

Original article

Environmental Biology

Quelques facteurs déterminant la distribution des bactéries du genre *Vibrio* dans l'environnement aquatique de Yaoundé, Cameroun.

Blandine Pulchérie TAMATCHO KWEYANG^{(1)*}, Pierre René FOTSING KWETCHE^(1,2), Thomas NJINE⁽¹⁾, Moïse NOLA⁽¹⁾, Patrick DJOGO⁽¹⁾

(1) Laboratoire de biologie générale, Université de Yaoundé I.

(2) Saint Christopher Iba Mar DIOP College of Medicine, Dakar-Senegal

* Corresponding author : Laboratoire de biologie générale B.P 812, Yaoundé, Cameroun. E-mail : tamatcho@yahoo.com

RESUME

Une étude a été conduite dans le but de rechercher les bactéries du genre *Vibrio* et d'identifier quelques facteurs environnementaux qui influencent leur distribution dans l'environnement aquatique de la ville de Yaoundé. L'utilisation des techniques de Bactériologie classique a permis d'identifier six espèces : *Vibrio cholerae*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, et *Vibrio vulnificus*. *Vibrio cholerae* a été identifié à tous les points d'eaux courantes avec la fréquence d'isolement la plus élevée (79%) en amont du Mfoundi, au quartier Etoa-Meki. Les facteurs environnementaux étudiés sont : la température, le pH, la conductivité, les matières en suspension, l'oxygène dissous, le dioxyde de carbone dissous, la vitesse d'écoulement des eaux. Il en ressort que le pH et la conductivité électrique du milieu influencent positivement la présence de *Vibrio*, toute espèce confondue ($p < 0,05$). De même pour *Vibrio mimicus*, les fréquences augmentent avec la teneur du milieu en CO_2 ($p < 0,05$). Celle de *Vibrio fluvialis* est influencée négativement par les matières en suspension ($p < 0,01$). Ces données montrent que les populations riveraines seraient exposées aux épidémies potentielles de cholera et autres maladies infectieuses.

Mots clés : Facteurs physico-chimique, environnement aquatique, *Vibrio*, Yaoundé-Cameroun.

ABSTRACT

A study was carried on the occurrence of different *Vibrio* species in aquatic environment in Yaoundé in connection with some environmental factors. Application of classical bacteriological techniques led to the identification of the following species: *Vibrio cholerae*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus*. *Vibrio cholerae* was detected in all surface water sampling points, with the highest frequency (79%) upstream the Mfoundi River at Etoa-Meki. The environmental factors investigated included temperature, pH, electrical conductivity, suspended matters, dissolved oxygen and carbon dioxide, and rate of water flow. The results indicated correlations between water physical and chemical characteristics and the presence of *Vibrio*. The pH and water conductivity proved to positively influence the presence of all *Vibrio* species ($p < 0, 05$). The isolation frequencies of *Vibrio mimicus* was also shown to increase with increase in dissolved CO_2 ($p < 0, 05$). *Vibrio fluvialis* rate of isolation decreased with increase in suspended matters ($p < 0, 01$). The presence of *Vibrio* in the aquatic environment in the city of Yaoundé represents a potential threat to the health of users of related contaminated resources.

Keywords: Physicochemical factors, watery environment, *Vibrio*, Yaoundé-Cameroun.

INTRODUCTION

A travers le monde, de nombreuses maladies infectieuses dont souffrent les hommes et les animaux sont d'origine hydrique [1]. Ces dernières sont plus fréquentes dans les pays pauvres et en voie développement, à cause de la précarité des conditions d'hygiène généralement associées au pouvoir d'achat très faible des populations [2]. Les diarrhées bacillaires dans les pays en voie de développement restent un grave problème de santé publique, le choléra étant endémo épidémique dans certains depuis 1970 [3].

L'environnement aquatique constitue l'habitat naturel pour les bactéries du genre *Vibrio*. L'espèce la plus redoutable en santé publique est *Vibrio cholerae* [4, 5]. Les autres espèces sont souvent ignorées, surtout dans les pays en voie de développement à cause de la modicité des moyens de recherche. Pourtant quand les études ont été entreprises, les résultats des travaux ont montré l'impact de certaines d'entre elles sur la santé des populations humaines [6]. Elles peuvent être à l'origine des entérites infectieuses, des

dermatoses ou d'autres ulcérations cutanées et profondes [7].

Les besoins croissants en eau, liés à la démographie galopante, contrastent avec l'indisponibilité de cette ressource dans les agglomérations des pays en voie de développement. Cette situation oblige les populations à recourir aux ressources de qualité douteuse pour satisfaire leurs besoins quotidiens, ce qui pourrait les exposer à des contaminations [8]. A Douala, capitale économique du Cameroun, le choléra est endémique depuis 1971 [9]. Au cours de la dernière épidémie en 2004, l'eau a été identifiée comme le principal vecteur de la dissémination des germes. D'autres cas isolés de choléra ont été identifiés au cours de la même période dans d'autres régions du pays.

Certaines bactéries du genre *Vibrio* sont associées à des environnements aquatiques ayant des caractéristiques physiques et chimiques particulières. Cependant, les espèces incriminées dans les épidémies et dont l'association avec les eaux de mer (salines) paraissent une exclusivité ont été identifiées dans d'autres milieux aux conditions environnementales différentes. Outre la salinité, la porosité des sols caractéristiques des zones côtières, la pollution de la nappe phréatique affleurante [9], aucun autre paramètre n'a été jusqu'ici identifié pour justifier cette nature endémique du choléra à Douala. Autrement dit, les conditions qui gouvernent la survie et la prolifération des bactéries du genre *Vibrio* dans certains milieux ne sont pas encore étoffées.

Dans la région de Yaoundé, (la capitale) les diarrhées non élucidées à travers les analyses de routines sont régulièrement signalées [2, 10]. La présente étude vise d'une part, à rechercher les bactéries du genre *Vibrio*, et d'autre part, à identifier les facteurs environnementaux qui seraient favorables à la croissance de ce groupe de microorganismes dans les eaux de cette région.

MATERIEL ET METHODES

*Description du site d'étude.

L'étude a été menée sur les ruisseaux récepteurs des effluents domestiques et les puits d'utilisation courante dans la ville. Le choix des sites d'échantillonnage a été fait sur la base de la promiscuité autour du point, et de l'utilisation faite de l'eau par les populations riveraines.

*Prélèvement et analyses des échantillons

Dix huit points, dont 14 situés sur les eaux de surface (numérotés de S1 à S14) et 4 appartenant aux puits (numérotés de P1 à P4) ont été choisis (Figure 1). L'échantillonnage a été effectué à un pas bimensuel, entre le mois de février et juillet 2006, soit 72 échantillons pendant la saison sèche et 144 pendant la saison des pluies pour l'ensemble des dix huit points de prélèvement.

Les paramètres physico-chimiques et hydrologiques considérés ont été la température, le pH, la conductivité électrique, la matière en suspension, l'oxygène dissous, le gaz carbonique dissous et la vitesse d'écoulement de l'eau.

Pour cette étude physico-chimique, les échantillons ont été prélevés à l'aide des flacons en polyéthylène de 1000 ml, puis acheminés en enceinte réfrigérée au Laboratoire pour analyses. Les techniques utilisées sont celles préconisées par APHA [11].

Le pH et la conductivité électrique ont été mesurés *in situ* à l'aide d'un pH- mètre Scoott Geräte CG 818 et d'un conductimètre Scoott Geräte CG 857 respectivement.

L'oxygène et le gaz carbonique dissous ont été fixés *in situ*, puis dosés au laboratoire respectivement par la méthode de Winkler et par la méthode d'acide chlorhydrique [11].

Les matières en suspension ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre de marque HANNA, série HI 8733. La température a été mesurée à l'aide d'un thermomètre à colonne mercure. La vitesse d'écoulement de l'eau a été mesurée sur le terrain à l'aide d'un flotteur en liège et d'un chronomètre sur une distance de 7m de l'amont vers l'aval.

Pour les analyses bactériologiques, les échantillons d'eau ont été prélevés dans des flacons en verre stériles de 500 ml et ont été aussitôt acheminés au Laboratoire, à température ambiante. Les milieux de culture utilisés sont ceux préconisés par BioMérieux pour la recherche et l'isolement des bactéries du genre *Vibrio*.

L'enrichissement a été réalisé dans du bouillon d'eau peptonée salée hyper alcaline (EPSA), mis à incuber à 37°C pendant 24 heures (5 ml d'échantillon pour 10 ml d'EPSA). Au terme de cette période, la gélose (Thiosulphate-citrate-bile-Saccharose) TCBS a étéensemencée par épuisement à partir du bouillon EPSA résultant. Les boîtes de culture ont ensuite été mises à incuber pendant 24 heures à 37°C. Après d'incubation, les colonies jaunes (saccharose positive) ou vertes (saccharose négative) ont été

considérées. Celles-ci ont été repiquées sur gélose nutritive alcaline (GNA), puis mises à incuber pendant 24 heures à 37°C pour ré-isolement.

Les colonies présentant l'aspect translucide sur milieu GNA ont été considérées. La mobilité polaire des cellules a ensuite été vérifiée. Toutes sont des bactéries à Gram négatif (incurvées ou

non), positives au test à l'oxydase. D'autres tests biochimiques ont été faits en suivant les techniques de la bactériologie classique.

Le test de corrélation r de Spearman a été utilisé pour évaluer le degré de liaison entre la présence de souches de chaque espèce de *Vibrio* et les variations des paramètres physico-chimiques du milieu.



Figure 1: Sites d'échantillonnage (P: puits; S: points d'eau de surface)

RESULTATS

1- Les paramètres physico-chimiques

Les valeurs moyennes, maximales et minimales des paramètres recherchés ont été obtenues et récapitulés dans le tableau 1.

La température pour chaque point de prélèvement des eaux échantillonnées a varié entre 22 et 25,5°C tout le long de notre étude (Figure 2).

Tableau 1 : Les valeurs moyennes, maximales et minimales des paramètres physico-chimiques recherchés

Paramètres	Maximum	Minimum	Moyenne	Ecart Type
Température (° C)	25,5	22	23,63	0,14
pH (UC)	7,7	5,27	6,79	0,06
Conductivité (µS)	662	3,7	344,51	14,46
M.E.S (mg / l)	147	2	39,11	11,26
O ₂ Dissous (mg/l)	3,4	0,2	0,85	0,16
CO ₂ Dissous (mg/l)	18,8	0	4,74	1,01
Vitesse d'écoulement (m/s)	0,55	0,02	0,26	0,01

Les valeurs moyennes de pH obtenues durant la même période ont fluctué entre 5,27 et 7,70 UC (Figure 2). Elles sont relativement plus faibles dans les eaux de puits (6,11 à 6,52 UC) que dans les eaux de surface (6,70 et 7,70 UC).

Les valeurs moyennes de la conductivité électrique présentent de nombreuses fluctuations spatiales. Elles sont généralement comprises entre 3,7 et 662 µS.cm⁻¹ (Figure 2).

La teneur moyenne en oxygène dissous a varié de 0,2 à 3,4 mg/l (Figure 2). D'importantes fluctuations spatiales ont également été observées, avec la valeur la plus élevée enregistrée au point S10 et la plus basse au point S3.

Les valeurs moyennes de la teneur en MES sont comprises entre 2 et 147 mg/l (Figure 2).

Les valeurs moyennes de la vitesse d'écoulement de l'eau ont oscillé entre 0,02 et 0,55 m.s⁻¹ au cours de la période d'étude (Figure 2).

Les valeurs moyennes de la teneur en CO₂ dissous sont comprises entre 0 et 18,8 mg/l (Figure 2).

2- Paramètres bactériologiques

Les analyses bactériologiques ont permis d'identification six espèces appartenant au genre *Vibrio*. Ce sont : *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*.

La fréquence d'isolement la plus élevée (79%) a été observée avec *V. cholerae* et au point S1 (Figure 3). Les souches appartenant à cette espèce, isolées également dans tous les points d'eau de surface sont absentes dans les eaux des puits (P2, P3 et P4). Au puits P1 où il a été isolé, la fréquence est relativement basse (8%), comparée aux fréquences obtenues dans les prélèvements d'eau de surface. *Vibrio vulnificus* est la deuxième espèce la plus fréquemment isolée (Figure 3). Ces souches apparaissent dans 93% des points de prélèvement d'eau de surface (13 sur 14). Les fréquences d'isolement les plus élevées (50%) sont observées aux points S1 et S2 (Figure 3).

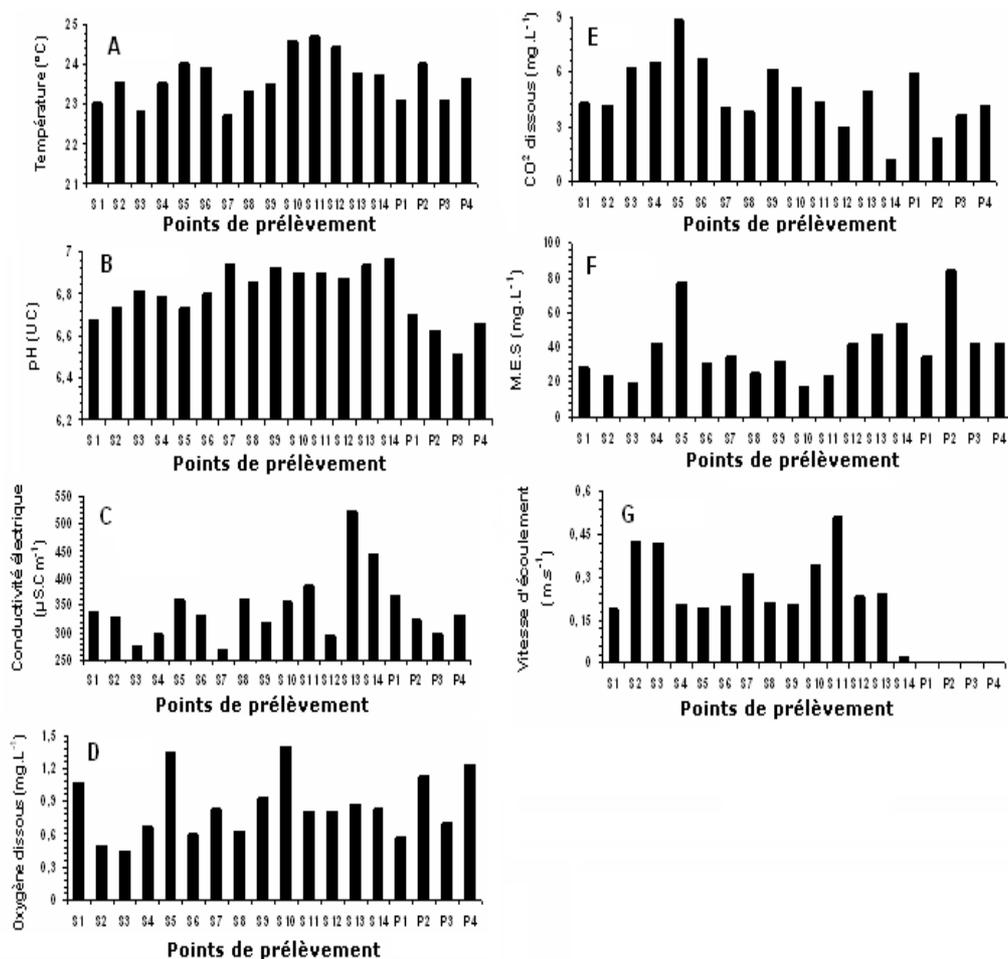


Figure 2 : Variation en fonction des sites d'étude des valeurs moyennes de la température (A), du pH (B), de la conductivité (C), de l'oxygène dissous (D), du dioxyde de carbone dissous (E), de la matière en suspension (F) et de la vitesse d'écoulement (G).

Les souches d'autres espèces du genre *Vibrio* ont été isolées avec des fréquences variables. Le test de corrélation de Spearman a été fait entre la présence des souches de *Vibrio* isolées et les facteurs physico-chimiques considérés. Il en ressort que la présence des espèces du genre *Vibrio* est globalement influencée (positivement) par le pH et conductivité électrique du milieu ($P < 0,05$). Celle des souches de *V. mimicus* est également positivement influencée par le CO_2 ($P < 0,05$) dissous. Quant à *V. fluvialis*, sa présence est négativement influencée par les matières en suspension ($P < 0,01$) (Tableau 2).

DISCUSSION

Différentes espèces appartenant au genre *Vibrio* dont la présence dans l'eau et les aliments constitue un danger pour la santé des populations ont été isolées et identifiées des prélèvements issus des cours d'eaux affluents de la rivière Mfoundi. Les espèces connues pour leur rôle dans les diarrhées infectieuses chez les humains à savoir *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus* puis *Vibrio vulnificus* (émergente et responsables des entérites et des septicémies) ont été régulièrement isolées (Figure 3).

Tableau 2: Coefficient de corrélation de Spearman entre les paramètres physico-chimiques et la fréquence des différentes espèces de *Vibrio*.

Espèce	Température	pH	Conductivité	M.E.S	O ₂ Dissous	CO ₂ Dissous	Vitesse d'écoulement
<i>V. cholerae</i>	- 0,055	0,357(**)	0,243(*)	- 0,061	0,052	0,054	- 0,008
<i>V. fluvialis</i>	- 0,053	0,081	0,165	- 0,293(**)	- 0,067	- 0,029	0,047
<i>V. mimicus</i>	0,001	0,061	0,052	0,010	0,126	0,235(*)	0,060
<i>V. alginolyticus</i>	0,080	- 0,065	- 0,087	0,048	0,156	0,028	- 0,072
<i>V. parahaemolyticus</i>	0,103	0,011	0,045	0,083	0,051	- 0,055	- 0,128
<i>V. vulnificus</i>	- 0,153	- 0,052	- 0,093	0,028	0,099	0,089	- 0,071
<i>Vibrio Totales</i>	- 0,008	0,237(*)	0,325(**)	0,001	0,071	- 0,079	- 0,020

** P < 0,01, * P < 0,05, P : seuil de significativité, Seuil limite choisi dans le cadre de cette étude : 0.05 ; V : *Vibrio*

M .E.S : Matières en suspension

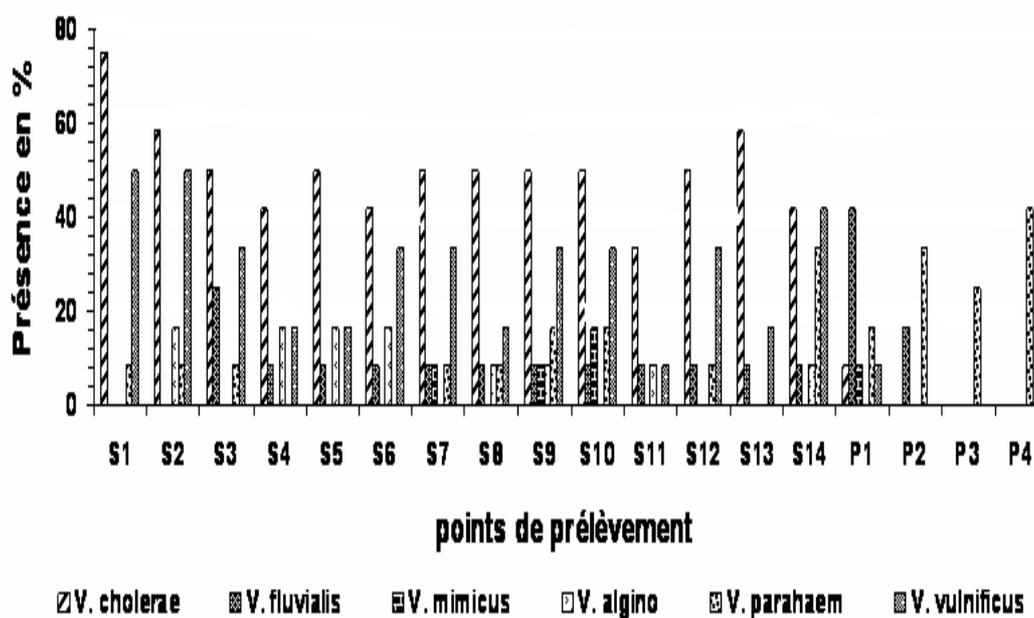


Figure 3 : Fréquences d'isolement des espèces du genre *Vibrio* dans chaque site d'étude

Les températures comprises entre 22,6 et 24,8, caractéristiques des eaux des régions tropicales sont propices à la croissance bactérienne. Elles seraient en partie responsables de la distribution

des souches du genre *Vibrio* dans la quasi-totalité des sites d'échantillonnages. En effet les bactéries du genre *Vibrio* survivent et cultivent

mieux à des températures comprises entre 4 et 40°C [12-14].

Le caractère légèrement acide des eaux de puits et presque neutre pour les eaux de surface (figure 2) serait lié à la nature acide du terrain encaissant. Ceci paraît contradictoire au regard des conceptions actuellement en vigueur selon lesquelles les espèces appartenant au genre *Vibrio* cultiveraient mieux en milieu alcalin. Néanmoins, les isolements fréquents de *Vibrio cholerae* dans les eaux de surface et presque absents dans les eaux de puits traduiraient la tendance pour les bactéries du genre *Vibrio* à être limité dans leur croissance en milieu acide.

En effet, l'utilisation des milieux au pH alcalin est recommandée dans les laboratoires qui recherchent et isolent les vibrions [15]. Les résultats de cette étude montrent effectivement que *Vibrio cholerae* cultive mieux en milieu alcalin ($p < 0,05$). En milieu faiblement acide cependant, les souches de cette espèce ont été isolées (Figure 2B, et Figure 3). Cette propriété permettrait aux souches de survivre à l'acidité gastrique et pourrait justifier son implication fréquente dans les épisodes de diarrhées dues aux espèces du genre *Vibrio*, comparée aux autres espèces. Leur isolement dans les eaux acide pourrait traduire la flexibilité de leur pouvoir adaptatif ou tout simplement une interaction entre plusieurs facteurs (de l'environnement et du laboratoire) qui échappent encore au contrôle de l'expérimentateur. Il serait important de rechercher à nouveau la gamme de pH à l'intérieur de laquelle une croissance bactérienne optimale serait obtenue.

Les valeurs relativement élevées de la conductivité électrique par rapport aux normes préconisées par Rodier [16] montrent que ces eaux sont fortement minéralisées [8]. Les fluctuations spatiales de cette minéralisation (Figure 2C) seraient la conséquence des apports d'origine superficielle résultant des activités anthropiques au niveau des points d'eau.

Les résultats de ces travaux montrent aussi une forte association entre ce paramètre et la présence de souches de *Vibrio*. Les sols de Yaoundé contiennent d'importantes quantités de minéraux dont le fer, le calcium, le magnésium, l'aluminium [8, 17] dont le rôle sur la croissance des bactéries et des autres organismes est bien connu. Il s'agit surtout des ions peu mobiles issus de l'altération des sols qui se produit en milieu

équatorial et aboutissant à la formation des sols latéritiques caractéristiques [18].

Les teneurs en CO₂ dissous et en O₂ dissous varient régulièrement d'un point à l'autre. Ceci serait dû à la variation de la présence d'organismes qui, au cours de leur métabolisme aérobie rejettent du dioxyde de carbone dans le milieu, ou à celle de la matière organique biodégradable. La corrélation positive significative observée entre la teneur en CO₂ dissous et *Vibrio mimicus* est exceptionnelle et mérite davantage d'être élucidé (d'investigations). En effet, puisque le genre *Vibrio* regroupe des espèces aéro-anaérobies facultatives et, selon l'effet Pasteur relatif au métabolisme bactérien, on s'attendrait à ce que les concentrations élevées en CO₂ aient un impact négatif sur la croissance des bactéries.

En dépit de la fluctuation de leurs valeurs, les teneurs des matières en suspension sont restées très élevées par rapport à celles préconisées par Rodier [16] pour les eaux de surfaces et les eaux souterraines. Ceci est probablement lié à l'apport en matières solides et colloïdales, ainsi qu'aux matières biodégradables dans le cours d'eau par l'action anthropique. La variation de la teneur en cette matière pourrait également résulter des variations (non négligeables) des vitesses d'écoulement d'un point à l'autre. Les matières en suspension servent de support aux organismes aquatiques et pourrait faciliter la formation des biofilms, lesquelles protègent les bactéries des effets néfastes de l'environnement [19]. Un milieu très riche en matières en suspension deviendrait aussi riche en microorganismes, progressivement pauvre en nutriments, riche en produit de dégradation et impropre à la croissance microbienne (cinétique de croissance des bactéries). Ceci expliquerait la corrélation négative significative observée entre les matières en suspension et l'isolement des vibrions.

Les informations obtenues au terme de cette étude mettent en lumière l'exposition des populations aux maladies causées par les bactéries du genre *Vibrio*.

CONCLUSION

Six espèces appartenant au genre *Vibrio* ont été isolées et identifiées dans l'environnement aquatique de Yaoundé. Leur présence dans les deux types de ressource (rivière et puits) est une menace potentielle à la santé des populations utilisatrices de ces ressources. Une bonne gestion de l'environnement aquatique serait un atout pour

la préservation de la santé des populations riveraines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. O.M.S. 2006. Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. Available at the following address http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/publications/preventingdisease.pdf
2. Nguendo Yongsil H.B., Salem G. et Thouez J-P. 2008. Risques sanitaires liés aux modes d'assainissement des excréta à Yaoundé, Cameroun. *N.S.S.*, 16: 3-12.
3. Dosso M., Coulibaly M. et Kadio A. 1998. Place des diarrhées bactériennes dans les pays en développement. Manuscrit n° PFO2. Journée en hommage au professeur Dodin A.
4. Fournier J.M. 1998. Choléra. *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses. 8-028-F-10, 5
5. Fournier J.M. et Quilici M.L. 2002. Infections à vibron non cholériques. *Encycl. Med. Chir.* (Editions scientifiques et médicales Elsevier, Paris), Maladies infectieuses. 8-026-F-15, 7p
6. Duraku E. et Panariti A. 1998. A case of acute gastroenteritis cause by *vibrio cholerae* non O₁. *Rev. Inter. Serv. Santé des forces armées*. 71(10-12) : 298- 300
7. Leclerc H. 2003. Y a-t-il des infections bactériennes opportunistes transmises par l'eau d'alimentation ? *J. Eur. Hydrol.* 34, fasc. 1, 11-14
8. Nola M., Njiné T. et Boutin C. 1998. Variabilité de la qualité des eaux souterraines dans quelques stations de Yaoundé (Cameroun). *Mémoires de biosogéologie*, 25 : 183-191.
9. Guévert E., Noeske J., Solle J., Essomba J.M., Mbonji Edjenguele, Mbita A., Mouangue A. et Manga B. 2006. Déterminants du choléra à Douala. *Méd. Trop.*, 66 : 283-291
10. Fotsing Kwetché P.R. 2008. Détection des facteurs de virulence chez *Escherichia coli* et caractérisation des pathotypes responsables des gastroentérites. Thèse de Doct/ Ph.D. Université de Yaoundé I. 150 P.
11. APHA 1985. Standard Methods for the examination of water and wastewater. APHA-AWWA-WPCF ed. Pennsylvania, Washington DC, 1150 p.
12. Dumontet S., Krovacek K., Svenson B.S., Pasquale V., Baloda B.S. et Figliuolo G. 2000. Prevalence and diversity of aeromonas and vibrio spp. In coastal waters of southern Italy. *Comp. Immun. Microbiol and Infect. Dis.* 23: 53-72.
13. David E.J. and Joan B.R. 2005. Review of factors affecting microbial survival in ground water. *Environ. Sci. Technol.* 39(19): 7345 – 7365
14. Anonyme 2008. Portail de la microbiologie. Récupéré de <http://fr.wikipedia.org/wiki/Vibrio>.
15. Collins A.E. 2003. Vulnerability to coastal cholera ecology. *Soc. Sci. & Med.* 57 1397-1407.
16. Rodier J. 1996. L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eau de mer. Chimie, physico-chimie, interprétation des résultats. 8^e éd. Dunod, Paris, 1384 p.
17. Yongue-Fouateu R. 1986. Contribution à l'étude pétrographique de l'altération et des faciès de cuirassement ferrugineux des gneiss migmatitiques de la région de Yaoundé. Thèse Doct. D'Etat, Université de Yaoundé. 214 p
18. Suchel B. 1988. La répartition des pluies et des régions pluviométriques au Cameroun, Travaux et documents de géographie tropicale (C-E-CNRS), 5 : 1-288.
19. Nstama-Essomba, Boutier S. Ramaldes M. et Fourniat J. 1997. Resistance of *Escherichia coli* growing as biofilms to disinfectants. *Vet. Res.*, 28 : 353-365