

Evaluación del riesgo microbiológico asociado al consumo de vegetales regados con aguas reutilizadas

Inmaculada Amorós Muñoz
Investigadora IIAMA UPV
iamoros@ihdr.upv.es

Laura Moreno-Mesonero
Investigadora IIAMA UPV
laumome@upv.es

Yolanda Moreno Trigos
Investigadora IIAMA UPV
ymoren@upv.es

Andrés Zornoza Zornoza
Investigador IIAMA UPV
anzorzor@upv.es

Jose Luis Alonso Molina
Investigador y Responsable Grupo
QMA IIAMA
jalonso@ihdr.upv.es

Eva Domenech Antich
Profesora titular IIADA UPV
evdoan@tal.upv.es



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

Una nueva herramienta desarrollada para evaluación de riesgos, el margen de seguridad del consumidor, se ha utilizado para determinar el riesgo relacionado con la presencia de los protozoos patógenos *Cryptosporidium* y *Giardia* en vegetales regados con aguas residuales tratadas y no tratadas.

El margen se define como la distancia euclidiana entre exposición a un peligro H, en este caso *Cryptosporidium* y *Giardia*, y la dosis respuesta a dicho peligro. Esta formulación del margen, por una parte, nos informa cuanto de seguros estamos de no superar el margen, pero también informa de cual es la probabilidad de pasarnos (EP).

Palabras clave

riesgos, patógenos,
cryptosporidium,
giardia, reutilización
aguas, lechugas,
margen seguridad

La reutilización de las aguas residuales para riego de los cultivos y áreas recreativas, es una práctica muy interesante que puede ayudar a mitigar la escasez de agua y fomentar la economía circular, ya que se recuperan nutrientes como el nitrógeno, el fósforo o el potasio de las aguas regeneradas devolviéndolos a los ciclos biogeoquímicos naturales. Sin embargo, estos beneficios pueden verse comprometidos por la presencia de microorganismos patógenos que pueden seguir presentes después del tratamiento en la planta depuradora (secundario y terciario que incluye desinfección por UV y filtros de arena, (Figura 1)) y cuya reutilización puede suponer un riesgo para la salud humana.

Entre estos patógenos que pueden estar presentes en el agua tratada, los protozoos *Giardia* y *Cryptosporidium* son bastante comunes y pueden transmitirse de huéspedes no humanos a humanos (zoonosis) y viceversa. Dichos protozoos, presentan formas de resistencia (quistes en el caso de *Giardia* y ooquistes en el caso de *Cryptosporidium*) de resistencia (quistes en el caso de *Giardia* y ooquistes en el caso de *Cryptosporidium*) que pueden sobrevivir durante meses en aguas y en el suelo y producir brotes, aun en el caso de que su concentración en el agua sea muy pequeña.

La legislación española para la reutilización del agua (Real Decreto, 2007), no obliga a analizar

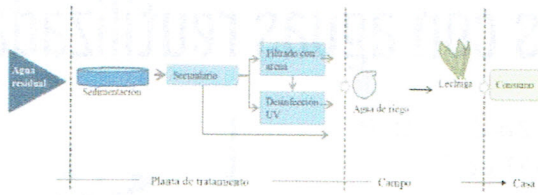


Figura 1: Esquema del proceso estudiado.

la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en agua reutilizada para riego. El nuevo reglamento europeo sobre reutilización de aguas residuales, recién aprobado (Mayo, 2020), sí considera ya la presencia de *Cryptosporidium* como patógeno a controlar, aunque sea mediante indicadores como las esporas de *Clostridium perfringens*. Sin embargo, diferentes estudios en todo el mundo demuestran su presencia en agua reutilizada y en hortalizas regadas con aguas reutilizadas. En un estudio realizado en Valencia (España), Amorós et al, 2010, concluyeron que las lechugas y coles regadas con aguas contaminadas presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia*. En Vietnam, se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* en canónigos, lechuga y cilantro regados con aguas residuales contaminadas (Nguyen et al., 2016).

Con este objetivo, en primer lugar, se realizó en el Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente (IIAMA), un estudio sobre la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en afluentes y efluentes

en tres estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) de la Comunidad Valenciana, con diferentes tratamientos (Tabla 1) durante 18 meses. Así se pudo ver el efecto de las condiciones ambientales en las distintas estaciones meteorológicas (primavera, verano, otoño, invierno). Los recuentos de *Cryptosporidium* y *Giardia* en los afluentes y efluentes de las tres EDARs estudiadas se obtuvieron mediante el Método 1623.1 (USEPA, 2005).

Los resultados obtenidos en los recuentos de *Cryptosporidium* y *Giardia* en las aguas de entrada y salida de las depuradoras estudiadas mostraron una clara influencia de las condiciones ambientales, ya que hubo diferencias significativas entre las distintas estaciones meteorológicas.

La media de recuentos más altos de *Cryptosporidium* se obtuvo durante la primavera en los afluentes y en los efluentes tratados (Figura 2). Las diferencias entre estaciones fueron estadísticamente significativas tanto en los afluentes (Pvalor 0,0002) como en los efluentes tratados (Pvalor 0,0446) que mostraron un riesgo potencial asociado a la presencia de *Cryptosporidium* en el agua de riego, dependiendo de la estación del año.

La media de quistes de *Giardia* más alta en aguas residuales sin tratar se obtuvo en verano y en efluentes tratados en invierno, pero las diferencias entre estaciones no fueron significativas ni en los

Estación depuradora aguas residuales	Estación depuradora aguas residuales	Tratamiento primario	Tratamiento secundario	Tratamiento terciario	Desinfección
EDAR 1	247.297 habitantes	Reja, cribado, eliminación de arena, sedimentación	Fangos activados, sedimentación.	Filtración de arena	UV
EDAR 2	164.171 habitantes	Reja, cribado, eliminación de arena, sedimentación	Fangos activados, sedimentación.	Ninguna	UV
EDAR 3	40.333 habitantes	Reja, cribado, eliminación de arena, sedimentación	Fangos activados, sedimentación.	Ninguna	UV

Tabla 1: Características de las EDARs estudiadas.

Evaluación del riesgo microbiológico asociado al consumo de vegetales regados con aguas reutilizadas

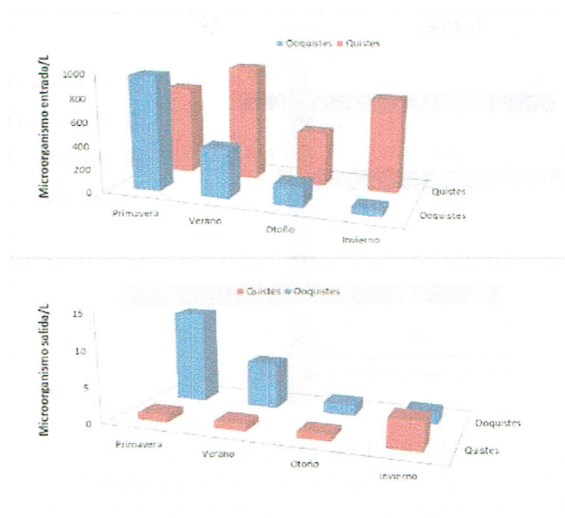


Figura 2: Influencia de las estaciones meteorológicas en los recuentos de *Cryptosporidium* y *Giardia* a la entrada y salida de las depuradoras.

afluentes (Pvalor 0,3566) ni los efluentes (Pvalor 0,220). El riesgo potencial derivado de la presencia de quistes de *Giardia* puede ocurrir durante todas las estaciones. Como se ha visto en otros estudios, la estacionalidad de *Cryptosporidium* y *Giardia* en aguas residuales presenta diferentes patrones dependiendo de las características especiales del país como el clima y las temperaturas del agua vinculadas a la situación epidemiológica.

En segundo lugar, se estimó el margen de seguridad de los consumidores al consumir lechuga regada con agua reutilizada de las depuradoras. El margen se define como la distancia euclidiana entre exposición a un peligro H, en este caso *Cryptosporidium* y *Giardia*, y la dosis respuesta a dicho peligro. Para su cálculo, se utilizaron las ecuaciones formuladas en Domenech et al. (2018). En este estudio, la exposición se obtuvo como el producto de la carga del agua tratada y sin tratar por la ración de lechuga consumida. Por otra parte, se estimó la dosis-respuesta para cada uno de los patógenos y finalmente se calculó el margen de seguridad definido como la probabilidad de que la exposición E (H), sea superior a la dosis-respuesta R (H). Es importante destacar que el

valor del margen siempre oscila entre cero y uno. De modo que, un valor de esta métrica cercano a uno indicaría un amplio margen, lo que significa que tener consecuencias para la salud es muy poco probable. Y por el contrario, un margen cercano a cero implicaría un margen estrecho con una alta posibilidad de efectos adversos. La evaluación del margen se realizó mediante un método estándar de Monte Carlo para propagar la variabilidad de las entradas E (H) y R(H), utilizando el software @ Risk 5.7 (Palisade, Middlesex, Reino Unido), lo que genera una distribución de salida correspondiente al margen de seguridad para cada patógeno.

Esta formulación del margen de seguridad aporta una doble ventaja, por una parte, nos informa cuánto de seguros estamos de no superar el margen, pero también informa de cuál es la probabilidad de pasarnos (EP).

La Figura 3 muestra el valor medio y los percentiles 5 y 95 obtenidos del margen de seguridad así como la probabilidad media y desviación de pasarnos y consecuentemente poder generar un riesgo al consumidor. A la vista de los resultados, tanto en el agua sin tratar como tratada, se puede observar un margen medio alto, cercano a uno, tanto para *Cryptosporidium* como para *Giardia*, y además como es esperable el margen es mayor en el agua tratada, así como es menor la probabilidad de exceder la dosis respuesta.

Como puede observarse, ambas medidas son útiles para los gestores del riesgo, ya que por una parte la visión determinista del margen de seguridad es una medida de preocupación ante un peligro, pero no es una métrica de riesgo. Pero, sin embargo, la obtención de la EP nos permite conocer realmente cuál es la probabilidad de estar expuestos al peligro en una concentración que tiene consecuencias para la salud, y, por lo tanto, nos ayuda a evaluar el riesgo.

Un análisis de sensibilidad para estudiar los efectos

de la variación de los parámetros de entrada en la salida final, realizado con un tornado, mostró que los factores que tenían más peso eran la concentración de quistes y ooquistes presentes en las lechugas y la dosis-respuesta humana. El resto de los parámetros, como el tamaño de la ración de lechuga y el parámetro de infectividad específico, mostraron menos influencia. Estos resultados son comparables con el estudio de Razzolini et al. (2016), quienes concluyeron que la concentración tuvo la mayor influencia en la variabilidad del riesgo.

A partir de este estudio se puede concluir que los tratamientos de aguas residuales permiten un aumento importante en el margen de seguridad del consumidor, ya que en los efluentes tratados se ha observado una alta reducción en los recuentos de patógenos, en comparación con los recuentos en las aguas residuales sin tratar. Sin embargo, las deficiencias en el rendimiento del proceso pueden reducir la eficiencia de la planta de tratamiento y ocasionalmente se pueden detectar recuentos altos de patógenos (recuentos atípicos) en el agua reutilizada. Estos resultados enfatizan la importancia de incluir a ambos patógenos, *Cryptosporidium* y *Giardia*, en las regulaciones estándar para la reutilización de aguas residuales.

Por otra parte, la forma tradicional de evaluar el riesgo considerando solo los valores medios tiene la ventaja de la simplicidad, pero no permite la cuantificación del margen en términos de

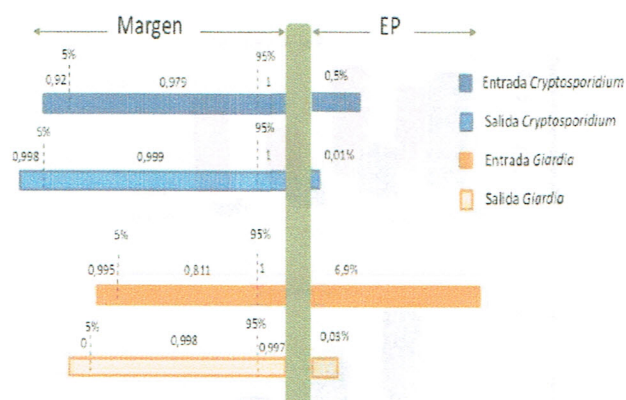


Figura 3: Valor medio y percentiles 5 y 95 obtenidos del margen de seguridad así como la probabilidad media y desviación del margen que puede generar un riesgo al consumidor.

probabilidad. Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que tanto para conocer el margen de seguridad como para evaluar el riesgo es necesario considerar la función de distribución de probabilidad de la exposición y de la dosis respuesta. De este modo, es posible incluir en el cálculo la variabilidad de los datos de entrada y tener en cuenta las incertidumbres asociadas a cada parámetro.

Finalmente decir, que los resultados de este estudio preliminar, parecen indicar que el reutilizar el agua tratada, en las plantas de tratamiento, comporta un amplio margen de seguridad, aunque existe una probabilidad de uno en 10.000 en el caso de *Cryptosporidium* y tres en 10.000 en el caso de *Giardia* de que la dosis respuesta se supere y exista un riesgo para el consumidor.

Referencias:

- » Amorós I., Alonso J.L., Cuesta G. (2010). *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts on salad products irrigated with contaminated water. *J. Food Prot.* 73, 1138–1140.
- » Domenech E., Amorós I., Moreno Y. Alonso J.L. (2018). *Cryptosporidium* and *Giardia* safety margin increase in leafy green vegetables irrigated with treated wastewater. *Int. J. of Hyg. and Env. Health*, 22, 112–119.
- » Nguyen, T.T., Traub, R., Pham, P.D., Nguyen, H.V., Nguyen, K.C., Phun, C.D., Dalsgaard, A., (2016). Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in environmental samples in Hanam province, Vietnam. *Food Waterborne Parasitol.* 3, 13–20.
- » Razzolini, M.T.P., Lauretto, M.S., Hachich, E.H., Sato, M.I.Z., Nardocci, A.C. (2016). *Giardia* and *Cryptosporidium* infection risk by simultaneous exposure to drinking water. *Microb. Risk Anal.* 4, 1–6.
- » Real Decreto 1620/2007 de 7 de diciembre por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. BOE 294, 50639–50661.
- » REGLAMENTO (UE) 2020/741 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 25 de mayo de 2020 relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua.
- » (USEPA, 2005). US EPA, 2005. Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA (PDF) December 2005 Update (EPA 821-R-05-002). Office of Water 4603. U.S. Environmental Protection Agency, Washington. <http://www.epa.gov/microbes/1623de05.pdf>

ECONOMÍA CIRCULAR



IDIAGUA

Revista sobre tendencias en la I+D+i de la
Plataforma Tecnológica Española del Agua



Nº2.- Octubre 2020

www.plataformaagua.org

Edita

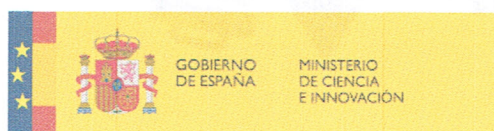
Plataforma Tecnológica Española del Agua (PTEA)
www.plataformaagua.org
secretariatecnica@plataformaagua.org

Diseño y maquetación
Ariema Energía y Medioambiente S.L.
info@ariema.com

Redacción
Sector Embarcaciones, 24, Local 5
28760, Tres Cantos
(Madrid)
Tel: 918045372

Deposito legal: M-22293-2020

ISSN: 2020081400441



Actividad financiada por la Agencia Estatal de investigación