

Análisis y control microbiológico de lodos de EDAR: la experiencia de Idexx en el Reino Unido

Colin Fricker

profesor adjunto de Estudios Medioambientales en la Universidad de Queens (Reino Unido)



Los fangos de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) o lodos residuales contienen numerosos microorganismos que son motivo de preocupación, como contaminantes orgánicos (de humanos, animales y plantas). En el Reino Unido, como en otros muchos países desarrollados, existe el compromiso de reutilizar estos lodos como fertilizante o acondicionador del suelo en lugar de simplemente enviarlos a un vertedero. Así pues, es necesario asegurarse de que el reciclaje de lodos residuales no provoque un aumento de la concentración de contaminantes en las tierras cultivables. Con ese fin se ha abordado de forma generalizada el tratamiento de los fangos de EDAR para reducir los niveles de patógenos, por ejemplo mediante digestión anaerobia, compostaje, tratamiento con cal, almacenamiento o secado. Cada uno de estos tratamientos tiene un cierto efecto en la supervivencia de los contaminantes, el cual variará según los parámetros exactos del proceso y el patógeno en cuestión. Pero debido al considerable número de contaminantes distintos que pueden encontrarse en los lodos residuales es imposible, y de hecho innecesario, controlar la presencia de todos ellos. La solución pasa por un cribado microbiológico, como el que ofrece la empresa Idexx con su procedimiento Colilert-18.



El cribado microbiológico de lodos residuales tratados, que permite detectar la presencia de microorganismos indicadores y, en algunos casos, de determinadas bacterias como *Salmonella spp.*, se utiliza como medida fundamental para evaluar la eficacia del tratamiento. Esta supervisión forma parte del plan de análisis de riesgos y puntos de control críticos (HACCP), que tiene como objetivo garantizar que el tratamiento sea eficaz y sistemático. En el Reino Unido, el tipo de análisis microbiológico de lodos residuales que más se utiliza, con diferencia, para garantizar que los procesos se llevan a cabo correctamente es la prueba de *Escherichia coli*.

La Agencia de Medio Ambiente británica publicó en 2003 una serie de directrices de buenas prácticas bajo el título *The Microbiology of Sewage Sludge* (Microbiología de los lodos residuales), cuya tercera parte es *Methods for the isolation and enumeration of Escherichia coli, including verocytotoxigenic Escherichia coli* (Métodos para el aislamiento y el recuento de *Escherichia coli*, incluida la *Escherichia coli* verocitotoxigénica). En este documento se indican tres procedimientos diferentes para el recuento de *E. coli*: un procedimiento de filtración por membrana; un método convencional basado en el número más probable (NMP); y, finalmente, un método basado en la tecnología de sustrato definido/número más probable Colilert-18/Quanti-Tray de Idexx. Aunque en este documento se explican los métodos con detalle, lamentablemente no se proporciona ninguna indicación al usuario acerca de qué método es más adecuado para la matriz de lodos residuales.

Los lodos residuales, por su propia naturaleza, son difícil de tratar y requieren una profunda homogeneización para intentar dispersar de forma uniforme las bacterias presentes. Incluso después de este proceso, la cantidad y la naturaleza de las partículas presentes pueden provocar problemas en la manipulación de las muestras y, en particular, con la filtración por membrana (FM) en agar. La estimación del número de bacterias diana presentes también puede ocasionar problemas, ya que puede ser necesario analizar varias diluciones para obtener un resultado válido, sobre todo con muestras procedentes de nuevos centros o procesos, en las que puede desconocerse por completo el número de bacterias diana que es probable que estén presentes. Estos factores se examinan en cierta medida en la segunda parte de la publicación mencionada, con el título de *Practices and procedures for sampling and sample preparation* (Prácticas y procedimientos para la obtención y preparación de muestras), pero no se ofrece ninguna guía detallada.

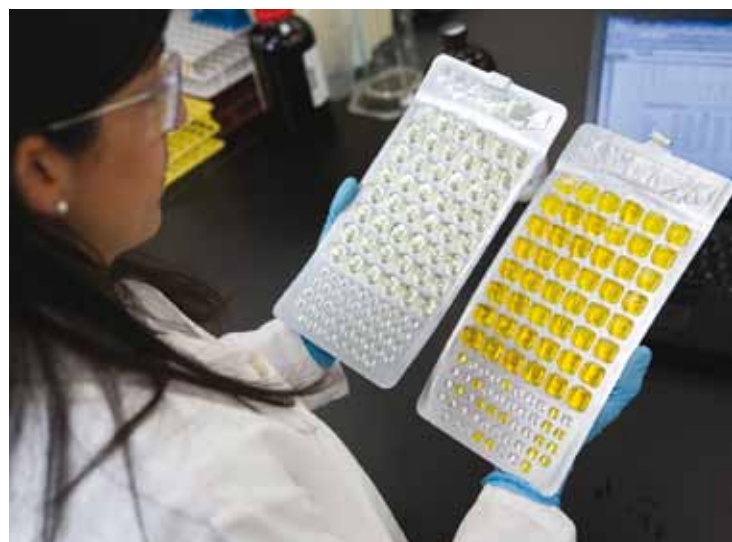
MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA

En el procedimiento de FM descrito en la publicación de la Agencia de Medio Ambiente británica se utiliza un medio (m-LGA) que permite detectar *E. coli* por división del β -D-glucuronido y fermentación de la lactosa e indica la presencia como colonias de color verde en la placa de Petri. Sin embargo, este método no es adecuado cuando la muestra tiene concentraciones relativamente altas de sólidos, ya que estos bloquean los poros de la membrana. Además, y lo que es más importante, el medio m-LGA se diseñó para el análisis de muestras de agua potable, en las que solo suelen encontrarse pequeñas cantidades de microorganismos. Cuando están presentes cantidades más elevadas de microorganismos, como en los lodos, entran en juego factores que pueden afectar al resultado del análisis y provocar una considerable subestimación del recuento de *E. coli* obtenido [1,2].

PROCEDIMIENTO DEL NMP

El procedimiento del NMP convencional descrito en la publicación, al estar basado en la lactosa, requiere la confirmación de los resultados y es muy laborioso. Sin embargo, a diferencia del medio m-LGA, la identificación se basa en la capacidad para fermentar lactosa a 44 °C y producir indol a partir de triptófano a fin de determinar la presencia de *E. coli*. Esta metodología excluye la identificación de algunos subgrupos de bacterias y, además, tiende a dar falsos positivos de microorganismos como *Klebsiella oxytoca*. El procedimiento del NMP

Colilert-18/QuantiTray 2000 es el procedimiento más sencillo y preciso para detectar *E.coli* en fangos de EDAR.



Conozca un poco más a... COLIN FRICKER

Colin Fricker es profesor adjunto de Estudios Medioambientales en la Universidad de Queen, Kingston, Ontario, y tiene una extensa y destacada trayectoria en el ámbito de la microbiología del agua. Ha publicado más de 70 artículos revisados por expertos, ha editado cinco libros y ha presentado más de 200 trabajos en congresos internacionales.



tiene un amplio intervalo de recuento y esto resulta extremadamente ventajoso para el análisis de biosólidos en los que se desconoce el contenido probable de *E. coli*. Sin embargo, la necesidad de confirmación de los resultados aumenta el tiempo de procesamiento en el laboratorio y retrasa la obtención de los resultados hasta un mínimo de 48 horas.

PROCEDIMIENTO DEL NMP COMBINADO CON LA TECNOLOGÍA DE SUSTRATO DEFINIDO (DST)

El procedimiento Colilert-18/Quanti-Tray 2000 permite detectar *E. coli* mediante la combinación de las mejores

características de los otros dos sistemas, es decir, mediante el método más preciso y con un amplio intervalo de recuento.

Los resultados están disponibles al cabo de 18 horas y el recuento se efectúa mediante una bandeja que contiene 97 pocillos, lo que ofrece un intervalo de recuento de 1-2.400 células por mililitro de suspensión. Cabe destacar que los resultados no requieren confirmación y no se ven afectados por los falsos negativos que se obtienen con el medio m-LGA. El procedimiento es extremadamente sencillo y una sola bandeja ofrece un intervalo de recuento superior a tres órdenes de magnitud.

COLILERT-18: TAMBIÉN PARA AGUA POTABLE

La prueba Colilert-18 de Idexx se convirtió en el estándar ISO 9308-2 para la detección de *E. coli* y coliformes totales en agua en 2012 y, posteriormente, en el estándar EN ISO 9308-2 en 2014, tras un exhaustivo procedimiento de validación. Este método ofrece resultados cuantificados en tan solo 18 horas, sin necesidad de confirmación adicional. Además, está aprobado por la EPA estadounidense y figura en los *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Métodos estándar para el análisis de y aguas residuales).

Colilert-18/Quanti-Tray se ha establecido como método de referencia según el estándar EN ISO 9308-2 en la Directiva europea 2015/1787, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. La enmienda de los anexos II y III de la Directiva 98/83/CE del Consejo, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, se ha publicado en el Diario Oficial de la Unión Europea tras haber sido adoptada por la Comisión Europea el 6 de octubre de 2015 y entrar en vigor el 27 de octubre de 2015.

Las ventajas de la Colilert-18 por la obtención de resultados confirmados en 18 horas y su excelente sensibilidad y especificidad le han conferido una aceptación normativa global en más de 40 países. Gracias a la fiabilidad y garantía que proporciona a las empresas abastecedoras de agua, más de 2.000 millones de personas quedaron cubiertas por la prueba Colilert en todo el mundo en 2013.

CONCLUSIONES

Dado que estos tres métodos descritos en *The Microbiology of Sewage Sludge* [3] son muy diferentes, puede esperarse que proporcionen resultados muy distintos. La Organización Internacional de Normalización (ISO) define ahora *E. coli* como un miembro de la familia *Enterobacteriaceae* que produce la enzima β -D-glucuronidasa. Así pues, el primer y tercer métodos son los más acordes con esta definición. El método m-LGA se diseñó para el agua potable, en la que un elevado recuento de fondo no interfiere con la actividad de la β -D-glucuronidasa mediante la producción de exceso de ácido. El procedimiento Colilert-18/Quanti-Tray 2000 es el más sencillo de los tres métodos y proporciona el intervalo de recuento dinámico más alto y los resultados más precisos.

Bibliografía

- [1] Fricker, C.R.; et al. (2008). False-negative beta-D-glucuronidase reactions in membrane lactose glucuronide agar medium used for the simultaneous detection of coliforms and *Escherichia coli* from water. *Letters in Applied Microbiology*, núm. 47(6), págs. 539-542.
- [2] Fricker, C.R.; et al. (2010). Understanding the cause of false negative β -D-glucuronidase reactions in culture media containing fermentable carbohydrate. *Letters in Applied Microbiology*, núm. 50(6), págs. 547-551.
- [3] https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/316831/mss2003_part_1_604529.pdf.