

CAPÍTOL 5
CONTROL DE LA FORMACIÓ DE BIOFILMS EN SISTEMES DE
DISTRIBUCIÓ D'AIGÜES SUBTERRÀNIES

Capítol 5 Control de la Formació de Biofilms en Sistemes de Distribució d'Aigües Subterrànies

5.1.	INTRODUCCIÓ	220
5.1.1.	CONDICIONADORS D'AIGÜES	220
5.1.2.	CONDICIONADORS CATALÍTICS D'AIGÜES	221
5.1.3.	ACTIVITAT DEL CATALITZADOR ENFRONT DELS MICROORGANISMES	222
5.2.	MATERIAL I MÈTODES	223
5.2.1.	INSTAL·LACIÓ DEL CONDICIONADOR CATALÍTIC	223
5.3.	RESULTATS A LA ZONA DE MOSTREIG I: SANT MARTÍ	224
5.3.1.	DESENVOLUPAMENT DE BIOFILM EN SISTEMA CATALITZAT I SISTEMA CONTROL	224
5.3.2.	COMPARACIÓ DEL N° DE MICROORGANISMES EN FASE BIOFILM I PLANCTÒNICA	228
5.4.	DISCUSSIÓ	230
5.5.	BIBLIOGRAFIA	231

5.1. Introducció

5.1.1. Condicionadors d'aigües

Diferents tipus de condicionadors d'aigües s'han utilitzat amb un èxit relatiu des de fa bastants anys, malgrat que existeix una certa confusió en referència als beneficis produïts per la utilització d'aquests aparells. De fet, el mateix terme "condicionadors d'aigües" és prou genèric i ampli com per definir una gran varietat d'aparells i processos. En aquest sentit, al mercat es troben sistemes de condicionament d'aigua que funcionen segons principis diferents. Algunes d'aquestes solucions es presenten com a productes pel tractament de l'aigua de "tecnologia exclusiva", fet que els converteix en caixes negres pel tractament. En la majoria dels casos, els fabricants del producte no proporcionen informació científica que doni suport a la suposada millora en la qualitat de l'aigua. Tampoc existeix literatura científica sobre el tema, excepte articles publicats en alguna revista polaca o russa. En general, existeix una inconsistència en la majoria de resultats obtinguts que, de fet, estan subjectes a una gran quantitat de variables. Com a exemple suprem del surrealisme existent en aquest camp, una empresa que comercialitza un d'aquests productes recomana la seva compra en els termes següents: "...we do not recommend that you purchase any brand of magnetic conditioner or lime fighter, including the one that we offer."

Malgrat tot, molts dels usuaris d'alguns dels condicionadors d'aigües, especialment en el camp de la irrigació, han observat uns resultats bastant favorables pels seus interessos. La majoria coincideix en assenyalar que aquests aparells han presentat una acció favorable, millorant alguns paràmetres de la qualitat de l'aigua. Cal destacar, l'acció en referència a:

- Millora dels problemes de proliferacions microbianes i obturacions en canonades
- Reducció dels problemes del ferro i dels bacteris del ferro en el reg gota a gota
- Solució als problemes d'incrustacions
- Increment de la taxa d'infiltració al sòl
- Reducció de la precipitació de sals en plantes joves als testos, a la superfície de les fulles i al sòl i, en general, disminució de les pèrdues en collites afectades per problemes salins

Sense ànim de ser exhaustius existeixen dues aproximacions en el condicionament de l'aigua, que es diferencien per la utilització o no de sals (Powell 1986). Els condicionadors que utilitzen sals actuen reemplaçant els sòlids dissolts responsables de la duresa de l'aigua, com els carbonats o bicarbonats de calci i magnesi. Cal tenir present que els minerals que augmenten la duresa de l'aigua són el calci (Ca^{2+}) i el magnesi (Mg^{2+}), els quals formen una crosta que s'acumula a les canonades i als intercanviadors de calor, a més de qualsevol lloc que entri en contacte amb l'aigua. La presència d'altres elements a l'aigua pot arribar a perjudicar l'eficàcia del condicionador, com en el cas d'aigües amb elevats continguts en clorurs, sulfats o ferro. Per tant, els catalitzadors reemplacen els carbonats o bicarbonats de calci i magnesi per sals com el clorur sòdic o clorur potàssic. En aquest procés, anomenat intercanvi iònic positiu, a mesura que l'aigua passa pel tanc del condicionador es produeix l'intercanvi o substitució entre els ions sodi (Na^+), i el calci i el magnesi. El medi on es produeix l'intercanvi acostuma a ser un llit amb resines de poliestirè (zeolita) carregades negativament, amb una gran capacitat per atreure les càrregues positives. Quan l'aigua dura passa pel llit empaquetat amb les resines de poliestirè, l'atracció d'aquestes cap als ions de calci i magnesi (amb dues càrregues positives, en cada cas) és més gran que per l'ió sodi (amb una sola càrrega). Com a resultat, els ions calci i magnesi són retinguts mentre que l'ió sodi és alliberat, agafant el lloc del calci i el magnesi a l'aigua (Powell 1986).

Entre els condicionadors que no es basen en la utilització de sals cal destacar els magnètics, els galvànics i els catalítics. D'aquests tres, els condicionadors catalítics són els únics que permeten el tractament d'aigües molt dures (fins a 1025 mg CaCO_3/L). Els **condicionadors catalítics** inverteixen la polaritat dels ions aportant electrons del terra, per subministrar-los als ions calci bicarbonat, els quals en són deficients. La principal diferència d'aquesta tecnologia amb les anteriors és que les unitats afegeixen electrons a l'aigua a partir d'una font externa (Care-Free Europa 1995).

5.1.2. Condicionadors catalítics d'aigües

La consciència creixent dels efectes perjudicials que la sal presenta per a l'ambient, el cos humà i les plantes, ha augmentat la demanda de condicionadors d'aigua lliures de sal. En aquest sentit, el catalitzador Care-Free[®] és un condicionador que no afegeix cap compost químic ni de cap altre tipus a l'aigua.

El condicionador catalític Care-Free[®] consta d'una carcassa tubular exterior amb un nucli central intern per on circula l'aigua. Tant la tuberia com el nucli estan construïts amb un aliatge de diferents metalls (25% de níquel, 37% de coure, 22% de zinc i 16% de titani), que aporta electrons del terra a l'aigua circulant. Quan l'aigua circula per la cambra interna o nucli del catalitzador a la velocitat adequada es carrega d'electrons, els quals provoquen canvis en l'adhesió dels minerals i sals a l'aigua, evitant que s'adhereixin entre si i a les superfícies. Els electrons redueixen la influència negativa dels minerals que porta l'aigua i eliminen la cohesió que existeix entre aquestes partícules. Gràcies a una conversió iònica – canvi electroquímic –, el calci i altres agents en forma iònica són neutralitzats en molècules estables. Aquesta neutralització de la càrrega provoca que els responsables de la duresa, així com altres elements de l'aigua, perdin capacitat per adherir-se a les superfícies. Com a resultat, aquests elements fluiran a través del sistema de canonades, sense interferir-hi negativament (Care-Free Europa 1995). D'aquesta manera el catalitzador estabilitza l'índex de saturació de Langelier, permetent que la reacció bicarbonat-carbonat s'equilibri sense afegir cap compost químic o sal a l'aigua. D'altra banda, el disseny especial del nucli de la canonada provoca unes turbulències del flux que ajuden a separar els components units als minerals de l'aigua.

Sota aquestes condicions els carbonats formen una pel·lícula microscòpica que es diposita de forma permanent sobre les canonades. Aquest film protegeix les canonades dels agents corrosius sense evolucionar amb el temps, degut a que la situació d'equilibri en la reacció bicarbonat-carbonat no permet l'augment en la precipitació dels carbonats. Així, es pot lluitar de forma efectiva enfront dels dipòsits i precipitats de calci, magnesi i ferro entre d'altres, reduint també els processos de corrosió.

En general, el condicionament catalític no provoca canvis importants a l'aigua, com ho demostren les anàlisi químiques realitzades (AMDEL 1984), malgrat que es poden arribar a modificar les característiques organolèptiques de l'aigua, millorant el sabor i disminuint la terbolesa. En aquest sentit, l'acció del catalitzador proporcionant electrons podria destruir algunes de les formacions col·loïdals i agregats, alliberant microorganismes, gasos i altres partícules.

El catalitzador Care-Free[®] s'ha utilitzat amb èxit en diferents tipus d'instal·lacions, especialment a Austràlia i en el camp de l'agricultura, on es va comercialitzar fa 19 anys i està autoritzat el seu ús en sistemes de subministrament d'aigua (Engineering and Water Supply Dept. 1983). Alguns dels seus usos més freqüents han estat els següents:

- Ús residencial. Ús en cuines, rentadores, banys, dutxes i serveis, reduint la formació de dipòsits i augmentant la vida mitjana dels aparells. En piscines redueix les poblacions d'algues, disminuint la quantitat de productes químics (especialment desinfectants, com el clor) que s'han d'afegir a l'aigua.
- Ús industrial. Autoclaus, intercanviadors de calor, compressors, tancs de reserva i canonades. Dissol, redueix i elimina la formació de precipitats i dipòsits, i n'evita la formació, allargant la vida dels equips.
- Ús institucional. Rentaplats, desaiqües, calentadors d'aigua, màquines de cafè i altres. Dissol, redueix i elimina la formació de precipitats i dipòsits i n'evita la formació, allargant la vida dels equips. Millora el gust de l'aigua.
- Ús agrícola. Reg de gespes, plantes i arbrat en general, doncs no s'afegeix cap component a l'aigua que sigui perjudicial per la vegetació i evita el problema de l'obturació dels equips gota a gota i del reg per aspersió. Millora l'estructura, la textura i la permeabilitat del sòl, reduint les pèrdues per evaporació. La menor precipitació de partícules minerals i sals nocives a les fulles, augmenta la producció de les collites.

Finalment, aquest sistema no requereix la utilització de temporitzadors amb corrent elèctrica, ni resines ni solucions salines i tampoc requereix la realització de contrarentats. En tot cas, l'únic cost serà la instal·lació realitzada més el manteniment necessari, que consisteix en una neteja de l'interior del catalitzador. Respecte al cost, el funcionament d'un condicionador amb sals pot arribar a les 300.000 pessetes anuals, mentre que en el cas del catalitzador n'hi haurà prou amb una inversió inicial aproximada de 150.000 pessetes (Care-Free Europa 1995).

5.1.3. Activitat del catalitzador enfront dels microorganismes

La formació i acumulació de sòlids, dipòsits inorgànics, productes de la corrosió i altres productes semblants, determina moltes vegades el desenvolupament microbià (Costerton et al. 1995) incidint directament en el risc sanitari, especialment en aigües sense cap tipus de tractament. De fet, el tractament condicionador de l'aigua permet conèixer indirectament la importància d'aquests productes en el creixement microbià i el desenvolupament dels biofilms.

Al proporcionar electrons a l'aigua, el catalitzador Care-Free[®] pot presentar un efecte sobre la fracció inorgànica del biofilm, disminuint-la de forma considerable. D'aquesta manera disminueix la corrosió i la quantitat de substrat fàcilment colonitzable i, de retruc, pot disminuir el potencial de formació del biofilm. Però a més, la destrucció d'algunes de les formacions col·loïdals i agregats pot incrementar l'alliberament dels microorganismes que es troben adherits. Per tant, el catalitzador també pot reduir la formació dels biofilms, pot disgregar part dels que ja estan formats i, alhora, pot augmentar la fracció de cèl·lules planctòniques.

El catalitzador Care-Free[®] s'ha utilitzat en torres de refrigeració i evaporadors on ha actuat de forma positiva, evitant les proliferacions de contaminants microbiològics com *Legionella*. Diferents casos han demostrat com la utilització de biocides no ha estat suficient com per evitar l'aparició de recreixements i brots de *Legionella* (Edelstein 1985, Quigley 1996). En el cas d'aquest bacteri, la seva dispersió es veu especialment afavorida a les torres de refrigeració per la formació d'aerosols (veure 6.1.2), els quals poden transportar *Legionella* a distàncies properes a 1.5 km, mantenint-les vives durant més de dues hores.

En una experiència realitzada amb el catalitzador Care-Free[®] durant dos anys, es va aconseguir mantenir una torre de refrigeració lliure de creixement de *Legionella* sense la utilització de biocides, mentre que el recompte de bacteris heteròtrofs es va situar per sota dels 10^3 Ufc/mL (Care-Free Europa 1996).

5.2. Material i Mètodes

Es va realitzar el seguiment dels principals paràmetres microbiològics de la manera habitual, determinant l'abundància dels principals grups de microorganismes en els biofilms desenvolupats. El seguiment es va realitzar en experiments comparant aigües sense tractar i aigües condicionades amb el convertidor catalític Care-Free®.

5.2.1. Instal·lació del Condicionador Catalític

Els experiments es van poder realitzar amb un catalitzador Care-Free® CF-10 (3/8"), cedit gentilmente per Care-Free Europa S.L. Aquest catalitzador, dimensionat d'acord amb el cabal circulat, es va instal·lar a l'entrada d'un sistema experimental amb 10 reactors de llit empacat, tal com es descriu a la Figura 5.1. L'aigua arribava en primer lloc a una clau d'esfera amb una bifurcació, que repartia l'aigua entre dos sistemes experimentals, un catalitzat i l'altre com a control, sense catalitzar.

Es van sotmetre els dos sistemes experimentals a les mateixes condicions hidrodinàmiques i als mateixos controls analítics seguint les recomanacions del distribuïdor (Care Free Europa 1995) de cara a aconseguir el màxim d'efecte. Una vegada es va dimensionar correctament la unitat (CF-10, 600-1500 l/h), es va instal·lar el sistema de terra adequat, sense el qual l'aparell no és efectiu. Finalment, el catalitzador es va unir amb els altres elements mitjançant juntes de tefló.

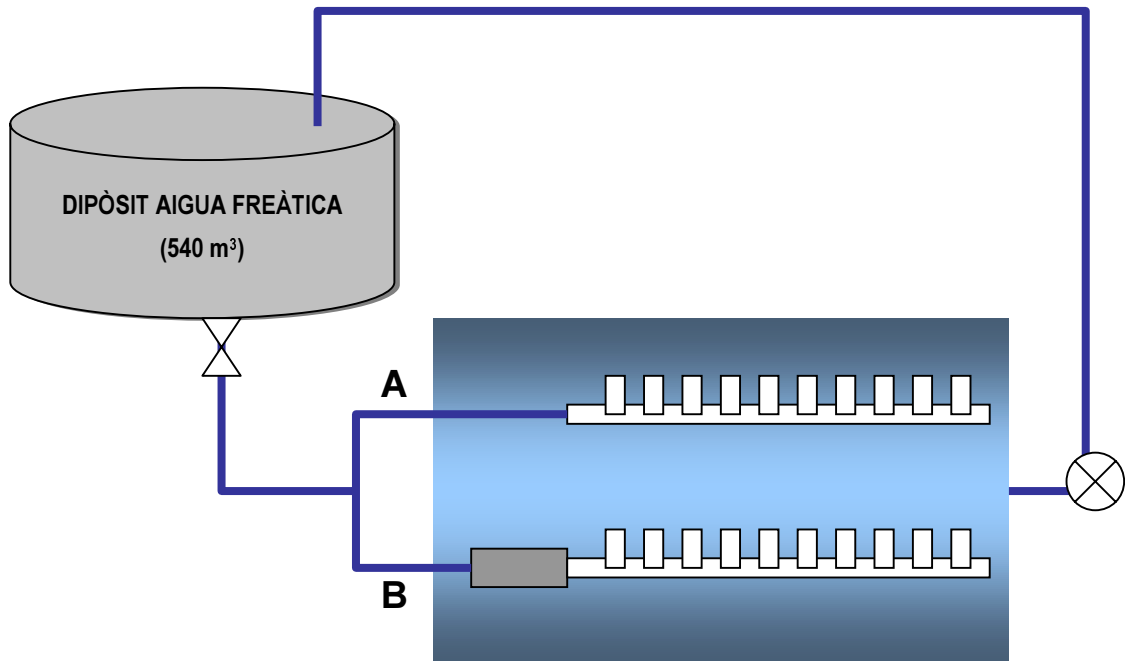


Figura 5.1. Esquema de la connexió del sistema experimental a l'aigua freàtica del dipòsit de reserva d'Alfons el Magnànim (zona de mostreig 1, Sant Martí, Barcelona). A, Sistema experimental sense tractar, B, Sistema experimental amb catalitzador Care-Free® (■) situat prèviament.

S'ha procurat realitzar un manteniment adequat del catalitzador seguint les instruccions del fabricant. Així, per assegurar que el nucli del catalitzador segueixi actuant és important augmentar la periodicitat de les neteges, especialment quan la concentració de ferro a l'aigua s'incrementa per sobre de 1 mg/L o quan existeix un nivell de manganès superior als 0,5 mg/L. En el nostre cas es va realitzar un manteniment cada 3 mesos, realitzant un rentat complet després de desmuntar tota la unitat.

En el disseny experimental descrit anteriorment (veure 3.2.1 i Figura 3.3) s'ha afegit un segon sistema experimental amb 10 reactors de lliit empaquetat. En aquest segon sistema s'ha situat prèviament el catalitzador Care-Free[®], tal com es detalla a la Figura 5.1. Els dos sistemes es van alimentar al mateix temps amb aigua del dipòsit de reserva de l'estació experimental situada a Alfons el Magnànim (Sant Martí, Besós).

5.3. Resultats a la zona de mostreig I: Sant Martí

5.3.1. Desenvolupament de biofilm en sistema catalitzat i sistema control

L'examen dels resultats obtinguts a partir de l'aigua subterrània de l'estació experimental de Sant Martí ens indiquen que el condicionador catalític ha presentat un efecte significatiu disminuint la formació de biofilm en el recompte de cèl·lules totals i bacteris heteròtrofs (Figura 5.2), coliformes totals i *Escherichia coli* (Figura 5.3), i finalment el grup *Pseudomonas* (Figura 5.4).

Tant en el cas dels recomptes de cèl·lules totals (TCN-AODC) com de viables (bacteris heteròtrofs) en agar R2A (Figura 5.2), el catalitzador ha presentat un efecte significatiu, disminuint la formació de biofilm al medi de suport dels reactors. En l'últim cas, la reducció s'ha apreciat ja des dels 30 dies de contacte, encara que les diferències importants (1 log) s'han assolit a partir dels 80 dies de contacte. En aquesta fase, els biofilms desenvolupats en el reactor catalitzat s'han mantingut prop de les 10^5 Ufc/cm², mentre que en el control no catalitzat els nivells han estat lleugerament superiors a les 10^6 Ufc/cm², mantenint diferències lleugerament superiors a 1 log dels 100 als 200 dies.

L'efecte del catalitzador sobre el recompte de cèl·lules totals ha estat molt semblant al que ha presentat sobre el recompte de viables. Les diferències significatives entre el sistema catalitzat i el control s'han observat a la fase estacionària, a partir dels 80 dies d'exposició a l'aigua freàtica. En aquesta fase s'ha observat una diferència d'aproximadament 1 log entre el nombre de cèl·lules al sistema catalitzat, que ha superat lleugerament les 10^7 Cèl·lules/cm², i al sistema control, on han estat per sobre de les 10^8 Cèl·lules/cm².

En canvi, les diferències entre sistema catalitzat i sistema control han estat força més reduïdes en el recompte de viables amb l'agar PCA a 22°C. En aquest cas, els recomptes al sistema catalitzat sempre han estat inferiors al sistema control, encara que amb diferències escasses durant la major part del temps de contacte (0,1 log). Al final del temps de contacte s'ha observat una diferència de 0,4 log.

Respecte als coliformes totals i *Escherichia coli* (veure Figura 5.3), les diferències han estat semblants al recompte de viables amb R2A, encara que fins i tot s'han detectat abans al llarg del temps d'exposició. Així, les diferències s'han mantingut al voltant de 1 log a partir dels 50 dies. Dels 80 als 200 dies, el sistema amb catalitzador ha desenvolupat biofilms on els valors dels coliformes totals han estat al voltant de les 10^1 Ufc/cm², mentre que en el sistema sense catalitzador han estat igual o lleugerament per sobre de les 10^2 Ufc/cm². Respecte a *Escherichia coli*, els nivells en el sistema control han estat al voltant de les 10^1 Ufc/cm² dels 50 als 125 dies d'exposició. En canvi, en el sistema catalitzat no s'ha detectat la seva presència durant la major part d'aquest període.

De forma semblant als coliformes totals, la presència de *Pseudomonas* ha estat sempre menor en els biofilms desenvolupats amb el sistema catalitzat (veure Figura 5.4 dalt). A partir dels 50 dies, les diferències entre el sistema catalitzat i el control han oscil·lat de forma considerable, entre 0,5-1,5 log, arribant als 100 dies al màxim de diferència. En canvi, les diferències s'han reduït lleugerament dels 100 als 170 dies, per tornar a augmentar dels 170 al final del període d'exposició. Així, amb el catalitzador els nivells no han superat en cap cas les 10^2 Ufc/cm² a partir dels 50 dies de contacte amb l'aigua freàtica, mentre que el sistema control s'ha mantingut lleugerament per sota de les 10^3 Ufc/cm².

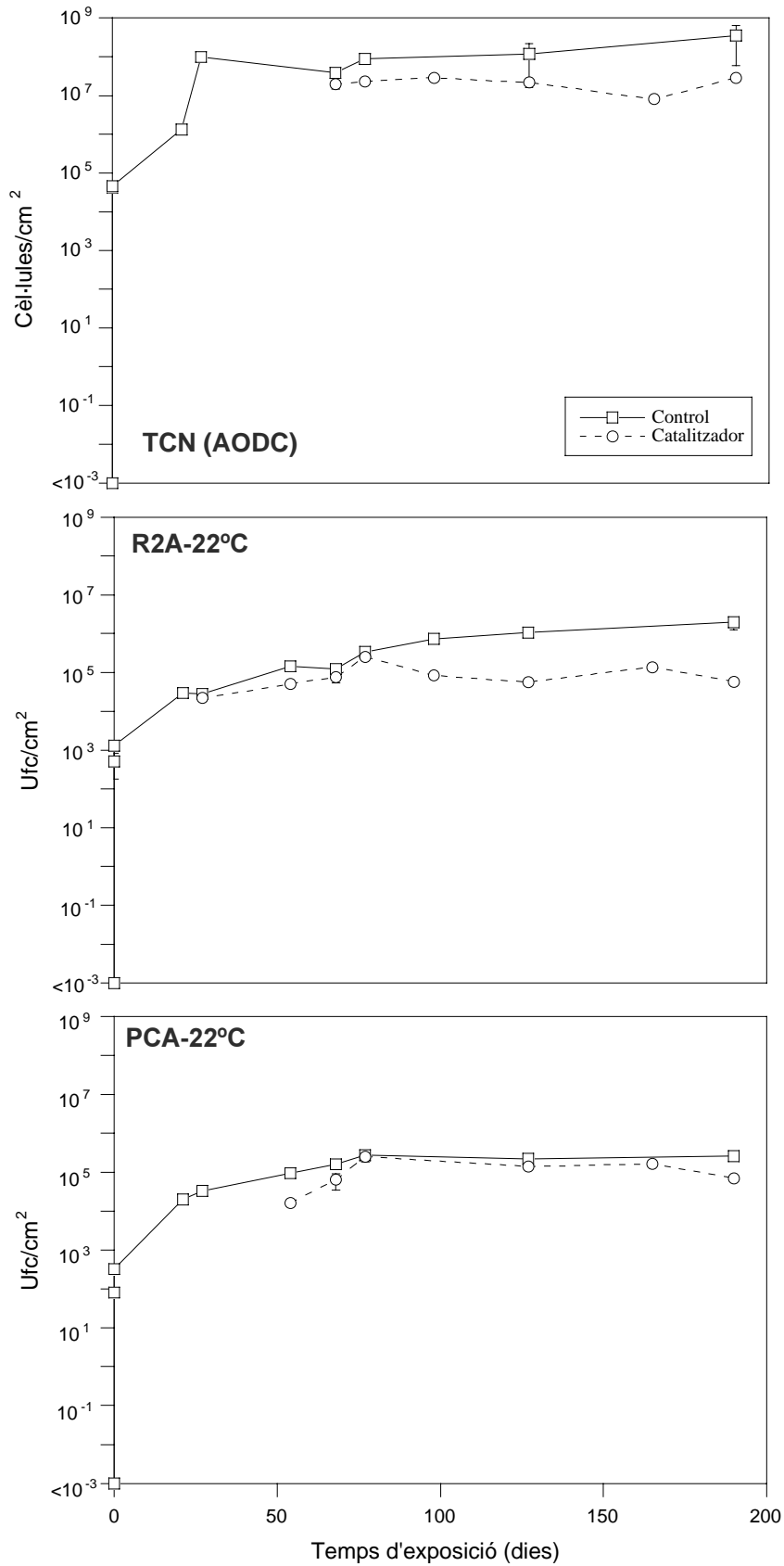


Figura 5.2. Efecte del condicionador catalític en el desenvolupament de biofilm a partir de l'aigua freàtica del dipòsit d'Alfons el Magnànim (Sant Martí, Barcelona). Les barres indiquen l'error estàndard.

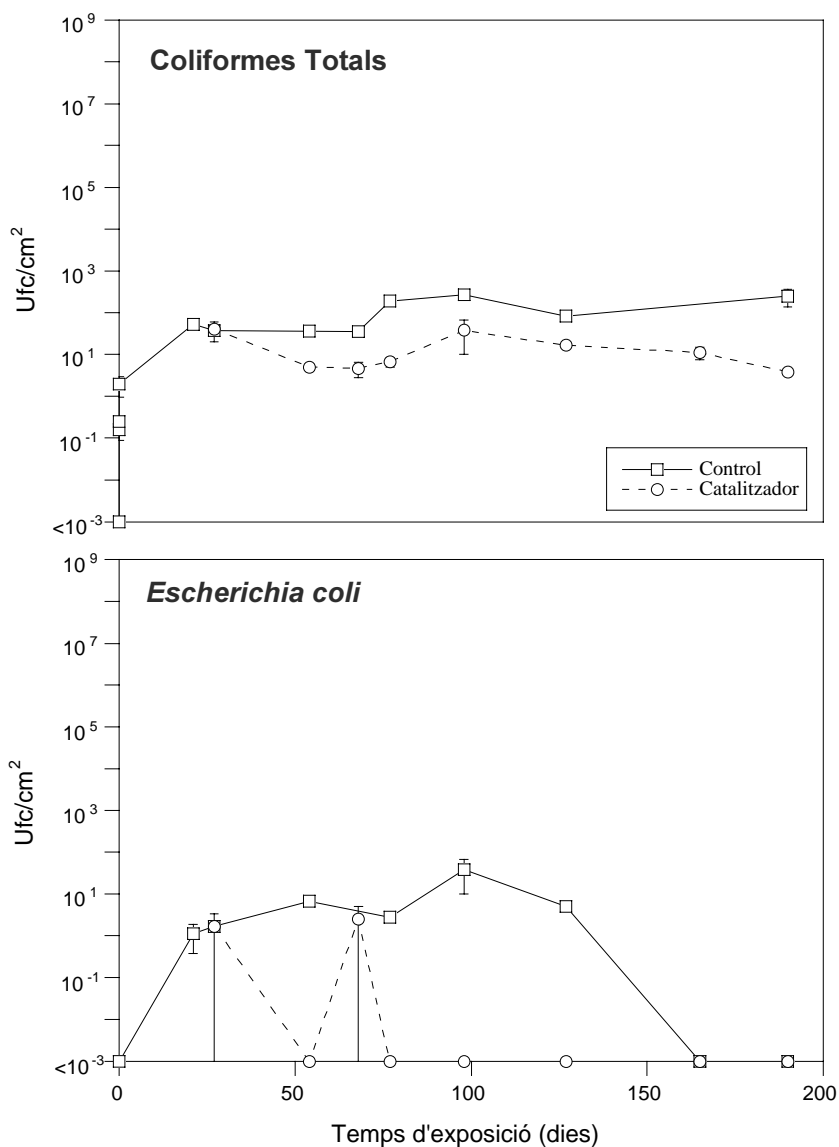


Figura 5.3. Efecte del condicionador catalític en el desenvolupament de biofilm a partir de l'aigua freàtica del dipòsit de reserva d'Alfons el Magnànim (Sant Martí, Barcelona).

En canvi, els fongs filamentosos han presentat a les aigües condicionades un comportament diferent a la resta. Tal com s'observa a la mateixa Figura 5.4 (part inferior), el sistema catalitzat ha presentat una evolució pràcticament idèntica al sistema control, sense observar-se diferències apreciables fins als 125 dies d'exposició. A partir dels 125 i fins als 160 dies de contacte amb l'aigua, el sistema catalitzat ha presentat una major quantitat de fongs filamentosos als biofilms, amb un augment de pràcticament 1 log respecte del no catalitzat. Posteriorment i fins al final del període de contacte amb l'aigua freàtica, el catalitzador sembla haver presentat un efecte negatiu sobre la colonització dels reactors pels fongs filamentosos. Així, al final del període d'exposició, el sistema catalitzat ha presentat un nivell lleugerament inferior a les 10^3 Ufc/cm², mentre que el sistema control s'ha arribat al punt màxim, lleugerament inferior a les 10^4 Ufc/cm².

Posteriorment es va intentar adaptar el condicionador catalític a l'estació de mostreig de Sabadell. En el disseny experimental descrit anteriorment (veure 3.2.2 i Figura 3.4) es va afegir un segon sistema experimental amb 5 reactors de llit empaquetat. En aquest segon sistema es va situar prèviament el catalitzador Care-Free[®], igual que a l'estació experimental de Sant Martí. Els

dos sistemes es van alimentar al mateix temps amb aigua de la mina de Ribatallada, a les instal·lacions de CASSA a Sabadell. Malauradament, el sistema descrit no va poder funcionar el temps adequat, perquè la bomba d'impulsió es va espallar dues vegades, provocant sengles aturades consecutives. Degut a això, no s'han pogut obtenir les dades suficients per poder realitzar una anàlisi de la influència del catalitzador en el sistema a Sabadell.

El condicionador catalític també ha afectat l'estructura i l'arquitectura dels biofilms desenvolupats. En aquest sentit, el seguiment de l'estructura tridimensional dels biofilms ha permès constatar una clara reducció en el gruix i en la majoria dels altres paràmetres que defineixen la rugositat del material de suport colonitzat (Figura 5.5). Aquesta reducció ha estat especialment important fins als 170 dies de contacte, tal com es veu per l'evolució de la profunditat màxima de rugositat o R_t .

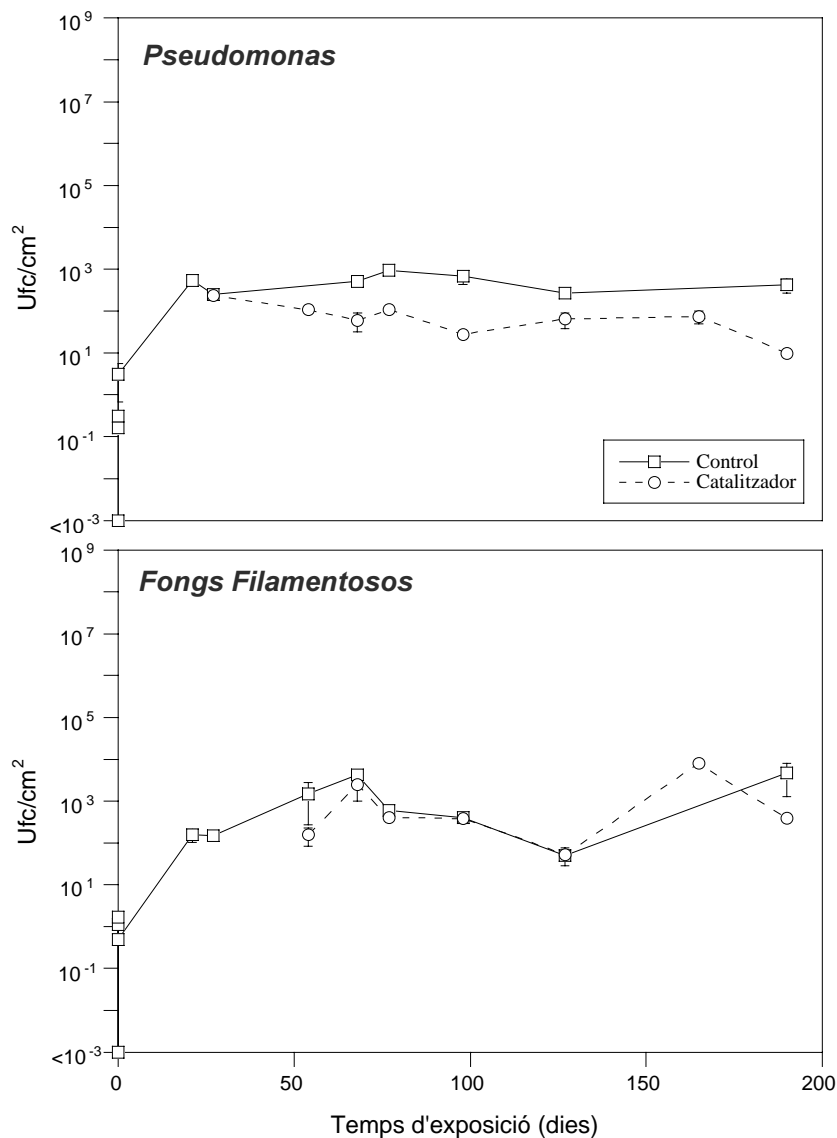


Figura 5.4. Efecte del condicionador catalític en el desenvolupament de biofilm a partir de l'aigua freàtica del dipòsit de reserva d'Alfons el Magnànim (Sant Martí, Barcelona).

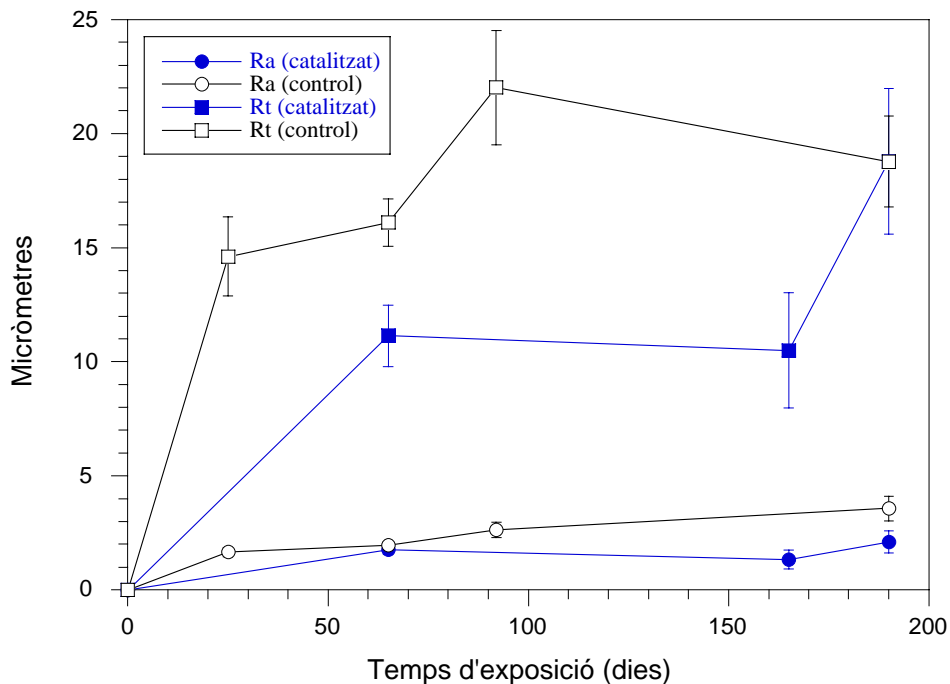


Figura 5.5. Efecte del catalitzador catalític en l'evolució al llarg del temps dels paràmetres representatius de la rugositat de superfície (Estació experimental de Sant Martí, Besós). Les barres indiquen l'error estàndard.

5.3.2. Comparació del nº de microorganismes en fase biofilm i planctònica

S'ha calculat la mediana dels microorganismes presents a la fase planctònica al llarg del període analitzat, expressant els resultats per a cada grup estudiat (nombre mL⁻¹). El nombre obtingut s'ha comparat amb la mitjana de microorganismes adherits a partir dels 120 dies de contacte amb l'aigua freàtica i fins al final de l'experiment als 200 dies, tant en el sistema catalitzat com en el control sense condicionador.

A la Figura 5.6 es pot observar l'efecte del condicionador catalític, comparant els resultats obtinguts amb catalitzador i sense. La presència del catalitzador ha produït una disminució en la *ratio biofilm/fase planctònica* en tots els paràmetres microbiològics estudiats, exceptuant els fongs filamentosos. Les reduccions més importants s'han produït en els bacteris totals en placa amb l'agar R₂A (ratio de 2005 en el control a 111 en el sistema catalitzat), bacteris totals en placa amb l'agar PCA (ratio de 1194 a 616), cèl·lules totals (de 166,54 a 14,08) i coliformes totals (ratio de 37,18 a 2,37).

La fracció de *Escherichia coli* present als biofilms respecte de la fase planctònica també ha disminuït en el sistema catalitzat, baixant la ratio de 11,08 a 0, així com en *Pseudomonas* (ratio de 19,11 a 2,74). En canvi, el catalitzador ha presentat un efecte contrari en els fongs filamentosos (veure Figura 5.6), augmentant la ratio amb l'ús del catalitzador, de 361,19 a 435,30.

És evident que la disminució de la ratio en els bacteris heteròtrofs amb agar R₂A és un dels canvis més significatius que s'han produït pel condicionador catalític. Dels diferents paràmetres estudiats, aquest és el que ha presentat una ratio biofilm/fase planctònica més elevada, essent un paràmetre fonamental per definir i caracteritzar el desenvolupament dels biofilms.

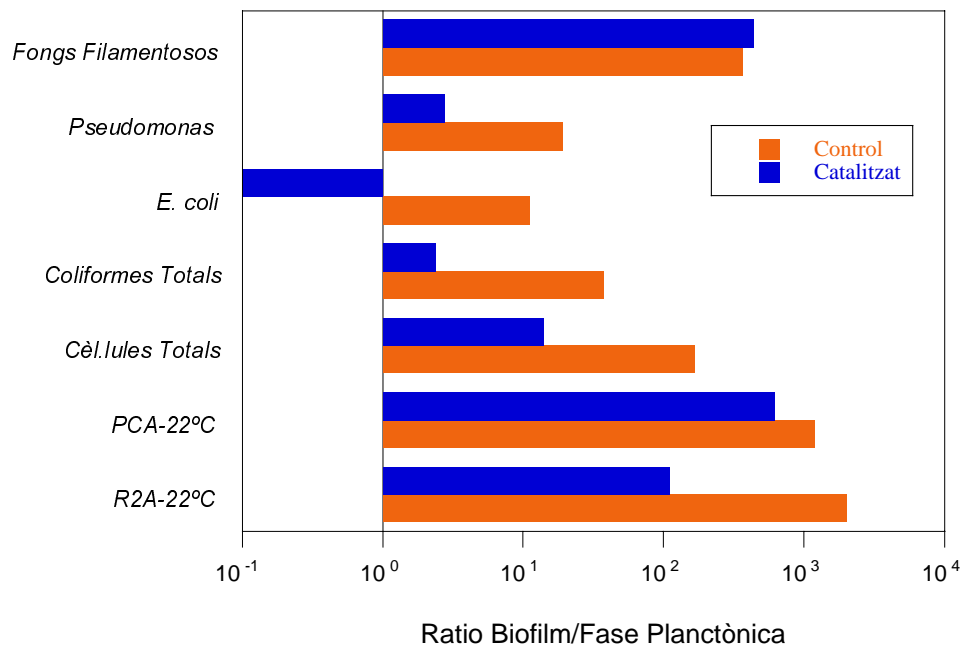


Figura 5.6. Efecte del condicionador catalític en la proporció entre els microorganismes presents al biofilm (mitjanes) i a la fase planctònica (medianes), a partir de l'aigua de drenatge del dipòsit de reserva d'Alfons el Magnànim (Sant Martí, Barcelona).

5.4. Discussió

En les condicions experimentals utilitzades, l'ús dels catalitzadors Care-Free® ha disminuït de forma apreciable la formació de biofilms al medi de suport dels reactors. En primer lloc, cal destacar l'efecte sobre els bacteris heteròtrofs. Malgrat que no han impedit la formació de biofilms, l'ús dels catalitzadors ha aconseguit reduir 1 log la presència de bacteris viables en placa. Igual ha passat amb el nombre de cèl·lules totals presents als biofilms.

Aquesta reducció en els recomptes microbiològics estàndards s'ha vist acompanyada per una reducció en el gruix dels biofilms desenvolupats. Malgrat les poques dades que s'han pogut recollir al respecte, els biofilms formats a partir de l'aigua condicionada han presentat una estructura considerablement menys important, fet que s'ha pogut mesurar quantificant la reducció en gruix i en els altres paràmetres que ens defineixen la rugositat de la superfície del material de suport (Figura 5.5).

A part, també s'ha observat una menor acumulació de productes de la corrosió i altres dipòsits inorgànics i sòlids. Aquests dipòsits han estat força abundants als biofilms desenvolupats a partir de l'aigua freàtica de Sant Martí. La seva reducció pot presentar un efecte positiu en el control de la formació de biofilms, perquè alguns d'aquests productes afavoreixen el desenvolupament microbià (Costerton et al. 1995). Tal com han assenyalat altres autors (Camper et al. 1999, Victoreen 1984), la important presència d'òxids de ferro als biofilms desenvolupats a Sant Martí pot haver afavorit les proliferacions microbianes, estimulant el creixement dels biofilms.

Malauradament, no s'ha realitzat cap mesura de la presència de sòlids. Creiem que les observacions microscòpiques s'haurien de recolzar amb mesures que quantifiquessin la presència de sòlids, per millorar la caracterització dels biofilms desenvolupats sota l'efecte del catalitzador.

El catalitzador també ha presentat un efecte positiu sobre la majoria dels altres grups microbians estudiats, reduint-ne la seva presència als biofilms desenvolupats, exceptuant els fongs filamentosos. En aquest sentit, són especialment rellevants les reduccions de 1 log en la presència dels coliformes totals i *Pseudomonas*, o en *Escherichia coli*, que pràcticament no s'ha detectat en els reactors catalitzats.

Aquesta aparent millora en la qualitat microbiològica de l'aigua podria estimular l'ús dels catalitzadors com a sistemes per al control de la formació de biofilms en xarxes de distribució, ja que podrien ajudar a reduir els riscos per a la salut pública. Tanmateix, creiem que els indubtables efectes positius d'aquests sistemes en aigües com les estudiades, s'haurien de complementar amb algun altre sistema que assegurés la desinfecció de l'aigua. En aquest sentit, la irradiació UV ja s'ha utilitzat en aplicacions on es reutilitzen efluents de qualitat similar a l'aigua freàtica del pou d'Alfons el Magnànim, assolint els estàndards de qualitat microbiològica requerits en estats com Florida i Califòrnia (Sakamoto et al. 2000, Bourrouet et al. 2000).

Es evident, que l'acció que el catalitzador ha presentat reduint la presència de partícules sòlides i de microorganismes, i controlant l'extensió dels biofilms, repercuteix de forma positiva en sistemes de distribució com els estudiats. Sembla comprovat que el catalitzador pot presentar un efecte beneficiós disminuint les incrustacions a la xarxa, el grau d'obturació de les canonades i reduint alhora els problemes del ferro i dels bacteris del ferro. Tots aquests efectes seran molt positius en xarxes de distribució per al reg, especialment en instal·lacions amb reg gota a gota, reg per canonades subterrànies i reg per aspersió.

5.5. Bibliografia

- Australian Mineral Development Laboratory (AMDEL) 1984. Australian State Water Laboratory and AMDEL Report. In Water Conditioners ??, Irrigation Listserv (www.wiz.uni-kassel.de/kww/irrig_1/db/1996/11).
- Bourrouet, A., García, J., Mujeriego, R. & G. Peñuelas. 2000. Faecal bacteria and bacteriophage inactivation in a full-scale UV disinfection system used for wastewater reclamation. 3rd. International Symposium on Wastewater, Reclamation, Recycling and Reuse. In, 1st. World Water Congress of the International Water Association (IWA). Conference PrePrint, Book 8: Wastewater, reclamation, recycling and reuse. July 2000, Paris.
- Camper, A., Burr, M., Ellis, B., Butterfield, P. & C. Abernathy. 1999. Development and structure of drinking water biofilms and techniques for their study. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* 85, 1S-12S.
- Care-Free Europa. 1995. Care-Free Catalizadores para agua. Descripción, funcionamiento, instalación y mantenimiento general en torres de refrigeración. Boletín Técnico nº 0294. Care-Free Europa S.L. Barcelona.
- Care-Free Europa. 1996. La Legionella, los sistemas de agua y el catalizador de agua Care-Free. Care-Free Europa S.L. Barcelona.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D., Korber, D. & H.M. Lappin-Scott. 1995. Microbial Biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49:711-745.
- Edelstein, P.H. 1985. Environmental aspects of Legionella. *ASM News*, 51(9): 460-467.
- Engineering and Water Supply Department. 1983. State Administration Centre. South Australia. EWS 59/83 AGH:SLC.
- Powell, S.T. 1986. Acondicionamiento de aguas para la industria. Ed. Limusa. México.
- Quigley, C. 1996. Legionnaires' Disease. *Microbiology Europe*. 4(3): 10-14.
- Sakamoto, G., Schwartzel, D. & D. Tomowich. 2000. UV disinfection for reuse applications in North America. 3rd. International Symposium on Wastewater, Reclamation, Recycling and Reuse. In, 1st. World Water Congress of the International Water Association (IWA). Conference PrePrint, Book 8: Wastewater, reclamation, recycling and reuse. July 2000, Paris.
- Victoreen, H.T. 1984. The role of rust in coliform regrowth. Proceedings of the American Water Works Association Water Quality Technical Conference, Denver, Colo. American Water Works Assoc., Denver.

CAPÍTOL 6
AVALUACIÓ DEL RISC SANITARI: FORMACIÓ DE BIOFILMS
EN AIGÜES SUBTERRÀNIES REUTILITZADES

Capítol 6 | Avaluació del risc sanitari: formació de biofilms en aigües subterrànies reutilitzades

6.1.	INTRODUCCIÓ	236
6.1.1.	AVALUACIÓ DEL RISC MICROBIÀ PER A LA SALUT PÚBLICA.	236
6.1.2.	ASPECTES SANITARIS DE LA REUTILITZACIÓ D'AIGUA FREÀTICA PEL REG DE JARDINS URBANS.	240
6.2.	MATERIAL I MÈTODES	246
6.2.1.	DISSENY DE L' AVALUACIÓ DEL RISC SANITARI. TRACTAMENT ESTADÍSTIC DE LES DADES.	246
6.3.	RESULTATS	247
6.3.1.	DESENVOLUPAMENT DE L'ESQUEMA PER AVALUAR EL RISC MICROBIOLÒGIC PER A LA SALUT PÚBLICA (REUTILITZACIÓ D'AIGÜES SUBTERRÀNIES PER A LA IRRIGACIÓ DE PARCS I JARDINS URBANS)	247
6.3.2.	CONTRIBUCIÓ DEL BIOFILM A LA CÀRREGA MICROBIANA DE L' AIGUA	250
6.3.3.	DETERMINACIÓ DE L'ÍNDEX DE RISC SANITARI	254
6.4.	DISCUSSIÓ	257
6.5.	BIBLIOGRAFIA	259

6.1. Introducció

6.1.1. Avaluació del risc microbià per a la Salut Pública.

L'avaluació del risc s'ha convertit en una eina analítica important en el camp ambiental en general. Es pot definir com l'estimació quantitativa de la probabilitat que l'exposició a un factor ambiental perillós afecti de forma adversa a les persones o als ecosistemes. En l'avaluació del risc s'utilitza un procés de valoració sistemàtica que permet determinar si un perill existeix i, en cas afirmatiu, quin risc potencial presenta aquest per a la salut pública. Tot i que aquest mètode es basa en realitzar determinades assumpcions i que el resultat quantitatiu presenta una gran variació i un elevat grau d'incertesa, és útil per classificar els tipus de risc i per comparar els diferents problemes ambientals i les seves solucions. En aquest sentit, efectes observats, estimacions i extrapolacions s'utilitzen sovint de forma conjunta per establir les estimes, identificar les incerteses i per donar suport a la planificació i a la presa de decisions. Això permet la seva utilització amb un propòsit normatiu, ja que facilita l'anàlisi de les evidències científiques i l'avaluació de la relació entre l'exposició a contaminants i el desenvolupament potencial d'una malaltia.

L'avaluació del risc és una tècnica que s'ha utilitzat fonamentalment en l'anàlisi d'ecosistemes i en el desenvolupament de normatives per protegir de l'exposició enfront de contaminants tòxics. En canvi, es tracta d'una aproximació poc utilitzada en el cas de malalties infeccioses, on ha predominat l'enfoc epidemiològic i l'ús de microorganismes indicadors per avaluar el potencial de contaminació. En aquest camp es comença a implantar en la microbiologia alimentària, on l'avaluació del risc reforça l'establiment dels punts de control crític (CCP), per garantir que el producte final no serà perjudicial (Notermans et al. 1997).

Malgrat la manca d'experiència que existeix en l'aplicació de l'avaluació del risc, especialment en el camp de l'aigua, la seva utilització comporta l'atractiu de facilitar la gestió estalviant recursos, alhora que es manté la seguretat pels consumidors. Algunes agències federals als EUA han començat a desenvolupar el sistema per avaluar el risc microbià i aplicar-ho en la millora de la qualitat de l'aigua i la salut pública, destacant els treballs de l'Agència de Protecció Ambiental (US EPA 1984, 1986). D'aquest esforç col·lectiu han sorgit ja algunes normatives, com la que s'aplica per a *Giardia* en el tractament d'aigües superficials (US EPA 1989).

En tot cas, un dels principals problemes per desenvolupar l'avaluació quantitativa del risc microbià és la manca de dades i d'informació completa. Existeix encara poca informació sobre l'aparició i la distribució dels diferents grups microbians patògens, fet que impedeix una adequada caracterització del risc (Rose & Yates 1998). En aquest sentit, la monitorització ambiental es converteix en un punt crític, encara que també és necessària l'obtenció de dades a partir d'estudis clínics, epidemiològics i models de comportament – creixement, transport, mort, ... - dels microorganismes.

L'avaluació del risc ens permet aconseguir un balanç entre la reducció del cost i el temps necessari per aconseguir una millor informació en cada cas, perquè no sempre es tenen els diners ni el temps necessari per analitzar l'aigua de forma exhaustiva. En general, l'avaluació del risc ajuda a establir les prioritats, gestionant les dades adquirides de la forma més efectiva possible per prendre les decisions de control adequades. De fet, el control dels contaminants sempre és converteix al final en un problema de gestió: la qüestió bàsica sempre és què fer després. L'avaluació del risc permet actuar de forma constructiva malgrat la incertesa que ens envolta, centrant els esforços primer en els pitjors problemes, reduint el nombre de moviments en fals i ajudant a adquirir unes línies d'actuació més consistentes i pràctiques (US EPA 1984). Per tant, l'avaluació del risc es converteix en el pas previ necessari per poder desenvolupar una gestió del risc adequada, que comporti la presa de decisions on accions i polítiques es desenvolupin una vegada s'ha determinat l'existència d'un risc.

Els processos d'avaluació del risc són inherentment imprecisos, perquè el coneixement acostuma a ser incomplet i el resultat acostuma a dependre dels procediments i assumpcions realitzades (US EPA 1984). Per aquest motiu, al realitzar inferències és fonamental seguir unes línies d'acció genèriques en cada un dels passos. Aquestes línies d'acció faciliten el poder utilitzar el màxim d'informació científica consistent, comparant resultats diferents, identificant i caracteritzant la incertesa, les assumpcions realitzades i les limitacions per cada cas.

Simplificant al màxim, els microorganismes patògens suposen un risc per a la salut pública que depèn del **perill** de cada microorganisme i de l'**exposició** al mateix. L'avaluació del risc microbià interpreta les evidències dels perills i l'exposició proporcionant un criteri per discernir si es poden produir o no efectes adversos, i per realitzar els càlculs necessaris per estimar la importància d'aquests efectes. En general, el procés d'avaluació del risc consisteix dels següents passos: (1) identificació dels perills, (2) avaluació de l'exposició, (3) avaluació dosi-resposta i (4) caracterització del risc.

Identificació dels perills. El primer pas en tota avaluació de risc microbià consisteix en identificar quins són els microorganismes que poden provocar un efecte sobre la salut pública. Cal determinar la presència dels diferents agents biològics perillosos per a la salut pública, els quals poden estar potencialment en l'aigua estudiada, provocant malalties als treballadors, visitants i usuaris habituals de les zones exposades a l'aigua, en el nostre cas els parcs urbans. És important disposar de dades bibliogràfiques, epidemiològiques i referents, en general, als efectes sobre la salut pública, així com el màxim d'informació sobre l'existència i els nivells dels principals microorganismes patògens.

Avaluació de l'exposició. L'objectiu principal d'aquesta etapa és proporcionar dades i/o estimes per determinar de forma quantitativa la dosi dels diferents microorganismes als quals estan exposats els consumidors. Sempre que sigui possible l'avaluació de l'exposició s'hauria de basar en dades mesurades, malgrat que tot sovint no es pot disposar de totes les necessàries. En aquest sentit, l'avaluació del risc ha de servir per ordenar tota la informació disponible i incloure noves dades com a resultat del procés. Quan no existeix la possibilitat ni el temps per realitzar les mesures apropiades, les dades es poden basar en models matemàtics validats (US EPA 1986). No obstant, l'avaluació de l'exposició basada en models s'hauria de completar, a poder ser, amb mesures analítiques fidedignes que poden utilitzar-se per calibrar els models.

Tanmateix, en qualsevol avaluació de l'exposició existeix un grau d'incertesa variable, que pot influir en l'exactitud i la precisió del procés. Per aquest motiu, l'avaluació de la incertesa és una part important de qualsevol avaluació de l'exposició (US EPA 1986).

L'avaluació de l'exposició inclou la determinació o l'estimació (qualitativa o quantitativa) de la magnitud, freqüència, duració i rutes d'exposició. La magnitud d'una exposició es determina mesurant o estimant la quantitat d'un agent (microorganisme en el nostre cas), disponible a nivell de les superfícies d'intercanvi com la pell i les membranes mucoses durant un període de temps determinat.

El primer pas de cara a preparar l'avaluació de l'exposició consisteix en preparar un diagrama de flux (veure Figura 6.1), per determinar l'abast de l'avaluació i minimitzar els esforços. L'avaluació preliminar de l'exposició ha d'iniciar-se determinant quin és el risc que s'ha d'estudiar. Posteriorment, s'ha de confeccionar una base de dades amb tota la informació disponible derivada bàsicament de mesures ambientals. Quan només es disposa d'una quantitat limitada de dades, es poden realitzar estimes basades en models. Finalment, aquesta informació ha de servir per definir quines són les àrees amb l'exposició més probable. Aquesta anàlisi preliminar ens ha de permetre decidir si és necessari seguir amb una anàlisi en profunditat o si, pel contrari, no cal més informació.

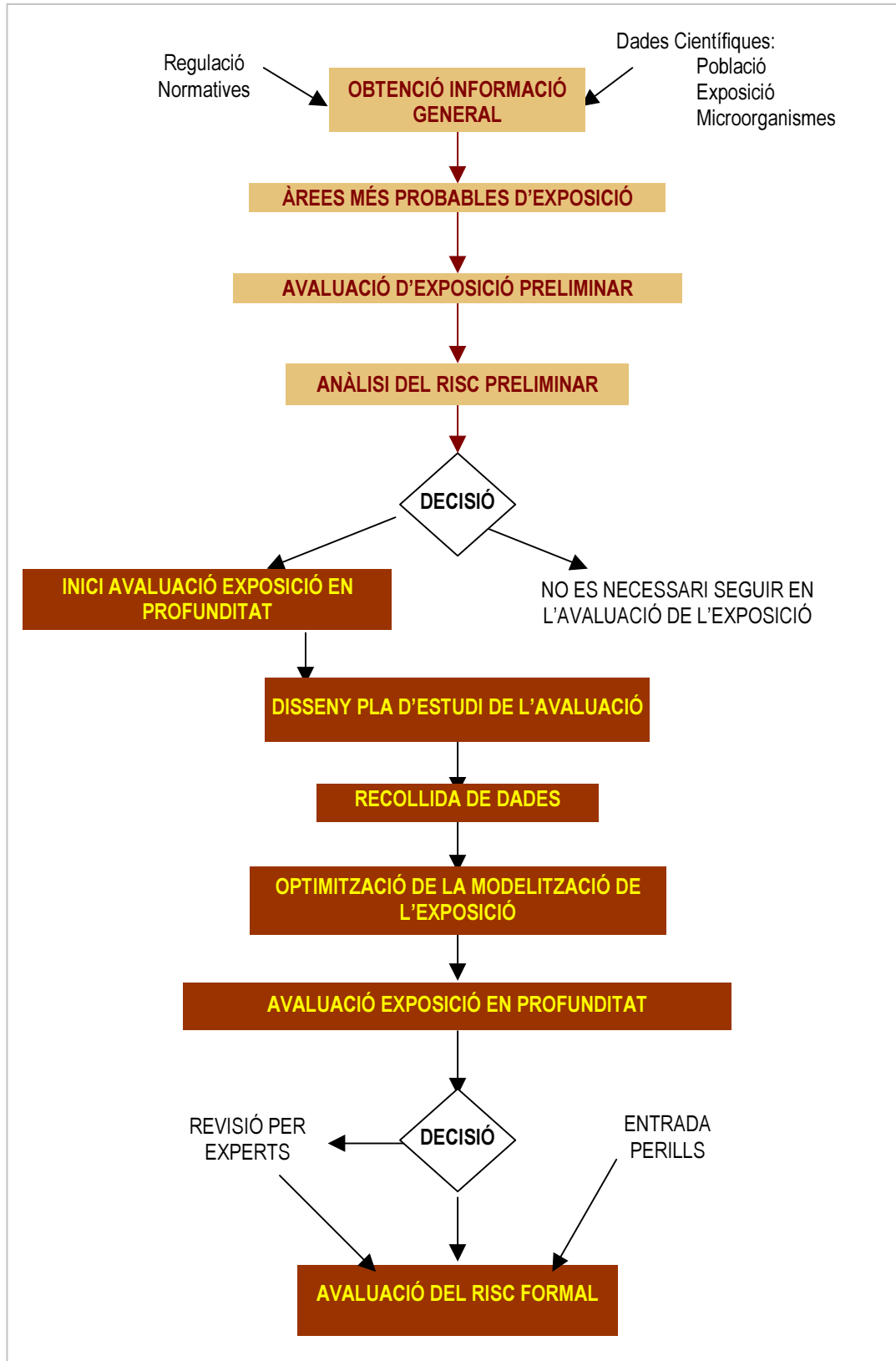


Figura 6.1. Diagrama de flux per a l'avaluació de l'exposició. Els quadrats amb color marró (gris) clar corresponen a l'avaluació preliminar de l'exposició, mentre que de color més fosc correspon a l'avaluació en profunditat (US EPA 1986).

La realització de l'avaluació de l'exposició en aigües subterrànies topa amb la manca de dades disponibles. Tradicionalment, s'han utilitzat els coliformes fecals com a indicadors de la presència de bacteris patògens (Rose & Yates 1998), malgrat que no existeix actualment una base de dades dels microorganismes causants d'epidèmies a partir de les aigües subterrànies. A més, els coliformes no són bons indicadors de la contaminació per virus (Grabow 1996). De fet, tenint en compte la manca de dades i el fet que alguns estudis han mostrat la presència de virus en un 20-30% de les aigües subterrànies als EUA, si després de monitoritzar l'aigua no s'aconsegueix cap detecció positiva s'estima un risc d'infecció en 6 cada 10.000 per dia (Rose & Yates 1998). Evidentment, si existeix alguna detecció positiva o l'aigua subterrània no rep cap tipus de tractament, el risc serà superior.

En els casos on no s'ha pogut monitoritzar de forma suficient l'aigua subterrània es pot estimar la contaminació microbiana a través de models que incorporen, entre d'altres, la supervivència dels microorganismes i el transport des de l'origen. Combinant els models d'avaluació del risc amb els de transport es pot arribar a predir la concentració de microorganismes que arribaran a exposar al consumidor i el nivell del risc d'infecció. La majoria dels models de transport microbià es basen en l'equació d'advecció-dispersió, desenvolupada per predir el transport de compostos químics dissolts a l'aigua. Tanmateix, els pocs intents que s'han realitzat per aplicar aquests models en la predicció del comportament microbià (Yates 1994) han donat resultats força negatius, generalment infraestimant les concentracions finals.

Avaluació dosi-resposta. En aquesta fase es determina la potència de cada microorganisme, estimant la relació entre la quantitat d'un determinat microorganisme i la freqüència i la magnitud dels efectes adversos sobre la salut humana en una població determinada. S'utilitza una gran varietat de fonts d'informació: (1) estudis d'ingestió en voluntaris humans, (2) dades a partir d'animals, (3) dades epidemiològiques, (4) estat fisiològic dels microorganismes, (5) estat fisiològic de la població, (6) estudis clínics i de laboratori, (7) estimes de la severitat i, (8) infeccions secundàries.

Amb dades obtingudes a partir d'estudis realitzats amb humans on es va monitoritzar la seva resposta en forma d'infecció (habilitat per colonitzar el tracte intestinal) o de malaltia, s'han obtingut models que explicarien la probabilitat d'infecció a partir de determinats microorganismes. Com es mostra a la Taula 6.1, la majoria de microorganismes bacterians i virus s'ajusten millor a un model beta-Poisson (Rose et al. 1997), mentre que els protozous com *Giardia* i *Cryptosporidium* i altres virus s'ajusten millor a un model exponencial (Rose et al. 1991, Haas et al. 1996). Les dades mostren com la probabilitat d'infecció a partir de l'exposició a un sol microorganisme oscil·la entre un 0,47 a un 42%.

Taula 6.1. Models per a la probabilitat d'infecció i paràmetres del millor ajust en el model dosi-resposta (Rose & Yates 1998).

Microorganisme	Millor model	Paràmetres del model	Probabilitat d'infecció a partir d'un organisme
<i>Shigella</i>	Beta-poisson	$\alpha=0,248, \beta=3,45$	6,10/100
<i>Campylobacter</i>	Beta-poisson	$\alpha=0,145, \beta=7,59$	1,80/100
<i>Rotavirus</i>	Beta-poisson	$\alpha=0,26, \beta=0,42$	27/100
<i>Cryptosporidium</i>	Exponencial	$r=0,00467$	0,47/100
<i>Giardia</i>	Exponencial	$r=0,0198$	1,96/100
Virus Hepatitis A	Exponencial	$r=0,549$	42/100
	<i>Model beta-Poisson</i>	$P_i = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha}$	
	<i>Model Exponencial</i>	$P_i = 1 \exp(-rN)$	
Pi =	Probabilitat d'infecció (habilitat de l'organisme per reproduir-se al tracte intestinal).		
N =	Exposició, expressada en nombre de microorganismes ingerits (Ufc, Ufp, cists, oocists).		
$\alpha, \beta, r =$	Constants per organismes específics, que descriuen el model dosi-resposta.		

Caracterització del risc. En aquesta fase es combina la informació de les etapes anteriors per calcular el risc. Cal destacar que la limitació per la manca de dades, especialment en la distribució i presència dels microorganismes a les aigües subterrànies, ha dificultat sovint la caracterització del risc microbià. A partir de les poques dades obtingudes es dedueix que la disminució dels nivells de contaminació de l'aigua no assegura la baixada del risc, perquè aquest es pot mantenir igual degut a diverses exposicions al llarg del temps. D'altra banda, es pot deduir clarament com els nivells detectats poden conduir a una epidèmia si la contaminació dura entre 5 a 10 dies.

6.1.2. Aspectes sanitaris de la reutilització d'aigua freàtica pel reg de jardins urbans

Molts dels projectes existents sobre reutilització d'aigües freàtiques plantegen diverses qüestions i interrogants referents als possibles riscos sanitaris. La manca de treballs sobre el tema i la poca definició de les principals agències governamentals no ajuda gens a definir l'extensió d'aquesta problemàtica. Un dels últims treballs sobre reutilització d'aigües residuals com a aigües potables realitzat pel National Research Council manifesta que, malgrat que no s'hagin demostrat efectes perjudicials per a la salut, s'haurien d'augmentar les proves per mesurar-ne la toxicitat i excloure'n el risc potencial de la seva reutilització (NRC 1998). La realitat és que diferents aspectes metodològics fan difícil determinar el risc per a la salut pública de la reutilització d'aigües residuals.

La preocupació sanitària fonamental que aquestes activitats generen està relacionada amb el grau de contacte de l'aigua reutilitzada amb les persones. En aquest sentit, la reutilització d'aigua subterrània en parcs i jardins urbans presenta un dels escenaris més preocupants per les elevades possibilitats d'exposició a l'aigua, tant del públic com dels treballadors vinculats a les empreses de serveis. També es plantegen altres vies de contacte com el consum de vegetals o el contacte amb medis contaminats indirectament (aire, vestits, aigua,...).

Quan la font de subministrament és diferent de la xarxa de distribució d'aigua potable, la qualitat sanitària de l'aigua i les mesures de seguretat aplicables en la seva distribució han de guardar relació amb les possibles vies de contacte de les persones amb l'aigua, així com també amb el nivell de qualitat i d'higiene de la població on es pensa implantar aquesta iniciativa (Mujeriego 1990). Tenint en compte la gran importància de les aigües subterrànies per al consum domèstic, agrícola i industrial en diferents parts del món (veure 3.1.1), a curt plaç el principal risc de la reutilització de l'aigua freàtica es troba en l'augment de l'exposició de la població als patògens.

Tot i que la majoria de bacteris patògens humans es poden transmetre a través de l'aigua, es poden reconèixer diferents bacteris associats habitualment amb brots epidèmics de transmissió hídrica (veure Taula 6.2). D'altra banda, una de les vies tradicionals per detectar i quantificar la contaminació dels aqüífers ha estat la determinació de la presència d'indicadors de contaminació de l'aigua per materials fecals. Mostres d'aigua amb grans quantitats d'aquests bacteris ens indiquen la presència de contaminació d'origen fecal. Malgrat que la majoria d'aquests indicadors bacterians no acostumen a ser patògens, la seva presència ens determina de forma indirecta la seguretat microbiana de l'aigua, perquè a més indicadors més probabilitat de que augmenti el nombre de bacteris patògens. A la pràctica, aigües residuals domèstiques i descàrregues que provenen de zones industrials i/o agrícoles són les fonts més habituals de contaminació, i es considera que poden presentar un risc per a la població quan el nombre de coliformes és superior a 1 Ufc/100 mL (Reasoner 1983, Geldreich 1986).

Tanmateix, existeix un gran nombre de microorganismes que poden presentar un risc per a la salut pública encara que no s'associïn a la presència dels indicadors de contaminació fecal (Bitton et al. 1984, 1985, Jarvis et al. 1985). En molts casos, aquests organismes són patògens nosocomials presents moltes vegades en determinats ambients naturals i, per tant, difícils de diferenciar de la microbiota natural. Acostumen a produir problemes per a la salut, especialment en hostes que presenten alguna alteració del seu estat –nutricional, immunològic, fisiològic, etc.- normal.

Diferents estudis mostren com la contaminació microbiana de les aigües subterrànies afecta a un nombre significatiu de persones, especialment a les àrees rurals. Les principals situacions on existeix la possibilitat de contacte amb agents perillosos per a la Salut Pública són la formació d'aerosols, la ingestió d'aigua o el contacte amb la pell i les mucoses. En una revisió de les dades de brots epidèmics de malalties de transmissió hídrica en 17 estats dels EUA (1993-1994), es pot observar com pràcticament el 70% estaven associats a pous d'aigua (Kramer et al. 1996). En canvi, el nombre total de persones afectades era inferior al provocat per aigües superficials, ja que molts dels pous afectats es trobaven en àrees rurals on donaven servei a un nombre reduït de persones. Altres estudis mostren com la majoria de les infeccions provocades per patògens que es troben a l'aigua (76%), estan associades al consum d'aigua subterrània contaminada (Moore et al. 1993).

Taula 6.2. Patògens bacterians de transmissió hídrica

Infeccions Intestinals	Infeccions Extra-Intestinals
<i>Shigella</i>	<i>Micobacteris</i>
<i>S. dysenteriae</i>	<i>Legionella</i>
<i>S. sonnei</i>	<i>Leptospira</i>
<i>S. flexneri</i>	
<i>S. boydii</i>	
<i>Salmonella</i>	
<i>S. enteritidis</i>	
<i>S. typhi</i>	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>E. coli enterotoxigènica</i>	
<i>E. coli enterohemorràgica (serotipus O157:H7)</i>	
<i>Vibrio cholerae O1 i O139</i>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	
<i>Helicobacter pylori</i>	

Per poder definir i quantificar l'extensió de les epidèmies s'acostuma a utilitzar la magnitud (nombre total de brots i casos) i la severitat (nombre de casos hospitalitzats). La Taula 6.3 mostra els brots epidèmics associats a les aigües subterrànies als EUA entre 1971 i 1994, amb el nombre de casos i l'índex de severitat per cada cas. Malgrat que els patògens bacterians com *Salmonella typhi* i *Yersinia* presenten un nombre força baix de brots epidèmics, provoquen uns nivells força elevats de severitat (Rose & Yates 1998). D'altra banda, la majoria dels brots corresponen a aigües subterrànies no desinfectades, encara que un 62% estan associats a agents sense determinar (Rose & Yates 1998). Les aigües freàtiques es poden contaminar per bacteris perjudicials de diverses maneres, encara que les més freqüents són la contaminació per abocaments d'aigües residuals que provenen del sistema de clavegueram i de fosses sèptiques.

Als EUA el nombre d'epidèmies causades per protozous i virus ha augmentat durant els últims 20 anys. Avui en dia, protozous com *Giardia* i *Cryptosporidium* són la causa més significativa de malalties provocades a partir de l'aigua en aquest país. Malgrat que per la grandària dels cists (7 x 15 µm) i dels oocists (5 µm) es pensava que les aigües subterrànies quedaven protegides d'aquests protozous, dades recents mostren el contrari, tal com es mostra a la Taula 6.4. De fet, els protozous entèrics *Giardia* i *Cryptosporidium* tenen una presència a les aigües que oscil·la entre el 4-100% de les mostres examinades (Lisle & Rose 1995). A més, una gran majoria de les malalties (40%) provocades per aquests protozous patògens provenen a partir d'aigües subterrànies (Rose & Yates 1998), enfront d'un altre 40% a partir de llacs i un 20% a partir de dipòsits, tant a partir de residus fecals animals com humans.

Tampoc existeixen gaires estudis sobre la supervivència dels cists i oocists a les aigües subterrànies, així com de la seva capacitat de moviment al subsòl. La capacitat de migració dels oocists s'ha demostrat en laboratori. Estudis amb columnes plenes de diferents tipus de sòl han mostrat com part dels oocists inoculats poden arribar a profunditats de 30 cm (Mawdsley et al. 1996). Tenint en compte que les vaques poden excretar fins a 10 milions d'oocists per dia, sembla bastant factible que les aigües subterrànies poden arribar a ser contaminades per *Cryptosporidium*.

Taula 6.3. Brots epidèmics associats a les aigües subterrànies als EUA entre 1971 i 1994 (Craun & Calderon 1996). Índex de severitat = % casos hospitalitzats pel total de casos.

Agent Etiològic	Nombre d'epidèmies	Nº Casos	Casos Hospitalitzats	Índex de severitat
Sense determinar	212	49351	142	0,29
<i>Shigella</i>	27	5540	257	4,6
Compostos químics	26	978	19	1,9
<i>Hepatitis A</i>	23	698	79	11,3
<i>Giardia</i>	16	336	7	2,1
<i>Virus Norwalk</i>	12	7988	6	0,08
<i>Campylobacter</i>	7	952	5	0,52
<i>Salmonella (no tifoidea)</i>	6	761	12	0,13
<i>Cryptosporidium</i>	5	3569	7	0,2
<i>S. typhi</i>	4	222	187	84
<i>Yersinia</i>	2	103	20	19,4
<i>E. coli 06:H16</i>	1	1000	0	0
<i>Ent. Hystolítica</i>	1	4	1	25
Total	342	71502	742	

Giardia lamblia és la causa més freqüent d'infeccions parasitàiques als EUA. En aquest mateix país s'ha convertit, entre 1970 i 1980, en la causa identificable més important que ocasiona brots epidèmics a partir de l'aigua (Craun 1988), provocant una diarrea que afecta als individus infectats durant bastants dies. Malgrat que els recomptes d'aquest paràsit acostumen a ser bastant baixos a l'aigua (Craun 1986), una infecció pot començar amb només 1-10 cists viables (Akin & Jakubowski 1986), per la qual cosa el risc per a la salut pública és bastant elevat. De fet, els nombrosos casos de giardiasi esdevinguts durant els últims anys als EUA (Kent et al. 1988) han provocat que la EPA hagi regulat el nivell permès de cists a l'aigua de beguda (US EPA 1989).

D'altra banda, *Cryptosporidium spp.* es va relacionar com a agent etiològic de malalties en humans al 1976 (Nime et al. 1976). La infecció en humans amb *Cryptosporidium parvum* resulta en una diarrea fulminant semblant a la del còlera, que en hostes immunodeprimits resulta en una malaltia crònica, amb percentatges de fatalitat del 50-60% (Abbaszadegan 1998). Avui en dia no es disposa de tractament i la seva incidència en la població oscil·la entre el 0,6 al 20% depenent de les zones, encara que les prevalències més elevades es produeixen a Àsia, Austràlia, Àfrica i Amèrica Llatina. Una epidèmia al 1993 va afectar a 400.000 persones a Milwaukee (Wisconsin, USA) en el brot epidèmic més gran que s'hagi produït mai a partir de l'aigua als EUA (Abbaszadegan 1998). *Cryptosporidium* és un microorganisme que en la fase d'oocist presenta una resistència extraordinària a la desinfecció, i no es pot destruir pels procediments normals de desinfecció de l'aigua. Darrerament, altres grups com *Entamoeba sp.*, *Microsporidium spp.* i *Cyclospora spp.*, s'han associat a problemes per a la salut pública.

Taula 6.4. Presència de *Cryptosporidium* i *Giardia* a les aigües subterrànies als EUA (Rose & Yates 1998).

Microorganisme	Concentració Mitjana per 100 L	Pous Verticals	Pous Horitzontals	Galeries d'Infiltració
<i>Cryptosporidium</i>	19 oocists	5%	45%	50%
<i>Giardia</i>	8 cists	1%	6%	25%

Respecte a la contaminació vírica de les aigües subterrànies s'ha de considerar la gran facilitat amb que els virus són transportats a través del sòl i la gran resistència que presenten. De fet, els virus poden sobreviure alguns mesos a les aigües subterrànies, i són força més resistents que els bacteris coliformes a la desinfecció (Yates & Yates 1988). Així, d'un total de 502 brots epidèmics produïts als EUA entre 1971 i 1985 a partir d'aigua de beguda, un 9% van associar-se amb virus entèrics (US EPA 1990). A més, és molt possible que una part important de les malalties transmises a través de l'aigua on no s'ha identificat l'agent etiològic (62% de tots els brots epidèmics), estiguin produïdes per virus.

Igual que en el cas dels protozous, molt sovint els virus es troben a l'aigua en un nombre molt baix, per la qual cosa també s'han d'utilitzar protocols especialitzats per aconseguir mostrejar grans volums d'aigua. Cal destacar entre els diferents grups als enterovirus (poliovirus, echovirus, Coxsackie A i B), perquè es poden transmetre per la via fecal-oral a través d'aigua contaminada (Craun 1984), i amb un nombre molt baix ja es pot iniciar una infecció. Poden provocar una gran varietat de malalties, des de gastroenteritis a miocarditis i meningitis asèptica (Melnick 1990). De fet, diferents estudis han demostrat la presència dels enterovirus ocasionalment en aigües de beguda tractades (Keswick et al. 1984, Payment 1981) i aigües residuals (Keswick et al. 1982).

Formació de biofilms. Un problema afegit a la utilització d'aquest tipus d'aigües és la formació de biofilms, que es produeix invariablement en diferents ambients naturals, com ja s'ha ressaltat a la introducció (veure 1.1 i 1.2), i pot produir problemes importants per a la Salut Pública, l'eficiència del sistema de reg i la qualitat de l'aigua (veure Taula 6.5). El desenvolupament dels biofilms en llocs no desitjats comporta despeses importants, així com una reducció en els beneficis a moltes empreses. El control i els tractaments necessaris per eliminar els biofilms van suposar només en un any (1992) unes despeses de 7.000 milions de dòlars al sector industrial dels EUA, mentre que al Regne Unit el seu impacte anual s'ha estimat al voltant dels 500 milions de lliures (Costerton et al. 1995).

Formació d'aerosols. Diferents estudis epidemiològics han demostrat la importància dels aerosols en la transmissió d'infeccions respiratòries i altres alteracions (Hickey & Reist 1975, Terzieva et al. 1996), per la presència en els mateixos de microorganismes viables. Cal citar els estudis de Bleckmon et al. (1981) i Thacker et al. (1987), demostrant la infecció per *Legionella* a través de la formació d'aerosols. Els bioaerosols poden constituir aproximadament el 30% del total del nombre de partícules en mostres d'aire en un dia clar (Borrmann et al. 1994), i poden incloure bacteris, espores fúngiques, pol·len, virus, endotoxines i residus animals i vegetals. En general, l'exposició a bioaerosols pot presentar tres classes d'efectes diferents per a la salut pública: infecció, hipersensibilitat i toxicosi.

Les infeccions resulten quan un microorganisme viu envaeix un altre organisme, es multiplica al seu interior i acaba produint-li una malaltia. El potencial infectiu dels microorganismes presents als aerosols, és a dir, el nombre d'individus vius necessaris per produir una malaltia depèn de la virulència de l'organisme (habilitat per envair l'hoste) i de la seva grandària (com més petit més efectiu), així com de l'estat del sistema immunitari de l'hoste. La grandària de les partícules afecta de forma important el procés infectiu. Així, alguns agents només produeixen infecció a nivell del tracte respiratori superior, i es transmeten millor a través de grans gotes (com en el cas dels refredats comuns).

Taula 6.5. Problemes originats per la formació de biofilms a les xarxes de distribució de reg (modificat a partir de Costerton et al., 1995).

Salut Pública	Reservoris de patògens microbians
	Episodis de coliformes a la xarxa de distribució
	Recreixements a la xarxa
Eficiència al Sistema de Reg	Reducció del pas d'aigua per les conduccions
	Increment resistència a la fricció
	Obturacions en els punts de connexió
	Obturacions en els punts de sortida (goters)
	Corrosió de materials metàl·lics
	Augment dels costos d'explotació
Qualitat de l'Aigua	Canvis en les característiques organolèptiques

De totes maneres, els aerosols infecciosos han de mantenir la seva viabilitat per poder envair l'hoste i ser capaços de multiplicar-se, afectant al cos humà produint malaltia. No obstant, amb el temps els aerosols infecciosos decauen físicament (disminueix la concentració de microorganismes) i biològicament (cada cèl·lula va perdent capacitats per causar la malaltia). Per tant, la majoria de malalties infeccioses produïdes a través de bioaerosols acostumen a estar provocades per organismes força resistents i alhora virulents. Cal destacar als bacteris causants de la legionelosi i la tuberculosi, els virus del grip, xarampió i del refredat, i fongs com *Histoplasma capsulatum* i *Aspergillus fumigatus* en casos de hostes immunodeprimits.

Els bioaerosols també poden actuar com a al·lèrgens provocant diferents tipus d'hipersensibilitats. Les partícules que actuen com a al·lèrgens es situen en un rang de grandàries entre 0,1-60 µm i són solubles en aigua. Seria el cas de la rinitis al·lèrgica, asma, dermatitis al·lèrgica i alveolitis al·lèrgica (pneumonitis). Històricament, els actinomicets termofílics han estat els agents que s'han associat de forma més freqüent a la hipersensibilitat per pneumonitis. Altres agents que també poden produir aquesta i altres alteracions d'hipersensibilitat serien les espores de fongs, enzims bacterians, excrements d'ocells i altres. En aquest sentit, cal recordar els diferents casos d'hipersensibilitat en resposta a la presència de toxines a la pols de grans o llavors, com la famosa epidèmia de Barcelona, ocorreguda com a resposta a la soja (Antó et al. 1993).

Finalment, les toxines microbianes són productes fabricats pels microorganismes que poden presentar uns efectes mutagènics, teratogènics, tumorogènics i citotòxics.

L'exposició humana als bioaerosols incrementa la morbiditat, encara que també afecten a la mortalitat. Així, alguns estudis mostren com l'exposició a fongs filamentosos està relacionada amb la mortalitat per asma (Targonski et al. 1994). De fet, les espores de fongs (amb grandàries situades entre 1,5 a >100 µm), estarien entre els components habituals dels aerosols amb concentracions de 1.000-10.000 espores/m³ (Madelin 1994), arribant a 100.000 espores/m³ en zones properes a activitats agrícoles. El potencial de les malalties induïdes per fongs és força més important en pacients immunodeprimits, i en aquells exposats de forma inusual a concentracions molt elevades (com en el cas de soldats).

Per la seva part, els recomptes bacterians poden ser al voltant de les 30.000 bacteris/m³ a l'entorn de plantes de tractament d'aigües residuals, plantes de compostatge o certes activitats agrícoles i salts d'aigua en rius contaminats (Lighthart & Shaffer 1994, Shaffer & Lighthart 1997). Encara que la simple presència de bacteris, fongs i altres microorganismes als aerosols formats a partir del reg per aspersió no confirma l'existència d'un risc per a la Salut Pública, el potencial demostrat de transmissió justificaria la necessitat de portar a terme un control i una monitorització exhaustiva dels diferents factors implicats.

Finalment, cal destacar que la presència de patògens a l'aigua freàtica reutilitzada pot afectar al sistema sòl-planta. En aquest sentit, el sistema de reg condiona la contaminació microbiològica de la superfície irrigada i, a la vegada, n'augmenta el risc d'exposició humana. El reg gota a gota i amb canonades subterrànies es planteja com un dels mètodes d'elecció, ja que permet l'aprofitament màxim de l'aigua i, a la vegada, redueix les possibilitats d'exposició humana als patògens.

En tot cas, s'ha de tenir sempre present la capacitat dels microorganismes per sobreviure sobre la vegetació, a l'aigua o al sòl, fet que presenta un evident factor de risc per a la salut pública. De fet, patògens com *Escherichia coli* O157 poden mantenir-se a l'aigua potable o aigües recreacionals durant 40-80 dies, mentre que al sòl o sobre la gespa poden sobreviure períodes encara més llargs, fins a 130 dies (Maule 2000). Aquest patògen, igual que altres microorganismes semblants, pot sobreviure el suficient i en nombre suficient en aquests ambients, com per transferir-se i infectar a les persones. Apart, com molts altres microorganismes presenten mecanismes per augmentar la seva resistència a factors externs desfavorables, entrant en un estat viable no cultivable que els fa més resistents a la desinfecció o sobrevivint dins d'amebes com *Acanthamoeba polyphaga*.

6.2. Material i Mètodes

6.2.1. Disseny de l'avaluació del risc sanitari. Tractament estadístic de les dades.

S'ha realitzat una avaluació preliminar del risc sanitari de la formació de biofilms en sistemes de distribució d'aigua, analitzant la seva incidència en la reutilització d'aigües freàtiques per al reg de parcs i jardins urbans. Per portar-ho a terme s'ha escollit l'estació experimental de Sant Martí (Besós), com a model per a l'avaluació del risc sanitari de la formació de biofilms en aigües subterrànies reutilitzades.

En primer lloc s'ha desenvolupat un esquema complet (veure 6.3.1), on s'han definit els principals paràmetres importants de cara a poder realitzar una caracterització del risc microbiològic. No obstant, la majoria de les vegades no es pot disposar de les dades necessàries i suficients com per poder afrontar amb plenes garanties una avaluació del risc. En el nostre cas, tenint en compte a més la manca de dades sobre la distribució dels patògens a l'aigua, s'ha intentat realitzar una aproximació de l'exposició a partir del potencial de formació de biofilms, així com de la presència d'alguns dels grups microbians estudiats prèviament.

A partir de les dades obtingudes en capítols anteriors s'ha calculat la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua i, posteriorment, s'ha realitzat una avaluació preliminar del risc sanitari determinant l'exposició. El procés s'ha portat a terme identificant una sèrie d'escenaris diferents, on l'exposició pot arribar a ser significativa.

Actualment, una de les equacions més utilitzades per al càlcul de l'exposició per la majoria d'efectes no carcinogènics és la dosi diària mitjana, on es determina el terme mitjà de les dosi o exposicions al llarg del període de temps en que es produeixen (US EPA 1997):

$$DDM_{pot} = \frac{D_{pot}}{PesCos \cdot Temps} = \frac{C \cdot IR \cdot ED}{PesCos \cdot Temps} \quad (6.1)$$

La dosi diària mitjana es calcula a partir del terme mitjà de la dosi potencial (D_{pot}) pel pes del cos durant un període determinat. La dosi potencial depèn de la concentració del patògen o del contaminant (C) al medi en qüestió, de la taxa d'incorporació (IR) i de la duració de l'exposició (ED).

La taxa d'entrada dependrà del tipus d'escenari descrit, i es refereix a la taxa d'inhalació, contacte dèrmic i/o ingestió, depenent de la ruta d'exposició. Per als càlculs de la dosi diària mitjana s'han escollit alguns dels valors tabulats i recomanats per la EPA (US EPA 1997). Així, s'han agafat valors de 65,1 kg per al pes mitjà del cos humà als homes, i de 55,6 kg per a les dones.

6.3. Resultats

6.3.1. Desenvolupament de l'esquema per avaluar el risc microbiològic per a la Salut Pública (Reutilització d'aigües subterrànies per a la irrigació de parcs i jardins urbans)

L'abastament d'aigua a les grans ciutats i àrees metropolitanes planteja grans reptes, fent necessària una gestió integrada dels recursos. L'ocupació física del territori fa necessària la gestió conjunta de les aigües d'escolament, les aigües subterrànies i les aigües d'abastament urbà. D'altra banda, la millora de la qualitat de vida planteja noves demandes d'aigua per a usos ornamentals o de jardineria, a més dels usos tradicionals per abastament domèstic i industrial.

La progressiva recuperació dels aqüífers de la zona metropolitana de Barcelona ha obligat a una extracció forçada de l'aigua subterrània per evitar els problemes que genera la pujada del nivell freàtic (veure 3.1.3). La utilització d'aquest recurs ofereix una excel·lent alternativa per a múltiples usos urbans com la irrigació de parcs i jardins, l'abastament d'aigua contra incendis i la neteja de carrers.

La utilització de l'aigua freàtica en aquests usos urbans esmentats ha de plantejar la qüestió de la qualitat sanitària de l'aigua. És evident que l'ús de l'aigua pel reg de parcs i jardins urbans així com per a la neteja de carrers genera múltiples vies de contacte directe i indirecte amb els propis treballadors i el públic en general. Sens dubte, un dels principals objectius en la gestió d'aquest recurs hauria de ser l'assegurament de la qualitat microbiològica, de forma que la seva utilització no representi un risc addicional per a la salut pública.

En aquesta part del treball s'ha intentat avaluar el risc de reutilitzar aigües freàtiques o de drenatge, com la de l'estació experimental de Sant Martí de Provençals al Besós, per a la irrigació de parcs i jardins urbans. Bàsicament, s'ha intentat analitzar quins factors poden influir en l'exposició humana als agents infecciosos.

A. IDENTIFICACIÓ DELS PERILLS		
A.1. Microorganismes patògens en l'aigua subterrània reutilitzada		
-Patògens bacterians oportunistes	<i>Pseudomonas</i> <i>Aeromonas</i> <i>Legionella</i> <i>Mycobacterium</i>	
-Patògens bacterians primaris	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	
-Patògens emergents	<i>E. coli</i> 0157:H7 <i>Giardia</i> <i>Cryptosporidium</i>	
-Indicadors de contaminació fecal	<i>Coliformes</i>	
-Indicadors alternatius	Estreptococs Fecals Espores Clostridis	
-Virus patògens		
-Fongs filamentosos		
A.2. Dades epidemiològiques		
-Malalties relacionades amb l'aprofitament d'aigües subterrànies.		
-Informació sobre les taxes d'atac, severitat, símptomes, demografia.		
A.3. Potencial de Formació de biofilms		
-Recòmptes de la població de bacteris heteròtrofs (HPC)		

B. AVALUACIÓ DE L'EXPOSICIÓ		
<p>Es determina o s'estima la magnitud, freqüència, duració i rutes d'exposició als microorganismes patògens i la quantitat d'aquests en cada exposició. Per una avaluació rigorosa es necessiten tres tipus d'informació: (1) presència dels microorganismes en l'aigua reutilitzada, (2) efecte de la xarxa de distribució de l'aigua i de la irrigació en els patògens i, (3) patrons d'exposició a la població humana. Generalment s'identifiquen els escenaris d'exposició, quantificant l'exposició en cada un d'ells i estimant l'exposició total.</p>		
B.1. Origen		
<p><i>Lloc on es produeix l'entrada dels microorganismes al sistema. S'ha d'estimar la concentració de microorganismes que pot existir al sistema, avaluant la incertesa associada.</i></p>		
B.1.1. Origen de l'aigua		
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aigües Superficials <ul style="list-style-type: none"> Aigües de rentat i escolament Filtracions superficials ("combined surface overflows") Pol·lució industrial 	<ul style="list-style-type: none"> -Intensitat (mm/h) de les tormentes -Duració (min) de les tormentes -Descàrrega màxima -Volum aigua de rentat -Taxes d'infiltració -Abocaments a la llera pública registrats 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Xarxa de Clavegueram <ul style="list-style-type: none"> Tractament de les aigües residuals Pèrdues de la xarxa de clavegueram 	<ul style="list-style-type: none"> -% Habitatges que aboquen les aigües fecals -Pèrdues de la xarxa 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aigües subterrànies <ul style="list-style-type: none"> Aqüífer al·luvial Filtracions superficials ("combined surface overflows") Abocaments des del clavegueram Abocaments des del sistema de distribució Pol·lució industrial 	<ul style="list-style-type: none"> -Situació del nivell freàtic -Increment del nivell freàtic en un dia per les tormentes -Variació al llarg de l'any 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sistema de distribució <ul style="list-style-type: none"> Xarxa de distribució Tractament de l'aigua. 	<ul style="list-style-type: none"> -Tipus de tractament de l'aigua -Desinfecció (cloració) de l'aigua -Fluctuacions dels nivells de clor. 	
B.1.2. Qualitat de l'aigua	<ul style="list-style-type: none"> -Qualitat microbiològica -Qualitat fisico-química -Variacions al llarg de l'any 	
B.1.3. Qualitat de l'aigua de pluja i de rentat (escolament)	<ul style="list-style-type: none"> -Qualitat microbiològica -Qualitat fisico-química -Variacions al llarg de l'any 	
B.2. Vies d'exposició i destí dels microorganismes		
<p><i>Com es mouen els microorganismes des de la font o origen fins a la població exposada. En absència de dades, les estimacions sobre el destí de cada grup es poden obtenir a partir de mesures i/o models de laboratori. Algunes de les rutes es poden considerar insignificants, deixant de ser avaluades.</i></p>		
B.2.1. Transport	<ul style="list-style-type: none"> -Velocitat del flux. -Velocitat de transport. -Tipus de material (porositat) -Persistència dels microorganismes -Taxa d'adsorció (biofilms) 	
B.2.2. Principals rutes d'exposició		
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Xarxa de Distribució <ul style="list-style-type: none"> Característiques hidrodinàmiques Formació de biofilms Recreixements de patògens 	<ul style="list-style-type: none"> -Dimensions de la xarxa -Dipòsits del sistema -Flux i esforç de cisalla -Potencial de formació de biofilms -Carboni orgànic biodegradable -Taxa de corrosió -Patògens a la xarxa -Supervivència de patògens -Taxa de separació del biofilm 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sistema d'irrigació <ul style="list-style-type: none"> Tipus d'irrigació: Exudació, aspersors, ... Formació d'aerosols 	<ul style="list-style-type: none"> -Presència de patògens als aerosols -Dosi d'irrigació 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Parcs i Jardins Urbans <ul style="list-style-type: none"> Consum d'aigua per irrigació Tipus d'irrigació: Exudació, aspersors, ... Dosi de reg Formació d'aerosols Tipus de vegetació Consum d'aigua per fonts ornamentals Consum d'aigua per neteges urbanes 	<ul style="list-style-type: none"> -Presència de patògens als aerosols -Consum d'aigua -Temps d'operació per dia del reg -Hora d'inici i hores d'operació -Cost econòmic del manteniment 	

B.3. Concentracions estimades i/o mesurades		
B.3.1. Mesures ambientals		
➤ Concentració microorganismes a l'aigua	-Recompte bacteris totals -Coliformes totals/ <i>Escherichia coli</i> -Fongs filamentosos - <i>Pseudomonas</i> i <i>Aeromonas</i> -Espores de <i>Clostridis</i> - <i>Legionella/Mycobacterium</i>	
➤ Desenvolupament de biofilms a la xarxa	-Potencial de formació de biofilms -Estat fisiològic de les cèl·lules (ratio cèl. Actives/Total cel.)	
➤ Concentració microorganismes als biofilms	-Recompte bacteris totals -Coliformes totals/ <i>Escherichia coli</i> -Fongs filamentosos - <i>Pseudomonas</i> i <i>Aeromonas</i> -Espores de <i>Clostridis</i> - <i>Legionella/Mycobacterium</i>	
➤ Concentració microorganismes als aerosols	-Recompte bacteris totals -Coliformes totals/ <i>Escherichia coli</i> -Fongs filamentosos - <i>Pseudomonas</i> i <i>Aeromonas</i> -Espores de <i>Clostridis</i> - <i>Legionella/Mycobacterium</i>	
B.3.2. Estimació de les concentracions ambientals		
<i>Amb els models adequats, es realitza una predicció, estimant la concentració de microorganismes que pot arribar al consumidor/usuari dels parcs i jardins urbans, depenent del temps i de les diferents localitzacions geogràfiques del sistema.</i>		
B.4. Població exposada		
B.4.1. Població general en contacte.	-Grandària de la població -Característiques (distribució per edats) -Hàbits	
➤ Subpoblació amb susceptibilitat incrementada.		
➤ Subpoblació amb sensibilitat normal.		
B.4.2. Visitants/Usuaris parcs urbans.	-Nombre visitants/usuaris	
B.4.3. Treballadors del Servei de Parcs i Jardins		
B.5. Anàlisi integral de l'exposició		
<i>Es combina l'estimació de les concentracions ambientals amb la descripció de la població exposada per proporcionar els perfils de l'exposició.</i>		
B.5.1. Desenvolupament dels Escenaris d'Exposició.		
<i>S'identifiquen els escenaris on es pot produir una exposició significativa i es quantifica l'exposició en cada un d'ells.</i>		
➤ Exposició per Inhalació (aerosols) Entre la subpoblació amb susceptibilitat normal. Entre la subpoblació més susceptible.	-Nº persones exposades als aerosols. -Nº bacteris patògens per exposició als aerosols. -Duració i freqüència de l'exposició.	
➤ Exposició per Contacte Directe (exp. Dèrmica) Entre la subpoblació amb susceptibilitat normal. Entre la subpoblació més susceptible.	-Nº persones exposades. -Nº bacteris patògens per exposició (contacte directe). -Duració i freqüència de l'exposició.	
➤ Exposició per Ingestió Entre la subpoblació amb susceptibilitat normal. Entre la subpoblació més susceptible.	-Nº persones exposades. -Nº bacteris patògens per exposició (ingestió). -Duració i freqüència de l'exposició.	
B.5.2. Càlcul de l'exposició global		
<i>Els resultats s'han de presentar en un format consistent amb les funcions dosi-resposta. Després de quantificar l'exposició per a cada escenari, es calcula l'exposició total. La majoria d'avaluacions de l'exposició es basen en calcular la mitjana diària d'exposició al llarg del període d'exposició. No obstant, quan el risc prové d'exposicions durant curts períodes de temps, es poden calcular les taxes d'exposició durant curts períodes, per assegurar que es podran definir uns nivells màxims de risc.</i>		
B.5.3. Avaluació de la incertesa		
<i>Caracteritzant la incertesa es poden identificar les possibles diferències entre la distribució estimada de l'exposició i la que vertaderament entra en contacte amb la població.</i>		
➤ Basades en dades inicials limitades.		
➤ Basades en estimes subjectives de les variables.		
➤ Basades en dades a partir de models		
➤ Basades en dades a partir dels càlculs de l'exposició.		

C. AVALUACIÓ DOSI RESPOSTA		
C.1. Nombre de persones infectades per via respiratòria (càlculs dosi-resposta)	-Entre persones exposades amb susceptibilitat incrementada. -Entre persones exposades amb susceptibilitat normal.	
C.2. Nombre de persones infectades per ingestió (càlculs dosi-resposta).	-Entre persones exposades amb susceptibilitat incrementada. -Entre persones exposades amb susceptibilitat normal.	
C.3. Nombre de persones infectades per contacte directe (càlculs dosi-resposta).	-Entre persones exposades amb susceptibilitat incrementada. -Entre persones exposades amb susceptibilitat normal.	
C.4. Impacte en la població	-Nombre de persones infectades amb malaltia clínica. -Nombre d'infectats que requereixen hospitalització.	
C.5. Impacte econòmic directe: costos entre la població infectada.	-Cost directe del tractament. -Cost indirecte de la pèrdua de producció.	

D. CARACTERITZACIÓ DEL RISC
<i>Es tracta d'integrar tota la informació obtinguda de les avaluacions de l'exposició i de la dosi-resposta, per estimar per cada perill la probabilitat de que es produeixi una malaltia sota les diferents condicions d'exposició humana.</i>
D.1. Risc Global: Combinació de la probabilitat, impacte i incertesa.

6.3.2. Contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua

Assumint que la taxa de creixement i el creixement planctònics són negligibles, la fórmula per determinar la taxa específica de creixement (veure eq. 3.3 a 3.2.7) es pot reescriure de la forma següent:

$$\mu = \frac{Q \cdot (X_S - X_E)}{X_b \cdot A} \quad (6.2)$$

on X_S i X_E són la concentració de la biomassa en suspensió (cèl·lules planctòniques, cèl·lules/mL) a la sortida i a l'entrada del reactor respectivament, X_b és la densitat de cèl·lules del biofilm (cèl·lules sèssils, cèl·lules/cm²), Q és el cabal de líquid circulant pel sistema i A és la superfície mullada del reactor. Coneixent la taxa específica de creixement es pot calcular la producció de cèl·lules alliberades pel sistema, de la forma següent:

$$P = \mu \cdot X_b \cdot A \quad (6.3)$$

En aquest cas s'assumeix que la taxa de creixement i la taxa de separació no depenen del flux i que la biomassa està en equilibri, és a dir, que tanta biomassa s'adhereix com es separa del biofilm. La producció s'ha calculat a partir de les dades obtingudes anteriorment (veure 3.3.6), on es determinava la taxa específica de creixement dels biofilms desenvolupats a partir de l'aigua del pou d'Alfons el Magnànim, agafant les dades de biomassa adherida per a la fase estacionària (a partir dels 80 dies).

Coneixent els diferents paràmetres que caracteritzen el projecte de reutilització per al reg de l'aigua freàtica del pou d'Alfons el Magnànim s'ha intentat realitzar una aproximació, simplificant alguna de les variables que intervenen en aquest sistema. En aquest sentit, s'ha definit una zona de reg estàndard (Zona 1) que correspondria a un parc model amb unes característiques mitjanes d'entre els 8 parcs que actualment es reguen amb aquest tipus d'aigua. Les característiques principals d'aquesta zona així com del sistema de distribució a partir del pou d'Alfons el Magnànim es detallen a la Figura 6.2.

Fonamentalment, les zones verdes que es reguen amb aquest projecte són els parcs del front marítim creats amb motiu dels Jocs Olímpics del 1992. Aquests parcs presenten principalment zones de gespa (76.308 m^2), alternades amb masses arbustives i arbòries. Tanmateix, per simplificar els càlculs de la dosi de reg aplicada al nostre parc-model estudiat s'ha escollit únicament a la gespa com a planta tipus, adoptant un consum per a tota la zona irrigada de $1.150 \text{ L/m}^2/\text{any}$.

La dosi de reg depèn de la taxa d'infiltració del sòl que limita la durada del reg, així com de la climatologia. En aquest sentit, la dosi de reg varia segons l'època de l'any, tal com es detalla a la Taula 6.6. Així, durant els mesos càlids a l'estiu (juny, juliol i agost) es rega dos cops per setmana (13 setmanes) amb una dosi de reg de 20 L/m^2 , mentre que durant la resta de l'any (39 setmanes) es rega 1 cop per setmana amb una dosi de reg de 12 L/m^2 .

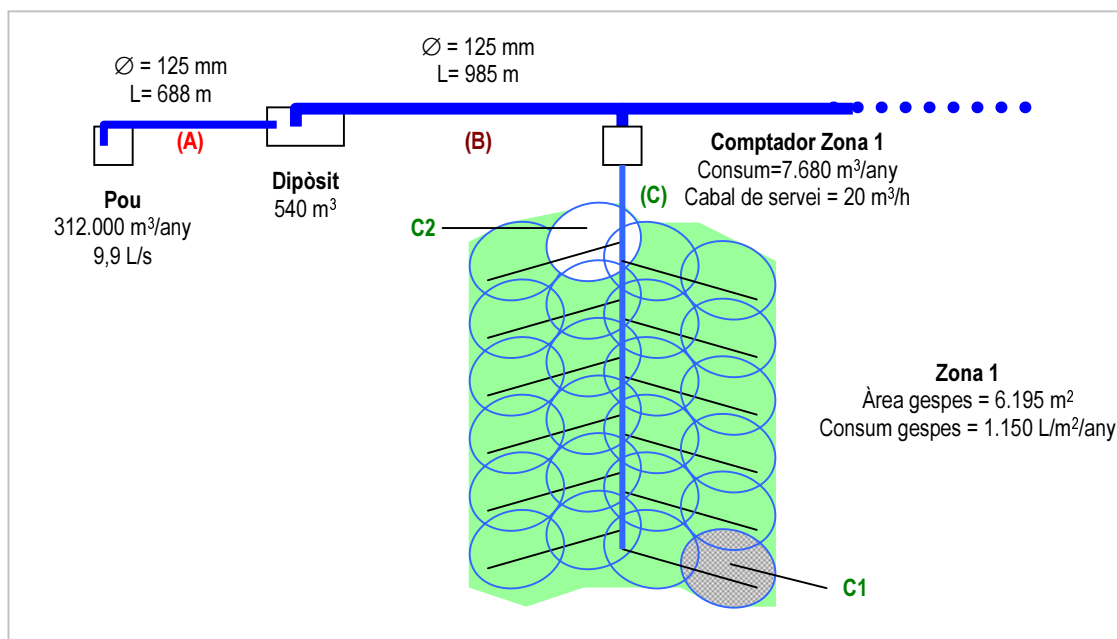


Figura 6.2. Característiques generals del parc-model per al càlcul del risc d'exposició.

Taula 6.6. Dosi de reg aplicada segons l'època de l'any.

Època de l'any	Setmanes	Període de reg	Dosi de reg	Reg aspersion	Consum Total
Juny, Juliol, Agost	13	2 cops/setmana	20 L/m ²	15 min	4.040 m ³
Resta de l'any	39	1 cop/setmana	12 L/m ²	10 min	3.640 m ³

S'han escollit uns aspersors estàndards amb un cabal de sortida de 80 L/m²/h i una superfície mullada de 325 m². Tenint en compte la superfície a regar (6.195 m²) s'haurien d'utilitzar 19 aspersors, però degut al solapament que es produeix en el reg per aspersion, el nombre final d'aspersors escollits ha estat de 24 unitats. Considerant que s'adopta una dosi diferent segons l'època de l'any (veure Taula 6.6), el consum per dia de reg a l'estiu és de 155,5 m³/dia-reg, mentre que a l'hivern es consumeixen 93,3 m³/dia-reg. Coneixent el cabal d'entrada a la xarxa secundària de reg, uns 20 m³/h, s'ha determinat que el temps necessari per poder irrigar tota la zona és de 7,75 hores.

Per poder determinar la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua es consideren dos casos extrems en el sistema de distribució intern del parc-model, segons la distància de l'aspersion al comptador: C1, aspersion més llunyà i, C2, aspersion més proper (veure Taula 6.7). Així, en la secció de tuberia que porta a l'aspersion situat més lluny de l'entrada de la xarxa (C1), l'aigua només circularia durant 15 minuts (el temps de la dosi de reg), mentre que en el cas més favorable (C2) la secció del tub estaria sotmesa al règim del fluid durant 7,75 hores. Coneixent aquests intervals en els períodes de reg i els períodes de reg aplicats segons l'època de l'any, es pot calcular la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua.

Taula 6.7. Característiques de la xarxa de captació (A), d'impulsió (B) i d'irrigació secundària (C) considerant el cas amb l'aspersion més llunyà (C1), i el més proper (C2).

	Taxa de creixement (h ⁻¹)	Biomassa adherida (Cèl./cm ²)	Secció canonades (cm)	Longitud (cm)	Àrea (cm ²)	Producció (Cèl./h)	Règim Flux Diari (L/s)
A	1,67E-03	10 ⁹	12,5	68.800	2,7E+06	4,51E+12	9,9 (Continu)
B	1,67E-03	10 ⁸	12,5	98.500	3,9E+06	6,46E+11	15 (Continu)
C1	1,67E-03	10 ⁸	8,0	25.000	6,3E+05	1,05E+11	5,5 (15 min/dia-reg)
C2	1,67E-03	10 ⁸	8,0	2.500	6,3E+04	1,05E+10	5,5 (7,75 h/dia-reg)

La xarxa de captació (A) i la d'impulsió (B) estan funcionant les 24 hores, ja que al reg de les diferents zones enjardinades s'hi han de sumar les extraccions realitzades amb cubes de transport per a la neteja de carrers. A la Taula 6.8 s'observen els valors estimats per a la producció acumulada i el nombre de cèl·lules que passen a la fase planctònica i es mantenen en funció de la contribució del biofilm.

Pel contrari, la xarxa de distribució interna a la Zona de Reg 1 només entrarà en funcionament durant 7,75 hores, dos dies a la setmana en període estival, i 1 cop per setmana en període d'hivern (veure Taula 6.6). Aquesta aturada del flux al sistema de distribució produeix un increment en la producció acumulada del biofilm, fet que de retruc augmenta la proporció de bacteris presents a la fase planctònica. Així, en les condicions fixades al nostre sistema a l'estiu (reg 2 cops per setmana), el nombre de cèl·lules planctòniques en el cas C1 podria experimentar un augment en una setmana de 0,8 log: de 1,19E+06 Cèl./cm³ en condicions normals de funcionament continu del reactor (veure Taula 3.11) a 9,12E+06 Cèl./cm³ (veure Figura 6.3). En el cas C2 es podria experimentar un augment lleugerament inferior, de 0,7 log: de 1.19E+06 a 8.54E+06 Cel./cm³.

D'altra banda, s'ha considerat també la importància de la freqüència de reg per setmana. Les dades obtingudes confirmen que el canvi d'un reg de 2 cops per setmana a 1 sola vegada a la setmana determina un molt lleuger augment (0,25 log) en la concentració de microorganismes planctònics.

Taula 6.8. Determinació del nombre de cèl·lules del biofilm que passen a la fase planctònica, a les diferents etapes del sistema de distribució d'aigua: (A) xarxa de captació, (B) xarxa d'impulsió.

	Hora	Biomassa Aigua Entrada (X _E) (Cèl./cm ³)	Producció (Cèl./h)	Prod. Acumulada	Cel./cm ³
A	1	1,19E+06	4,51E+12	1,00E+13	1,19E+06
	2	1,19E+06	4,51E+12	1,00E+13	1,19E+06

	23	1,19E+06	4,51E+12	1,00E+13	1,19E+06
	24	1,19E+06	4,51E+12	1,00E+13	1,19E+06
B	1	1,19E+06	6,46E+11	1,44E+13	1,19E+06
	2	1,19E+06	6,46E+11	1,44E+13	1,19E+06

	23	1,19E+06	6,46E+11	1,44E+13	1,19E+06
	24	1,19E+06	6,46E+11	1,44E+13	1,19E+06

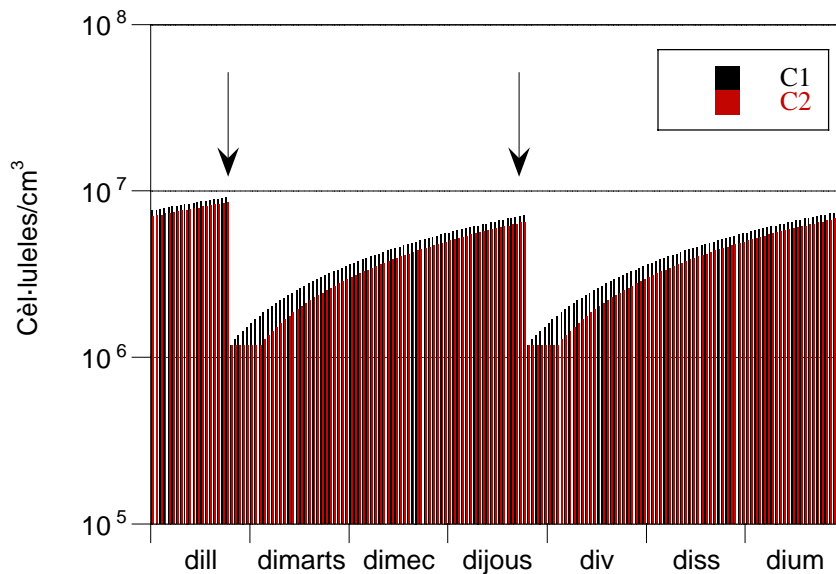


Figura 6.3. Evolució del nombre de bacteris en fase planctònica al llarg d'una setmana de reg a l'estiu, en funció de la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua. Els valors superiors corresponen sempre al cas C1.

6.3.3. Determinació de l'índex de risc sanitari

Tenint en compte la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua, es calcula a continuació l'exposició per a cada un dels escenaris descrits prèviament. S'ha calculat la dosi potencial màxima i mínima per a cada escenari d'exposició, escollint els valors de cèl·lules obtinguts als apartats anteriors. En tot cas, s'han escollit sempre les dades que poden representar un risc màxim, de forma que els valors d'exposició obtinguts sobreestimïn sempre el risc real.

Exposició per inhalació (aerosols). El risc per a la salut pública associat a l'exposició humana a contaminants aeris és una funció de la concentració d'aquests, del tipus de contaminant, de la duració de l'exposició i de la taxa d'inhalació. Com ja s'ha comentat anteriorment, la formació d'aerosols a partir del reg a jardins i parcs públics amb un nombre important d'usuaris, podria suposar una situació potencial de risc.

Adaptant l'equació general per al càlcul de l'exposició, es considera que la taxa d'inhalació correspon a la taxa d'entrada. En aquest sentit, malgrat que existeixen estudis que detallen els valors recomanats per a l'exposició per inhalació segons l'edat, el sexe de la persona i l'activitat que aquesta estigui desenvolupant, sovint s'acostuma a utilitzar una taxa d'inhalació estàndard de 20 m³/dia.

Cal tenir present que la irrigació s'acostuma a realitzar en períodes nocturns on l'afluència de visitants és nul·la, reduint al màxim les possibilitats d'exposició. De fet, la majoria de visitants/usuaris no entraran en contacte amb els aerosols generats, degut a que una fracció important del reg en aquestes zones es realitza exclusivament en horari nocturn. En aquest sentit, s'ha assumit que el 75% dels visitants o usuaris no rebran en cap cas una exposició significativa, perquè la seva visita no coincidirà amb un període de reg.

La resta d'usuaris, podran ser exposats en major o menor grau. També aquí s'assumeix que la majoria de visitants no estaran més de 5 minuts en contacte amb els aerosols generats prop dels aspersors. Així, s'ha utilitzat un valor màxim de 5 min per calcular la dosi diària mitjana màxima, mentre que l'exposició mínima seria de 5 seg.

D'altra banda, els recomptes realitzats a l'aigua i al biofilm del sistema de distribució (veure Taula 6.9) no han aconseguit detectar a *Legionella*, malgrat que segurament en aquest cas s'hauria d'haver augmentat l'esforç de mostreig. Respecte al grup dels micobacteris, s'ha obtingut un valor mitjà a l'aigua de 0,281 Ufc/mL.

Assumint novament que la pràctica totalitat de les cèl·lules de la fase planctònica sortiran a través del reg per aspersió, passant a formar part dels aerosols, s'ha calculat finalment la dosi diària mitjana potencial per cada cas (homes/dones i màxima/mínima) a partir de les dades obtingudes amb els micobacteris (veure Taula 6.10). Com es pot observar, existeixen quasi 2 log de diferència entre la dosi diària potencial màxima i mínima. Com ja es comentarà més endavant, s'ha escollit al grup *Mycobacterium* per la seva capacitat per provocar infeccions respiratòries. No obstant, s'ha de tenir present que no totes les espècies d'aquest grup presenten la mateixa patogenicitat i, fins i tot alguns són membres de la microbiota autòctona dels sistemes de distribució d'aigua.

Taula 6.9. Valors determinats a l'aigua i el biofilm del sistema de distribució de Sant Martí, als grups *Legionella* i *Mycobacterium* per al càlcul de l'exposició per inhalació.

	Aigua (Ufc/mL)		Biofilm (Ufc/cm ²)	
<i>Legionella</i>	n.d.	(n=7)	n.d.	(n=7)
<i>Mycobacterium sp.</i>	0,281 ± 0,067	(n=12)	1,38E+01 ± 0,782	(n=12)

Taula 6.10. Dosi diària mitjana potencial (U.f.c/kg-dia) per exposició als aerosols als parcs i jardins urbans. Valors obtinguts a partir de les dades de *Mycobacterium sp.* a l'aigua. Valors màxim per una exposició de 5 min. i mínim per una exposició de 5 s.

	Homes	Dones
<i>Dosi Diària Mitjana Màxima</i>	3,00E+02	3,51E+02
<i>Dosi Diària Mitjana Mínima</i>	4,98E+00	5,83E+00

Exposició per contacte directe (exposició dèrmica). La utilització dels parcs i jardins urbans pot determinar un cert grau de contacte entre els usuaris i els microorganismes patògens, de forma que es produeixi una exposició dèrmica. Assumint que aquest tipus d'exposició es pot produir especialment pel contacte amb elements del sòl i/o la vegetació irrigada, el risc microbià per a la salut pública només serà significatiu si existeix un contacte directe a nivell d'alguna ferida o d'alguna de les mucoses del cos humà. En el cas que ens ocupa i descartant a les ferides com a elements pràcticament negligibles, només quedaria el contacte directe amb les mucoses oculars i nasals, com a elements de risc per al contacte directe. Tanmateix, s'ha considerat que aquest risc és pràcticament negligible, considerant l'escassa superfície de les mucoses exposades als contaminants microbians (menys de 0,001 m²), i donat els baixos factors d'adherència del sòl a la pell (0,9-1,5 mg/cm², segons US EPA 1997).

Exposició per ingestió. En principi, s'hauria de descartar la ingestió accidental d'aigua, en la premissa que tots els treballadors estaran perfectament informats del risc d'utilització d'una aigua no potable. No obstant, no s'ha d'oblidar com a factor de risc en zones irrigades amb l'aigua freàtica, la possibilitat d'ingestió directa de sòl. De fet, s'ha de recordar la capacitat que presenten la majoria de patògens per sobreviure al sòl, de forma que la contaminació fecal d'aquest ambient pot constituir un reservori potencial per a la infecció per diferents microorganismes. Així, *Campylobacter* pot sobreviure 10 dies com a mínim al sòl, i 3 setmanes o més si és a la femta de gossos o altres animals (Blaser et al. 1983).

El potencial d'exposició a través de la ingestió del sòl és més gran en nens petits que en adults degut al típic comportament de la infància, especialment al posar-se els dits o qualsevol objecte a la boca. Malgrat que aquesta ingestió accidental també es pot produir en adults, ingerint partícules que s'han adherit al menjar, cigarretes o les mateixes mans, la majoria de dades s'han obtingut en estudis realitzats amb nens. La Taula 6.11 presenta els valors recomanats per a la ingestió involuntària de sòl.

Taula 6.11. Taxes d'entrada per a la ingestió de sòl (US EPA 1997).

Població	Mitjana
Nens	100 mg/dia
Adults	50 mg/dia

Considerant la utilització important dels parcs per usuaris molt joves (nens <3 anys), i tenint en compte que la irrigació dels parcs urbans es realitza amb aigua freàtica sense desinfectar, s'ha considerat convenient estimar la dosi potencial, malgrat que no s'hagi disposat de dades sobre la presència microbiana al sòl o la vegetació (gespes) de les zones estudiades. Tanmateix, en jardins relativament semblants a Barcelona irrigats també amb aigua freàtica s'han obtingut valors de biomassa per al subsòl entre 10⁷-10⁸ Ufc/g (recompte amb agar PCA a 22°C, dades pròpies no publicades).

No obstant, considerant que es vol calcular l'exposició per ingestió s'han realitzat els càlculs a partir dels valors de *Escherichia coli*, com a indicador de contaminació fecal. Per poder realitzar aquests càlculs s'han estimat els seus valors al sòl, coneixent la seva importància relativa a l'aigua enfront del recompte total en placa (0,1-0,001%). Segons això i les dades del recompte de bacteris totals en placa al subsòl, el nivell de *Escherichia coli* a les capes superficials del sòl dels parcs estudiats podria oscil·lar entre 10^2 - 10^5 Ufc/g. A partir d'aquests valors es calcula finalment la dosi diària mitjana potencial (veure Taula 6.12), tal com s'ha fet anteriorment.

La Taula 6.13 resumeix les dades estimades per a la dosi potencial d'exposició en cada cas, considerant els diferents escenaris identificats als parcs i jardins urbans irrigats amb aigua freàtica.

Taula 6.12. Dosi diària mitjana potencial (U.f.c/kg-dia) per ingestió als parcs i jardins urbans. Valors obtinguts a partir de les dades de *Escherichia coli* a l'aigua. Valors màxim i mínim per una exposició diària.

	Adults	Nens
<i>Dosi Diària Mitjana Màxima</i>	7,68E+01	5,00E+02
<i>Dosi Diària Mitjana Mínima</i>	7,68E-02	5,00E-01

Taula 6.13. Valors estimats per a la dosi potencial segons els diferents escenaris d'exposició. Tots els valors fan referència a l'exposició diària (Ufc/kg-dia).

Escenari d'exposició	Dosi potencial mínima	Dosi potencial màxima	Dosi potencial mitjana
<i>Inhalació (homes)</i>	4,98E+00	3,00E+02	1,52E+02
<i>Inhalació (dones)</i>	5,83E+00	3,51E+02	1,78E+02
<i>Contacte dèrmic</i>	-	-	-
<i>Ingestió (nens)</i>	5,00E-01	5,00E+02	2,50E+02
<i>Ingestió (adults)</i>	7,68E-02	7,68E+01	3,84E+01

Avaluació dosi-resposta. Coneixent l'abast de l'exposició (dosi potencial) per cada cas, es calcula la probabilitat d'infecció a partir del model beta-Poisson, tal com es detalla a la Taula 6.1. En tot cas, i malgrat que els valors màxims semblen indicar que s'ha sobreestimat en excés el risc d'infecció, els valors obtinguts (veure Taula 6.14) evidencien la possibilitat que l'exposició acabi afectant a un cert nombre d'usuaris dels parcs. D'altra banda, aquí només es parla de probabilitat d'infecció, sense valorar si aquesta incidència pot afectar provocant hospitalització en algun dels casos.

Taula 6.14. Valors estimats per a la probabilitat d'infecció.

Escenari d'exposició	Probabilitat Infecció
<i>Inhalació</i>	7,05-42,82/100
<i>Contacte dèrmic</i>	-
<i>Ingestió (màxim)</i>	0,15-45,63/100

6.4. Discussió

Quan la font de subministrament és diferent de la xarxa de distribució d'aigua potable, com en el cas que ens ocupa i encara que l'aigua no estigui destinada al consum humà, la qualitat microbiològica i les mesures de seguretat aplicables en la seva distribució han de guardar relació amb les possibles vies de contacte de les persones amb l'aigua, així com amb els comportaments socio-culturals i d'higiene de la població on es pensa implantar aquesta iniciativa.

La manca de desinfecció en aquest sistema comporta unes exigències extremes en totes les mesures preventives de la contaminació de l'aigua (barreres de protecció), amb la finalitat d'assegurar que l'aigua no es contamine ni en origen ni durant el seu dipòsit o la seva distribució. Això comporta l'establiment d'un programa estricte de vigilància i control, verificant periòdicament que la qualitat de l'aigua es manté dins dels límits físico-químics i microbiològics desitjables. A més, s'haurà d'informar adequadament a tot el personal que està en contacte amb l'aigua en qualsevol de les etapes del sistema (captació, distribució i/o irrigació), per tal que coneguin que estan utilitzant aigua freàtica no apta pel consum públic. Finalment, és molt important incidir en la població de la zona i en els usuaris potencials dels parcs públics, informant i promocionant l'aprofitament de l'aigua freàtica. Entre els criteris que han de guiar la instal·lació i el manteniment d'una xarxa d'aigua no potable cal destacar que és bàsic assegurar l'estanquïtat d'aquesta xarxa secundària i evitar que es produeixi cap interconnexió accidental entre aquesta i la xarxa d'abastament d'aigua potable. Per evitar aquest últim punt, s'haurien d'utilitzar conduccions de qualitat semblant a la xarxa d'abastament, però codificant-les amb un color diferenciat i amb una indicació impresa on es llegeixi "aigua regenerada".

Tot i assumint que es prenen totes aquestes mesures i descartant la possibilitat d'algun cas d'ingestió ocasional d'aigua – especialment per algun treballador poc informat –, existeix igualment un risc d'exposició. Una part fonamental d'aquest risc prové de la formació de biofilms a les xarxes de distribució, que afavoriran l'alliberament continuat de cèl·lules a la fase planctònica, les quals poden acabar a l'aire exterior a través dels aerosols o a la superfície de la vegetació o el sòl dels parcs urbans.

En els sistemes de reg discontinus l'absència total de barreja es pot convertir en un factor limitant important pel creixement del biofilm, degut als efectes evidents sobre l'arribada de cèl·lules i nutrients. Tanmateix, algunes cèl·lules poden utilitzar els seus mecanismes de mobilitat, mentre que la difusió molecular i la gravetat poden ajudar als microorganismes no mòbils a arribar a la superfície de la tuberia. L'estudi de la contribució del biofilm a la càrrega microbiana de l'aigua mostra clarament com en el sistema de reg discontinu estudiat s'ha afavorit la presència a la xarxa de pics o valors màxims de cèl·lules planctòniques, resultat de l'acumulació d'aquests microorganismes planctònics durant els períodes sense reg. Això pot provocar un increment en el risc per a la Salut Pública quan la producció del biofilm s'acumula en forma de cèl·lules planctòniques a la fase líquida, augmentant la quantitat de bacteris que poden passar a formar part dels aerosols que es generen durant el reg. Així, la utilització d'un reg 2 cops per setmana a l'estiu determina l'augment de quasi 1 log en els microorganismes presents a l'aigua de la xarxa del sistema de distribució, respecte d'un sistema continu.

Degut a que el nombre de cèl·lules planctòniques és directament proporcional a la biomassa adherida i a la superfície del sistema, una de les bones pràctiques a realitzar en aquests sistemes de reg seria utilitzar les canonades amb la menor relació superfície/volum possible, malgrat les dificultats pressupostàries que això pot implicar. D'altra banda, també es podria reduir l'accés al sistema de matèria orgànica biodegradable, per limitar al màxim el creixement dels microorganismes adherits. Finalment, el sistema de reg condiciona la contaminació microbiològica de la superfície irrigada i, a la vegada, n'augmenta el risc d'exposició humana. El reg gota a gota i amb canonades subterrànies es planteja com un dels mètodes d'elecció, ja que permet l'aprofitament màxim de l'aigua i, a la vegada, redueix les possibilitats d'exposició humana als patògens.

Tanmateix, en aquelles situacions on s'ha d'utilitzar la irrigació amb aspersors, sempre s'ha de tenir present que pot haver-hi algun patògen amb efectes importants, com *Legionella*, encara que el perill real de la gran majoria d'aquests microorganismes per a la salut pública sigui baix. Per aquest motiu, s'hauria de considerar la realització de mesures preventives, com limitar l'accés del públic durant els primers minuts d'operació del sistema de reg o realitzar un rentat previ de la major part de la xarxa abans de realitzar el reg per aspersió.

Respecte a aquest últim punt, es podrien dissenyar els aspersors de forma que la inclusió d'una vàlvula de purgat facilités la realització del drenatge de les canonades. Aquest sistema hauria de permetre el drenatge de les canonades sense producció d'aerosols durant els primers instants del reg –amb baixa pressió-. Passat un temps de seguretat adequat per al rentat de la producció acumulada del biofilm a la xarxa de distribució, el sistema iniciaria el funcionament convencional.

La determinació de la probabilitat d'infecció que s'ha realitzat en aquest treball no es pot agafar en cap cas com un valor absolut, sinó que més aviat s'ha tractat d'un exercici per demostrar la viabilitat de les tècniques d'avaluació del risc. En aquest sentit, cal tornar a remarcar que s'ha optat voluntàriament per agafar sempre els valors màxims, sobreestimant el risc real existent.

Les úniques dades amb les quals s'ha pogut realitzar la determinació de la dosi d'infecció han estat els recomptes del grup *Mycobacterium*, ja que no s'ha pogut aïllar cap *Legionella*. Certament, caldria haver realitzat un major seguiment d'aquest últim grup, augmentant l'esforç de mostreig. Tanmateix, les dades que es tenen sobre el grup *Mycobacterium* corresponen a aïllaments en un medi selectiu amb un pas previ per descontaminar les mostres (eliminant gran part de la microbiota ambiental no resistent), positius per la tinció Ziehl-Neelsen. En aquest cas, és evident que la dosi potencial mitjana per a l'exposició d'inhalació ha sobreestimat en excés el risc, perquè s'ha de considerar que la metodologia utilitzada per identificar el grup dels micobacteris permet detectar a diferents soques ambientals sense efectes sobre el cos humà.

És evident que l'avaluació microbiana del risc es troba lluny de ser una tècnica àmpliament utilitzada, sobretot per la manca de dades de la presència i distribució - temporal i espacial - dels microorganismes a les aigües subterrànies. Queda encara reduir la incertesa en la quantificació de l'exposició, especialment millorant els estudis de supervivència dels microorganismes a les aigües subterrànies. Malgrat que l'avaluació preliminar realitzada només es tracta d'un primer pas, molt limitat i amb un elevat grau d'incertesa, una avaluació en profunditat pot utilitzar-se com a eina fonamental en la gestió del risc per a la salut pública. Per poder utilitzar amb garanties aquesta tècnica caldria realitzar un seguiment més continuat i al llarg del temps del grup *Legionella* i *Mycobacterium* per identificar les situacions de risc estacional. Caldria evidentment, millorar la quantificació de la dosi infectiva en cada escenari d'exposició, realitzant analítiques de la presència de microorganismes als aerosols, a la superfície de la vegetació i al sòl. Finalment, també s'hauria de millorar la caracterització de la població exposada, realitzant enquestes de la utilització dels parcs públics.

De totes maneres i encara que la simple presència de bacteris, fongs i altres microorganismes als aerosols formats a partir del reg per aspersió no confirma l'existència d'un risc per a la Salut Pública, el potencial demostrat de transmissió i la presència d'una part important dels usuaris dels parcs públics amb un grau més elevat de sensibilitat, justificarien la necessitat de portar a terme un control i una monitorització exhaustiva dels diferents factors implicats. En aquest sentit, l'aprofitament d'aigües freàtiques amb una baixa qualitat microbiològica s'hauria de realitzar tenint en compte l'establiment d'uns límits de qualitat. Aquests, haurien d'incloure algun paràmetre microbiològic com *Legionella*, com a patògen oportunista, i *Escherichia coli* com a indicador de contaminació fecal.

6.5. Bibliografia

- Abbaszadegan, M. 1998. Detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts. In: Pillai, S.D. (ed.). *Microbial Pathogens within Aquifers: Principles and Protocols*. Springer-Verlag, Berlin.
- Akin, E.W. & W. Jakubowski. 1986. Drinking water transmission of giardiasis in the United States. *Water Sci. Tech. Water Sci. Tech.*, 18:219-226.
- Antó, J.M., Sunyer, J., Reed, C.E., Sabria, J., Martínez, F., Morell, F., Codina, R., Rodríguezroisin, R., Rodrigo, M.F., Roca, J. & M. Saez. 1993. Preventing asthma epidemics due to soybeans by dust control measures. *New England J. Med.* 329(24): 1760-1763.
- Bitton, G. & C.P. Gerba. 1984. *Groundwater pollution microbiology*. Publ. John Wiley & Sons, New York, USA, 377pp.
- Bitton, G. & S.R. Farrah. 1985. Viral contamination of groundwater. *Rev. Int. Sci. Eau*, 2(2): 31-37.
- Blaser, M.J., Taylor, D.N. & R.A. Feldman. 1983. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiologic Rev.* 5:157-173.
- Bleckmon, J.A., Chandler, F.W., Cherry, W.B., England, A.C., Feeley, J.C., Hicklin, M.D., McKinney, R.M. and H.W. Wilkinson. 1981. Legionellosis. *Amb. J. Pathol.* 103: 429-465.
- Borrmann, S., Jaenicke, R., Maser, R. & B. Arends. 1994. Instrument intercomparison study on cloud droplet size distribution measurements-Holography vs. Laser Optical-Particle counter. *J. Atmosph. Chem.* 19(1-2): 253-258.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, R. & H.M. Lappin-Scott. 1995. Microbial biofilms. *Ann. Rev. Microbiol.* 49:711-745.
- Craun, G.F. 1984. Health aspects of groundwater pollution. In: Bitton, G., Gerba CP. Eds. *Groundwater Pollution Microbiology*. New York: John Wiley & Sons. Pp. 135-179.
- Craun, G.F. 1986. In: *Waterborne diseases in the United States*. Boca Raton: CRC Press.
- Craun, G.F. 1988. Surface waters supplies and health. *J. Amer. Water Works Assoc.* 80:40-52.
- Craun, G.F. & R. Calderon. 1996. Microbial risks in groundwater systems epidemiology of waterborne outbreaks. In: *Under the microscope. Groundwater Foundation Symposium Proceedings*, sept. 5-6. Boston, MA, Denver, CO: AWWA; 9-20.
- Geldreich, E.E. 1986. Control of microorganisms of Public Health Concern in Water. *J. Environ. Sci.* 29:34-37.
- Grabow, W.O.K. 1996. Pathogenic and indicator organisms in drinking water. *Seminario Microbiología de las Aguas de Abastecimiento. AEAS, Madrid*. pp. 7-36.
- Haas, C.N., Crockett, C.S. & J.B. Rose. 1996. Assessing the risk posed by oocysts in drinking water. *J. Amer. Water Works Assoc.* 9:131-138.
- Hickey, J.L. and P.C. Reist. 1975. Health significance of airborne microorganisms from wastewater treatment processes. Part II: Health significance and alternatives for action. *J. WPCF*, 47(12): 2758-2772.
- Jarvis, W.R., White, J.W., Munn, Van P., Mosser, J.L., Emori, T.G., Culver, D.H., Thornsberry, C. & J. Hughes. 1985. Nosocomial infection surveillance, 1983. *US, CDC Surveillance summaries* 33 (#2SS): 9SS-21SS.
- Kent, G.P., Greenspan, J.R. & J.L. Herndon. 1988. Epidemic giardiasis caused by a contaminated public water supply. *Am. J. Publ. Health.*, 78:139-143.
- Keswick, B.H., Gerba, C.P. & S.L. Secor. 1982. Survival of enteric viruses and indicator bacteria in groundwater. *J. Environ. Sci Health-Part A*, 17:903-912.
- Keswick, B.H., Gerba, C.P. & H.L. Dupont. 1984. Detection of enteroviruses in treated drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:1290-1297.
- Kramer, M.H., Herwaldt, B.L. & Craun G.F. 1996. Waterborne disease: 1993 and 1994. *Journal AWWA*, 88(3):66-80.
- Lighthart, B. & B.T. Shaffer. 1994. Bacterial flux from chaparral into the atmosphere in midsummer at a high desert location. *Atmospheric Environ.* 28(7):1267-1274.
- Lisle, J.T. & J.B. Rose. *Cryptosporidium* contamination of water in the USA and UK: a mini-review. *J. Water SRT-Aqua*, 44(3): 103-117.
- Madelin, T.M. 1994. Fungal aerosols- A review. *J. Aerosol Sci.* 25(8): 1405-1412.
- Maule, A. 2000. Survival of verocytotoxic *Escherichia coli* O157 in soil, water and surfaces. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* 88:71S-78S.
- Mawdsley, J.L., Brooks, A.E. & R.J. Merry. 1996. Movement of the protozoan pathogen *Cryptosporidium parvum* through three contrasting soil types. *Biol. Fert. Soils.* 21:30-36.
- Melnick, J.L. 1990. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. In: Fields BN ed. *Virology*. 2nd. Ed.: New York, Raven Press. pp. 549-605.
- Moore, A.C., Herwaldt, B.L. & G.F. Craun. 1993. Surveillance for waterborne outbreaks-United States, 1991-1992. *MMWR CDC Surveillance Summaries*, 45:1-22.
- Mujeriego, R. 1990. *Manual práctico de riego con agua residual municipal regenerada*. Universitat Politècnica de Catalunya y Generalitat de Catalunya. Ed. UPC.

- National Research Council. 1998. Issues in potable reuse: the viability of augmenting drinking water supplies with reclaimed water. National Academy Press: Washington, DC.
- Nime, F.A., Burek, J.D. & D.L. Page. 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 70:592-598.
- Notermans, S., Dufrenne, J., Teunis, P., Beumer, R., te Giffel, M & P. Peeters Weem. 1997. A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurized milk. *Food Microbiology*, 14:143-151.
- Payment, P. 1981. Isolation of viruses from drinking water at the Pont-Viau water treatment plant. *Can. J. Microbiol.* 27: 417-420.
- Reasoner, D.J. 1983. Microbiology of potable water and groundwater. *J. Water Pollut. Control Fed.* 55(6):891-895.
- Rose, J.B. & M. V. Yates. 1998. Microbial Risk Assessment. Applications for Groundwater. In Pillai, S.D. (ed.). 1998. *Microbial Pathogens within Aquifers: Principles and Protocols*. Springer-Verlag, Berlin.
- Rose, J.B., Haas, C.N. & C.P. Gerba. 1997. In: *Risk Assessment for microbial contaminants in water*. Denver, CO: American Water Works Association.
- Rose, J.B., Haas, C.N. & S. Regli. 1991. Risk Assessment and control of water-borne giardiasis. *Am. J. Publ. Health.* 1:709-713.
- Shaffer, B.T. & B. Lighthart. 1997. Survey of culturable airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: urban, rural, forest and coastal. *Microb. Ecol.* 34:167-177.
- Targonski, P.V., Persky, V.W. & V. Ramekrishnan. 1995. Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season. *J. Allergy Clin. Immunol.* 95(5): 955-961.
- Terzieva, S., Donnelly, J., Ulevicius, V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Stelma, G.N. and K.P. Brenner. 1996. Comparison of methods for detection and enumeration of airborne microorganisms collected by liquid impingement. *Applied and Environmental Microbiology.* 62(7): 2264-2272.
- Thacker, S.B., Bennet, J.V., Tsai, T.F., Fraser, D.W., McDade, J.E., Sheperd, C.C., Williams, K.H., Sturat, W.H., Dull, H.B. and T.C. Eickhoff. 1987. An outbreak in 1965 of severe respiratory illness caused by Legionnaires disease bacterium. *J. Inf. Dis.* 138: 512-519.
- US EPA. 1984. Risk Assessment and Management: Framework for Decision Making. Technical Report EPA/600/9-85/002.
- US EPA 1986. Guidelines for Exposure Assessment. Part IV. In Federal Register, 1986, Vol 51, no. 185: 34042-34054.
- US EPA 1989. Surface water treatment rule guidance manual for compliance with the filtration and disinfection requirements for public water systems using surface water sources. In: Federal Register 1989, 54:27486-27541.
- US EPA. 1990. Methods for the investigation and prevention of waterborne disease outbreaks. Washington D.C.
- US EPA. 1997. Exposure factors handbook. Vol. I. General Factors. Technical Report EPA/600/P-95/002 Fa. Washington, DC.
- Yates, M.V. 1994. Evaluation of the groundwater disinfection rule "natural disinfection" criteria using field data. WITAF, Denver, CO: AWWA.
- Yates, M.V. & S.R. Yates. 1988. Modeling microbial fate in the subsurface environment. *Critical reviews in environmental control.* 17:307-343.

CAPÍTOL 7
DISCUSSIÓ GENERAL

L'estudi i el seguiment de la formació de biofilms en sistemes de distribució d'aigua ha plantejat una sèrie de dificultats per la manca de tècniques adequades. Malgrat la gran quantitat de mètodes desenvolupats, actualment no existeix encara un sistema estandarditzat i àmpliament acceptat per a la formació de biofilms de forma controlada. Aquest treball arrenca amb la clara idea de desenvolupar un sistema experimental que permeti realitzar un seguiment de la colonització microbiana de superfícies.

El sistema dissenyat havia de poder aplicar-se en condicions de laboratori i al camp. Després de valorar diferents aproximacions, es va optar per la configuració en reactors de llit empaquetat fix, amb esferes de vidre de 5 mm com a medi de suport. Aquest sistema fàcilment operatiu i de baix manteniment ha permès obtenir el màxim de mostra de biofilm amb el mínim espai necessari. A part, es pot determinar alhora la població planctònica i el potencial de formació de biofilms a partir d'aigües de diferent origen, i es pot seguir l'evolució al llarg del temps de les poblacions que formen part dels biofilms desenvolupats. En contrapartida, les esferes de vidre de 5 mm no es poden considerar com un suport idoni per a l'observació directa dels biofilms desenvolupats. Per aquest motiu, s'ha hagut de realitzar un treball important per posar a punt i optimitzar una sèrie de tècniques microscòpiques, facilitant l'observació directa del material de suport i la caracterització adequada de la colonització microbiana.

Queda encara una tasca important per millorar i optimitzar el disseny del sistema experimental. En aquest sentit, es pot avançar en la miniaturització del sistema, que pot arribar a constar quasi únicament d'un sol reactor. Després d'escollir un temps estàndard de contacte amb l'aigua, la utilització de reactors a diferents llocs de les xarxes de distribució permetria determinar el potencial de formació de biofilms de forma ràpida, comparant les dades segons la localització per poder monitoritzar l'aparició de problemes en la qualitat microbiològica de l'aigua.

El sistema experimental dissenyat s'ha pogut aplicar en experiments de laboratori i de camp. Al camp, s'ha utilitzat per realitzar el seguiment del desenvolupament de biofilms a partir de dues aigües subterrànies d'origens ben diferents: la mina de Ribatallada a Sabadell i el pou d'Alfons el Magnànim a Sant Martí (Besós, Barcelona). Ha quedat bastant patent que la qualitat microbiològica d'aquests aqüífers pot oscil·lar de forma important, presentant un elevat potencial de formació de biofilms. Segons això, l'aprofitament d'aquestes aigües subterrànies podria arribar a comportar un risc per a la salut pública, depenent del tipus d'ús que se'n realitzés. El sistema també s'ha pogut instal·lar en una xarxa de distribució d'aigua potable. En aquest cas, s'ha pogut comprovar com la desinfecció de l'aigua afecta de forma important a l'estructura i composició dels biofilms desenvolupats, que han presentat òbviament una biomassa clarament inferior a l'obtinguda en els biofilms desenvolupats a partir d'aigües freàtiques.

La millora i optimització del sistema experimental passaria en aquest punt per poder determinar el potencial de formació de biofilms de forma ràpida. S'ha explorat la possibilitat de realitzar la quantificació de la biomassa adherida mitjançant la determinació de l'ATP cel·lular. Aquesta és una determinació prou senzilla i ràpida que s'utilitza sovint per avaluar indirectament el nombre de cèl·lules present en un ecosistema, i que es podria utilitzar per quantificar el nombre de microorganismes planctònics i del biofilm. Es tracta d'un mètode ràpid que permet obtenir dades del total de cèl·lules microbianes presents a l'aigua al cap de poques hores d'obtenir la mostra. Cal avaluar la seva utilització com a eina de control de la contaminació microbiana, habilitant l'àgil monitorització de la qualitat microbiològica de l'aigua i alhora del potencial de formació de biofilms.

Tanmateix, és evident que l'adveniment de noves tècniques moleculars d'anàlisi obre unes perspectives radicalment diferents en l'estudi de comunitats ambientals. Fins ara, els mètodes microbiològics clàssics s'han utilitzat amb èxit, malgrat les evidents limitacions en l'estudi de mostres ambientals. De fet, tant l'aïllament en cultius purs com l'enumeració per recompte microscòpic directe destrueixen gran part de les interaccions que s'estableixen entre els diferents components del medi.

La majoria dels mètodes que requereixen de l'aïllament presenten limitacions importants per a l'avaluació de la composició de la comunitat en mostres ambientals, perquè sovint revelen menys del 1% de les poblacions existents, infraestimant la importància de la comunitat existent.

A més, moltes de les tècniques clàssiques depenen del creixement microbià, realitzant-se una selecció dels microorganismes cultivables, fet que proporciona poca informació de l'estatus nutricional i l'activitat in situ de la microbiota ambiental. Tècniques moleculars com la hibridació amb sondes d'àcids nucleics permeten ja una detecció més ràpida i aproximada a la realitat dels microorganismes presents en comunitats ambientals, com els biofilms presents a les aigües, els microorganismes dels aerosols, comunitats del sòl i del subsòl, i altres. També permeten avaluar de forma quantitativa l'impacte de diferents contaminants en les comunitats microbianes autòctones. La identificació de canvis en la distribució i composició dels microorganismes d'una comunitat es pot utilitzar com una indicació biològica de la presència de contaminants.

La formació i acumulació de sòlids, dipòsits inorgànics, productes de la corrosió i altres productes semblants també pot afavorir el desenvolupament dels biofilms, incidint directament en el risc sanitari, especialment en aigües sense tractar. L'avaluació de l'efecte del condicionament de l'aigua amb un catalitzador ha permès evidenciar els indubtables efectes beneficiosos en el control de la formació dels biofilms, disminuint de forma significativa la biomassa adherida. Malgrat que no s'ha realitzat de forma quantitativa, el condicionament també disminueix la quantitat de dipòsits a la superfície del material de suport.

El control de la formació de biofilms es podria completar amb un tractament de l'aigua freàtica amb un sistema UV. El tractament addicional amb aquest sistema permetria la ràpida desinfecció a uns nivells comparables als obtinguts amb la cloració, sense modificar les característiques físico-químiques de l'aigua. S'ha avaluat la possibilitat d'instal·lar un d'aquests sistemes apte per cabals fins a 200.000 L/h, fàcilment adaptable i de baix cost operatiu. Caldria determinar la influència d'utilitzar aquest sistema en el control de l'extensió i el desenvolupament dels biofilms, bé en solitari o de forma conjunta amb un condicionador catalític.

Finalment, en el capítol 6 del present treball s'ha abordat l'avaluació preliminar del risc sanitari. S'ha desenvolupat un esquema que inclou els principals punts per poder avaluar el risc microbiològic per la salut pública de la reutilització d'aigües subterrànies per a la irrigació de parcs i jardins urbans. Per poder avaluar el risc microbià per a la salut pública es necessita informació sobre la presència, freqüència i distribució dels microorganismes en tot el sistema estudiat. En el nostre cas, s'han pogut obtenir les dades de l'origen (pou d'Alfons el Magnànim), així com a nivell del dipòsit d'acumulació.

Això ens ha permès determinar la contribució de la càrrega microbiana a l'aigua de la xarxa de distribució i estimar així, el nombre de microorganismes que poden arribar a l'exterior a través d'un sistema d'irrigació per aspersió. Tanmateix, és indubtable que seria important poder determinar la qualitat microbiològica dels aerosols formats a partir del sistema d'irrigació utilitzat als parcs urbans. Les dades obtingudes amb qualsevol dels sistemes comercials disponibles que es basen en el principi del mostrejador d'Anderson, permetran realitzar un seguiment de la presència als aerosols dels principals grups de microorganismes escollits per la seva incidència en la Salut Pública.

Evidentment, queda per millorar el seguiment dels bacteris patògens a l'aigua i la seva persistència dins dels biofilms desenvolupats. Deixant de banda els virus i protozous, no seria pràcticament viable monitoritzar gaires grups de patògens bacterians diferents. Pel contrari, es podrien escollir uns pocs organismes model on s'hauria de centrar l'esforç analític, segons el tipus d'escenaris d'exposició que es preveuen en l'aprofitament de l'aigua. En aquest sentit, es suggereix la utilització de *Legionella* com a paràmetre microbiològic pels escenaris on es vol avaluar l'exposició per inhalació, i de *Escherichia coli* quan l'escenari inclou l'exposició per ingestió.

Després d'analitzar les possibles vies d'exposició s'ha realitzat una anàlisi integrada de l'exposició humana, identificant tres possibles escenaris: inhalació, contacte directe i ingestió. Això ha permès determinar la probabilitat d'infecció a partir de cada un dels escenaris diferents d'exposició.

Cal insistir que la irrigació de parcs i jardins urbans sense cap restricció d'ús genera un risc d'exposició evident. La manca de qualsevol tipus de tractament a l'aigua i la presència en aquests parcs d'una proporció més elevada de població sensible (nens, gent gran, ...), determina un augment del risc. De fet, les probabilitats estimades són significatives en el cas d'una exposició per

inhalació i per ingestió de sòl contaminat –especialment en nens-, reafirmant la necessitat de realitzar un control de la qualitat microbiològica de l'aigua en aquests sistemes de distribució d'aigua no potable utilitzats per a la irrigació de parcs i jardins urbans. La caracterització del risc microbià per a la Salut Pública en el cas que ens ocupa, ha d'incloure la realització d'un programa de seguiment de cada un dels paràmetres microbiològics o patògens escollits.

Aquest estudi s'ha de realitzar controlant els principals paràmetres ambientals que poden influir en la viabilitat, persistència i dispersió dels microorganismes. També es pot completar amb el seguiment de la microbiota superficial en la vegetació. Tenint en compte uns escenaris d'exposició per contacte directe i per ingestió, caldria determinar les possibilitats que una càrrega microbiana elevada en superfície pogués afectar als usuaris dels parcs. A part, alguns autors plantegen que la presència de certs microorganismes pot afectar al sistema sòl-planta.

CAPÍTOL 8
CONCLUSIONS

Les conclusions que s'extreuen dels resultats presentats a la memòria presentada són les següents:

- **Primera.** S'ha dissenyat un sistema experimental aplicable tant en condicions de camp com de laboratori, esterilitzable i de fàcil maneig, amb una configuració en llit empaquet fix que permet obtenir el màxim de mostra de biofilm (90,32 cm² per mostrejador) en el mínim espai necessari, controlant el gradient de velocitats. El nivell de colonització que s'assoleix amb el vidre, com a material de suport estàndard utilitzat en els reactors, està dins del rang de valors que s'assoleixen amb altres materials utilitzats a les xarxes de distribució. Comparant amb altres materials test, amb el vidre s'ha obtingut la màxima colonització quan s'han mesurat els coliformes totals i només 10 vegades inferior a la produïda en un material plàstic (ABS) o a l'acer-crom, quan s'han quantificat els bacteris totals en placa. En definitiva, el sistema desenvolupat permet avaluar la capacitat de formació de biofilms d'una aigua determinada de forma no intrusiva.
- **Segona.** Establint la similitud hidràulica en base a la velocitat del flux i l'esforç de cisalla, les condicions hidrodinàmiques a l'interior dels reactors són semblants a les que s'estableixen a les canonades de les xarxes de distribució urbanes i domiciliàries. Els paràmetres hidrodinàmics obtinguts als reactors de llit empaquet fix s'han ajustat a un model teòric, en base a l'equació de Burke-Plummer per a flux turbulents. El desenvolupament del biofilm i la seva acumulació en el medi porós disminueix significativament al llarg del temps la porositat mitjana dels reactors de llit empaquet, incrementant de retruc la pèrdua de càrrega que es produeix al sistema. Tanmateix, la pèrdua de càrrega obtinguda als reactors no és significativa, enfront de les condicions reals existents als sistemes de distribució d'aigua.
- **Tercera.** En el rang de cabals utilitzats, les variacions en l'esforç de cisalla afecten a la colonització bacteriana, produint variacions sempre inferiors a 1 log en el nombre de bacteris totals. L'esforç de cisalla presenta un efecte diferent segons l'estat de desenvolupament del biofilm. El grau de colonització augmenta amb el cabal. L'esforç de cisalla presenta un efecte diferent segons l'estat de desenvolupament del biofilm: major en biofilms madurs, en augmentar la separació.
- **Quarta.** La qualitat microbiològica dels aquífers mostrejats (pou d'Alfons el Magnànim a Barcelona, i mina de Ribatallada a Sabadell), no compleix amb els estàndards recomanats per al reg de parcs urbans. La facilitat amb que aquests sistemes veuen alterades les seves poblacions microbianes indica la necessitat d'establir una vigilància de la qualitat microbiològica al llarg del temps, ja que resultats puntuals baixos poden donar falsa sensació de seguretat.
- **Cinquena.** El sistema experimental dissenyat ha permès determinar el potencial de formació de biofilms a partir d'aigües subterrànies d'origen diferent, així com a partir d'aigües potables. Totes les aigües analitzades han desenvolupat biofilms estables en un període màxim de 3 mesos. En absència de desinfectant els nivells de biomassa adherida estable han estat entre 10⁸ i 10⁹ Cèl./cm², amb un augment significatiu al llarg del temps en el desenvolupament vertical i la rugositat superficial dels biofilms. En presència de 1,3 mg/L de Clor Lliure la biomassa adherida era 3 ordres de magnitud menor. A totes les zones on s'ha adaptat el sistema experimental la proporció entre els bacteris viables en placa presents al biofilm i a la fase planctònica ha estat superior a 10, amb valors entre 100-1000 a partir de l'aigua d'Alfons el Magnànim.
- **Sisena.** S'han aïllat diferents patògens i oportunistes als biofilms desenvolupats a partir de les aigües freàtiques. Els valors màxims d'indicadors de contaminació fecal com els coliformes totals o de grups com *Pseudomonas* s'han obtingut al final del temps d'exposició (190 dies a Sant Martí, 65 dies a Sabadell i 80 dies a partir de l'aigua potable). En canvi, *Escherichia coli* només s'ha detectat amb nivells significatius als biofilms desenvolupats a partir de l'aigua del pou d'Alfons el Magnànim a Sant Martí, on ha persistit fins als 120 dies.

- **Setena.** El condicionament catalític previ de l'aigua disminueix significativament la formació de biofilms als reactors de llit empaquetat, amb reduccions superiors a 1 log en la presència de cèl·lules totals, bacteris viables en placa, coliformes totals, *Escherichia coli* i *Pseudomonas*. El catalitzador ha disminuït la quantitat de productes de corrosió i altres dipòsits presents a la superfície del material de suport i, alhora, ha presentat un efecte significatiu en l'estructura dels biofilms desenvolupats, reduint el gruix i la rugositat superficial.
- **Vuitena.** Els biofilms desenvolupats a partir de l'aigua del pou d'Alfons el Magnànim presenten un temps de generació de 23 dies, contribuint a la càrrega microbiana de l'aigua. La presència d'aquests biofilms contribueix de forma important a la càrrega microbiana en suspensió. Aquest efecte és més accentuat en sistemes que funcionen en règim discontinu, i pot contribuir de forma decisiva a incrementar el risc sanitari. Cal prendre mesures de prevenció per disminuir al màxim aquest risc, controlant l'extensió del biofilm al sistema de distribució, evitant al màxim el contacte dels visitants amb els aerosols del reg per aspersió i reduint-ne la seva generació.

ANNEXOS

Els Annexos estan en format digital, al CD-Rom que s'adjunta amb el treball escrit. En aquest CD-Rom es poden trobar els següents arxius:

- Arxius Tesi, en format PDF.
- Imatges. Selecció d'imatges dels biofilms, realitzades amb les diferents tècniques.
- Protocols Normalitzats de Treball utilitzats en cada un dels experiments realitzats.
- Web Personal

Els Protocols Normalitzats de Treball que s'han utilitzat són els següents:

- PNT-1. Anàlisi de microorganismes adherits al mostrejador de biofilms
- PNT-2. Recompte de bacteris aerobis (HPC) per filtració de membrana
- PNT-3. Recompte de coliformes totals i *Escherichia coli* per filtració de membrana
- PNT-4. Recompte de fongs filamentosos per filtració de membrana
- PNT-5. Recompte de Pseudomonas i Aeromonas per filtració de membrana
- PNT-6. Recompte de clostridis sulfit-reductors per filtració de membrana
- PNT-7. Recompte del grup *Mycobacterium* per filtració de membrana
- PNT-8. Recompte de *Legionella* per filtració de membrana
- PNT-9. Recompte i Aïllament de microorganismes planctònics per filtració de membrana
- PNT-10. Recompte de bacteris amb taronja d'acridina
- PNT-11. Recompte Total de bacteris amb DAPI
- PNT-12. Recompte de cèl·lules totals i viables amb CTC-DAPI
- PNT-13. Recompte de bacteris totals i viables amb LIVE-DEAD
- PNT-14. Recompte de Gram amb Live BacLight Bacterial Gram

Per accedir als diferents arxius cal obrir en primer lloc el fitxer [index.htm](#), i després es segueix navegant. Optimitzat per Netscape Navigator 3.0 o superior.

