

## M-II5

### INDOLOGÈNE EN MILIEU MARIN - APPLICATIONS PRATIQUES

Camille TYSSET\* et Jean F. BRISOU\*\*

\* Le Pré Catalan, 14 avenue de Flirey, Nice (France)  
 \*\* 23 avenue Claude Farrère, Toulon (France)

Nul ne conteste que les concentrations salines de l'eau de mer non seulement ne nuisent en rien à l'activité de la tryptophanase génératrice d'indole, mais qu'elles constituent au contraire des facteurs favorables. Certaines bactéries ne deviennent indologènes qu'en milieu salé à la concentration de l'eau de mer. Il existe même deux bactéries hyperhalophiles productrices d'indole sur les 5 jusqu'ici identifiées: *Halobacterium salinarium*, et *H. marshalliae*. Une autre bactérie marine assez singulière, puisque bioluminescente, possède également la tryptophanase, il s'agit de *Photobacterium harveyi*. Il en résulte que le 1/10<sup>ème</sup> des bactéries halophiles strictes, dont 7 Vibrions, se révèlent indologènes. La proportion est modeste.

Les bilans dressés en prenant en compte les bactéries euryhalines sont par contre beaucoup plus impressionnants. L'intérêt est retenu par le fait que les plus représentatifs appartiennent aux hôtes de l'intestin de l'homme et des animaux vertébrés ou invertébrés, donc indicateurs de pollution fécale et éventuellement pathogènes pour l'homme et bon nombre d'animaux. Ainsi se présentent les: *Clostridium perfringens* et *C. botulinum de type E*, espèce spécifique des poissons, des sédiments marins et fluviaux et même lacustres.

Viennent ensuite les Enterobactéries avec une quinzaine d'espèces et des vibrions tels que *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, enfin 7 sur 8 *Aeromonas*. D'autres bilans consacrés aux bactéries autochtones du milieu marin permettent le recensement d'une trentaine de germes indologènes. La plupart appartiennent aux groupes des chromogènes (*Xanthomonas* et *Flavobacterium*). On trouve quelques *Phytobacterium* et un *Actinomycete (A. baudeti)*. Les études ont d'autre part porté sur l'enzymologie des sédiments profonds, et sur des sables de plages selon des techniques déjà publiées. La production d'indole par un sédiment mis en présence de tryptophane est un signal d'alarme invitant à approfondir les investigations en les orientant vers la recherche spécifique de bactéries indésirables.

Des méthodes simples et peu coûteuses permettent de mesurer rapidement l'activité tryptophanasique des échantillons et d'en tirer un certain nombre de conséquences. Il est inutile de se livrer à des dénombremements fastidieux dont on connaît les incertitudes. Il est plus aisé de suivre l'évolution de la contamination qui sera tantôt passagère, accidentelle, tantôt ; ce qui est plus inquiétant, constante. Une telle recherche sera associée à celle de l'acidification du lactose, ; de la production d' $H_2$  Saux dépens de la cystine, de la protéolyse et de la réduction des nitrates. L'ensemble de ces épreuves, faciles à automatiser, aboutit à l'établissement d'une "Fiche de Santé" d'une plage, d'un sédiment ou de vases d'une zone conchylicole. L'indologénèse étant une propriété majeure de germes polluants, éventuellement pathogènes, du microbiisme intestinal de l'homme et de tous les animaux, il est souhaité de la voir plus amplement appliquée dans la pratique de surveillance sanitaire d'un environnement fréquenté par les amateurs de séjours balnéaires, et des régions à vocation conchylicole en général.

## M-II6

### FATE OF THE MICROORGANISMS DISCHARGED THROUGH SUBMARINE OUTFALL I. DISAPPEARANCE OF INDICATOR MICROORGANISMS

R. CORNAX, M.A. MORINIGO, M.L. ARCOS, J.J. BORREGO and P. ROMERO  
 Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias,  
 Universidad de Málaga, Málaga (España)

#### SUMMARY.

The objective of this study is to determine the rate of disappearance that indicator microorganisms of fecal pollution suffer when they are discharged through submarine outfall, with the purpose of evaluating their security in the determination of submarine outfalls efficiency. It is deduced from the data that the microbial die-off rate is determined principally by physical factors.

#### TEXT.

The microbial inactivation process in the marine environment occurs by two different processes: physical dilution by dispersion and biological inactivation.

The outfall studied is situated in Fuengirola (Málaga-Spain). The technique described by Pearson (1) and modified by Borrego (2) was used for this study. T90 experiments were carried out during July and August 1985.

The following analyses of indicator microorganisms were carried out in all samples: Total Coliforms, Fecal Coliforms, Fecal Streptococci, using the techniques and the culture media according to "Standard Methods" (3), for the analyses of sulphite-reducers Clostridia the technique described by Bonde (4) was employed and for coliphages determination the MPN method (5) was used together with direct count double-agar layer technique (2).

The initial dilution was determined by counts of the different microorganisms taken from the beach pump house and in the effluent on the sea surface. The initial dilution results are given in Table 1. From considerations of this initial values it can be deduced that the upwelling is affected by precipitation phenomena inactivation process and subsuperficial dispersion, all of them exerting a decrease on the microbial concentration and therefore, increased the initial dilution. They are these processes which mark the differences between the different microorganisms analyzed.

The T90 values were obtained from the linear correlation equations of the concentrations of the parameters studied and the tracking-times (2). The T90 values appear in Table 2, together with the T90 significative values for each experiment.

The differences between T90 values obtained for microbiological indicator parameters, are not very important, the dilution process being the most important factor responsible for the microbial disappearance in the area near the effluent.

TABLE 1. Initial dilution values by applying the proportion between sewage and superficial effluent microbial concentrations.

Experiment	Initial dilution values				
	T.C.	F.C.	S.F.	Csr	Ph
1	150.0	19.6	94.0	100.0	80.5
2	366.0	95.6	206.0	-	29.3
3	198.0	1.4	108.0	61.5	8.7
4	136.0	388.0	60.5	246.0	208.0
Average	213.0	126.0	117.0	135.0	82.0

T.C. Total Coliforms  
 F.C. Fecal Coliforms  
 S.F. Fecal Streptococci  
 Csr sulphite-reducers  
 Ph Clostridia  
 Coliphages

TABLE 2. T90 values of indicator microorganisms for each experiment.

Microorganisms	T90 values (minutes)				
	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	T90 in all
Total Coliforms	14.20	15.72	6.56	6.02	16.3
Fecal Coliforms	11.50	12.30	6.21	7.62	12.9
Fecal Streptococci	8.81	24.23	7.17	8.25	13.3
Sulphite-reducers Clostridia	-	11.50	10.25	9.28	11.5
Coliphages	9.19	22.47	7.70	8.38	18.1

#### REFERENCES.

- Pearson, A. E. 1956. "An investigation on the efficacy of submarine outfall disposal of sewage and sludge". California State Water Pollution Control Board. Publ. No. 14. Sacramento.
- Borrego, J.J. 1982. "Estudio de los bacteriófagos de *Escherichia coli* en el agua de mar. Su relación con la polución de dicho medio". Ph Thesis. Univ. Málaga.
- Standard Methods for examination of water and wastewater. 16 th Ed. Am. Public. Health Assoc. Washington, D.C. 1985.
- Bonde, G.J. 1977. "Bacterial indicator of water pollution". In ADVANCES IN AQUATIC MICROBIOLOGY. Vol.1. Droop & Jannash (ed.). Academic Press. New York. 273
- Kott, Y. 1966. "Estimation of low numbers of *Escherichia coli* bacteriophages by use of the most probable number method". Appl Microbiol. 14, 141.