

LES ANÀLISIS MICROBIOLÒGIQUES DE L'AIGUA REGENERADA EN L'ÀMBIT DEL CCB: ASPECTES PRÀCTICS

Sònia Costa Plana

*Jornada Interna de Reutilització d'Aigües a la Costa Brava
Lloret de Mar 23 de Gener de 2002*

ELS MICROORGANISMES I L'AIGUA REGENERADA

- L'aigua residual conté nombrosos agents transmissors de malalties infeccioses que representen un risc per a la salut humana i ambiental.
- Cal assolir una determinada qualitat microbiològica en l'aigua regenerada per a poder ser reutilitzada de forma beneficisosa. Es requereix també un seguiment rutinari d'aquesta qualitat.
- El desenvolupament i millora de les tècniques de desinfecció ha permès ampliar els usos de l'aigua regenerada en l'àmbit de la Costa Brava.

MICROORGANISMES PATÒGENS ASSOCIATS A L'AIGUA RESIDUAL

Pathogen Class	Examples	Disease
Bacteria	<i>Shigella sp.</i>	Bacillary dysentery
	<i>Salmonella sp.</i>	Salmonellosis (gastroenteritis)
	<i>Salmonella typhi</i>	Typhoid fever
	<i>Vibrio cholerae</i>	Cholera
	Enteropathogenic-	
	<i>Escherichia coli</i>	A variety of gastroenteric diseases
	<i>Yersinia sp.</i>	Yersiniosis (gastroenteritis)
	<i>Campylobacter jejuni</i>	Campylobacteriosis (gastroenteritis)
Viruses	Hepatitis A virus	Infectious hepatitis
	Norwalk viruses	Acute gastroenteritis
	Rotaviruses	Acute gastroenteritis
	Polioviruses	Poliomyelitis
	Coxsackie viruses	"flu-like" symptoms
	Echoviruses	"flu-like" symptoms
Protozoa	<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiasis (amoebic dysentery)
	<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis (gastroenteritis)
	<i>Cryptosporidium sp.</i>	Cryptosporidiosis (gastroenteritis)
	<i>Balantidium coli</i>	Balantidiasis (gastroenteritis)
Helminths	<i>Ascaris sp.</i>	Ascariasis (roundworm infection)
	<i>Taenia sp.</i>	Taeniasis (tapeworm infection)
	<i>Necator americanus</i>	Ancylostomiasis (hookworm infection)
	<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis (whipworm infection)

MICROORGANISMES INDICADORS

- L'organisme ha de ser exclusivament d'origen fecal.
- S'ha de trobar en nombres més elevats que el patògen associat.
- Ha de ser més resistent a l'estrés ambiental (desinfecció) i persistir durant molt més temps que el patògen.
- No ha de proliferar abundantment de manera natural en l'ambient.
- Han d'existir mètodes fàcils i econòmics de detecció, enumeració i identificació de l'organisme indicador.

MICROORGANISMES INDICADORS

- Si els indicadors són absents, és improbable que els patògens hi siguin presents, tot i que no assegura l'absència de bacteris oportunistes, virus i protozous, que hagin pogut ser més resistents a la desinfecció.
- Els microorganismes indicadors que es consideren més adequats són:
 - per bacteris d'origen fecal: *Escherichia coli*, els enterococs, i en menor grau, els coliforms fecals;
 - per virus: els colifags somàtics, i els fags que infecten *Bacteroides fragilis*.

ENTEROBACTERIS

(bacils G-, anaerobis facultatus)

COLIFORMS TOTALS
Escherichia, Citrobacter,
Klebsiella, Enterobacter

NO COLIFORMS
Shigella, Yersinia,
Providencia, Salmonella,
Serratia, Proteus

COLIFORMS FECALS
E. coli, C. freundii, K. pneumoniae

- Els CT indiquen contaminació bacteriana. Demostren l'eficàcia del procés de desinfecció de l'aigua.
- Els CF indiquen contaminació fecal. *E. coli* és considerat el millor coliform indicador de contaminació fecal d'origen humà i animal. És reconegut per la USEPA com un indicador que es podria utilitzar en comptes dels CF.

ESTREPTOCOCS

(cocs G+, anaerobis facultatius)

ORIGEN NO HUMÀ

S. bovis, *S. equinus*

ORIGEN NO FECAL

S. mitis, *S. salivarius*

GRUP ENTEROCOCCUS

E. faecalis, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. avium*

- S'associen exclusivament amb residus fecals, tant d'origen animal com humà.
- Sobreviuen molt més que altres indicadors en l'aigua i el sediment.
- Són més resistents al tractament de l'aigua residual, incloent la cloració, i, per tant, són indicadors més sensibles de la supervivència dels patògens entèrics i els virus.

RECOLLIDA DE LES MOSTRES D'AIGUA (I)

L'obtenció de l'aigua de l'arqueta de cloració de l'EDAR de CdA es realitza amb l'ajuda d'una ampolla limnològica que es pot esterilitzar.

Permet agafar aigua en fondària, evitant barrejar la columna d'aigua i evitant les interferències de la contaminació superficial (pols, fulles, restes de gespa, etc.)



RECOLLIDA DE LES MOSTRES D'AIGUA (II)

L'aigua procedent del tractament d'UV és recollida després d'esterilitzar amb flama l'aixeta metàl·lica de sortida.



EMMAGATZEMATGE DE LES MOSTRES D'AIGUA

L'aigua es diposita en ampolles estèrils, i el seu transport es fa en refrigeració.

Les mostres d'aigua haurien d'arribar al lloc de l'anàlisi les 24 hores posteriors a la recollida. L'USEPA recomana un temps màxim d'emmagatzematge de 30 hores i a una temperatura de 1-4°C.



FILTRACIÓ PER MEMBRANA

El mètode de filtració per membrana consisteix en filtrar un volum apropiat de la mostra d'aigua a través d'un filtre de membrana amb un tamany de porus que retengui els microorganismes, per tal que cadascun d'ells dongui lloc a una colònia.

El filtre es coloca en un medi agar adequat i s'incuba. Les colònies que creixen en el filtre s'identifiquen per la talla, color, forma, etc. Es conten i es dóna el nombre de colònies per 100 ml de mostra.



MILLORES METODOLÒGIQUES INTRODUÏDES EN EL LABORATORI DE CASTELL PLATJA D'ARO

- Adquisició d'un microones:
 - Reducció del temps de preparació del medi de cultiu.
- Adquisició d'una micropipeta i tubs
 - Reducció del volum de tampó necessari per fer les dilucions
 - Millora de la precisió

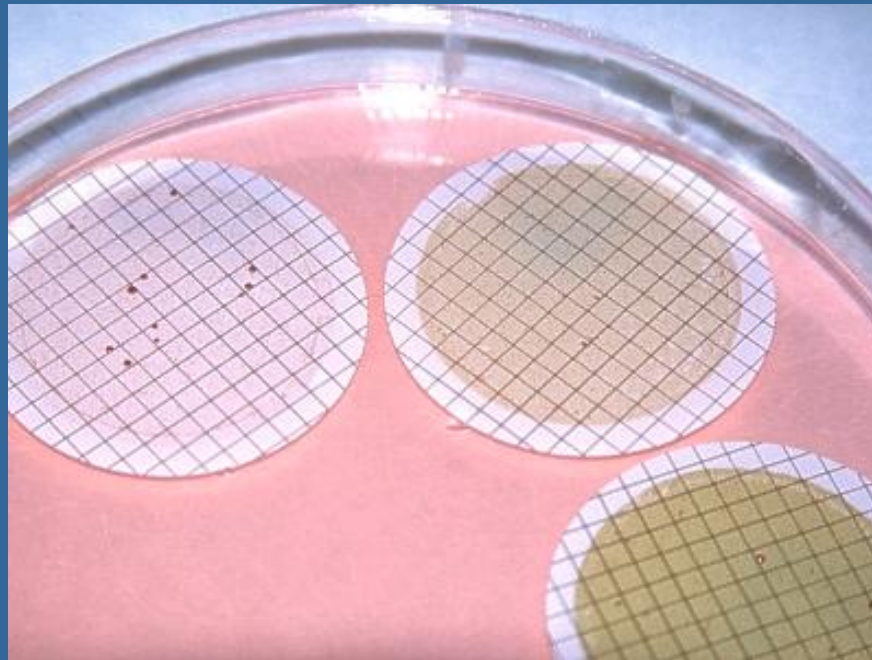


CULTIU I IDENTIFICACIÓ DE MICROORGANISMES: ESTREPTOCOCS FECALS

Medi de cultiu: m Enterococcus agar

Condicions de creixement: 48 hores a 37°C

Identificació: colònies vermelles

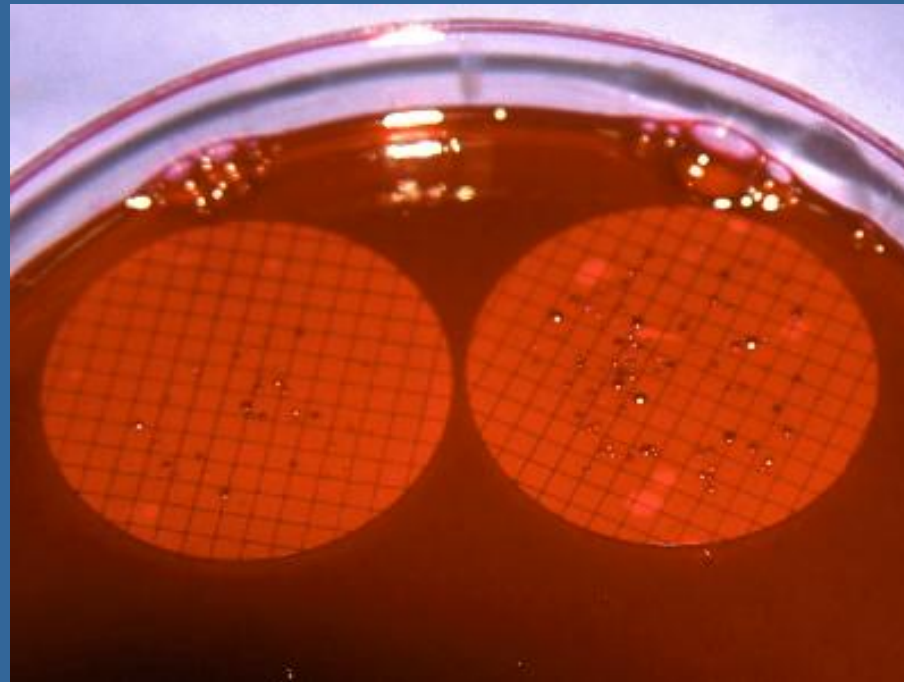


CULTIU I IDENTIFICACIÓ DE MICROORGANISMES: COLIFORMS TOTALS

Medi de cultiu: m Endo Agar LE

Condicions de creixement: 24 h a 37°C

Identificació: colònies vermelles amb llusor metàl·lica



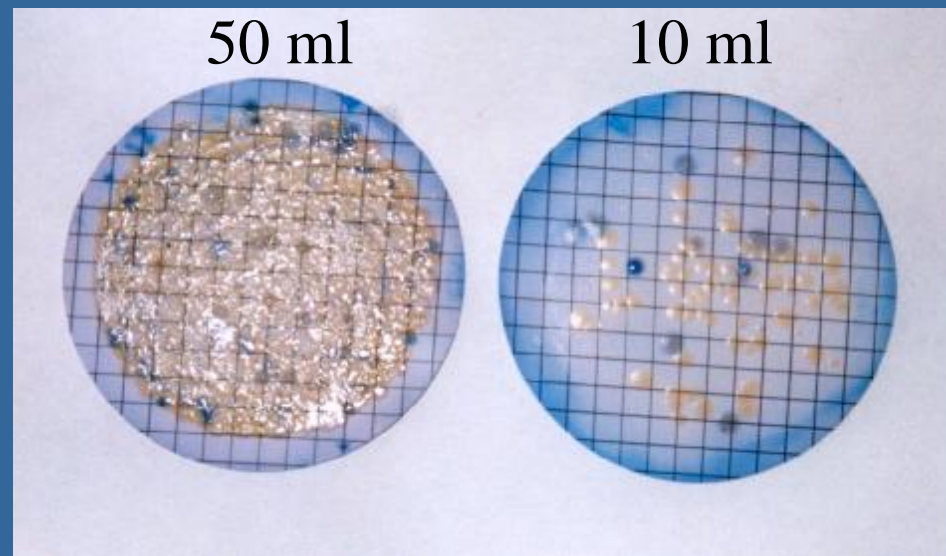
CULTIU I IDENTIFICACIÓ DE MICROORGANISMES: COLIFORMS FECALS (I)

Medi de cultiu: m FC Broth base

Condicions de creixement: 24 h a 44°C

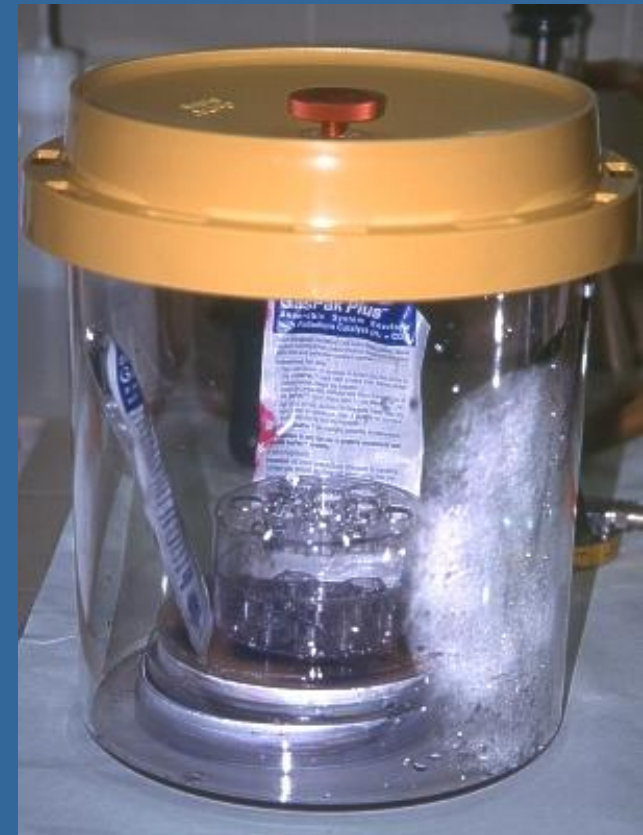
Identificació: colònies blaves

16/12/01 Drenatge green Golf Serres de Pals



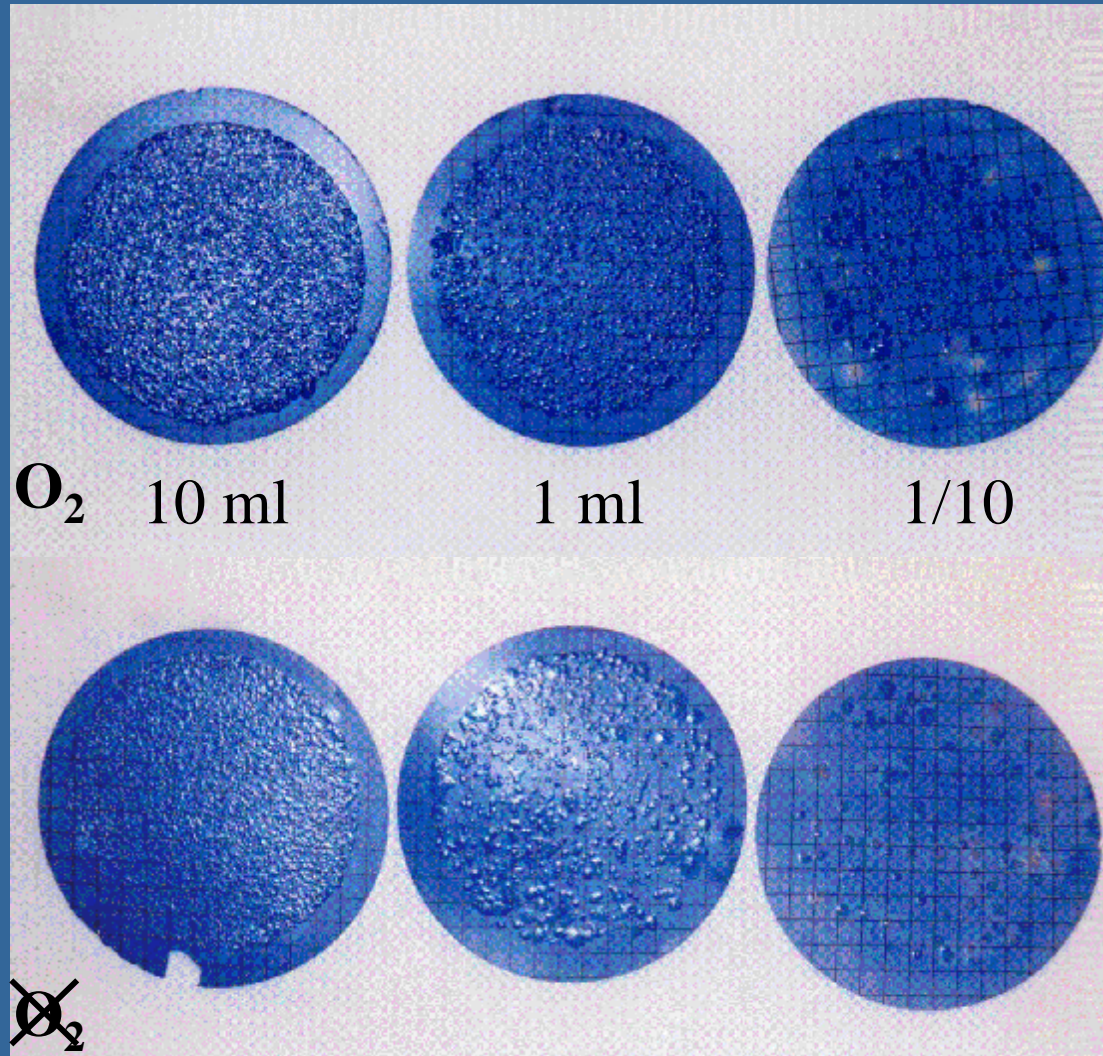
CULTIU I IDENTIFICACIÓ DE MICROORGANISMES: COLIFORMS FECALS (II)

- Adquisició d'una gerra d'anaerobiosi



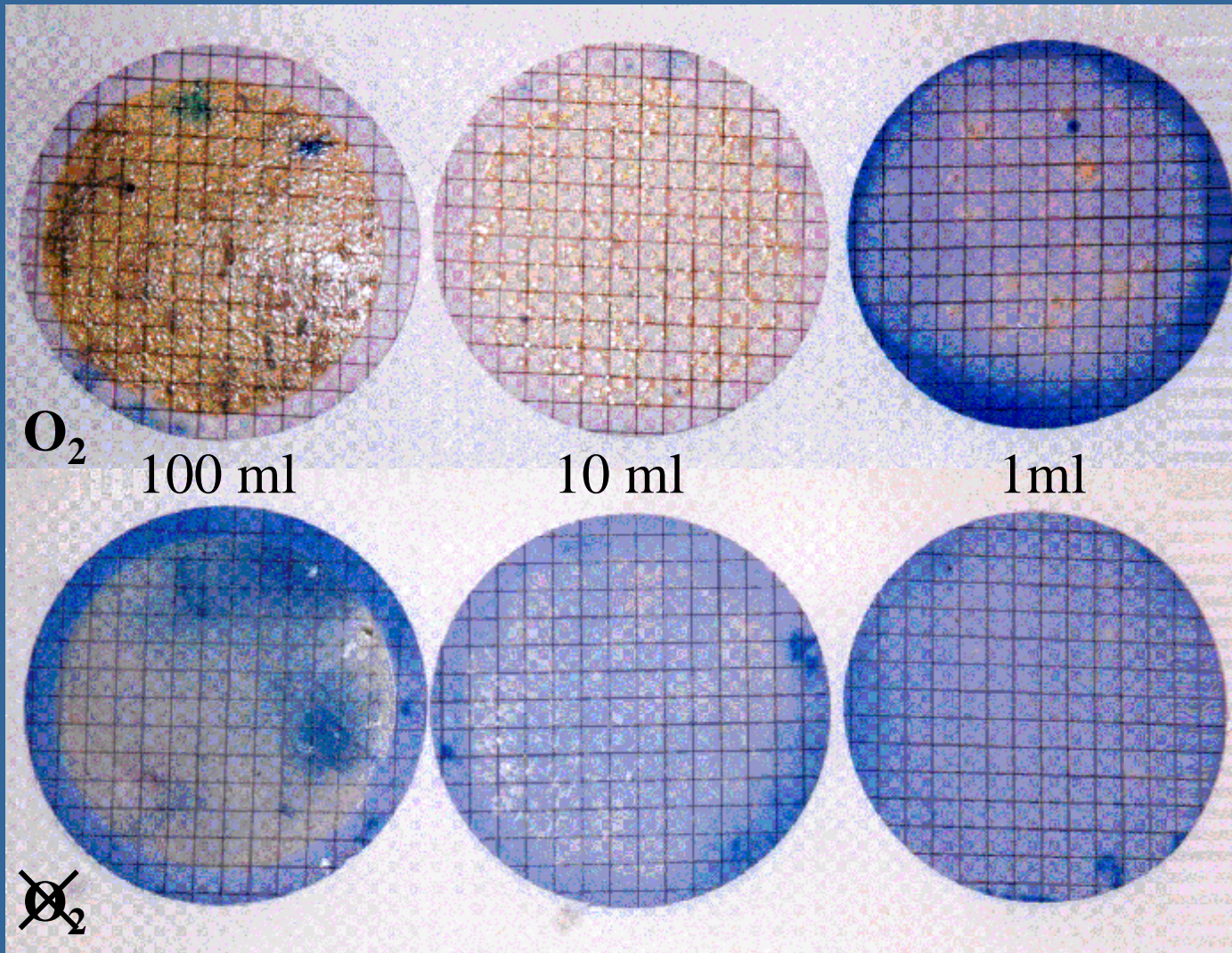
COLIFORMS FECALS (III)

7/1/03 Secundari EDAR Pals



COLIFORMS FECALS (IV)

7/1/03 Llac del Golf d'Aro

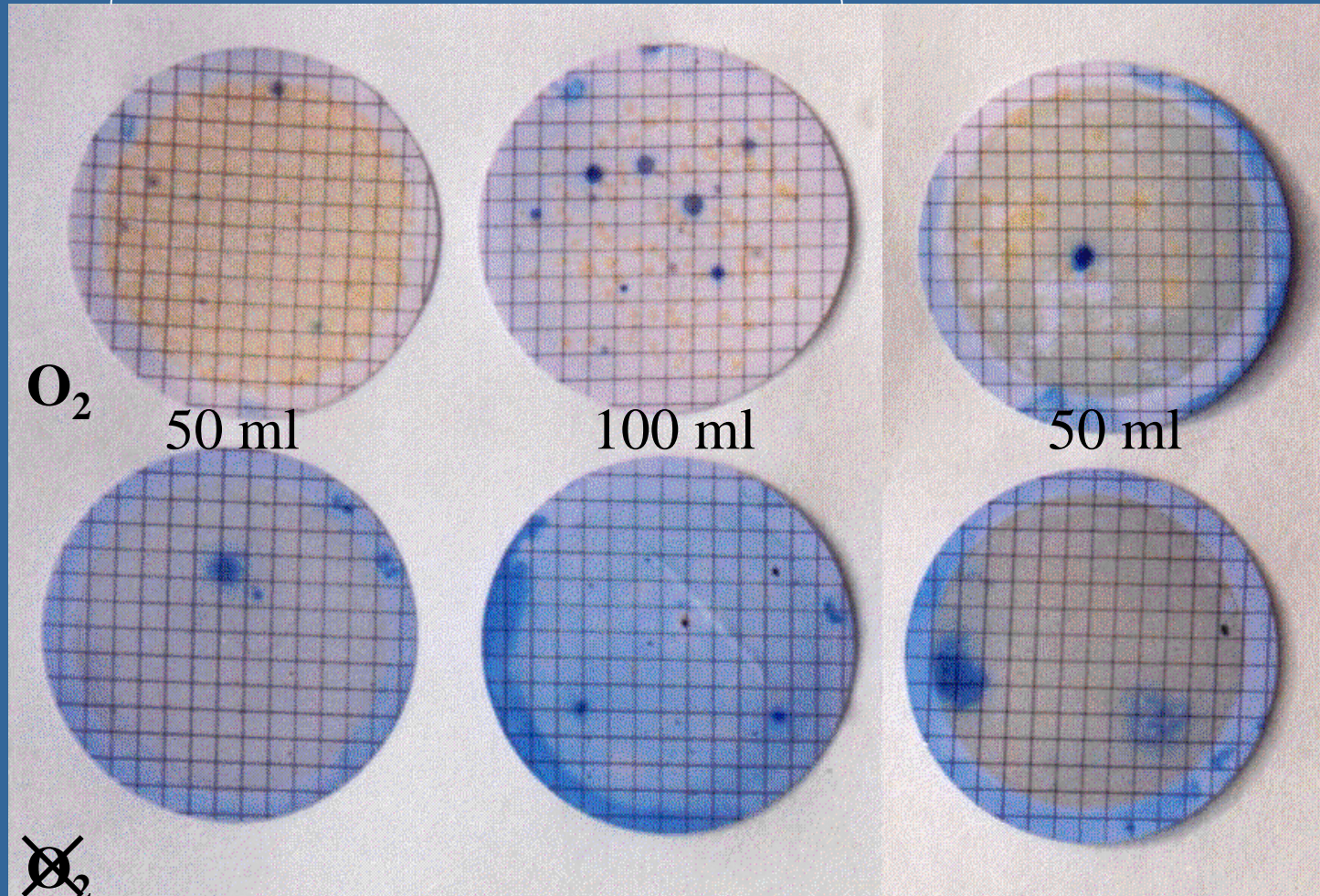


COLIFORMS FECALS (V)

16/12/03

Golf Serres de Pals

Golf d'Aro



RECOMANACIONS

- S'ha d'efectuar la recollida de les mostres de manera estèril, sobretot en els punts amb menys càrrega microbiana (UV i cloració).
- El transport de les mostres s'ha de fer en refrigeració i a les fosques, en el mínim temps possible, per tal d'evitar fotoreactivació.
- Cal trobar mètodes de cultiu dels microorganismes indicadors que siguin ràpids, fàcils i econòmics.