977) et surtout GAUTHIER (1969 et 1970), ont tendu à prouver l'importance de l'activité antibiotique des bactéries marines, qui seraient ainsi un des facteurs responsables de la réduction rapide, en mer, des germes d'origine continentale.

Il est utile de noter, à ce propos, que BRISOU et DENIS (1978) insistent sur le fait qu'on a abusé du terme d'antibiose pour rendre compte d'un phénomène d'autoépuration naturelle du milieu marin, provoqué entre autres par la dilution.

RAVERDY (1973) ainsi que GAVINI et LECLERC (1975) ont isolé de l'eau douce des bactéries possédant une activité bactériolytique.

En ce qui concerne les sols, GOTTLIES (1976) par exemple, explique que l'antagonisme microbien a été mis à profit pour tenter d'éliminer des pathogènes de végétaux en agronomie. Malheureusement l'antibiotique disparaît très vite du sol, étant soit dégradé par d'autres germes, soit adsorbé sur des argiles.

Nous désirons, pour notre part, souligner la présence d'une nette activité bactéricide ou bactériostatique dans les sédiments lacustres. Nous avons travaillé sur l'étang de Virelles, qui est le plus grand étang d'origine naturelle de Belgique. L'objet de nos travaux portait sur un tout autre sujet mais au cours d'une phase préliminaire de dénombrement des germes aérobies hétérotrophes des sédiments, l'occasion nous a été donnée d'observer des phénomènes d'antibiose sur toutes les boîtes de comptage.

Nous n'avons jamais observé un phénomène aussi évident lors de nos nombreux dénombrements de bactéries des eaux, qu'elles soient douces ou marines. Nous avons alors porté notre attention sur l'isolement et la détermination des bactéries en cause.

2. MATERIEL ET METHODES

L'eau de lavage de nos sédiments était incluse, par fractions décimales, dans des géloses nutritives préparées avec de l'eau d'étang et du Bacto

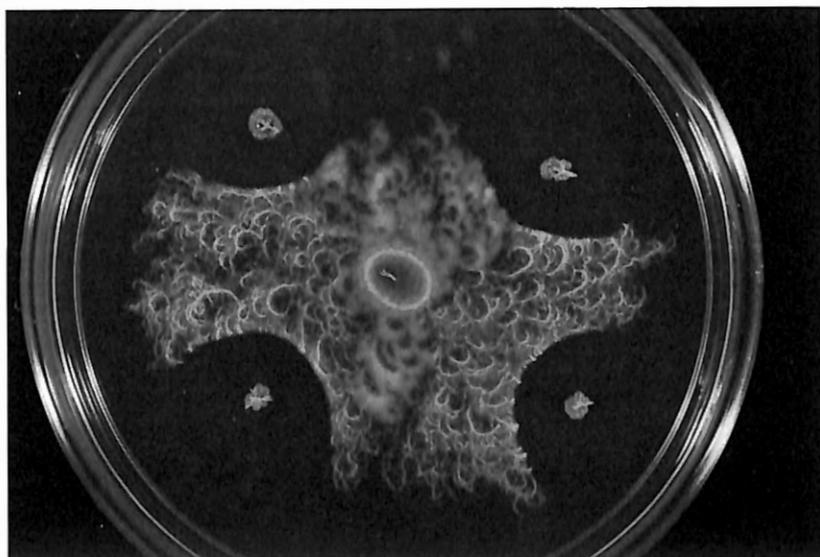


Fig. 4. — Inhibition mise en évidence par la technique des cultures par piqûres, (cfr 2.4).

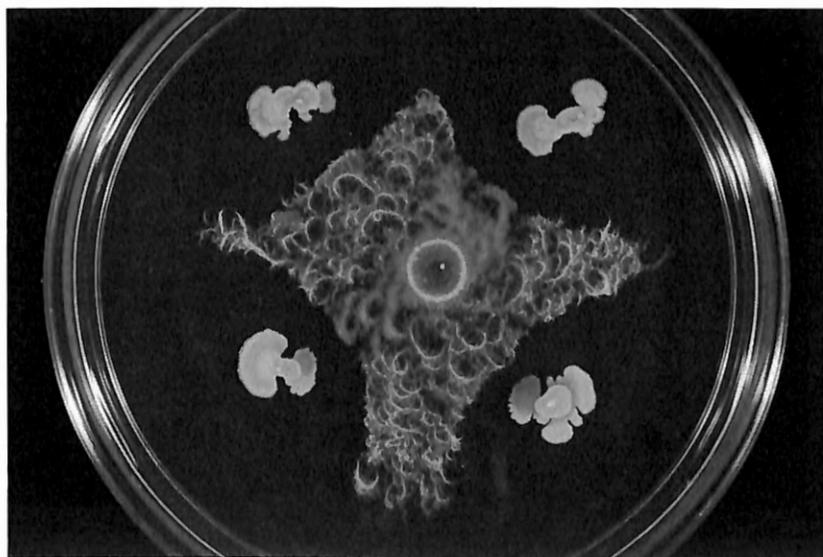


Fig. 5. — Inhibition mise en évidence par la technique des cultures par piqûres, (cfr 2.4).

Tryptone Glucose Extract Agar. Les boîtes, incubées à la température du laboratoire durant le nombre de jours utiles, permettaient alors le dénombrement des colonies.

Lorsqu'une boîte de culture présentait une ou plusieurs plages d'inhibition bactérienne, induite par le germe qui se trouvait au centre de la plage, les germes inhibants et inhibés étaient isolés, purifiés et cultivés. Chacune des 55 souches ainsi obtenue était ensuite soumise à la batterie de tests enzymatiques (BRISOU, 1971) permettant d'aboutir à leur détermination. Cette dernière est basée sur les critères du Bergey's Manual (BUCHANAN et GIBBONS, 1975) mais aussi, comme il s'agit principalement de *Bacillus*, sur les ouvrages de LEMILLE et coll. (1969) et de de BARJAC et BONNEFOI (1972), ainsi que sur les thèses de JOLY (1973) et GESLIN (1975) qui comparent utilement les données des autres spécialistes en matière de *Bacillus*.

En plus des déterminations, nous avons tenté de reproduire les phénomènes de bactériocinogénie, suivant les diverses méthodes reprises dans « Methods in Microbiology » par MAYR-HARTING et coll. (1972).

Nous avons plus particulièrement réalisé les tests suivants :

- 1) les germes inhibants sont inclus, à la dilution appropriée, entre 2 couches de gélose nutritive qui sera ensuite tapissée avec le germe sensible. Celui-ci présentera des plages d'inhibition aux endroits où il se trouve superposé à des germes bactériocinogènes;
- 2) des géloses nutritives sont tapissées avec le germe sensible, sur lequel on dispose ensuite des gouttes de dilution décimale successives d'une culture liquide de 48 h du germe inhibant. Cette méthode de détection du pouvoir bactériocinogène permet en outre, de par la forme soit continue soit discrète des plages d'inhibition, d'opérer la distinction entre lysogénie et bactériocinogénie;
- 3) des géloses nutritives sontensemencées au moyen de 2 stries perpendiculaires, l'une formée du germe sensible et l'autre du germe inhibant. L'endroit de jonction des stries permet de déceler l'étendue de l'inhibition;
- 4) les souches bactériocinogènes sontensemencées par piqûres, au moyen d'un fil de platine, dans une gélose nutritive. Après 48 h d'incubation, les colonies étant développées, les boîtes sont tapissées avec le germe sensible, qui sera empêché de croître aux alentours des colonies.

Finalement nous avons apporté des modifications aux techniques précédentes, ce qui nous a permis d'obtenir de meilleurs résultats :

- 5) le milieu nutritif a été préparé avec de l'eau d'étang et du Bacto Tryptic Soy Agar;
- 6) lorsque le germe sensible était un *Bacillus cereus* var. *mycoïdes*, très envahissant, il étaitensemencé non plus par étalement sur la gélose mais par une seule piqûre dans celle-ci;

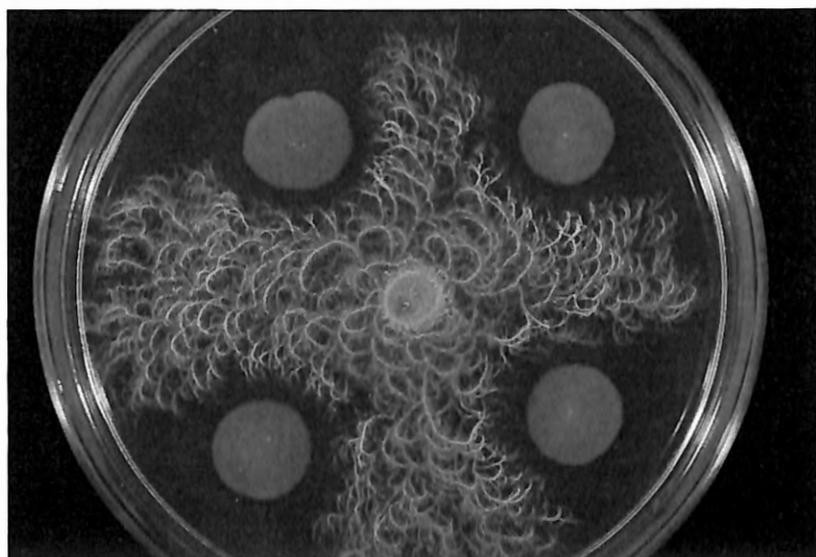


Fig. 6. — Inhibition mise en évidence par la technique des cultures par piqûres, (cfr 2.4).

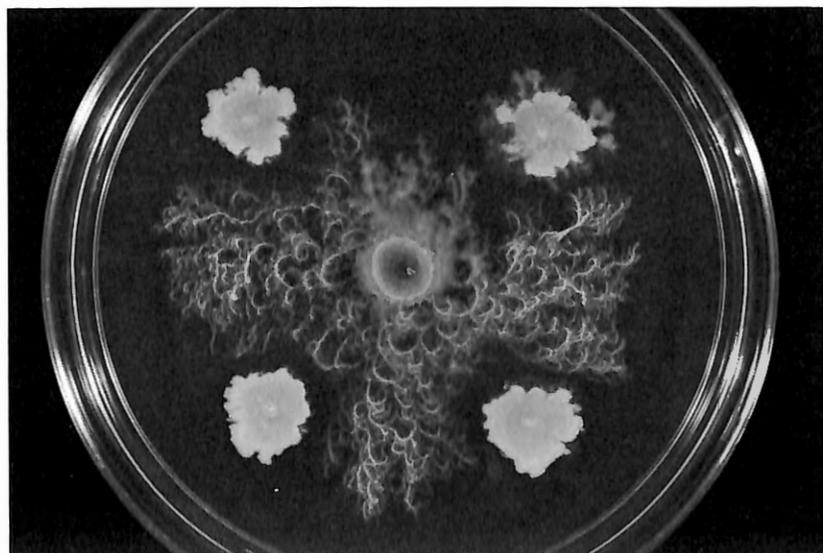


Fig. 7. — Inhibition mise en évidence par la technique des cultures par piqûres, (cfr 2.4).

- 7) enfin, dans le but de reproduire les conditions initiales, nous avons fait des dilutions successives d'une culture de 48 h des souches bactériocinogènes (une moyenne de $10 \cdot 10^6$ germes/ml), qui étaient ensuite incluses en gélose nutritive. Après séchage du milieu, le germe sensible y était ensemencé par piqûre.

3. RESULTATS

55 germes ont été isolés. Parmi ceux-ci, 36 se sont avérés responsables d'antibiose, tandis que les 19 autres étaient sensibles.

3.1. Identification

Les 19 germes sensibles ayant été identifiés, nous retrouvons toujours les 2 mêmes espèces, à savoir 15 fois *Bacillus cereus* var. *mycoïdes* et 4 fois *Bacillus pumilus*.

Il est à noter qu'au cours de nos travaux sur ces sédiments, nous avons toujours rencontré le *mycoïdes*, qui présente par ailleurs la caractéristique d'envahir très rapidement la surface des milieux de culture.

Parmi les 36 germes inhibants la diversité est plus marquée, encore que la majorité soit constituée de *Bacillus* et que les *Pseudomonas* appartiennent tous à l'espèce *fluorescens*. Nous retrouvons, par ordre d'importance :

- 12 *Bacillus cereus*
- 5 *Bacillus pumilus*
- 5 *Pseudomonas fluorescens* type III
- 2 *Pseudomonas fluorescens* type II
- 3 *Vibrio* sp.
- 2 *Bacillus* sp., longs et flexueux, à spore déformante, n'acidifiant pas le glucose
- 1 *Bacillus megaterium*
- 1 *Bacillus badius*
- 1 *Bacillus polymyxa*
- 1 *Bacillus circulans*
- 1 *Bacillus brevis*
- 1 *Staphylococcus* sp.
- 1 *Actinomycète*

3.2. Epreuves enzymatiques

Les épreuves enzymatiques, ayant permis la détermination, contribuent en outre à la connaissance de l'écologie microbienne des sédiments. Nous avons classé les potentialités enzymatiques des germes considérés, selon leur ordre d'importance décroissante.

Production de PROTEASE (Gélatinase)	98 %
Oxydation du GLUCOSE	91 %

Fermentation du GLUCOSE	82 %
Oxydation du TREHALOSE	76 %
Réaction de VOGES-PROSKAUER	71 %
Oxydation du MALTOSE	60 %
Oxydation du SACCHAROSE	56 %
Oxydation du LEVULOSE	51 %
Réduction de l'ESCULINE	49 %
Hydrolyse de la SALICINE	45 %
Production de β -GALACTOSIDASE (ONPG)	44 %
Réduction des NITRATES en NITRITES	40 %
Oxydation du GLYCEROL	31 %
Oxydation du MANNITOL	29 %
Oxydation du CELLOBIOSE	27 %
Production d'UREASE	25 %
Production d'OXYDASE	24 %
Oxydation de l'ARABINOSE	22 %
Oxydation du GALACTOSE	22 %
Décarboxylation du CITRATE	18 %
Dihydrolyse de l'ARGININE	15 %
Oxydation du XYLOSE	13 %
Oxydation du MELIBIOSE	13 %
Production de PHENYLALANINE DESAMINASE	9 %
Oxydation du RAFFINOSE	7 %
Production d'INDOLE	5 %
Production de H ₂ S	4 %
Décarboxylation de l'ORNITHINE	4 %
Oxydation de l'INOSITOL	2 %
Oxydation de LACTOSE, RHAMNOSE, ADONITOL, DULCITOL, SORBITOL	0 %
Décarboxylation de la LYSINE	0 %

3.3. Sensibilité à divers antibiotiques

A titre d'information nous avons testé la sensibilité du *Bacillus cereus* var. *mycoïdes* à divers antibiotiques. Ce germe s'est avéré sensible à la plupart d'entre eux.

Son développement est inhibé, selon l'ordre d'importance décroissante, par TETRACYCLINE, NEOMYCINE, CHLOROMYCETINE, ERYTHROMYCINE, KANAMYCINE, STREPTOMYCINE. Il est résistant à la PENICILLINE et à la NOVOBIOCINE.

3.4. Présence d'enzymes libres dans les sédiments

Des tests effectués au moyen des galeries commerciales API ZYM nous ont permis de vérifier la présence de certaines enzymes libres dans le

liquide interstitiel des sédiments. Sur 15 cm de profondeur, nous avons constaté la présence de PHOSPHOAMIDASE et d'ESTERASE LIPASE (C8) ainsi que des traces de PHOSPHATASE ACIDE, PHOSPHATASE ALCALINE, ESTERASE (C4) et LIPASE (C14).

3.5 Expression quantitative

A titre exemplatif, nous avons obtenu, en juillet 1980, au départ de 12 comptages dont les résultats ci-dessous représentent la moyenne pondérée :

Nombre total de bactéries aérobies hétérotrophes	Nombre de <i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoïdes</i>	Nombre de germes inhibant le <i>mycoïdes</i>
—	—	—
212.10 ⁶ par ml	75 600/ml	77 000/ml
de sédiments de surface		

3.6 Reproduction du phénomène d'inhibition

Ainsi que nous l'avons signalé plus haut, le phénomène est plus apparent sur milieu nutritif à base d'eau de l'étang et de Tryptic Soy Agar. Parmi les méthodes utilisées, les plus évidentes sont celles où le germe est ensemencé par piqûre (cfr. 2.4.) et celles qui reproduisent les conditions initiales (cfr. 2.7.).

Certains résultats sont illustrés par les photos 1 à 7. Nous n'avons pas observé de phénomènes de lysogénie.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Bacillus cereus var. *mycoïdes* est le germe qui nous est apparu le plus sensible aux inhibiteurs. Il est particulièrement abondant et se caractérise par sa rapidité de propagation en milieu nutritif s'il ne rencontre pas de compétiteurs. Il est sensible à chacun des germes rencontrés et énumérés dans ce travail.

Bacillus pumilus, second germe sensible, est inhibé par *Vibrio* sp., *B. cereus*, *B. circulans*, *B. polymyxa* et par une autre souche de *pumilus*.

Dans l'échantillon examiné, on constate la formation de protéase dans 100 % des cas si l'on excepte l'Actinomycète. L'oxydation du glucose est très commune. Les tréhalose, saccharose, maltose et lévulose peuvent être oxydés par plus de la moitié des microorganismes. Par contre l'oxydation d'arabinose, galactose, melibiose, raffinose et xylose est faible. Les alcools comme adonitol, dulcitol et sorbitol ne sont jamais attaqués, non plus que le lactose. La lysine n'est jamais décarboxylée. Il est bien évident que dans l'immédiat rien ne nous permet d'étendre ces considérations sur

les valeurs relatives des potentialités enzymatiques à l'ensemble des bactéries du sédiment. La poursuite de nos travaux complètera utilement ces données.

Au stade actuel de nos recherches, il est difficile d'établir la proportion de bactéries capables d'inhibition, étant donné que les colonies qui pourraient en inhiber d'autres ne sont pas forcément voisines dans la boîte de culture. Le seul moyen serait de tester tous les germes entre eux, ce qui est matériellement irréalisable. Nous pouvons tout au plus donner un ordre de grandeur en ce qui concerne le *mycoïdes*. Etant donné que celui-ci envahit rapidement la surface des milieux de culture, il est aisé de dénombrer les plages d'inhibition. On peut ainsi évaluer le nombre de bactéries inhibitrices du *mycoïdes* à 77.000 par ml de sédiments (cfr. 3.5.) ce qui correspond à 0,04 % des germes présents.

En outre on peut constater qu'il existe pratiquement autant d'inhibiteurs que de *mycoïdes*.

A titre de comparaison, notons que KRASSILNIKOV (1958) a trouvé, dans divers types de sol, de 10^3 à 10^5 bactéries antagonistes de *mycoïdes* par g de sol.

Enfin, on peut s'interroger quant au rôle ou à la finalité des bactériocines (*sensu lato*).

GOTTLIES (1976) fait remarquer qu'on ne peut prouver le rôle des bactériocines dans le sol puisqu'elles y sont rapidement inactivées. D'autres estiment que le rôle principal de ces substances ne réside pas dans leurs propriétés antagonistes mais qu'elles favorisent la fertilité des bactéries (HAMON et PERON, 1963).

Cependant l'importance de l'antagonisme semble reconnu en pathologie, quand FREDERICQ (1957) écrit : « La production de colicine par certains pathogènes intestinaux est certainement un facteur important dans leur lutte pour s'implanter dans l'intestin. Les souches produisant une colicine active contre *Shigella* sont plus fréquentes chez les dysentériques que chez les patients normaux ».

Quoi qu'il en soit, et même s'il s'agit d'un effet secondaire, la conséquence écologique des bactériocines apparaît clairement. En effet, les plages d'inhibition observées ne sont-elles pas le reflet d'une interaction (antagonisme) entre les microorganismes d'un même milieu ?

Le phénomène d'antibiose permet, en ce cas, de préciser un rôle écologique des bactériocines, à savoir la compétition entre les germes.

De plus, sachant qu'il existe, dans un biotope donné, une série de mécanismes compensatoires assurant un équilibre biologique, il n'est pas exclu d'imaginer que les bactériocines, peut-être polyvalentes, en fassent partie. Ainsi *B. cereus mycoïdes*, qui possède une rapidité de propagation supérieure à la moyenne, est précisément sensible à un grand nombre de bactéries taxonomiquement différentes.

Les sédiments lacustres pourraient être comparés au vaste appareil digestif de l'écosystème étang, conditionné par les microorganismes. Les phénomènes qui s'y produisent sont tellement nombreux, complexes et

variés qu'on ne peut les dissocier. Il semble logique toutefois de penser que l'antibiose soit un des éléments des multiples interactions qui régissent la compétition entre les germes, voisins dans un même milieu.

Ce travail a été réalisé avec la collaboration de Myriam GOESSENS-CANON, première technicienne à la recherche. Les photos sont de Constant SCHOEMAKER.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ABBOT, J. et SHANNON, R.
1958. A method for typing *Shigella sonnei* using colicine production as a marker. — *J. Clin. Path.*, 11, 71-77.
- AUBERT, M.
1966. Le comportement des bactéries terrigènes en mer. Relations avec le phyto-plancton. — *Thèse de Doctorat. Université d'Aix-Marseille*, 285 p.
- BAAN, B. R., GNADHI, N. M. et FREITAS, Y. M.
1966. Antibiotic activity of marine microorganisms. — *Helgoländer Wiss. Meeresunters*, 13, 1-2.
- de BARJAC, H. et BONNEFOI, A.
1972. Essai de classification biochimique de 64 *Bacillus* des groupes II et III représentant 11 espèces différentes. — *Ann. Inst. Pasteur*, 122, 463-473.
- BERNARD, P. et PETTAZZI G.
1977. Purification partielle de deux antibiotiques produits par une bactérie marine appartenant au genre *Alteromonas*. — *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, XLV-XLVI, 59-70.
- BRANDIS, H.
1978. Vibriocin typing. In : *Methods of Microbiology*. — *Academic Press*, Vol. 12, 117-126.
- BRISOU, J. E.
1971. Techniques d'enzymologie bactérienne. — *Masson*, 286 p.
- BRISOU, J. E. et DENIS, F. A.
1978. Hygiène de l'environnement maritime. — *Masson*, 218 p.
- BUCHANAN, R. et GIBBONS, N.
1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th edition. — *William and Wilkins Company, Baltimore*, 1268 p.
- CARLUCCI, A. F. et PRAMER, D.
1960. Survival of *Escherichia coli* in sea water. IV. Antibiotics. — *Appl. Microbiol.*, 14, 4.
- FARMER, J. J.
1972. Epidemiological differentiation of *Serratia marcescens*: typing by bacteriocin production. — *Appl. Microbiol.*, 23, 218-225.
- FREDERICQ, P.
1957. Colicins. — *Annual Review of Microbiology*, II, 7-22.
- GAUTHIER, M.
1969. Substances antibactériennes produites par les bactéries marines. 1^e partie. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, XVII, 23-43.
1970. Substances antibactériennes produites par les bactéries marines. 2^e partie. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, XVII, 23-45.
1972. Antagonismes et synergies dans l'antibiose chez certaines bactéries marines. Rôle de certaines enzymes respiratoires dans ce phénomène. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, XXVI, 65-83.
- CAVINI, E. et LECLERC, H.
1975. Etude des bacilles Gram négatif pigmentés en jaune, isolés de l'eau. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, XXXVII-XXXVIII, 17-68.

GESLIN, M.

1975. Place du genre *Bacillus* en microbiologie comparée. Etude de 409 souches de provenance variée. — *Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Poitiers*, 154 p.

GILLIES, R. R.

1978. Bacteriocin typing of *Enterobacteriaceae*. In : *Methods in Microbiology*. — *Academic Press*, Vol. 11, 79-86.

GRATIA, A.

1925. Sur un remarquable exemple d'antagonisme entre deux souches de Colibacille. — *C. R. Séanc. Soc. Biol.*, 93, 1040-1041.

GRATIA, A. et FREDERICQ, P.

1946. Diversité des souches antibiotiques de *B. coli* et étendue variable de leur champ d'action. — *C. R. Séanc. Soc. Biol.*, 140, 1032-1033.

GOTTILIES, D.

1976. The production and role of antibiotics in soil. — *J. Antibiot. J. A. P.*, 29, 10, 987-1000.

GOVAN, J. R. W.

1978. Pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa*. In : *Methods in Microbiology*. — *Academic Press*, Vol 10, 61-92.

HAMON, Y.

1958. Etude des images de sensibilité de *E. coli* pathogène pour le nourisson à diverses colicines types. Intérêt épidémiologique de cette étude. — *Ann. Inst. Pasteur*, 95, 1, 117-121.

HAMON, Y. et PERON, Y.

1963. Etude du pouvoir bactériocinogène dans le genre *Listeria*. II. Individualité et classification des bactéries en cause. — *Ann. Inst. Pasteur*, 104 (1), 876-889.

1977. Description de quelques épreuves simples permettant de distinguer les bactériocines *sensu stricto* des autres agents bactériens produits par les bactéries. — *C. R. Acad. Sc. Paris*, 285, D, 1215.

JACOB, F., LWOFF, A., SIMINOVITCH, A. et WOLLMAN, E.

1953. Définition de quelques termes relatifs à la lysogénie. — *Ann. Inst. Pasteur*, 84, 222-224.

JANNASCH, H. W.

1968. Competitive elimination of *Enterobacteriaceae* from sea water. — *Appl. Microbiol.*, 16, 10, 1616-1618.

JOLY, B.

1973. Contribution à l'identification du genre *Bacillus* pour l'étude normalisée des caractères enzymatiques. Intérêt en taxonomie. — *Thèse Doctorat en Pharmacie. Université de Clermont-Ferrand*, 156 p.

KRASSILNIKOV, N. A.

1956. La classification des Actinomycètes producteurs d'antibiotiques. — *Ann. Inst. Pasteur*, 92, 5, 597-604.

1958. Soil microorganisms and higher plant (trad. angl. 1961). — *Office of technical service, U. S. dept. of Commerce, Washington*.

KRASSILNIKOVA, E. N.

1961. Propriétés antibiotiques de microorganismes marins isolés à différentes profondeurs. — *Mikrobiologia*, 30, 653-791.

LEBEDEVA, M. N. et MARKIANOVIC, E. M.

1971. Antibiotics properties of heterotrophic bacteria in south seas. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, XXIV, 136-137.

LINTON, K. B.

1960. The colicin typing of coliform bacilli in the study of cross-infection in urology. — *J. Clin. Path.*, 13, 168-172.

LEMILLE, F., de BARJAC, H. et BONNEFOI, A.

1969. Essai sur la classification biochimique de 97 *Bacillus* du groupe I appartenant à 9 espèces différentes. — *Ann. Inst. Pasteur*, 116, 808-819.

MAYR-HARTING, A., HEDGES, A. J. et BERKELEY, R. C. W.

1972. Methods for studying bacteriocins. In: *Methods in Microbiology*. — *Academic Press*, Vol 7 A, 315-422.

RAVERDY, J.

1973. Sur l'isolement et l'activité bactériolytique de quelques myxobactéries isolées de l'eau. — *Wat. Res.*, 7, 687-693.

TRAUB, W. H.

1978. Bacteriocin typing of clinical isolates of *Serratia marcescens*. In: *Methods in Microbiology*. — *Academic Press*, Vol. 11, 223-242.

ZOBELL, C. E.

1936. Bacterial action of sea water. — *Proceeding Soc. for Exp. Biol. and Med.*, 34, 2, 113-116.