

Relations between indicator microorganisms and the presence of *Salmonella* in a polluted marine zone

M.A. MORINIGO, M.A. MUNOZ, R. CORNAX, E. MARTINEZ-MANZANARES, P. ROMERO and J.J. BORRERO

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Publica, Microbiología e Historia de la Ciencia, Facultad de Ciencias, Universidad de Malaga (España)

Introduction.

The increase of the sewage disposal have intensified the detection of pathogens in the marine environment. The analysis of these microorganisms is not easy, and for this reason to evaluate the quality of water the indicator microorganisms are employed (Bonde, 1977; W.H.O., 1977), because they are related with the pathogens (Cabelli, 1977), and are easier to detect.

Objectives

In this work the *Salmonella* detection percentage in relationship with the median of the log-normal distributions of the indicator microorganisms is studied. Seven sampling stations were chosen in one marine zone, which supported the discharges of the Guadalhorce river (Málaga-Spain). The source of these discharges are urban and industrial.

Results and Discussion

To evaluate the quality of these waters are used the criterions specified by M.O.P.U. (1977) and W.H.O. (1974).

In Table 1 the correlation equations between the detection percentage of pathogen and the median of the log-normal distributions of concentrations₅₀ of indicator microorganisms are schematized. The most significative and high correlations were obtained with Total Coliforms (TC) and Fecal Streptococci (SF). The coliphages (Ph), which are proposed as indicator by different authors, showed a similar values to TC and SF, although his significance level was lower than TC and SF.

In Tab.2 it is possible to observe that in cases of an elevate pollution (high concentrations₅₀ of indicators), the quality of water is guaranteed by the analysis of indicators, but is different when the pollution is low (with titles of FC₅₀; W.H.O., 1974, M.O.P.U., 1977) and FS₅₀ (Mujeriego et al., 1980) 100/100 ml) it was possible to detect *Salmonella* at least with a hazard of 10 %.

At least 10 % of hazard to detect salmonellas was observed with concentrations of other indicator microorganisms such as 600 TC/100 ml, 50 Clostridia sulfite reducers (Cs)/100 ml and 100 Ph/100 ml, which are titles of waters with scarce pollution.

In short, in these waters, which are influenced by discharges of mixed pollution, and due the relative resistance of *Salmonella* to adverse environment (Majori et al., 1978; Cornax, 1986; Morinigo, 1987), the quality of these waters is not guaranteed by analysis of indicator microorganisms when the pollution is very low or moderate.

Table 1: Correlations established between the concentrations₅₀ (x) of the indicator microorganisms and the probability to found *Salmonella* (y) in the marine area affected by the discharges of Guadalhorce river.

$$y = \log (TC)_{50} 1.2159 - 0.9076 \quad (r = 0.8939; p < 0.005)$$

$$y = \log (FC)_{50} 0.9108 - 1.0352 \quad (r = 0.7231; p < 0.1)$$

$$y = \log (SF)_{50} 1.3595 - 0.2165 \quad (r = 0.8497; p < 0.001)$$

$$y = \log (Cs)_{50} 2.4965 - 1.6653 \quad (r = 0.7326; p < 0.1)$$

$$y = \log (Ph)_{50} 1.1930 - 0.0529 \quad (r = 0.8182; p < 0.02)$$

Table 2: Concentrations₅₀ of the different indicator microorganisms with which the probability to found the pathogen are 50 and 10 %.

Indicator Microorganisms	50 %	10 %
Total Coliforms (TC)	4 x 10 ⁴	5.5 x 10 ²
Fecal Coliforms (FC)	10 ⁴	≤ 50
Fecal Streptococci (FS)	3.5 x 10 ³	≤ 10 ²
Clostridia sulfite reducers (Cs)	3.5 x 10 ²	≤ 50
Coliphages (Ph)	10 ⁴	≤ 10 ²

References.

- Bonde, G.J. 1977. In *Advances in Aquatic Microbiology*. Vol. 1. M. Droop & H.W. Jennesch (ed). Academic Press, Inc. London pp. 273-364.
- Cabelli, J.J. 1977. In *Bacterial Indicators/Health Hazards Associated with water*. A.W. Hoadley & B.J. Dutka (ed). American Society for Testing and Materials. Philadelphia. pp. 222-238.
- Cornax, R. 1986. Tesis de Licenciatura. Universidad de Málaga.
- Majori et al. 1978. Journées Etud. Pollut. Antalye. C.I.E.S.H. pp. 505-510.
- Morinigo, M.A. 1987. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga.
- M.O.P.U. 1977. Instrucción para el vertido al mar desde tierra de aguas residuales a través de emisarios submarinos. B.O.E. 151: 14256-14274.
- Mujeriego et al. 1980. Comité conjunto Hispano-Norteamericano. Subdirección General de Sanidad Ambiental. Ministerio de Sanidad y Seguridad Social. España.
- W.H.O. 1974. EURO 3/25 (1). Copenhague.
- W.H.O. 1977. W.H.O. and U.N.E.P. (Rovinj, Yugoslavia). Copenhague.

Influence de la salinité sur la survie d'une souche d'*Escherichia coli* en eau de mer. Comparaison avec d'autres bactéries telluriques

P.M. MUNRO et M.J. GAUTHIER

INSERM, Unité 303 "Mer et Santé", 1 avenue Jean Lorrain, 06300 Nice (France)

Introduction :

De nombreuses études ont été entreprises depuis près d'un siècle sur le devenir des bactéries telluriques dans le milieu marin (8, 9, 1). Toutes aboutissaient à la conclusion que ces micro-organismes mouraient rapidement en mer, sous l'action d'un certain nombre de facteurs physiques, chimiques et biologiques propres à ce milieu (3). Vers le milieu des années 70, certaines observations ont montré que ce déclin pouvait n'être dû, au moins en partie, qu'à la technique de numération elle-même (2, 6), les cellules "stressées" étant incapables de se développer sur des milieux sélectifs et devenant plus sensibles à la température et à la salinité. Elles évoluent ainsi progressivement vers un état viable mais non cultivable (10, 11).

Ce travail avait pour but d'étudier l'influence de la salinité sur la survie d'une souche d'*Escherichia coli* en milieu carencé ("starvation survival"). Une comparaison avec d'autres bactéries telluriques appartenant ou non aux Entérobactéries a été faite. L'importance du NaCl dans la récupération des cellules stressées est également discutée.

Résultats - Discussion :

L'effet du NaCl sur la survie de *E. coli* dans l'eau de mer apparaissait assez complexe, avec une mortalité apparente plus importante quand les cellules étaient préalablement cultivées à une concentration saline de 10 g/l, mais cependant un effet protecteur à 30 g/l (5). Cette adaptation au NaCl semblait moins importante que celle observée après croissance dans un milieu à l'eau de mer (4, 7).

Les mêmes résultats ont été obtenus avec trois autres Entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* et *Shigella dysenteriae*, qui étaient presque totalement adaptées aux conditions marines après préculture en milieu salé. Quatre autres bactéries telluriques n'appartenant pas aux Entérobactéries présentaient le même comportement, qu'elles aient été ou non préadaptées au milieu marin (7).

Le NaCl peut également intervenir au niveau de la récupération d'un certain nombre de cellules stressées par un séjour plus ou moins long dans l'eau de mer. Ainsi, une numération des cellules non adaptées sur un milieu contenant 15 g/l de NaCl a permis un taux de récupération, par rapport à ce même milieu sans NaCl, de 55 fois. Cette addition de NaCl n'avait cependant aucun effet sur les cellules préadaptées (7).

La présence de sels et en particulier de NaCl paraissait donc être un facteur important dans l'adaptation possible de *E. coli* et des Entérobactéries en général, au milieu marin.

Références

- Aubert, M., Aubert, J., Gauthier, M.J. et Bernard, P. 1981. Les systèmes d'information des micro-organismes marins. Leur rôle dans l'équilibre biologique océanique. *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, 60-61:37-106.
- Bissonnette, G.K., Jezeski, J.J., Mac Feters, G.A. and Stuart, D.G. 1975. Influence of environmental stress on enumeration of indicator bacteria from natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 29:186-194.
- Carlucci, A.F. and Pramer, D. 1959. Factors affecting the survival of bacteria in seawater. *Appl. Microbiol.*, 7:388-392.
- Gauthier, M.J., Munro, P.M. and Mohadjer, S. 1987. Influence of salts and sodium chloride on the recovery of *Escherichia coli* from seawater. *Curr. Microbiol.*, 15(1):5-10.
- Gauthier, M.J., Munro, P.M. and Breittmayer, V.A. 1988. Influence of previous growth conditions on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* (soumis pour publication).
- Klein, D.A. and Wu, S. 1974. Stress: a factor to be considered in heterotrophic microorganisms enumeration from aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 27:429-431.
- Munro, P.M., Laumond, F.M. and Gauthier, M.J. 1987. A previous growth of enteric bacteria on a salted medium increases their survival in seawater. *Let. Appl. Microbiol.*, 4:121-124.
- Orlob, G.T. 1956. Viability of sewage bacteria in seawater. *Sewage Ind. Wastes*, 28:1147-1167.
- Paoletti, A., 1964. Micro-organismes pathogènes dans le milieu marin. *Pol. Mar. par Microorg. et Prod. Petr., Symp. de Monaco, CIESMM*, 134-184.
- Rozsak, D.B., Grimes, D.J. and Colwell, R.R., 1984. Viable but nonrecoverable stage of *Salmonella enteritidis* in aquatic systems. *Can. J. Microbiol.*, 30:334-338.
- Xu, H.S., Roberts, N., Singleton, F.L., Attwell R.W., Grimes, D.J. and Colwell, R.R. 1982. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microb. Ecol.*, 8:313-323.