

REZUMAT

Teza de doctorat „*Cercetări privind evoluția indicatorilor bacteriologici cantitativi și calitativi la apele potabile, în corelație cu parametrii fizico - chimici*” s-a derulat pe parcursul a patru ani de studii (perioada 2003-2006).

Prezenta teză însumează un număr de 268 pagini, fiind ilustrată în 45 de tabele și 113 figuri.

Partea I – Stadiul cunoașterii - este alcătuită din 81 pagini, reprezentând 30,22% din volumul tezei și este alcătuită din 4 capitole în care sunt prezentate informațiile selectate din 252 de titluri bibliografice, din literatura română și străină, referitoare la structura și proprietățile apei, caracterizarea surselor naturale de apă, posibilitățile de poluare și de autopurificare, precum și definirea și semnificația principalilor indicatori de apreciere a calității apei.

Partea a-II-a – Contribuții personale – este desfășurată pe parcursul a 187 pagini, reprezentând 69,78 % din volumul total al lucrării și este structurată în 6 capitole, urmărind scopul și obiectivele propuse. Fiecare capitol este structurat din material și metode de lucru, rezultate și discuții și concluzii parțiale, partea a – II - a a tezei finalizându-se prin concluzii generale.

Cercetările au fost efectuate pe un număr de probe de apă prelevate din surse locale (fântâni și izvoare) situate în localități sau pe pășuni de pe raza județului Iași, surse care erau utilizate pentru asigurarea aportului de apă pentru animale, în mediul rural și în sistemul gospodăresc de creștere.

Apa utilizată pentru asigurarea aportului hidric la animale, la fel ca și cea destinată consumului uman, trebuie să îndeplinească anumite caracteristici de ordin organoleptic, fizic, chimic și microbiologic, astfel încât să întrunească toate condițiile unei ape de bună calitate, care să nu pună în pericol sănătatea animalelor care o consumă.

Necesitatea cunoașterii calității apei destinate consumului animal, se impune de la sine, știind că influențează starea de sănătate a acestora, randamentul productiv dar și calitatea produselor ce se valorifică de la acestea.

Exploatarea necorespunzătoare a surselor de apă, implică modificări ale parametrilor fizici, chimici și bacteriologici, în timp ce persistența contaminărilor se reflectă într-un procent ridicat de îmbolnăviri la animale.

Apa din surse subterane, reprezintă încă cea mai importantă sursă utilizată pentru consum uman și asigurarea aportului de apă la animale. De cele mai multe ori provine din stratul freatic neprotejat de poluări accidentale, cum sunt infiltrațiile și scurgerile din fose septice și platforme de gunoi, chimizarea din agricultură, etc. Poluarea surselor de apă subterane este un fenomen aproape ireversibil, autopurificarea acestor surse realizându-se în timp îndelungat.

Cercetările, constituie o fază pregătitoare pentru realizarea modelelor de monitorizare a calității surselor de apă utilizate pentru adăparea animalelor prin aplicarea de metode rapide, eficiente și cu costuri reduse, astfel încât să se obțină rezultate în timp scurt, pentru a putea fi aplicate imediat măsurile ce se impun.

Deși se cunoaște faptul că sursele de apă poluate cu substanțe organice, cu ioni de amoniu, cu nitriți și nitrați, în general sunt neconforme din punct de vedere bacteriologic, noi am întărit aceste afirmații prin exprimări cifrice .

Principalele obiective formulate în vederea întocmirii tezei de doctorat au fost:

- aprecierea igienică a unor surse locale de apă utilizate pentru adăparea animalelor;
- evoluția sezonieră a încărcăturii bacteriene a apelor din surse locale utilizate pentru adăparea animalelor;
- evoluția sezonieră a gradului de poluare chimică pentru parametrii indicatori de poluare
- evoluția indicatorilor bacteriologici de poluare în corelație cu valorile indicatorilor fizici și chimici de poluare, prin calculul coeficienților de corelație și stabilirea semnificației statistice a acestora;
- determinarea genurilor și speciilor de bacterii indicatoare de poluare, frecvent izolate din sursele de apă locale utilizate pentru adăparea animalelor.

În vederea elaborării lucrării, au fost utilizate și cuantificate rezultatele analizelor fizice, chimice și bacteriologice efectuate pe probe de apă prelevate din surse locale (fântâni și izvoare) utilizate pentru adăpare în perioada 2003-2006. Metodele de analiză utilizate au fost selectate astfel încât să se obțină rezultate ușor de interpretat într-un timp scurt, ușor de aplicat. Astfel, modificările de culoare și aspect au fost realizate vizual, modificările de miros au fost detectate la temperatura camerei și prin încălzirea probelor la 60°C, determinarea temperaturii apei s-a efectuat prin utilizare de termometre calibrate, determinarea pH-ului s-a determinat colorimetric și cu ajutorul pH-metrului, oxigenul dizolvat s-a determinat prin metoda titrimetrică și metoda Winkler modificată,

determinarea substanțelor organice oxidabile s-a realizat prin oxidare în mediu acid sau bazic cu permanganat de potasiu, pentru determinarea clorurilor totale s-a folosit metoda titrimetrică (Mohr) și metoda colorimetrică orientativă, determinarea azotiților s-a realizat prin metoda Griess, iar determinarea nitraților s-a realizat prin metoda 2,6 dimetil fenol (DMP).

Analizele bacteriologice au vizat determinarea numărului total de bacterii mezofile (NTG la 37°C), și a numărului de bacterii saprofite utilizând tehnica diluțiilor seriate descrisă în STAS 3001/1991 și SR EN ISO 6222/1999, determinarea numărului de bacterii coliforme (CT), coliforme fecale (CF) și streptococi fecali (SF) s-a realizat prin tehnica tuburilor multiple – determinarea numărului celui mai probabil, iar interpretarea rezultatelor s-a realizat conform ISO 8199. Determinarea numărului de *Escherichia coli*, a utilizat de asemenea tehnica tuburilor multiple, confirmând prezența bacteriilor din această specie pe baza producerii de indol sau a enzimei β -D-glucuronidaza care se combină cu 4-methylumbelliferyl β -D-glucuronidul (MUG), formând un compus fluorescent în lumină UV.

Pentru a evidenția evoluția sezonieră a gradului de poluare chimică a surselor de apă locale utilizate pentru adăparea animalelor, au fost analizate câte un număr de 226 de probe de apă, recoltate atât în sezonul rece, cât și în cel cald.

În urma analizelor de laborator efectuate, s-a constatat că din totalul de probe de apă analizate, 40,26% au prezentat diferite modificări ale caracterelor organoleptice, iar ponderea probelor de apă cu astfel de modificări, a fost mai mare în sezonul cald (42,50%), comparativ cu sezonul rece (37,73%).

Temperatura apelor din surse locale, a variat în limite strânse de la sezonul rece la cel cald, fiind calculată o valoare medie multianuală de 9,52°C în sezonul rece și 16,55°C în cel cald.

Valorile medii pentru concentrațiile ionilor de hidrogen (pH), nu au înregistrat depășiri ale limitelor minime sau maxime admise pentru apele potabile (6,5<pH<9,5 unități de pH).

La 30,97% din probele de apă analizate pentru azotiți (nitriți), au fost detectate concentrații peste LMA (0,50 mg/l), iar ponderea acestor tipuri de apă a scăzut de la 31,13% în sezonul rece la 30,83% în sezonul cald, fapt ce demonstrează creșterea vitezei reacțiilor de mineralizare a substanțelor organice din apă, proces în care azotiții sunt compuși intermediari și instabili.

La 52,21% din probele de apă analizate pentru azotați au fost detectate concentrații de peste 50,00 mg/l (LMA pentru apa potabilă). Ponderea probelor de apă identificate cu astfel de concentrații, cât și valorile medii multianuale, au crescut de la sezonul rece la cel cald, azotații fiind compuși stabili în apă, cu efect cumulativ, rezultați fie din oxidarea nitriților, fie din infiltrarea în pânza de apă freatică a apelor ce au spălat soluri fertilizate cu azotați.

Datorită intensificării activităților gospodărești și zootehnice în mediul rural, în sezonul cald, ponderea apelor poluate cu concentrații mai mari de 0,50 mg/l ioni de amoniu, a crescut la 31,66% de la 14,15% în sezonul rece, în același mod, evoluând și valorile medii multianuale calculate pentru acest parametru.

Aceeași explicație o are și creșterea probelor de apă poluate cu concentrații peste LMA (5,0 mg O₂/l) pentru substanțele organice oxidabile, înregistrându-se în sezonul cald o pondere de 25,83% din probele de apă analizate, comparativ cu 17,92% în sezonul rece.

Deși apele din surse locale sunt mai slab oxigenate, având un contact restrâns cu atmosfera, totuși valoarea medie multianuală înregistrată în sezonul cald a scăzut la 5,20 mg/l, de la 5,49 mg/l - valoare medie calculată pentru probele de apă analizate în sezonul rece.

Ponderea probelor de apă la care s-au decelat concentrații ale clorurilor totale peste LMA, a fost de 17,92% în sezonul rece, crescând la 19,16% în sezonul cald, variațiile de debit din sezonul cald fiind responsabile de acest lucru.

Din cele 226 de probe de apă analizate din punct de vedere bacteriologic, 56,63% au fost neconforme din punct de vedere bacteriologic pentru utilizarea în scop potabil.

Datorită intensificării activităților gospodărești în mediul rural și datorită posibilităților multiple de impurificare a surselor de apă subterane, ponderile probelor de apă impurificate cu bacterii mezofile, coliforme totale, coliforme fecale *Escherichia coli* și streptococi fecali, au crescut de la sezonul rece la cel cald, aceeași traiectorie urmând-o și valorile medii multianuale.

Din totalul de probe de apă confirmate ca fiind impurificate cu bacterii coliforme fecale în sezonul rece, 84,78% au fost confirmate ca fiind impurificate și cu *Escherichia coli*, iar în sezonul cald, din totalul de probe confirmate ca fiind impurificate cu bacterii coliforme fecale, 93,33% au fost confirmate ca fiind impurificate și cu *Escherichia coli*.

Cunoscând faptul că streptococii fecali predomină în fecalele de natură animală, iar *Escherichia coli* în cele de natură umană, a fost calculat raportul dintre numărul de bacterii coliforme fecale și numărul de streptococi fecali (CF/SF) recomandat de unii autori pentru determinarea originii poluării apelor. Valorile acestui raport ar trebui să fie supraunitare în cazul impurificării apelor cu dejecții de natură umană și subunitare în cazul impurificării apei cu dejecții de natură animală. Valorile acestui raport, calculat pe probele de apă din surse locale de adăpare în perioada 2003-2006, au arătat cunoscători supraunitare, ceea ce indică faptul că poluarea apelor se datorează infiltrațiilor cu dejecții de natură umană. Calculând însă raportul dintre numărul de bacterii din specia *Escherichia coli* și cel al streptococilor fecali (EC/SF), care ar trebui să contureze mai bine originea poluării, au fost obținute cunoscători preponderent subunitare, ceea ce

demonstrează că sursele de apă analizate, au fost preponderent impurificate cu infiltrate cu dejecții de natură animală, depozitarea gunoiului de grajd direct pe pământ, în locuri inadecvate, fiind principala cauză a acestui efect.

Pentru a evidenția evoluția numărului de bacterii indicatoare de poluare în funcție de valorile indicatorilor fizico – chimici, au fost luate în analiză câte 226 de probe de apă din surse locale de adăpare, pentru care au fost calculate valorile medii multianuale pentru indicatorii bacteriologici, pe intervale de concentrații (valori) ale indicatorilor fizici sau chimici selectate pe criteriul variației valorilor în jurul limitelor maxim admise pentru apa potabilă și în funcție de dispersia valorilor pe perioada de studiu. Un coeficient de corelație nenul, arată că valorile unui parametru variază într-un anume sens cu cele ale altui parametru. În cazul în care valorile coeficientului de corelație se apropie de valoarea 1 sau (-1), iar cuantumul este semnificativ statistic la pragul minim de 0,05, atunci se poate spune că valoarea parametrului (de ex. chimic) poate fi predictibilă pentru valori mari ale parametrului (bacteriologic) în cazul variației direct proporționale sau valori mici ale parametrului bacteriologic (în cazul variației invers proporționale).

Din probele de apă identificate cu modificări organoleptice, au fost confirmate ca impurificate bacteriologic: 27 reprezentând 67,64% din probele cu diferite grade de turbiditate, 6 reprezentând 27,27% din probele cu modificări de gust sau miros și 33 reprezentând 94,28% din probele cu sedimente, turbiditate și modificări de culoare. Acest lucru confirmă faptul că suspensiile și sedimentele sunt deseori constituite din substraturi care conferă condiții prielnice supraviețuirii și dezvoltării bacteriene.

Pe intervalele de temperatură luate în studiu, au fost constatate evoluții direct proporționale ale numărului de bacterii indicatoare de poluare, însă valorile coeficienților de corelație nu indică utilizarea temperaturii apei drept predictor al gradului de impurificare bacteriană a acestor tipuri de surse de apă. Acest lucru se datorează și faptului că temperatura mediului acvatic pentru sursele luate în studiu, nu a variat în limite largi, neintervenind atât de intens în populațiile bacteriene astfel încât să determine înmulțirea acestora și deteriorarea calității apei.

Valorile medii multianuale ale numărului total de bacterii mezofile și saprofite, au evoluat direct proporțional cu valorile de pH luate în studiu, în timp ce valorile medii ale numărului de bacterii coliforme (MPN CT), de bacterii coliforme fecale (MPN CF), de *Escherichia coli* (MPN EC) și de streptococi fecali (MPN SF), au arătat scăderi ușoare în intervalul de pH apropiat de cel neutru. Coeficienții de corelație calculați au avut valori pozitive, dar care nu indică utilizarea pH-ului ca predictor al gradului de impurificare bacteriană a apelor.

Relații direct proporționale, cu valori ale coeficienților de corelație semnificative statistic ($p < 0,05$), au fost obținute studiind evoluția numărului de bacterii mezofile, saprofite și valorile medii ale bacteriilor indicatoare de poluare (numărul de bacterii coliforme, numărul de bacterii coliforme fecale, numărul de *Escherichia coli* și numărul de streptococi fecali, pe intervalele de concentrații luate în studiu pentru azotiți, azotați, azot amoniacal și oxidabilitate, ceea ce indică utilizarea acestor parametri ca predictibile pentru gradul de impurificare bacteriană a apelor din surse locale de adăpare. Cele relatate mai sus, subliniază încă odată modalitățile de impurificare a acestor surse de apă, conturându-se în acest mod strânsă legătură dintre impurificarea bacteriană și poluarea cu substanțe organice, dintre impurificarea bacteriană și poluarea cu ioni de amoniu, a căror proveniență este reprezentată de infiltrațiile de purin și ape menajere în apa freatică, dintre impurificarea bacteriană și concentrațiile de azotați, care deși indică o poluare mai veche a surselor de apă fiind compuși stabili, în cazul nostru semnifică o poluare continuă cu substanțe organice a căror descompunere este continuă, dintre impurificarea bacteriană și poluarea cu azotiți care provin din procesele de oxidare a substanțelor organice cu azot.

Relații invers proporționale, cu valori ale coeficienților de corelație fără semnificație statistică ($p > 0,05$), au fost evidențiate între valorile medii multianuale ale numărului de bacterii mezofile și saprofite și cele ale concentrațiilor de oxigen dizolvat, fapt ce arată că acest parametru nu poate indica gradul de impurificare al apelor din surse locale cu bacterii de acest fel, fiind bacterii care se pot adapta și la concentrații mici de oxigen. Relații invers proporționale, cu valori ale coeficienților de corelație cu semnificație statistică, demonstrează faptul că valorile concentrațiilor de oxigen din apele din surse locale, chiar dacă sunt de obicei mai mici, sunt predictibile pentru gradul de impurificare bacteriană, ținându-se cont însă de adâncimea pânzei de apă freatică, știind că apele de adâncime sunt în general foarte slab oxigenate.

Pe intervalele de concentrații pentru clorurile totale luate în studiu, s-au evidențiat evoluții direct proporționale ale numărului de bacterii mezofile și saprofite și ale bacteriilor indicatoare de poluare, dar valorile coeficienților de corelație obținute, nu indică utilizarea valorilor clorurilor totale drept predictibile pentru gradul de impurificare bacteriană. Scăderea MPN CT, CF, EC și SF în intervalul de concentrații de peste 250 mg/l, nu atestă de fapt că apele nu ar fi impurificate bacterian, ci mai degrabă că bacteriile indicatoare de poluare sunt sensibile în apele cu salinitate mare, ceea ce nu exclude prezența unor germeni patogeni, care ar putea fi rezistenți în ape cu astfel de salinitate.

Pentru identificarea genurilor și speciilor de bacterii indicatoare de poluare, izolate din sursele de apă locale utilizate pentru adăpare, au fost analizate un număr de 50 de probe de apă

confirmate ca fiind impurificate bacterian, din care au fost izolate un număr de 158 de tulpini bacteriene, din care 77,84% au aparținut bacteriilor coliforme și 22,15% au aparținut streptococilor fecali.

Încadrarea în genuri și specii bacteriene s-a realizat utilizând softul miniApi pentru tulpinile bacteriene încadrate în grupul bacteriilor coliforme și prin teste biochimice utilizate în tehnicile bacteriologice uzuale pentru bacteriile incluse în cel de-al doilea grup.

Dintre bacteriile coliforme, cu o pondere de 21,51% au fost identificate bacterii din genul *Citrobacter*, urmat îndeaproape de bacteriile din genul *Enterobacter* (20,88%), *Escherichia* (18,98%), ponderea cea mai mică fiind înregistrată de bacteriile din genul *Klebsiella* (16,45%).

Dintre bacteriile incluse în genul *Escherichia*, *Escherichia coli* a deținut o pondere de 90,00%, dintre bacteriile incluse în genul *Citrobacter*, *Citrobacter freundii* a fost identificat cu o frecvență de 41,17%, în cadrul genului *Enterobacter*, *Enterobacter cloacae* a fost identificat în 45,45% din tulpini. Dintre bacteriile încadrate în genul *Enterococcus*, cu o pondere de 25,70% a fost identificat *Enterococcus cecorum*, urmat îndeaproape de bacteriile încadrate în specia *Enterococcus faecalis* (22,85%). Identificarea enterococilor ce aparțin în mod regulat microflorei intestinale animale (*E. cecorum*) și microflorei intestinale umane (*E. faecalis*), pune la îndoială igiena surselor de apă locale exploatate în mediul rural și de asemenea arată riscul izbucnirii episoadelor morbide atât la om, cât și la animale.