

Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg. Bull. K. Belg. Inst. Nat. Wet.	Bruxelles Brussel	30-IV-1973
49	B I O L O G I E	2

CONSIDERATIONS SUR L'ETAT BACTERIOLOGIQUE  
DE QUELQUES PLAGES BELGES

PAR

Z. DARTEVELLE

SOMMAIRE

	Pages
Introduction ... ..	1
A. — Coliformes et germes banaux ... ..	2
1. — Techniques ... ..	2
2. — Prélèvements ... ..	5
3. — Présentation des résultats ... ..	6
4. — Analyse des résultats ... ..	17
5. — Conclusions ... ..	20
B. — Germes pathogènes ... ..	23
1. — Note préliminaire ... ..	23
2. — Germes recherchés ... ..	23
3. — Remarque ... ..	24
Résumé ... ..	24
Bibliographie ... ..	25

INTRODUCTION

La première partie de cette étude porte sur l'analyse bactériologique de 205 échantillons de sable prélevés sur des plages de la côte belge et dans le chenal de Nieuwpoort.

La recherche est basée sur la détection des bactéries d'origine terrigène, indice de contamination fécale.

Il nous a paru intéressant de déceler, dans la distribution des Coliformes, l'éventuelle influence des facteurs suivants :

- saison;
- marée;
- présence humaine et animale;
- apport d'un effluent.

La méconnaissance de l'état sanitaire des plages reste une lacune qui devrait, nous semble-t-il, être comblée.

En effet, un schéma général des pollutions microbiennes marines ne peut être esquissé qu'après l'examen de chacun des facteurs intervenant dans un ensemble aussi complexe.

En complément à cette étude, 30 échantillons de sable et 7 échantillons d'eau ont fait l'objet d'une recherche de germes pathogènes. Les techniques utilisées et les résultats obtenus figurent dans la seconde partie de cette publication. Madame L. DESMET-PAIX, responsable de la Section bactériologique du Laboratoire Intercommunal de l'Agglomération Bruxelloise, a bien voulu se charger de cette recherche.

Nous tenons à lui en exprimer notre reconnaissance.

## A. — COLIFORMES ET GERMES BANAUX

### 1. — Techniques

#### 1.1. — Echantillonnage

Aux endroits prévus, deux à trois grammes de sable sont prélevés en surface, au moyen d'un écouvillon contenu dans un double tube stérile (modèle médical) en matière plastique, ouvert à l'instant du prélèvement et refermé aussitôt.

Les tubes sont transportés au laboratoire dans les minutes qui suivent.

Le tube intérieur gradué est ouvert en laboratoire, rempli d'eau distillée stérile, jusqu'à la contenance de 10 ml et refermé. Il est ensuite agité manuellement durant 5 minutes. En fonction des quantités requises pour l'analyse, l'eau est prélevée du tube au moyen d'une pipette stérile, et analysée. La teneur en germes est calculée sur la base des 10 ml d'eau dans laquelle se retrouvent, en suspension, les bactéries du sable.

ANDERSON et MEADOWS (1969), qui ont expérimenté soigneusement la technique de comptage en totalité des bactéries de la zone intertidale, préconisent un rinçage du sable dans une solution de teepol à 0,1 %.

Notre intérêt s'étant porté sur les bactéries viables, d'origine terrigène, de préférence à la totalité des bactéries (viables ou non), il nous a paru préférable d'effectuer un rinçage du sable à l'eau distillée.

Le sable, se déposant rapidement, est absent du surnageant et se retrouve en quantité égale en fin d'analyse.

Les tubes ouverts sont enfin placés à l'étuve. Après séchage complet, le sable est pesé, ce qui permet d'exprimer les résultats définitifs par rapport au gramme de sable sec.

#### 1.2. — Recherche des Coliformes totaux et des *Escherichia coli*

La culture des échantillons d'eau est développée sur « lactose broth » incubé durant une période de 24 à 48 heures, à une température de 37 °C.

Les tubes positifs sont confirmés par passage sur « brilliant green bile 2 % » incubé dans les mêmes conditions, suivant la technique recommandée par l'« American Public Health Association » (1970).

Les résultats sont reportés en termes de « Most Probable Number » (MPN).

Parmi les Coliformes totaux, les *Escherichia coli* sont confirmés par passage sur « brilliant green bile 2 % » et sur « bacto-tryptone » incubés durant une période de 24 à 48 heures, à une température de 44 °C, ainsi que par la mise en évidence d'une production d'indol. Celle-ci est vérifiée sur la culture de « bacto-tryptone » au moyen du réactif de Kovacs.

Comme pour les Coliformes totaux, les résultats sont reportés en termes de MPN.

#### 1.3. — Recherche des germes totaux

Des fractions d'eau déterminées sont incluses dans du « tryptone glucose extract agar » coulé en boîtes de Pétri et incubé à une température de 37 °C.

Un premier dénombrement s'effectue après 24 heures, un second après 3 jours. En effet, la totalité des colonies n'est développée qu'après un délai de 2 à 3 jours, période à l'issue de laquelle les boîtes sont parfois envahies par des moisissures, ce qui rend le dénombrement impossible; d'où l'utilité d'un premier comptage après 24 heures.

#### 1.4. — Recherche des Bactériophages

La présence de Bactériophages dans l'eau de mer a fait l'objet de nombreuses recherches qui seront commentées dans une publication ultérieure.

Figurant en très grand nombre dans les eaux polluées, ils n'ont pas été décelés dans les sables analysés sauf dans ceux du chenal de Nieuwpoort.

#### 1.5. — Recherche des germes en profondeur

Quelques analyses ont été effectuées sur du sable prélevé à différentes profondeurs.

L'usage d'un carottier risquant d'entraîner une contamination due soit à l'appareil même, soit au déplacement de particules ou d'eau interstitielle, nous avons préféré creuser un trou à la pelle, ainsi que le préconise DELAMARE-DEBOUTTEVILLE (1960) pour la récolte des eaux interstitielles.

Lorsque la profondeur voulue est atteinte, une dernière pelletée de sable est enlevée et déposée sur le sol assez brusquement pour que la motte se brise d'elle-même.

L'échantillon de sable est alors prélevé stérilement au centre de celle-ci.

## 2. — Prélèvements

### 2.1. — Localisation

La section de plage, située à Oostende, à hauteur de l'Ecole Technique Supérieure, entre les brise-lames n° 8 et n° 9 (\*), est considérée dans ce

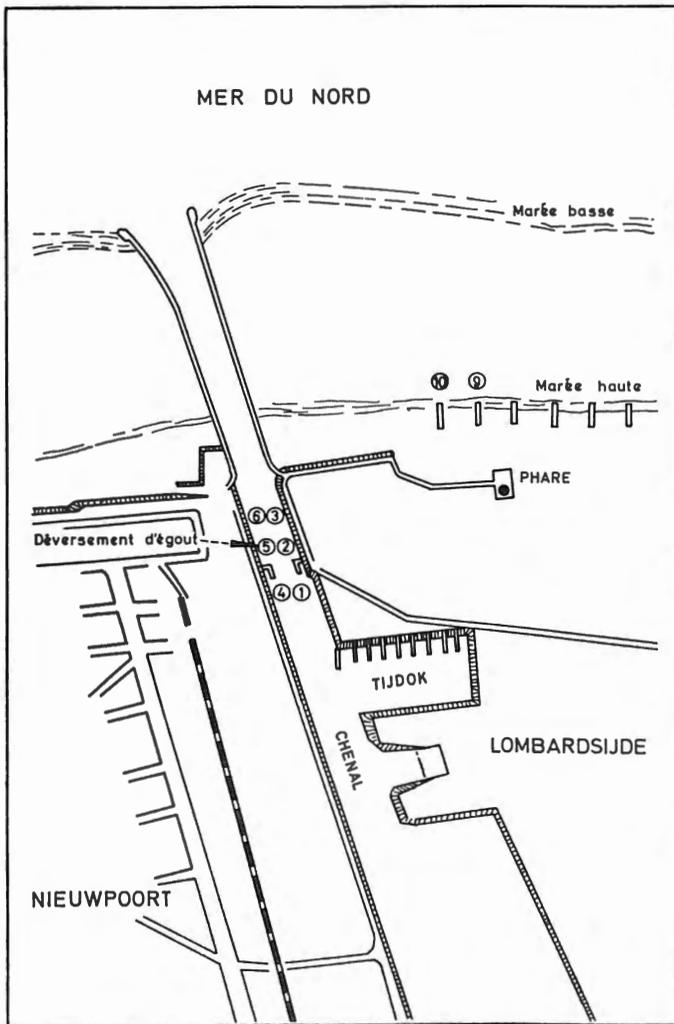


Schéma n° 1. — Localisation des prélèvements effectués à Lombardsijde et à Nieuwpoort.

travail comme lieu d'étude principal et dénommé « point F » ainsi que nous l'avons mentionné dans une publication antérieure (1971).

Une deuxième série d'échantillons provient de la section de plage située à Lombardsijde, entre les brise-lames n° 9 et n° 10 (\*). — Réf. : positions n° 9 et n° 10 figurant sur le schéma n° 1 ci-dessus. Contrairement à la plage d'Oostende, celle-ci est peu fréquentée.

Une troisième série d'échantillons est composée de sédiments prélevés le long du chenal de Nieuwpoort, à des endroits découverts à marée basse. — Réf. : positions n°s 1, 2, 3, 4, 5 et 6 figurant sur le schéma n° 1 ci-dessus.

2.2. — Circonstances

A marée montante, les échantillons sont récoltés d'heure en heure, par rangées de trois et à cinquante centimètres du front de l'eau.

Le schéma n° 2 ci-dessous illustre ce processus.

Suite à un tel quadrillage de la plage, on obtient une récolte de sables ayant séjourné à l'air libre durant un temps maximum.

A marée descendante, les échantillons sont récoltés d'heure en heure, par rangées de trois et à la limite du retrait des eaux.

On obtient ainsi une récolte de sables ayant été soumis à l'action de la mer durant un temps maximum.

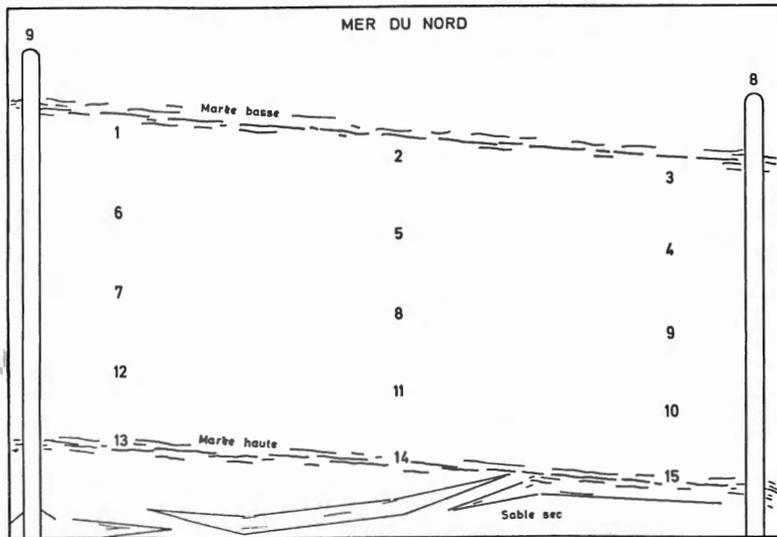


Schéma n° 2. — Processus des prélèvements au « Point F ».

(\*) Réf. : Plan de la côte belge (1971). — Ministère des Travaux Publics, Bruxelles.

Les récoltes de sable sec proviennent de la partie haute de la plage, non atteinte par la marée et, de ce fait, plus intensément soumise à l'influence humaine et animale. De plus, elles ont été faites aux heures de grande affluence.

Aucune chute de pluie n'a été enregistrée durant les prélèvements.

### 2.3. — Inventaire

Le total des échantillons prélevés se répartit de la manière suivante :

Oostende :

- 60 échantillons à marée montante.
- 54 échantillons à marée descendante.
- 35 échantillons de sable sec.
- 6 échantillons en profondeur.

Soit au total 155 échantillons dont 82 prélevés au printemps et 73 en été.

Lombardsijde :

- 11 échantillons à marée montante.
- 14 échantillons à marée descendante.
- 16 échantillons à un endroit fixe.
- 3 échantillons en profondeur.

Soit au total 44 échantillons dont 21 prélevés en été et 23 en automne.

Nieuwpoort :

- 6 échantillons des boues du chenal.

Subsidiairement, il a été procédé à quelques analyses d'eau de mer et du chenal.

## 3. — Présentation des résultats

### 3.1. — Coliformes, *Escherichia coli* et germes banaux

Les résultats repris dans ce paragraphe ont été répartis en trois périodes : printemps, été, automne. Ils sont exprimés en nombre de germes par gramme de sable sec, ils sont arrondis à la première décimale en ce qui concerne les Coliformes et les *E. coli* et arrondis à l'unité en ce qui concerne les germes banaux.

## 3.1.1. — Printemps (du 28 mars au 5 avril 1972)

Valeurs des éléments météorologiques pris en considération durant cette période.

TABLEAU A  
Période du printemps

Dates	Vent moyen de surface		T° de l'air (°C)			T° de la mer (°C) (mesurée à 12.00 GMT en bordure de mer)	Insolation (en h.mn.)	
	Secteur	Force (1)	Min.	Max.	Moy.		Théorique	Réelle
28.03	W	20	01,4	07,8	05,3	06,6	12,41	4,00
30.03	SW	16	02,8	12,6	08,5	06,5	12,48	2,12
02.04	WSW	19	08,7	12,5	10,5	06,8	13,00	2,00
03.04	WSW	15	—	—	—	06,9	13,04	3,48
04.04	SSW	15	04,4	14,0	09,0	07,0	13,07	0,48
05.04	SW	22	06,7	11,5	09,4	07,0	13,11	4,48

(1) (Nœuds)

TABLEAU 1

28 mars 1972. — « Point F ». — Marée montante.  
(15 échantillons numérotés de 1 à 15)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
1	2,0	2,0	9.450
2	2,4	0	1.321
3	7,1	0	325
4	3,5	0	814
5	0	0	1.276
6	0	0	3.521
7	8,9	3,9	1.484
8	1,6	1,6	1.725
9	4,1	1,8	2.291
10	32,3	17,9	13.047
11	0	0	1.092
12	5,3	2,3	1.643
13	8,8	8,8	11.696
14	10,7	10,7	3.690
15	7,6	7,6	15.874

TABLEAU 2

28 mars 1972. — « Point F ». Marée descendante.  
(12 échantillons numérotés de 16 à 27)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
16	24,4	13,6	214.934
17	19,5	1,8	18.241
18	2,3	0	4.073
19	1,3	1,3	1.445
20	2,5	0	3.765
21	5,1	5,1	7.896
22	0	0	3.664
23	0	0	2.207
24	3,0	3,0	2.554
25	1,3	1,3	561
26	4,1	1,8	1.492
27	0	0	1.129

TABLEAU 3

30 mars 1972. — « Point F ». — Marée montante.  
(18 échantillons numérotés de 28 à 45)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
28	3,4	0	227.816
29	7,3	3,1	1.972
30	0,8	0,8	735
31	5,0	5,0	862
32	3,4	3,4	2.401
33	2,6	2,6	383
34	0	0	—
35	0	0	1.949
36	11,8	5,2	3.532
37	0	0	26.236
38	0	0	4.148
39	3,4	3,4	4.723
40	0	0	9.101
41	0	0	11.429
42	0	0	9.517
43	7,6	0	14.297
44	9,0	9,0	10.576
45	0	0	16.659

TABLEAU 4

30 mars 1972. — « Point F ». — Endroit fixe en sable sec, non atteint par la marée haute, entre les brise-lames 8 et 9.

(3 échantillons numérotés de 46 à 48)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
46	14,9	0	108.280
47	17,0	0	54.289
48	15,5	6,9	139.776

TABLEAU 5

2 avril 1972. — Bordure des plages, en sable sec, entre la digue et la limite atteinte par la marée haute. Depuis le « Point F » jusqu'au Kursaal d'Oostende.

(7 échantillons numérotés de 50 à 56)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g
50	16,1	0
51	1.371,1	118,4
52	60,8	60,8
53	4,2	0
54	0	0
55	3,2	0
56	45,1	4,0

TABLEAU 6

3 avril 1972. — Petite plage d'Oostende

Quadrillage de la partie haute de la plage, non atteinte par la marée haute et récolte de sable sec.

(9 échantillons numérotés de 57 à 65)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g
57	0	0
58	19,5	3,1
59	8,8	3,9
60	3,1	0
61	77,9	1,6
62	12,5	0
63	253,2	140,7
64	412,4	0
65	92,7	0

TABLEAU 7

4 avril 1972. — « Point F ». — En profondeur

6 échantillons de sable, numérotés de 66 à 71, prélevés à marée basse et répartis de la manière suivante :

- n° 66 : à 25 m de la mer et à 10 cm de profondeur  
 n° 67 : à 25 m de la mer et à 20 cm de profondeur  
 n° 68 : à 125 m de la mer et à 10 cm de profondeur  
 n° 69 : à 125 m de la mer et à 40 cm de profondeur  
 n° 70 : à 250 m de la mer et à 20 cm de profondeur  
 n° 71 : à 250 m de la mer et à 50 cm de profondeur

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g	Salinité de l'eau interstitielle (g/l)
66	0	0	17.835	31,504
67	0	0	11.055	31,504
68	11,2	0	76.737	32,960
69	1,0	0	46.331	32,633
70	5,3	0	4.627	—
71	2,3	0	1.534	33,890

TABLEAU 8

5 avril 1972. — « Point F ». — Marée descendante

(12 échantillons numérotés de 72 à 83)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g
72	13,6	0
73	33,5	4,0
74	3,9	3,0
75	4,5	0
76	1,9	0
77	5,6	0
78	1,7	0
79	0	0
80	0	0
81	1,4	1,4
82	0	0
83	4,3	0

## 3.1.2. — Eté (du 4 au 13 juillet 1972)

Valeurs des éléments météorologiques pris en considération durant cette période.

TABLEAU B

Période d'été

Dates	Vent moyen de surface		T° de l'air (°C)			T° de la mer (°C) (mesurée à 12.00 GMT en bordure de mer)	Insolation (en h.mn.)	
	Secteur	Force (1)	Min.	Max.	Moy.		Théo-rique	Réelle
04.07	SSW	09	13,8	21,5	15,4	16,2	16,22	8,30
05.07	WSW	09	13,0	23,3	15,2	16,0	16,22	7,18
06.07	WSW	11	11,0	19,9	15,8	16,0	16,21	12,18
07.07	SW	10	09,6	18,5	14,9	16,0	16,19	5,06
10.07	WSW	12	10,0	17,2	14,2	16,0	16,14	12,42
12.07	NNE	06	07,6	19,0	13,6	16,0	16,10	10,42
13.07	ESE	06	08,9	20,9	16,1	16,5	16,09	13,42

(1) (Nœuds)

TABLEAU 9

4 juillet 1972. — « Point F ». — Marée descendante

(15 échantillons numérotés de 1 à 15)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
1	21,9	12,2	153
2	17,5	1,6	349
3	18,4	6,6	1.323
4	14,3	2,3	114
5	4,4	0	296
6	19,7	19,7	1.181
7	7,3	3,2	565
8	17,9	1,6	320
9	15,2	5,5	1.795
10	5,6	5,6	54.545
11	5,6	2,5	552
12	56,4	4,4	441
13	3,2	1,4	816
14	8,5	8,5	375
15	7,9	1,3	478

TABLEAU 10

5 juillet 1972. — « Point F ». — Marée descendante

(15 échantillons numérotés de 16 à 30)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
16	49,5	49,5	269
17	0	0	214
18	0	0	238
19	1,7	0	436
20	8,1	0	483
21	0	0	588
22	1,1	1,1	561
23	0	0	9.623
24	2,9	0	643
25	1,6	0	1.469
26	10,9	1,8	876
27	2,1	0	588
28	6,5	6,5	783
29	2,3	0	1.527
30	4,9	1,8	798

TABLEAU 11

5 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute, entre les brise-lames 8 et 9.

(2 rangées de 3 échantillons numérotés de 31 à 36)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
31	309,9	309,9	32.094
32	1,1	0	3.740
33	0	0	2.005
34	2,2	0	6.669
35	1,6	0	653
36	0,7	0	141

TABLEAU 12  
6 juillet 1972. — « Point F ». — Marée montante  
(12 échantillons numérotés de 37 à 48)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
37	2,5	0	254
38	60,9	10,9	389
39	2,6	1,5	568
40	2,3	2,3	1.555
41	1,0	0	211
42	2,0	0	301
43	4,3	0	568
44	0	0	560
45	4,5	0	6.109
46	0	0	221
47	28,7	13,6	2.721
48	1,3	0	1.278

TABLEAU 13  
6 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute, entre les  
brise-lames 8 et 9.

(1 rangée de 3 échantillons numérotés de 49 à 51)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
49	0	0	1.374
50	5,7	5,7	14.195
51	0	0	176

TABLEAU 14  
6 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute, entre les  
brise-lames 8 et 9.

(4 échantillons, numérotés de 52 à 55, prélevés d'heure en heure, à un endroit fixe)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
52	2,6	0	2.265
53	0	0	1.617
54	7,1	0	2.557
55	1,5	0	1.258

TABLEAU 12

6 juillet 1972. — « Point F ». — Marée montante  
(12 échantillons numérotés de 37 à 48)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
37	2,5	0	254
38	60,9	10,9	389
39	2,6	1,5	568
40	2,3	2,3	1.555
41	1,0	0	211
42	2,0	0	301
43	4,3	0	568
44	0	0	560
45	4,5	0	6.109
46	0	0	221
47	28,7	13,6	2.721
48	1,3	0	1.278

TABLEAU 13

6 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute, entre les brise-lames 8 et 9.

(1 rangée de 3 échantillons numérotés de 49 à 51)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
49	0	0	1.374
50	5,7	5,7	14.195
51	0	0	176

TABLEAU 14

6 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute, entre les brise-lames 8 et 9.

(4 échantillons, numérotés de 52 à 55, prélevés d'heure en heure, à un endroit fixe)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
52	2,6	0	2.265
53	0	0	1.617
54	7,1	0	2.557
55	1,5	0	1.258

TABLEAU 15

7 juillet 1972. — « Point F ». — Marée montante  
(15 échantillons numérotés de 56 à 70)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
56	1,2	1,2	8.438
57	4,9	0,8	319
58	5,2	0	557
59	2,7	1,2	426
60	0,9	0,9	116
61	7,0	0	477
62	1,5	0	198
63	0	0	37
64	0	0	79
65	2,3	0	459
66	0	0	2.046
67	4,2	0	94
68	2,1	0	189
69	6,8	0	599
70	15,3	0	69

TABLEAU 16

7 juillet 1972. — « Point F ». — Sable sec, non atteint par la marée haute  
(1 rangée de 3 échantillons numérotés de 71 à 73)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
71	19,9	0	1.411
72	1,2	0	1.209
73	31,5	0	8.912

TABLEAU 17

10 juillet 1972. — Plage de Lombardsijde. — Sable sec.  
(8 échantillons numérotés de 74 à 81, prélevés d'heure en heure, à un endroit fixe, en bordure de la marée haute, entre les brise-lames 9 et 10)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
74	4,4	0	—
75	5,9	0	16.359
76	7,4	0	2.653
77	0	0	427
78	7,8	2,8	2.049
79	1,7	1,7	881
80	1,7	1,7	415
81	5,2	0	379

TABLEAU 18

12 juillet 1972. — Plage de Lombardsijde

(10 échantillons numérotés de 82 à 91, prélevés d'heure en heure, les 5 premiers à marée montante, les 5 derniers à marée descendante, suivant un trajet perpendiculaire à la limite des eaux.

De l'eau de mer a été prélevée aux mêmes heures, à 10 m du rivage et à 10 cm de profondeur.)

N°	Coli-formes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g	Coli-formes/ml eau de mer	<i>E. coli</i> /ml eau de mer
82	63,9	6,4	1.166	3,5	1,5
83	56,0	2,0	1.008	2,5	0,4
84	6,1	2,2	727	2,0	2,5
85	5,2	0,8	251	9,5	2,5
86	2,4	1,1	81	20,0	7,5
87	2,2	0,9	484	4,5	2,5
88	4,2	0	284	0,4	0
89	0,7	0,7	215	2,0	0
90	0	0	139	2,5	0,4
91	1,1	1,0	556	0,9	—

TABLEAU 19

13 juillet 1972. — Plage de Lombardsijde. — En profondeur

(3 échantillons numérotés de 92 à 94, prélevés dans la zone intertidale, à 30 cm de profondeur et, respectivement, à 250 m, 150 m et 50 m de l'estacade Est de Nieuwpoort.)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g
92	5,6	5,6	271
93	12,3	12,3	272
94	8,5	1,7	342

### 3.1.3. — Automne (les 25 septembre et 6 octobre 1972)

Valeurs des éléments météorologiques pris en considération durant cette période.

TABLEAU C  
Période d'automne

Dates	Vent moyen de surface		T° de l'air (°C)			T° de la mer (°C) (mesurée à 12.00 GMT en bordure de mer)	Insolation (en h.mn.)	
	Secteur	Force (1)	Min.	Max.	Moy.		Théorique	Réelle
25.09 06.10	NE E	11 08	09,2 01,6	15,0 17,4	12,1 08,9	14,5 12,8	12,01 11,19	10,18 7,12

(1) (Nœuds)

TABLEAU 20

25 septembre 1972. — Plage de Lombardsijde

(8 échantillons numérotés de 1 à 8 et prélevés à un endroit fixe de la plage, en zone intertidale entre les brise-lames 9 et 10.)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g
1	20,5	11,4
2	13,5	13,5
3	15,1	8,4
4	51,6	51,6
5	11,2	11,2
6	5,5	5,5
7	10,6	10,6
8	16,8	16,8

TABLEAU 21

25 septembre 1972. — Chenal de Nieuwpoort

(6 échantillons, numérotés de 9 à 14, récoltés dans les boues du chenal, découvertes à marée basse. Les 6 numéros en question se réfèrent respectivement aux positions 1 à 6 figurant sur le schéma n° 1 de la page 4).

Conjointement à ces prélèvements, de l'eau a été recueillie dans le chenal, à l'endroit du déversement d'égout signalé sur le même schéma, ainsi qu'en amont et en aval de cet égout.

Les Bactériophages ont été recherchés dans 1 ml d'eau et dans quelques grammes de sable.

N°	Coli-formes/g	<i>E. coli</i> /g	Germes banaux/g	Présence Shigaphages	
				Sable	Eau
9	247,2	93,9	6.924		
10	> 1.400	160	22.182		
11	> 1.400	300	7.856	+	
12	> 1.400	> 1.400	6.849		+
13	> 1.400	> 1.400	14.964		+
14	200	150	3.367	+	

TABLEAU 22

6 octobre 1972. — Plage de Lombardsijde

(15 échantillons numérotés de 15 à 29, prélevés d'heure en heure, par rangées de 3, les 6 premiers à marée montante, les 9 suivants à marée descendante.)

N°	Coliformes/g	<i>E. coli</i> /g
15	16,4	4,4
16	9,4	9,4
17	9,7	9,7
18	16,1	8,1
19	14,9	2,4
20	7,5	3,3
21	16,1	5,8
22	55,8	55,8
23	10,1	10,1
24	7,0	4,2
25	4,1	4,1
26	12,5	2,5
27	9,2	9,2
28	16,2	8,9
29	4,3	4,3

## 4. — Analyse des résultats

4.1. — Comparaison des résultats totaux (en nombre de coliformes par g de sable sec). Les résultats sont exprimés en valeurs exactes, non arrondies.

Remarque. — Les échantillons prélevés dans le chenal de Nieuwpoort n'interviennent pas dans les comparaisons établies ci-dessous; il s'agit, en effet, d'un biotope différent.

	Total général (printemps, été, automne)	Total général moins les 4 aberrants (*)
n :	199	195
T :	4.151,421	1.804,823
$\bar{x}$ :	20,861 $\pm$ 7,441	9,255 $\pm$ 1,050
s <sup>2</sup> :	11.019,345	214,850

(\*) Echantillons caractérisés par un nombre particulièrement élevé de Coliformes (Réf. 5.1).

	Total « Printemps »	Total « Printemps » moins les 3 aberrants (*)
n :	82	79
T :	2.730,094	693,368
$\bar{x}$ :	33,294 $\pm$ 17,568	8,777 $\pm$ 1,822
s <sup>2</sup> :	25.304,608	262,235
	Total « Eté »	Total « Eté » moins l'aberrant (*)
n :	94	93
T :	1.067,370	757,498
$\bar{x}$ :	11,355 $\pm$ 3,493	8,145 $\pm$ 1,392
s <sup>2</sup> :	1.146,859	180,297
	Total « Automne »	Total « Sable sec »
n :	23	43
T :	353,957	2.846,969
$\bar{x}$ :	15,389 $\pm$ 2,682	66,208 $\pm$ 33,655
s <sup>2</sup> :	165,505	48.697,632
	Total « Marée montante »	Total « Marée descendante »
n :	71	68
T :	520,873	591,951
$\bar{x}$ :	7,336 $\pm$ 1,513	8,705 $\pm$ 1,469
s <sup>2</sup> :	162,569	146,721
	Total « Printemps en zone intertidale »	Total « Eté en zone intertidale »
n :	63	70
T :	302,113	648,382
$\bar{x}$ :	4,795 $\pm$ 0,883	9,263 $\pm$ 1,765
s <sup>2</sup> :	49,090	218,175

n : nombre d'échantillons.  
 T : total des Coliformes.  
 $\bar{x}$  : moyenne  $\pm$  erreur à la moyenne.  
 s<sup>2</sup> : variance estimée.

(\*) Echantillons caractérisés par un nombre particulièrement élevé de Coliformes (Réf. 5.1).

## 4.2. — Tests d'hypothèse sur les comparaisons de moyennes

## 4.2.1. — Comparaison des moyennes de printemps et d'été en zone intertidale, par la méthode de l'erreur standard

Printemps	Eté
$n_1$ : 63	$n_2$ : 70
$s_1^2$ : 49,090	$s_2^2$ : 218,175
$\bar{x}_1$ : 4,795	$\bar{x}_2$ : 9,263
$H_0$ : $m_1 = m_2$	
$H_1$ : $m_1 \neq m_2$	

$$U_{\text{obs}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{\text{SCE}_1}{n_1(n_1 - 1)} + \frac{\text{SCE}_2}{n_2(n_2 - 1)}}} = 2,26$$

$$U : 0,05 = 1,96$$

$$U : 0,01 = 2,58$$

Différence non significative au niveau 1 %.

Différence significative au niveau 5 %.

## 4.2.2. — Comparaison des moyennes des marées montantes et descendantes, par le test t

Marée montante	Marée descendante
$n_1$ : 71	$n_2$ : 68
$s_1^2$ : 162,569	$s_2^2$ : 146,721
$\bar{x}_1$ : 7,336	$\bar{x}_2$ : 8,705
$H_0$ : $m_1 = m_2$	
$H_1$ : $m_1 \neq m_2$	

$$s_p^2 = \frac{\text{SCE}_1 + \text{SCE}_2}{n_1 + n_2 - 2} = 154,819$$

$$\frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = 0,649$$

$$t_{187} : 0,01 = 2,58$$

L'hypothèse ( $H_0$ ) est acceptée.

On n'observe pas de différence significative entre les moyennes.

4.2.3. — Comparaison des moyennes de sables sec et des zones intertidales d'été, par la méthode de l'erreur standard

Sable sec	Sable intertidal d'été
$n_1 : 43$	$n_2 : 70$
$s_1^2 : 48.697,632$	$s_2^2 : 218,175$
$\bar{x}_1 : 66,208$	$\bar{x}_2 : 9,263$
$H_0 : m_1 = m_2$	
$H_1 : m_1 \neq m_2$	

$$U_{\text{obs}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{\text{SCE}_1}{n_1(n_1 - 1)} + \frac{\text{SCE}_2}{n_2(n_2 - 1)}}} = 1,69$$

$$U : 0,05 = 1,96$$

$$U : 0,01 = 2,58$$

On n'observe pas de différence significative entre les moyennes.

4.2.4. — Comparaison des moyennes de sables sec et de zone intertidale prélevés en deux endroits fixes à Lombardsijde, par la méthode de l'erreur standard

Sable sec	Sable intertidal
$n_1 : 8$	$n_2 : 8$
$s_1^2 : 8,176$	$s_2^2 : 18,092$
$\bar{x}_1 : 4,245$	$\bar{x}_2 : 8,092$
$H_0 : m_1 = m_2$	
$H_1 : m_1 \neq m_2$	

$$U_{\text{obs}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{\text{SCE}_1}{n_1(n_1 - 1)} + \frac{\text{SCE}_2}{n_2(n_2 - 1)}} = 2,12$$

$$U : 0,05 = 1,96$$

$$U : 0,01 = 2,58$$

On observe une différence significative entre les moyennes.

## 5. — Conclusions

### 5.1. — Considérations générales

Nous ne prétendons pas avoir détaché la totalité des Coliformes fixés aux grains de sable. Cependant, nous avons pu constater que leur présence occasionnelle dans l'eau d'un second rinçage est si faible que son influence peut être tenue pour négligeable dans l'interprétation des résultats.

Le nombre de bactéries par gramme de sable étant très variable, nous avons voulu, afin de préciser leur mode de distribution, procéder à une analyse statistique des résultats; celle-ci figure au paragraphe 4 ci-dessus.

Le nombre extrêmement élevé de Coliformes dans 4 échantillons aberrants, pourrait être attribué à une contamination locale massive d'origine humaine ou animale. Il s'agit des n<sup>os</sup> de printemps 51, 63, 64, et du n<sup>o</sup> d'été 31. Leur élimination du total général (Réf. A.-4.1) réduit la moyenne des Coliformes par gramme, de 20,861 à 9,225 et l'erreur à la moyenne de 7,441 à 1,050.

La réduction apparaît plus frappante encore si on enlève les 3 aberrants du total du printemps. La moyenne des Coliformes par gramme passe alors de 33,294 à 8,777 tandis que l'erreur à la moyenne est ramenée de 17,568 à 1,822.

En toute rigueur, cependant, nous sommes obligée de tenir compte de ces chiffres élevés. Il s'agit, en effet, d'échantillons prélevés en sable sec, non atteint par la marée, aux endroits fréquentés par les touristes et où jouent de nombreux enfants. Le risque couru par ces derniers de s'ébattre et même de porter du sable à la bouche, en un lieu fort contaminé, n'est absolument pas négligeable.

Certes, un nombre élevé de Coliformes ne présente pas en soi un grand danger. Ainsi que le fait remarquer le Professeur J. BRISOU (1970), les colimétries ne représentent que des données de référence qu'il importe d'interpréter avec suffisamment d'esprit critique.

Toutefois, en tant qu'indice de pollution, les Coliformes autorisent à craindre la présence d'éventuels germes pathogènes.

Nous pouvons constater que la distribution des *Escherichia coli* suit assez fidèlement, à quelques exceptions près, la distribution des Coliformes.

A titre indicatif, nous avons effectué une recherche de germes banaux, orientée vers les germes terrigènes et, éventuellement, pathogènes, du fait de leur culture à 37 °C dans un milieu à l'eau douce.

Leur répartition n'est pas représentative de l'état sanitaire d'une plage; en effet, leur nombre varie sans raison apparente, de 37 à 227.000 par gramme de sable.

ANDERSON et MEADOWS (1969) ont détaché de la surface des grains de sable, au moyen de teepol à 0,1 %, un nombre de bactéries variant de  $2,6 \times 10^3$  à  $241 \times 10^3$  par gramme de sable sec. Ainsi que le font remarquer ces auteurs, il n'existe dans ce domaine aucune norme de référence; la répartition semble d'ailleurs affectée par l'influence de facteurs aussi divers que complexes.

L'apport de l'effluent est considérable, bien que l'égout en question soit de moyenne importance.

Les eaux du chenal subissent sans doute une relative autoépuration ou, tout au moins, une dilution à marée montante; cependant, rien n'exclut la possibilité d'une contamination des nombreux mollusques fixés le long de l'estacade ainsi que des plages avoisinantes. Cette présomption est renforcée par le fait que le déversement de l'égout est continu, que les germes s'y trouvent en nombre élevé et que nous y avons découvert une *Salmonella paratyphi* B. (Référence : B.-2.2).

## 5.2. — Conclusions sur les tests d'hypothèse

La comparaison A.-4.2.1 révèle une différence significative entre les moyennes des concentrations en Coliformes des sables de printemps et d'été en zone intertidale : la moyenne d'été étant la plus élevée. Toutefois, cette différence n'est pas hautement significative.

La comparaison A.-4.2.2 ne révèle pas de différence significative entre les moyennes des concentrations en Coliformes des sables prélevés à marée montante et à marée descendante.

On peut donc éventuellement supposer que les Coliformes résistent relativement bien à la sécheresse et à l'insolation auxquelles ils sont soumis entre deux marées.

Le passage de l'eau ne semble ni en augmenter le nombre ni le diminuer.

A première vue, la comparaison des moyennes et des variances du paragraphe A.-4.2.3 laisse supposer un sable sec (partie de plage occupée par les vacanciers lors de la marée haute) plus pollué que le sable de la zone intertidale.

En fait, le test d'hypothèse nous révèle qu'il n'en est rien car on n'observe pas de différence significative entre les moyennes des concentrations en Coliformes de ces deux zones.

A priori, d'ailleurs, on aurait pu supposer une contamination moindre dans une zone non atteinte par la marée puisqu'il est bien établi que les eaux côtières proches des points de déversement sont polluées et risquent de souiller les plages. Or, il apparaît évident ici que le sable sec est également souillé.

Cette constatation pourrait renforcer l'hypothèse d'une relative résistance des Coliformes à la sécheresse et à l'insolation; elle souligne surtout le rôle important joué par le vecteur humain et animal dans la contamination des plages. Il convient toutefois de ne pas négliger le rôle du vent dans le transport des sables et des aérosols.

A Lombardsijde, dont la plage est peu fréquentée, 2 séries de 8 échantillons furent prélevés entre les brise-lames 9 et 10 (Réf. Schéma n° 1, p. 4) : l'une, en zone de sable sec, l'autre, en zone intertidale.

La moyenne des concentrations en Coliformes des échantillons récoltés en sable sec est de 4,25 tandis que celle des échantillons récoltés en zone intertidale s'élève à 18,09 germes par gramme de sable sec. La comparaison A.-4.2.4 révèle que cette différence entre les moyennes est significative.

Cette concentration en Coliformes du sable sec, plus faible sur une plage peu fréquentée, corrobore ainsi l'opinion émise précédemment sur l'importance du vecteur humain et animal dans le problème de la contamination des plages.

## B. GERMES PATHOGENES

### 1. — Note préliminaire

Conjointement aux recherches des Coliformes et des germes banaux, plusieurs analyses ont été faites en vue d'une éventuelle détection de germes pathogènes.

Cette expérience visait à se fixer les idées quant à l'intérêt d'une telle recherche et à mettre à l'épreuve certaines méthodes employées. Les sables examinés sous cet angle, ont été choisis sans ligne définie au cours des prélèvements.

### 2. — Germes recherchés

#### 2.1. — Staphylocoques pathogènes

L'analyse a porté sur 12 échantillons de sable prélevés en zone intertidale.

Culture primaire en Tryptone-sel suivie d'isolement sur boîte de Chapman-Stone.

Par cette méthode, aucun Staphylocoque pathogène n'a été décelé dans 10 g de chacun des 12 sables testés.

## 2.2. — Salmonelles

L'analyse a porté sur 7 échantillons de sable prélevés en zone intertidale. Enrichissement en Sélénite suivi d'isolement sur boîte de SS agar. Repiquage en Kliger Iron agar et étude de plusieurs dizaines de souches.

Par cette méthode, aucune Salmonelle n'a été décelée dans 20 g de chacun des 6 premiers sables testés.

Par contre, une *Salmonella paratyphi B* a été isolée dans 20 g d'un 7<sup>me</sup> échantillon provenant du chenal de Nieuwpoort, à hauteur de l'égout mentionné sur le schéma n° 1.

## 2.3. — Shigelles

L'analyse a porté sur 11 échantillons de sable prélevés en zone intertidale.

Culture primaire (6 h et 24 h) en milieu GN Hajna suivie d'isolement parallèle sur boîtes de Desoxycholate agar et de Hektoen enteric agar.

Par cette méthode, aucune Shigelle n'a été décelée dans 20 g de sable, parmi plusieurs dizaines de germes isolés et étudiés. Sur 11 sables analysés, 2 contenaient des Shigaphages.

## 3. — Remarque

La méthode signalée au 2.3 ci-dessus a également été utilisée pour rechercher les Shigelles dans 7 échantillons d'eau de mer de différentes origines.

Malgré le truchement de membranes filtrantes qui a permis d'analyser jusqu'à 3,5 l d'un même échantillon, aucune Shigelle n'a pu être isolée. Sans doute, la méthode pourrait-elle être incriminée. Les résultats obtenus lors d'un travail ultérieur, nous ont en effet amenée à constater son insuffisance en ce qui concerne les analyses envisagées : une des failles étant son manque de sélectivité.

## RESUME

Les Coliformes et les *Escherichia coli* ont été recherchés systématiquement sur certaines plages de la côte belge et dans le chenal de Nieuwpoort, afin de déceler, dans leur distribution, l'éventuelle influence des facteurs suivants :

- saison;
- marée;

- présence humaine et animale;
- apport d'un effluent.

Une analyse statistique des résultats révèle que :

1. — La moyenne des concentrations en Coliformes dans la zone intertidale des plages est, de façon significative, plus élevée en été qu'au printemps.
2. — Aucune différence significative n'est observée entre les moyennes des concentrations en Coliformes des sables prélevés à marée montante et à marée descendante.
3. — La partie haute de la plage, zone de sable sec occupée par les vacanciers à marée haute, est aussi polluée que la zone intertidale.

Les sables et l'eau du chenal ont été prélevés à proximité d'un déversement d'égout. L'apport en Coliformes de cet effluent est considérable. Une recherche de germes pathogènes a permis d'y déceler une *Salmonella paratyphi B*. Aucune Shigelle n'a pu être isolée, en dépit de la présence de Shigaphages.

INSTITUT ROYAL DES SCIENCES NATURELLES DE BELGIQUE.

#### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

##### AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION.

1970. *Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish.*

ANDERSON, J. G. et MEADOWS, P. S.

1969. *Bacteria on intertidal sand grains.* (Hydrobiologia, 33, pp. 33-46.)

ANDERSON, D. et ZOBELL, C. E.

1936. *Vertical distribution of bacteria in marine sediments.* (Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geol., 20, 3.)

AUBERT, M. et DESIROTTE, N.

1968. *Théorie formalisée de la diffusion bactérienne.* (Rev. Inter. Oceanogr. Méd., 12, pp. 5-48.)

BARNETT, P. R. O.

1971. *Some changes in intertidal sand communities due to thermal pollution.* (Proc. Roy. Soc. Lond. B., 177, pp. 353-364.)

BOISSEAU, J. P.

1957. *Technique pour l'étude quantitative de la faune interstitielle des sables.* (C. R. Congr. Soc. Sav. Bordeaux, pp. 117-119.)

BONDE, G. J.

1968. *Studies on the dispersion and disappearance phenomena of enteric bacteria in the marine environment.* (Rev. Intern. Oceanogr. Méd., 9, pp. 17-43.)

BRISOU, J., MENANTAUD et DOUBLET, M.

1958. *Contribution à l'étude de la flore microbienne normale des estuaires.* (Bull. Inst. Océanogr., 1129, pp. 1-8.)

BRISOU, J.

1970. *La vie des microbes dans les mers et pollution. Situation actuelle. Perspectives.* (Rev. Intern. Océanogr. Méd., 17, pp. 127-145.)

CALANDRON, A. et al.

1962. *Etude chimique et bactériologique des vases fluvio-marines.* (Ann. Inst. Pasteur, Paris, 103, pp. 392-402.)

DARTEVELLE, Z.

1971. *Contribution à l'étude des relations entre les paramètres physico-chimiques et la pollution bactériologique des eaux marines du littoral belge et de l'estuaire de l'Escaut.* (Nato Subcommittee on Oceanographic Research, Technical Report n° 59, Brussels.)

DELAMARE DEBOUTTEVILLE, C.

1960. *Biologie des eaux souterraines littorales et continentales.* (Hermann, Paris, 740 pp.)

DONSEL (VAN), D. J. et GELDREICH, E. E.

1971. *Relationships of Salmonellae to fecal coliforms in bottom sediments.* (Wat. Res. G.B., 5, 11, pp. 1079-1087.)

FERGUSSON WOOD, E. J.

1967. *Microbiology of oceans and estuaries.* (Elsevier Publishing, 319 p.)

GALLAGHER, T. P. et SPINO, D. F.

1968. *The significance of numbers of coliform bacteria as an indicator of enteric pathogens.* (Wat. Res., 2, pp. 169-175.)

GAMESON, A. L. H., PIKE, E. B. et BARRET, M. J.

1968. *Some factors influencing the concentration of coliform bacteria on beaches.* (Rev. Inter. Oceanogr. Med., 9, pp. 255-279.)

GEVAUDAN, P. et TAMALET, J.

1956. *Etude sur la pollution des plages et baignades sur le littoral méditerranéen.* (Rev. Hyg. et Méd. Soc., 4, pp. 270-275.)

GLANTZ, P. J. et JACKS, T. M.

1967. *Significance of E. coli serotypes in waste water effluent.* (J. Wat. Pollut. Control Fed., 39, pp. 1918-1921.)

HARRIS, R. P.

1972. *Seasonal changes in the meiofauna population of an intertidal sand beach.* (J. Mar. Biol. Ass. U. K., 52, pp. 389-403.)

KOTT, Y. et BEN ARI, H.

1968. *Bacteriophages as marine pollution indicators.* (Rev. Intern. Oceanogr. Med., 9, pp. 207-217.)

KUFFERATH, J.

1970. *Contributions à l'étude des bactéries des eaux marines du littoral belge.* (Bull. Inst. r. Sci. nat. Belg., 46, 36.)

LAFONTAINE, A., DE MAEYER-CLEEMPOEL, S. et BOUQUIAUX, J.

1956. *Recherches sur les entérobactériacées des eaux de mer au littoral belge.* (Arch. B. Méd. Soc. Hyg. Méd. Travail et Méd. Légale, 14, pp. 53-66.)

LIVINGSTONE, D. J.

1965. *An improved method for isolating Salmonellae from polluted water.* (Publ. Hlth., Johannesburg, 65, pp. 87-91.)

MEADOWS, P. S. et ANDERSON, J. G.

1968. *Micro-organisms attached to marine sand grains.* (J. Mar. Biol. Ass. U. K., 48, pp. 161-175.)

MOEBUS, K.

1972. *Seasonal changes in antibacterial activity of North Sea water.* (Marine Biology, 13, pp. 1-13.)

NEWELL, R. C.

1970. *Biology of intertidal animals.* (Logos Press, London, 555 p.)

PAOLETTI, A.

1964. *Micro-organismes pathogènes dans le milieu marin.* (Poll. Mar. par Microorg. et Prod. Pét., Symp., Monaco, pp. 133-184.)

PERSOONE, G.

1966. *Contributions à l'étude des bactéries marines du littoral belge. Milieux de culture et ensemencement.* (Bull. Inst. R. Sci. Nat. Belg., 42, 6.)

PINON, J.

1972. *Pollution marine microbiologique le long de la côte belge*. (Forces Armées Belges, Serv. Santé, 33 p.)

POCHON, J. et TARDIEUX, P.

1962. *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*. (Coll. Tech. de Base, Ed. de la Tourelle, St Mandé.)

POLLOCK, LELAND, W. et HUMON, W. D.

1971. *Cyclic changes in interstitial water content, atmospheric exposure and temperature in a marine beach*. (Limnology and Oceanography, 16, 3, pp. 522-535.)

PREMA BHAT, SHANTHAKUMARI, S. et MYERS, R. M.

1971. *A comparative study of media used to detect Shigella*. (Amer. J. Clin. Pathol., 56, 2, pp. 193-196.)

RENAUD-DEBYSER, J. et SALVAT, B.

1963. *Éléments de prospérités des biotopes des sédiments meubles intertidaux et écologie de leurs populations en microfaune et macrofaune*. (Vie Milieu, 14, pp. 463-550.)

SENEZ, J.

1949. *Bactéries anaérobies des sédiments marins*. (Ann. Inst. Pasteur, 77, pp. 512-536.)

SIEBURTH, J. MC N.

1967. *Seasonal selection of estuarine bacteria by water temperature*. (J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 1, pp. 98-121.)

SLANETZ, L. W., BARTLEY, C. H. et METCALF, T. G.

1964. *Correlation of coliform and faecal streptococcal indices with the presence of Salmonellae and enteric viruses in sea water and shellfish*. (Proc. 2nd Int. Conf. Wat. Pollut. Res., Tokyo, 3, pp. 27-41.)

SWEDMARK, B.

1964. *The interstitial fauna of marine sand*. (Biol. Rev., 39, pp. 1-42.)

WANG, W. L. L., DUNLOP, S. G. et MUNSON, P. S.

1965. *Survival of Shigella in sewage*. (Appl. Microbiol., September 1965, pp. 831-832.)