



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ**

"ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ"

**ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ & ΧΗΜΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΤΡΙΩΝ
ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Αντιγόνη – Μαρία Ν. Χριστοπούλου
Ιατρικά Εργαστήρια, ΤΕΙ Λάρισας

ΛΑΡΙΣΑ 2014



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

"ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ"

ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ & ΧΗΜΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΤΡΙΩΝ
ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Αντιγόνη – Μαρία Ν. Χριστοπούλου
Ιατρικά Εργαστήρια, ΤΕΙ Λάρισας

ΛΑΡΙΣΑ 2014

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Αθηνά Μαυρίδου (Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Τ.Ε.Ι Αθηνών, Επιβλέπουσα),
Χρήστος Χατζηχριστοδούλου (Επίκουρος Καθηγητής Επιδημιολογίας, Ιατρικό
Τμήμα, Πανεπιστήμιο Λάρισας),
Πλακοκέφαλος Ηλίας (PhD, Ιολόγος, Επιστημονικός Συνεργάτης Τμήματος
Ιατρικής, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας)**

Η παρούσα διπλωματική εργασία αφιερώνεται στους γονείς μου Νικόλαο και Ελένη, καθώς και στον πολυαγαπημένο μου παππού Θεόδωρο, οι οποίοι με την διαχρονική τους στήριξη αλλά και με τους κόπους και τις θυσίες τους, αποτέλεσαν την πηγή από την οποία άντλησα την δύναμη, την θέληση και την υπομονή που με οδήγησαν σε αυτό το αποτέλεσμα.

Επίσης, αφιερώνεται στον αρραβωνιαστικό μου Βαγγέλη, που η κατανόηση του, η υποστήριξη του και η αγάπη του, με βοήθησαν ώστε να επιτύχω και αυτόν τον στόχο μου. Τον ευχαριστώ από καρδιάς.

ΣΚΟΠΟΣ: Ο σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι να αξιολογήσει την μικροβιολογική και χημική ποιότητα από την εισροή και την εκροή λυμάτων σε τρεις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Ελλάδα. Η ποιότητα του επαναχρησιμοποιούμενου λυμάτων αξιολογείται, με την κατευθυντήρια οδηγία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και την Ελληνική την ΚΥΑ 145116/2011 ως προς τα ολικά κολοβακτηριοειδή, *E.coli*, COD, BOD, αιωρούμενα στερεά και νηματώδεις σκώληκες. Όμως, άλλες παράμετροι παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή στην επεξεργασία και αποτελούν σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας κατά την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων για άρδευση και άλλες χρήσεις. Οι δείκτες που υπάρχουν στην ΚΥΑ δεν εξασφαλίζουν απουσία όλων των παθογόνων μικροοργανισμών.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ: Στην αρχή της έρευνας διανεμήθηκαν ερωτηματολόγια στους βιολογικούς σταθμούς της Αράχωβας (ARX), της Πάτρας (PAT) και της Λιβαδειάς (LIV), με τα οποία συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο λειτουργίας τους. Μετρήσεις έγιναν σε κάθε δειγματοληψία *in situ* για μετεωρολογικές παραμέτρους και λειτουργικά χαρακτηριστικά των μονάδων. Τα δείγματα αναλύθηκαν με πρότυπες μεθόδους για βακτηριακούς δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης (Ολικά Κολοβακτηριοειδή-T.C, και *E.coli*), *Salmonella ssp*, χημικές παραμέτρους (COD, BOD₅₀, αγωγιμότητα και αιωρούμενα στερεά-SS), ιούς (αδενοϊούς), βακτηριοφάγους, μύκητες και παράσιτα (*Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp*). Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν κυρίως στο σύνολο των μετρήσεων ή σε κάθε μονάδα επεξεργασίας χωριστά.

Ως προς τις ποσοτικές μεταβλητές, στην είσοδο, παρατηρούμε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών μονάδων όσο αναφορά τα T.C (PAT < LEV), την *E.coli* (PAT < LEV, ARX), τα SS (PAT < LEV) και την αγωγιμότητα (PAT > ARX). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους βακτηριοφάγους και τους ιούς, όπου η μονάδα της Πάτρας εμφανίζει την μικρότερη συγκέντρωση, σε σύγκριση με τις άλλες δύο μονάδες.

Ενδιαφέρουσες συσχετίσεις προέκυψαν στο σύνολο των δεδομένων των τριών μονάδων μαζί. Οι μετεωρολογικές μεταβλητές δεν φαίνεται να επηρεάζουν τις μικροβιολογικές και χημικές μεταβλητές, ενώ παρατηρείται ασθενής θετική συσχέτιση μεταξύ θερμοκρασίας και βακτηριοφάγων. Επίσης, ισχυρά θετική συσχέτιση παρατηρείται, όπως αναμενόταν, μεταξύ T.C και *E.coli*, BOD και COD, SS με COD. Ασθενή συσχέτιση παρουσιάζουν οι βακτηριοφάγοι με τα T.C., *E.coli*, τους ιούς, καθώς και με τα S.S.

Ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας, δηλαδή η μείωση στην συγκέντρωση κάθε μίας παραμέτρου από την είσοδο στην έξοδο των μονάδων επεξεργασίας. Ως προς τις χημικές παραμέτρους συνολικά υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση της μέσης συγκέντρωσης κάθε μιας παραμέτρου στην έξοδο σε σχέση με την είσοδο των λυμάτων. Όσο αναφορά τις ποσοτικές μικροβιολογικές παραμέτρους στο σύνολο των δεδομένων υπάρχει μείωση των συγκεντρώσεων στην έξοδο σε σχέση με την είσοδο των λυμάτων (T.C, *E.coli*, ιοί, βακτηριοφάγοι). Δεν συλλέχθηκαν αξιοποιήσιμα δεδομένα για την μείωση της παρουσίας ορότυπων *Salmonella*. Όσο αναφορά τις ποιοτικές μεταβλητές, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0,05$) στην συχνότητα ανίχνευσης των *Cryptosporidium*, *Candida spp.* και *Pseudomonas boydii* ενώ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στην ανίχνευση των υφομυκήτων.

Καμία από τρεις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων δεν υπερτερεί σε απόδοση από τις υπόλοιπες, παρ' όλες τις διαφορές τους στα στάδια επεξεργασίας.

ABSTRACT

Evaluation of the microbiological and chemical quality of three sewage treatment plants

AIM : The aim of this study was to evaluate the microbiological and chemical quality of the inlet and outlet sewage in three treatment plants in Greece. The Greek regulation about the quality of sewage dedicated to irrigation (KYA 145116/211) indicates the following parameters: total coliforms (TC) *E.coli*, COD, BOD suspended solids (SS) and nematodes. Nevertheless more microbiological parameters are of importance to public health as they reveal higher resistance to environmental stress and the treatment procedures than the microbial indicators.

MATERIALS AND METHODS: Questionnaires were sent to three treatment plant managements (in the cities of Patras- PAT, Levadia- LEV and Arachova -ARX) in order to collect information on operational procedures. Measurements were carried out during each sampling concerning meteorology and functional parameters. The samples were analyzed by standard methods, for bacterial indicators of fecal contamination (TC and *E.coli*), *Salmonella ssp*, chemical parameters (COD, BOD₅, conductivity and SS), viruses (adenovirus), bacteriophages, fungi and parasites (*Cryptosporidium ssp.*, *Giardia ssp.*). To the completion of the collection of data the results were statistically evaluated.

RESULTS AND CONCLUSIONS: The collected data were assessed as a total and for each treatment plant separately. As to the quantitative variables, at the inlet sewage statistical significant differences were observed between the three wastewater treatments facilities as regards TC (PAT <LEV), *E.coli* (PAT <LEV, ARX), SS (PAT <LEV) and Conductivity (PAT > ARX). Moreover, statistical significant differences were observed between the bacteriophages and the virus where Patras sewage plant showed the smaller concentration, compared to the other two units. Meteorological variables do not seem to influence microbiological and chemical values in the total of the data while there is a weak correlation between temperature and bacteriophages counts. Furthermore, a strong positive correlation was observed between TC and *E.coli*, BOD and COD, SS and COD and also a weak correlation between bacteriophages and T.C, *E.coli*, viruses and SS.

The efficiency of the treatment plants was evaluated as the reduction of, the presence of the qualitative parameters, and the counts of the quantitative parameters between the inlet and outlet sewage. As for all chemical parameters in the total of the data there is a significant reduction of the average counts.

As for the quantitative microbiological parameters in the total of the data there is a significant reduction for TC, *E.coli*, viruses and bacteriophages while no valuable data were collected for *Salmonella* serotypes. As for the qualitative parameters, no significant reduction appeared for *Cryptosporidium*, *Candida ssp.* and *Pseudomonas boydii* while a significant reduction appeared for molds. As a total, none of the treatment plants, despite functional and operational differences, seems to be more efficient than the others.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	1
1.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	1
1.1.1 ΦΥΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	2
1.1.2 ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	2
1.1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	2
1.2 ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ & ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΔΟΥΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ	2
1.3 ΒΑΚΤΗΡΙΑ	3
1.3.1 <i>Campylobacter spp</i>	3
1.3.2 <i>E.coli O 157</i>	4
1.3.3 <i>Salmonella spp.</i>	6
1.3.4 <i>Shigella spp.</i>	8
1.3.5 <i>Legionella spp.</i>	9
1.3.6 <i>Helicobacter pylori</i>	11
1.3.7 <i>Vibrio vulnificus</i>	12
1.4 ΙΟΙ	14
1.4.1 ΑΔΕΝΟΪΟΙ	14
1.4.2 <i>Coxsackie virus</i>	15
1.4.3 ΕΝΤΕΡΟΪΟΣ – <i>Echovirus</i>	15
1.4.4 <i>Hepatitis Virus A</i>	17
1.4.5 <i>Hepatitis Virus E</i>	19
1.5 ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ	21
1.5.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ – ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ	21
1.5.2 Λυτικός Κύκλος	22
1.5.3 Λυσιγονικός Κύκλος	22
1.5.4 Οι Βακτηριοφάγοι ως Μικροβιολογικοί Δείκτες	23
1.5 ΠΡΩΤΟΖΩΑ	26
1.5.1 <i>Cryptosporidium parvum</i>	26
1.5.2 <i>Giardia spp.</i>	28
1.6 ΜΥΚΗΤΕΣ	30
1.6.1 <i>Candida spp.</i>	30
1.6.2 <i>Pseudallescheria boydii</i>	31
1.7 ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΔΟΥΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ	33
1.7.1 Πλεονέκτημα & Μειονεκτήματα Μικροβιολογικών Ελέγχων	35
1.7.2 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ	35
1.8 ΜΟΝΑΔΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ	38
1.8.1 ΣΤΑΔΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΑΤΡΑΣ	38
1.8.2 ΣΤΑΔΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΛΙΒΑΔΕΙΑΣ	38
1.8.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΑΡΑΧΩΒΑΣ	38
1.9 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ	39
1.9.1 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΑΡΔΕΥΣΗ	39
1.9.2 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΑΣΤΙΚΗ & ΠΕΡΙΑΣΤΙΚΗ ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ	40
1.9.3 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ	40
1.9.4 ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΥΠΟΓΕΙΟΥ ΥΔΡΟΦΟΡΕΑ	40
1.10 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ	41
1.11 ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΓΕΙΟΥ ΥΔΡΟΦΟΡΕΑ	46

1.12 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ ΣΕ ΜΟΝΑΔΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ	46
1.12.1 ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ	47
1.12.2 ΠΟΛΙΤΙΚΗ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΩΝ	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	50
3.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	50
3.2 ΥΛΙΚΟ.....	50
3.3 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	51
3.3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ	51
3.3.2 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΑΡΑΧΩΒΑΣ.....	51
3.3.3 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΛΙΒΑΔΕΙΑΣ.....	52
3.3.4 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΑΤΡΑΣ.....	54
3.4 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	55
3.5 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	55
3.5.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΣΩΛΗΝΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΩΝ & <i>E.coli</i>	55
3.5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ <i>Salmomella spp</i>	59
3.5.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ <i>Cryptosporidium spp</i>	61
3.5.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΖΥΜΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>Candida</i>	63
3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ.....	66
3.6.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ- COD.....	66
3.6.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ- BOD	67
3.6.3 ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΑΙΟΡΟΥΜΕΝΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ - TSS.....	68
3.6.4 ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ	70
3.7 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΙΩΝ.....	70
3.8 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΔΙΠΛΟΣΤΟΙΒΑΔΑΣ.....	72
3.9 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	73
3.10 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	87
3.11 ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	127
3.11.1 ΕΙΣΟΔΟΣ- ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ.....	127
3.11.2 ΕΞΟΔΟΣ- ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ.....	129
3.11.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	129
3.11.4 ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΕΙΣΟΔΟΥ.....	131
3.11.5 ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΕΞΟΔΟ	131
3.11.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	132
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	133
4.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	134
4.1.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ.....	134
4.1.2 ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ	135

4.1.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΗΝ ΜΕΙΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	137
4.1.4 ΣΥΣΧΕΤΗΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ.....	137
4.1.5 RISK ASSESSMENT.....	138
4.1.6 ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ <i>Cryptosporidium spp</i> , <i>Giardia spp</i> , μύκητες	138
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	141
ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	142
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	152

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη και εκτίμηση στο πρόσωπο της Καθηγήτριας Αθηνάς Μαυρίδου, του ανθρώπου που καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της προσπάθειας στάθηκε δίπλα μου γενναιόδωρα, ακούραστα και με αληθινό ενδιαφέρον, δείχνοντας εμπιστοσύνη στο πρόσωπο μου και δίνοντας μου την δύναμη να συνεχίσω.

Σημαντική ήταν επίσης και η συμβολή της κυρίας Ανθούλας Νικαλαΐδου, του εξέχοντα ανθρώπου και επιστήμονα. Την ευχαριστώ για τις πολύτιμες γνώσεις της και τις συμβουλές της, που μου τις πρόσφερε απλόχερα κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την κυρία Τέα Βελεγράκη, για την πολύτιμη βοήθειά της.

Θερμές ευχαριστίες, οφείλω ακόμα στην ερευνητική ομάδα του προγράμματος Αρχιμήδης 3- Υποέργο 07 (Επαναχρησιμοποίηση αποβλήτων – Ανάπτυξη μοντέλου εκτίμησης κινδύνου για την Δημόσια Υγεία) μέρος του οποίου ήταν η παρούσα εργασία. Τους κους Π.Κόκκινο, Α.Βανταράκη, Π.Θεοδωράτο, Γ.Σπανάκο και τις κυρίες Γ.Μανδηλαρά, Ν.Μπίμπα, Ε.Σμέτη, Α.Μπλουγούρα. Το άριστο κλίμα και η άψογη συνεργασία, καθ' όλη την διάρκεια του έργου, οδήγησαν στην επιτυχή ολοκλήρωσή του, παρά τις δυσκολίες και τα εμπόδια.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους συνεργάτες του Ερευνητικού Εργαστηρίου του Τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων του ΤΕΙ Αθήνας, κυρίες Ο.Παπατζιτζέ και Ο.Παππά, καθώς και στους κυρίους Π.Δρόσο και Γ.Καραγιάννη για την πολύτιμη βοήθεια τους.

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.....	2
Πίνακας 2.....	5
Πίνακας 3.....	9
Πίνακας 4.....	10
Πίνακας 5.....	17
Πίνακας 6.....	18
Πίνακας 7.....	24
Πίνακας 8	25
Πίνακας 9.....	33
Πίνακας 10.....	34
Πίνακας 11.....	35
Πίνακας 12.....	41
Πίνακας 13.....	42
Πίνακας 14.....	44
Πίνακας 15.....	45
Πίνακας 16.....	50
Πίνακας 17.....	57
Πίνακας 18.....	134

ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1.....	112
Διάγραμμα 2.....	113
Διάγραμμα 3.....	115
Διάγραμμα 4.....	116
Διάγραμμα 5.....	118
Διάγραμμα 6.....	119
Διάγραμμα 7.....	121
Διάγραμμα 8.....	122

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με την Ελληνική Νομοθεσία (ΚΥΑ 145116/2011) ως «Υγρά Απόβλητα» χαρακτηρίζονται τα οικιακά ή αστικά λύματα καθώς και τα βιομηχανικά υγρά απόβλητα που αναφέρονται στην υπ' αριθμόν 5673/400/1997 ΚΥΑ ανεξαρτήτως μεγέθους εγκατάστασης.

Τα υγρά απόβλητα ανάλογα με την πηγή προέλευσή τους κατατάσσονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, οι οποίες είναι οι εξής:

- i. **Τα αστικά απόβλητα:** τα οποία αποτελούνται κυρίως από απόνερα οικιακής χρήσης και από ανθρώπινα εκκρίματα.
- ii. Καθημερινά στα σύγχρονα αστικά κέντρα αλλά και στην περιφέρεια, έχουμε την παραγωγή κάποιων εκατοντάδων έως και εκατομμυρίων κυβικών μέτρων **λυμάτων οικιακής προέλευσης.**
- iii. **Τα βιομηχανικά απόβλητα:** σε αυτήν την κατηγορία περιλαμβάνονται οι υγρές απορροές των βιομηχανικών εγκαταστάσεων, οι οποίες είναι κυρίως εκπλύματα δεξαμενών και άλλων στοιχείων εξοπλισμού καθώς και παραπροϊόντα χημικών διεργασιών.
- iv. **Τα αγροτικά απόβλητα:** τα οποία περιλαμβάνουν τις απορροές των αρδευτικών συστατικών και των κτηνοτροφικών εγκαταστάσεων (Ευρωπαϊκή Κοινότητα, 2001).

Τα λύματα από όλες αυτές τις πηγές μπορούν να φέρουν παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μπορούν να μεταδώσουν ασθένειες στους ανθρώπους και στα ζώα. Η σωστή συλλογή, η ασφαλή διάθεση και επαναχρησιμοποίηση των υγρών αποβλήτων από μία κοινότητα είναι νομικά αναγνωρισμένη, ως μία ανάγκη σε μία αστικοποιημένη, βιομηχανοποιημένη κοινωνία.

Η αύξηση του πληθυσμού και η αύξηση του επιπέδου διαβίωσης, που παρατηρήθηκε στην πλειοψηφία των χωρών σε όλο τον κόσμο, προκάλεσε την αύξηση των απαιτήσεων για καλή ποιότητα νερού. Η επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων είναι μία από τις κύριες επιλογές, που εξετάζονται ως μία νέα πηγή νερού σε περιοχές όπου το νερό είναι σπάνιο, με έναν τρόπο που θα προστατεύει τόσο το περιβάλλον όσο και τη δημόσια υγεία. Για το σκοπό αυτό, είναι ιδιαίτερα σημαντικό, να εξουδετερωθούν τυχόν μολυσματικοί παράγοντες ή παθογόνοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι μπορεί να είναι παρόντες στα λύματα.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Τα χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

1. Φυσικά Χαρακτηριστικά
2. Χημικά Χαρακτηριστικά
3. Βιολογικά Χαρακτηριστικά

1.1.1 ΦΥΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα ολικά στερεά (TTS) είναι ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων. Με τον όρο ολικά στερεά, εννοούμε ότι παραμένει ως υπόλειμμα μετά από εξάτμιση στους 103 – 105° C. Άλλα φυσικά χαρακτηριστικά είναι το χρώμα, η θολερότητα, η θολότητα, η οσμή, η θερμοκρασία και η πυκνότητα (Μαυρίδου et al, 2014).

1.1.2 ΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Διαχωρίζονται σε οργανικά και ανόργανα υλικά. Οι πιο συνήθεις εργαστηριακές μέθοδοι που εφαρμόζονται για την ποσοτική μέτρηση του οργανικού φορτίου στα λύματα περιλαμβάνουν :

1. BOD → με τον όρο βιοχημικά απαιτούμε οξυγόνο, εννοείται η ποσότητα του οξυγόνου που καταναλώνεται από τους μικροοργανισμούς για να αποικοδομήσουν οξειδωτικά τις οργανικές ενώσεις που υπάρχουν στο νερό, σε θερμοκρασία 20° C, μέσα σε ένα χρονικό διάστημα 5 ημερών.
2. COD → με τον όρο χημικά απαιτούμε οξυγόνο, εννοείται η ποσότητα του οξυγόνου που καταναλώνεται για την χημική οξείδωση των οργανικών ενώσεων που περιέχονται στα νερά.
3. TOC → Η τιμή του ολικού οργανικού άνθρακα εκφράζει την ολική φόρτιση των νερών σε οργανικές ενώσεις. Οι τιμές TOC μας δίνουν πληροφορίες σχετικά με το σύνολο των ενώσεων του άνθρακα, ανεξάρτητα από τις βαθμίδες οξείδωσής τους (Κουϊμτζή et al, 1998).

Τα ανόργανα χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων είναι το pH, οι συγκεντρώσεις θείου, φωσφόρου, αζώτου, η αλκαλικότητα και τα χλωρίδια. Η συγκέντρωση του αζώτου είναι σημαντική, διότι απαιτείται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Περίσσια αζώτου και φωσφόρου οδηγεί στην ανάπτυξη φυκών, ενώ έλλειψη αζώτου οδηγεί σε ακατάλληλο νερό για την ανάπτυξη μικροβίων (Μαυρίδου et al, 2014).

1.1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα αστικά λύματα περιέχουν κυρίως ανθρώπινα περιττώματα. Μέσω των λυμάτων μεταφέρονται όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί στους υδάτινους αποδέκτες.

1.2 ΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ & ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΔΟΥΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ

Πίνακας 1: Κατηγορίες Παθογόνων Μικροοργανισμών Κοπρανώδους Μόλυνσης

ΒΑΚΤΗΡΙΑ	ΙΟΙ	ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ	ΠΡΩΤΟΖΩΑ	ΜΥΚΗΤΕΣ
1. <i>Campylobacter</i> spp. 2. <i>E.coli</i> 0157 3. <i>Salmonella</i> spp. 4. <i>Shigella</i> 5. <i>Legionella</i> spp. 6. <i>Helicobacter pylori</i> 7. <i>Vibrio vulnificus</i>	1. Αδενοϊοί 2. <i>Coxsackie varius</i> 3. Εντεροϊός – Echovirus 4. <i>Hepatitis Virus A</i> 5. <i>Hepatitis Virus E</i>	1. <i>Somatic coliphages</i> 2. <i>F-RNA phages</i> 3. <i>Phages of Bacteroides Fragilis</i>	1. <i>Cryptosporidium parvum</i> 2. <i>Giardia</i> spp.	1. <i>Candida</i> spp. 2. <i>Pseudallescheria boydii</i>

1.3 ΒΑΚΤΗΡΙΑ

1.3.1 *Campylobacter* spp

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Gram⁻ βακτήριο, μη σπορογόνο έχει σχήμα σπειριλλίου ή μοιάζει με σπειροειδείς ράβδους. Ανήκει στην οικογένεια *Campylobacteraceae*. Υπάρχουν περίπου 15 είδη που σχετίζονται με το γένος *Campylobacter* (WHO,2008).



Εικόνα 1: *Campylobacter* spp [Ανατύπωση από www.avicultura.com]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Τα περισσότερα είδη *Campylobacter* βρίσκονται στον εντερικό σωλήνα θερμόαιμων ζώων. Επίσης, ένας μεγάλος αριθμός γλάρων μεταφέρουν το καμπυλοβακτηρίδιο. Τα πουλερικά είναι η μεγαλύτερη δεξαμενή και αποτελούν την κυριότερη πηγή λοίμωξης του ανθρώπου (Park,2002).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το *Campylobacter* είναι πολύ ανθεκτικό και έχει την δυνατότητα να ανταπεξέλθει σε πολύ δυσμενείς καταστάσεις. Το *Campylobacter* spp. αναπτύσσεται άριστα στους 42°C. Το καμπυλοβακτηρίδιο έχει έναν χημειοαυτότροφο μεταβολισμό και η ενέργεια προέρχεται είτε από αμινοξέα είτε από το τρικαρβοξυλικό οξύ, λόγω της ανικανότητάς τους να οξειδώσουν ή να ζυμώσουν τους υδρογονάνθρακες (Junela et al, 2010).

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Το *C. jejuni* αποτελεί μία από τις πιο κοινές αιτίες βακτηριακής γαστρεντερίτιδας, με χρόνιες επιπλοκές. Το *C. jejuni* έχει βρεθεί σε λύματα και έχει απομονωθεί σε πολλές περιπτώσεις, από επιφανειακά ύδατα. Σε χώρες της Ευρώπης, το συγκεκριμένο στέλεχος έχει απομονωθεί από ύδατα κολύμβησης. Το γεγονός αυτό δεν αποτελεί έκπληξη, αφού έρευνες που έχουν γίνει απέδειξαν πως τα κατοικίδια ζώα και τα υδρόβια πτηνά, αποβάλλουν το παθογόνο αυτό στέλεχος με τα κόπρανα τους, συμβάλλοντας στην μικροβιακή υποβάθμιση των υδάτων αναψυχής. Επιπλέον, οποιοδήποτε νερό έχει μολυνθεί με ανθρώπινα κόπρανα, υπάρχει περίπτωση να περιέχει το στέλεχος *C. jejuni* (Arvanitidou et al, 1995). Η άρδευση των φρούτων και των λαχανικών, με νερό κακής ποιότητας μπορεί να προκαλέσει την μόλυνση των

καταναλωτών. Γι αυτό το λόγο απαιτείται εκτεταμένη επεξεργασία των λυμάτων πριν χρησιμοποιηθούν για αρδευτικούς σκοπούς (Mara et al., 2007).

Ο Obiri – Donso και Jones (2002), απομόνωσαν θερμοφιλά καμπυλοβακτηρίδια από τρεις ακτές κολύμβησης στο Ηνωμένο Βασίλειο. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ήταν υψηλότερα τους χειμερινούς μήνες.

Το Μάρτιο του 1999, στην περιοχή της Φλόριντα, καταγράφηκε ένα περιστατικό, το οποίο σχετιζόταν με το *C. jejuni* και απομονώθηκε από ιδιωτική πισίνα (Lee et al, 2002).

Το καλοκαίρι του 2000, στη νότια Φιλαδέλφια, σε μία μικρή κοινότητα 5.500 κατοίκων, 400 περίπου άτομα εκδήλωσαν εντερίτιδα, η οποία οφείλονταν στον *C.jejuni*. Η πηγή της μόλυνσης ήταν η χρήση υπογείων υδάτων ως πόσιμο νερό.

Από τον Οκτώβρη έως τον Νοέμβριο του 2001, στο νότιο τμήμα της Φιλαδέλφιας, είχαμε εξάρσεις κρουσμάτων που οφείλονταν στο *C.jejuni*. Περίπου 1000 από τους 18.000 χρήστες του τοπικού δικτύου ύδρευσης μολύνθηκαν. Η πηγή της μόλυνσης οφείλονταν στο γεγονός ότι δέκα φρεάτια υπόγειων υδάτων κατέληγαν σε τρεις διαφορετικούς υδροφορείς, οι οποίοι χρησιμοποιούνταν ως πηγή πόσιμου νερού για τους κατοίκους της κοινότητας (Hanninen et al., 2003).

Στον Καναδά, πραγματοποιήθηκε μία μεγάλη μελέτη όπου συλλέχθηκαν 1564 δείγματα, από δέκα διαφορετικά είδη λαχανικών. Η συλλογή έγινε από δύο σημεία. Το πρώτο σημείο ήταν υπαίθριες αγορές (όπου συλλέχθηκαν 533 δείγματα) και το δεύτερο σημείο ήταν σούπερ μάρκετ (από το οποίο συλλέχθηκαν 1031 δείγματα). Τα δείγματα που προέρχονταν από το σούπερ μάρκετ ήταν όλα αρνητικά, σε αντίθεση με τα δείγματα που προέρχονταν από τις υπαίθριες αγορές. Στα έξι από τα δέκα είδη (σπανάκι, μαρούλι, ραπανάκι, πράσινο κρεμμύδι, μαϊντανό και πατάτες) ανιχνεύτηκε το *Campylobacter* με κυρίαρχο το *C.jejuni*, σε ποσοστό 88%. Το αυξημένο αυτό ποσοστό εμφάνισης του συγκεκριμένου είδους, οφείλεται στις κακές συνθήκες υγιεινής που επικρατούσαν καθώς και στην ποιότητα του νερού που χρησιμοποιούνταν για το πότισμα των συγκεκριμένων καλλιεργειών (Park et al., 1992).

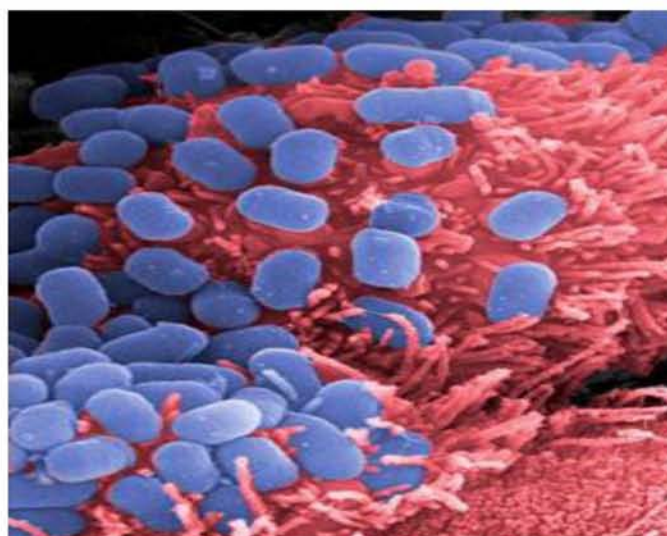
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε πολλές περιπτώσεις το *Campylobacter spp.* έχει απομονωθεί από ύδατα αναψυχής, ωστόσο δεν έχουν αναφερθεί ασθένειες που να έχουν προκληθεί μέσω αυτής της οδού. Τα ύδατα αναψυχής επειδή εκτίθενται στα ζωικά και ανθρώπινα απόβλητα είναι πιο πιθανό να μολυνθούν με *Campylobacter*.

1.3.2 *E.coli* O 157

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η *E.coli* ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Η οικογένεια χαρακτηρίζεται από 15 γένη. Κάθε γένος χαρακτηρίζεται από το σωματιδιακό αντιγόνο O και από το βλεφαριδικό αντιγόνο H. τα περισσότερα γένη της *E.coli*, τα οποία βρίσκονται στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου είναι αβλαβή, υπάρχουν όμως πέντε παθογόνα στελέχη, τα οποία προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο. Τα στελέχη αυτά παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.



Εικόνα 2: *E. coli* O 157 [Ανατύπωση από www.marlerblog.com]

Πίνακας 2: Παθογόνα στελέχη *E. coli*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΛΟΙΜΩΞΗΣ	ΚΥΡΙΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΛΟΙΜΩΞΗΣ
Εντεροεπιθετική <i>E. coli</i> (EaggEC)	Διάρροια
Εντεροαιμοραγική <i>E. coli</i> (EHEC)	Διάρροια, Αιμορραγική Διάρροια
Εντεροεισβολική <i>E. coli</i> (EIEC)	Αιμορραγική Διάρροια
Εντεροπαθογόνα <i>E. coli</i> (EPEC)	Διάρροια
Εντεροτοξική <i>E. coli</i> (ETEC)	Διάρροια, Ειλεΐτιδα

(Kunz and Kunz, 1999)

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Η κύρια δεξαμενή για την εντεροαιμοραγική *E. coli*, είναι το έντερο των υγιών βοοειδών, υπάρχουν όμως και πολλές αναφορές για τα πρόβατα. Η *E. coli* είναι ένας εντερικός οργανισμός (WHO, 2004).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της *E. coli* O157: H7, είναι η ευκολία στον τρόπο μετάδοσής της. Η *E. coli* είναι ανθεκτική στο οξύ και μπορεί να επιβιώσει σε συνθήκες με πολύ χαμηλό pH (π.χ. pH 2). Είναι επίσης, πολύ ανθεκτική στο κρύο. Επιβιώνει σε θερμοκρασίες κάτω των 5°C. Τρεις λοιμογόνοι παράγοντες είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για την παθογένειά της. Οι παράγοντες αυτοί είναι:

- I. Η shiga τοξίνη → η οποία είναι τοξική για τον άνθρωπο.
- II. Η παραγωγή μίας αιμολυσίνης, η οποία αυξάνει την έκκριση της ιντερλεθκίνης – 1- βήτα, και η οποία με την σειρά της ενισχύει την τοξικότητα της shiga τοξίνης.
- III. Τέλος, η οικογένεια *E. coli* είναι σε θέση να προσκολλάται και να αποικίζει την εντερική επιφάνεια (Kuntz and Kuntz, 1999).

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Το καλοκαίρι του 1991, αναφέρθηκαν 21 περιπτώσεις της *E.coli* O157: H7, από ανθρώπους οι οποίοι είχαν κολυμπήσει σε μία λίμνη στο Όρεγκον, των Ηνωμένων Πολιτειών. Από τους 21, οι 7 εισήχθησαν στο νοσοκομείο και οι τρεις εξ αυτών ανέπτυξαν αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο. Η ασθένεια σχετιζόταν με την κατάποση νερού από την λίμνη. Η πηγή της μόλυνσης δεν βρέθηκε, αλλά υπάρχει η υπόνοια ότι άλλοι λουόμενοι αποτελούν την πηγή της μόλυνσης (Keene et al, 1994).

Τον Μάιο του 1992, αναφέρθηκαν 6 περιπτώσεις *E.coli* O157: H7, φάγων τύπου 49. Το περιστατικό έλαβε χώρα σε μία ημιαγροτική περιοχή της Σκωτίας. Ένα από τα παιδιά ανέπτυξε HUS. Παρά το γεγονός ότι η πηγή της μόλυνσης δεν εντοπίστηκε, τα αποδεικτικά στοιχεία που υπάρχουν δείχνουν ότι η παιδική πισίνα ήταν το κέντρο της λοίμωξης (Brewster et al, 1994).

O Heldebard και οι συνεργάτες του (1996), ανέφεραν έξι περιπτώσεις παιδιών τα οποία είχαν μολυνθεί με *E.coli* O157: H7, σε μία περιοχή νοτιοδυτικά του Λονδίνου το καλοκαίρι του 1993. Τρία από τα παιδιά ανέπτυξαν αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο και το ένα πέθανε. Τέσσερα από τα έξι παιδιά είχαν επισκεφτεί εξωτερική πισίνα, η οποία δεν είχε χλωριωθεί επαρκώς.

Επτά παιδιά και ένας ενήλικας μολύνθηκαν από *E.coli* O157, μετά από κολύμπι σε δημόσια πισίνα στην Βορειοδυτική Αγγλία, τον Σεπτέμβριο του 2004. Τα περιστατικά έλαβαν χώρα όταν τα επίπεδα του χλωρίου μειώθηκαν λόγω απόφραξης της αντλίας (Henry et al, 2004).

Η κατανάλωση έτοιμων τροφίμων έχει αυξηθεί σε όλον τον κόσμο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο αριθμός των κρουσμάτων που προκαλούνται από τα παθογόνα μικρόβια συνεχώς να αυξάνεται. Στις λιγότερο αναπτυγμένες χώρες η άρδευση των καλλιεργειών γίνεται με μη επεξεργασμένα λύματα, τα οποία περιέχουν μεγάλο αριθμό παθογόνων που προέρχονται από τα κόπρανα ασθενών.

Μελέτη η οποία πραγματοποιήθηκε στο Μεξικό από τον **Castro Rosa και τους συνεργάτες του (2012)**, αφορούσε την κατανάλωση λαχανικών τα οποία ποτίζονταν με μη επεξεργασμένα λύματα. Το ποσοστό των θετικών δειγμάτων που αφορούσε την *E.coli*, ήταν σημαντικά υψηλό.

Μία ακόμα μελέτη, που αφορούσε την χρήση μη επεξεργασμένων λυμάτων για την άρδευση καλλιεργειών, πραγματοποιήθηκε από τον **Do Thuy Trang και τους συνεργάτες του (2007)**, στην περιοχή Χανόη, του Βιετνάμ. Στην έρευνα αυτή συμμετείχαν 636 ενήλικες, ηλικίας 15 – 70 ετών, οι οποίοι ζούσαν στις αρδευόμενες εκτάσεις και κατανάλωναν τρόφιμα από αυτές τις περιοχές. Από τα 326 δείγματα κοπράνων που συλλέχθηκαν, στα 47 ταυτοποιήθηκε η ύπαρξη εντερικών παθογόνων όπως η *E.coli* και το *E.histolytica*.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ένας πολύ μεγάλος αριθμός κρουσμάτων έχει αναφερθεί από την ψυχαγωγική χρήση των υδάτων, κυρίως σε πισίνες όπου δεν υπάρχει επαρκής χλωρίωση.

1.3.3 *Salmonella* spp.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η *Salmonella* spp. ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*. Τα μέλη του γένους *Salmonella* ομαδοποιούνται ανάλογα με το σωματιδιακό τους αντιγόνο (O) και με

βάση τα μαστίγια (H). Το γένος έχει χωριστεί σε περισσότερα από 2.000 είδη. Ο διαχωρισμός τους γίνεται με βάση τις διαφορές που παρουσιάζουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα (WHO,2008).



Εικόνα 3: *Salmonella* spp. [Ανατύπωση από www.motherjones.com]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Τα βακτήρια της *Salmonellas*, ζουν στον εντερικό σωλήνα των ανθρώπων και των ζώων, συμπεριλαμβανομένων και των ερπετών. Όλες οι σαλμονέλες εκτός από την *S.typhi* και *S.paratyphi*, βρίσκονται και στους ανθρώπους και στα ζώα. Η απέκκριση παθογόνων μικροοργανισμών από τα κόπρανα των ανθρώπων και των ζώων μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση των υδάτων.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η *Salmonella* είναι ένα Gram⁻ βακτηρίδιο, κινητό, το οποίο δεν ζυμώνει την λακτόζη, αλλά παράγει υδρόθειο ή αέριο λόγω της ζυμώσεως του υδρόθειου (WHO,2008). Τα βακτήρια της *Salmonellas*, μπορούν να επιβιώσουν στην κατάψυξη καθώς και σε υγρό περιβάλλον για αρκετούς μήνες (WHO,2005).

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Η πλειοψηφία των περιπτώσεων σαλμονέλλωσης που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία σχετίζονται με την κατανάλωση τροφίμων και λαχανικών. Η μόλυνσή τους προέρχεται από τα κόπρανα ασθενών, που καταλήγουν στα λύματα και αυτά με την σειρά τους στα επιφανειακά νερά, με αποτέλεσμα να έχουμε εξάρσεις κρουσμάτων. Παρόλα αυτά μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε όλον τον κόσμο, έχουν αποδείξει πως η *Salmonella*, μπορεί να επιβιώσει σε ποτάμια, λίμνες και σε παράκτια ύδατα (WHO, 2005).

Ο τυφοειδής πυρετός, ο οποίος προκαλείται από την *Salmonella typhi*, είναι σπάνιος στις αναπτυγμένες χώρες. Παρόλα αυτά η *S.typhi* παραμένει ενδημική στις αναπτυσσόμενες χώρες εξαιτίας των κακών συνθηκών υγιεινής που επικρατούν (Luby et al., 1998). Στην Χιλή κατά την διάρκεια της δεκαετίας του 1980, εκδηλώθηκαν περιστατικά τυφοειδούς πυρετού που οφείλονταν σε μία σειρά παραγόντων όπως ήταν

η άρδευση των λαχανικών με λύματα, οι αυξημένες βροχοπτώσεις, η κακή επεξεργασία νερού και η ελλιπής ατομική υγιεινή (Ford, 1999).

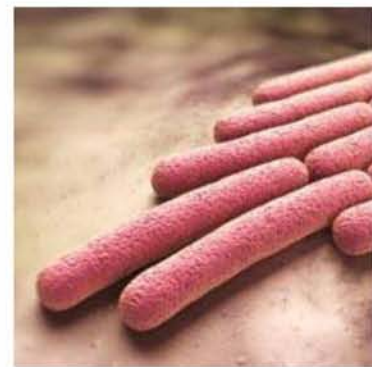
Στην Κορέα, η *Salmonella enterica* υπήρξε ένα από τα πιο διαδεδομένα τροφιμογενή παθογόνα. Μεταξύ του 1998 και του 2007, ένα σύνολο 9.472 σαλμονελάσεων απομονώθηκαν από ασθενείς οι οποίοι είχαν καταναλώσει είτε μολυσμένα τρόφιμα, είτε είχαν έρθει σε επαφή με μολυσμένα ύδατα. Κατά την περίοδο αυτή, η Κορέα έχει εξελιχθεί σε μία βιομηχανικά αναπτυσσόμενη χώρα, με αποτέλεσμα ο αριθμός των ορότυπων που ανιχνεύονται να έχει μειωθεί (Shukho, 2010).

Στο Μαρόκο, στην περιοχή Ελ Αζούζια, η άρδευση των λαχανικών πραγματοποιείται με λύματα, εδώ και πολλές δεκαετίες. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2001, εντοπίστηκε πως το νερό που χρησιμοποιούνταν για το πότισμα των καλλιεργειών ήταν μολυσμένο με δύο διαφορετικές ομάδες της *Salmonellas*, την B και την C. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, ότι τα προϊόντα που αναπτύσσονταν στην επιφάνεια του εδάφους όπως το μαρούλι και ο μαϊντανός ήταν περισσότερα μολυσμένα σε σύγκριση με τις καλλιέργειες εκείνες, που οι καρποί τους δεν ακουμπούσαν στο έδαφος όπως οι ντομάτες και οι πιπεριές (Melloul et al., 2001).

1.3.4 *Shigella* spp.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η *Shigella* ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* (WHO, 2004). Το γένος αποτελείται από τέσσερα είδη, την ομάδα A (*S.dysenteriae*), την ομάδα B (*S.lexneri*), την ομάδα C (*S.bodyii*), την ομάδα D (*S.sonenei*) (Μαυρίδου et al., 2014).



Εικόνα 4: *Shigella* [Ανατύπωση από www.acceleratingscience.com]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Οι μοναδικοί φυσικοί ξενιστές της *Shigella* φαίνεται να είναι ο γορίλας (Nizeni et al., 2001) και ο άνθρωπος, όπου εντοπίζεται στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα (Μαυρίδου et al., 2014).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η *Shigella* είναι ένα gram αρνητικό βακτήριο. Προκαλεί βακτηριακή δυσεντερία, ένα οξύ νόσημα του λεπτού και του παχέως εντέρου, όπου ο μικροοργανισμός πολλαπλασιάζεται τοπικά, με αποτέλεσμα να προκαλεί έντονη φλεγμονή του εντέρου.

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Η μετάδοση της *Shigella* μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε άμεσα, είτε έμμεσα δια μέσου της κοπρανοστοματικής οδού. Η μετάδοση γίνεται με μολυσμένα χέρια, άμεσα από άτομο σε άτομο με φυσική επαφή ή έμμεσα με επιμόλυνση των τροφίμων. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται ορισμένες δημοσιευμένες περιπτώσεις του ιού.

Πίνακας 3: Καταγεγραμμένα περιστατικά συγγάμωσης

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ	ΧΩΡΑ-ΠΟΛΗ	ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟ	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
1991	Αμερική	Μία ομάδα ατόμων, που κολυπούσε στην λίμνη Όρεγκον, υπέστη ένα ξέσπασμα αιμορραγικής διάρροιας. Ως κύρια πηγή της αιτίας ταχτοποιήθηκε η <i>S. sonney</i>	Keene et al., 1994
1998	Μινεσότα	Δύο άνθρωποι οι οποίοι έφαγαν στο ίδιο εστιατόριο, εκδήλωσαν αιμορραγική διάρροια. Από τα κόπρανα τους απομονώθηκε <i>S. sonney</i> . Η αιτία της λοίμωξης ήταν η κατανάλωση φρέσκου μαϊντανού.	CDC, 1999
2000	Μινεσότα	Καταγράφηκαν 25 αιμορραγικά σύνδρομα που προκλήθηκαν από την <i>S. sonney</i> . Τα περιστατικά αυτά έλαβαν χώρα σε λίμνες και παραλίες	Lee, 2002
2000	Αμερική	Στην Καλιφόρνια, καταγράφηκαν 406 περιστατικά σιγκέλλωσης, που οφείλονταν στην κατανάλωση συγκεκριμένου προϊόντος, το οποίο ανακλήθηκε από την αγορά	Kimura et al., 2004
2004	Ασμάτα / Ερυθραία	Λαχανικά (μαρούλια, λάχανα) τα οποία ποτίζονταν με λύματα, είχαν μολυνθεί με κύστες <i>Giardia</i> . Συλλέχτηκαν δείγματα κοπράνων από 75 αγρότες, οι οποίοι είχαν εκτεθεί στον μολυσματικό παράγοντα. Από αυτούς, βρέθηκε πως το 45% φιλοξενούσε κύστες <i>Giardia</i> .	Srikanth et Naik., 2004

1.3.5 Legionella spp.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το γένος *Legionella*, είναι μέλος της οικογένειας *Legionellaceae* και έχει τουλάχιστον 42 είδη. Η *Legionella pneumophila*, είναι ο τύπος εκείνος ο οποίος έχει σχέση με την νόσο των Λεγεωνάριων. Είκοσι είδη λεγιονέλλας έχουν σχέση με ανθρώπινες ασθένειες (WHO, 2004).



Εικόνα 5: *Legionella* spp. [Ανατύπωση από www.dailyrecord.co.uk]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Η *Legionella* spp. εμφανίζεται φυσικά σε υδρόβιους οργανισμούς. Οι οργανισμοί αυτοί έχουν απομονωθεί από φυσικά γλυκά νερά, ποτάμια ρυάκια, λίμνες, η θερμοκρασία των οποίων κυμαίνεται έως και τους 60° C. Η *Legionella* spp. έχει επίσης απομονωθεί από ύδατα, τα οποία έχουν μολυνθεί από τον άνθρωπο (WHO, 2005).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η *Legionella* spp., είναι ένα gram αρνητικό βακτηρίδιο, μη σπορογόνο, ραβδόμορφο. Απαιτεί κυστεΐνη για την ανάπτυξη του, καθώς και για την πρωτογενή απομόνωση του. Αποτελεί ένα ετερότροφο βακτήριο. Μπορεί να βρεθεί σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών υδάτων και έχει την δυνατότητα να πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες άνω των 25° C (WHO, 2008).

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Τα περισσότερα καταγεγραμμένα περιστατικά που έχουν σχέση με την νόσο των Λεγεωνάριων, έχουν συμβεί από την χρήση ψυχαγωγικών υδάτων (π.χ. υδρομασάζ). Παρόλα αυτά έχουν αναφερθεί περιστατικά τα οποία σχετίζονται με την χρήση πισινών και ανοιχτών υδάτων.

Το νερό της θάλασσας, δεν αποτελεί ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη της *Legionella* spp. Υποστηρίζεται ότι ανασταλτικός παράγοντας για της ανάπτυξη της *L. pneumophila*, αποτελεί το χλωριούχο νάτριο.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται δημοσιευμένες εκθέσεις για την εμφάνιση *Legionella* spp. στα ύδατα αναψυχής.

Πίνακας 4: Περιστατικά *Legionella* spp σε ύδατα αναψυχής

ΧΩΡΑ	ΠΗΓΗ – ΑΙΤΙΑ ΜΟΛΥΝΣΗΣ	ΠΗΓΗ
Ηνωμένες Πολιτείες	Ανίχνευση <i>Legionella</i> spp. σε λύματα και σε νερό ωκεανών	Palmer et al, 1993
Ιαπωνία	Ανίχνευση <i>Legionella</i> spp. από σπα	Koroki et al, 1998

Ιαπωνία	<i>Legionella spp.</i> απομονώθηκε από υδατόλουτρο την περίοδο της άνοιξης	Yabunchi et al, 1994
Ιταλία	<i>Legionella spp.</i> απομονώθηκε από νερό πισίνας και ντους	Leoniet et al., 2001
Ιταλία	Παρουσία <i>Legionella spp</i> σε θερμές πηγές	Sommeze et al., 1996
Δανία	<i>Legionella pneumophila</i> , απομονώθηκε από νερό πισίνας	Jeppesen et al., 2000

1.3.6 *Helicobacter pylori*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το *H.pylori* είναι gram αρνητικό, καμπυλωτό βακτήριο. Ανήκει στο γένος *Helicobacter*. Αυτό το γένος περιλαμβάνει δύο είδη, το *H.pylori* το οποίο είναι παθογόνο για το γαστρικό του ανθρώπου και το *H.mustalae*, το οποίο βρέθηκε στο στομάχι κουναβιών (Moblely et al., 2001).



Εικόνα 6: *Helicobacter Pylori* [Ανατύπωση από www.bioquell.com]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Ο άνθρωπος είναι η φυσική δεξαμενή του *Helicobacter pylori*. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1982, από δείγμα που προέρχονταν από ανθρώπινο γαστρεντερικό βλεννογόνο από τους Warren και Marshall (Warren et Marsall, 1984).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το *H.pylori* εντοπίζεται στην διαχωριστική επιφάνεια μεταξύ της γαστρικής επιφάνειας των επιθηλιακών κυττάρων και του υπερκείμενου στρώματος βλέννας. Γενοτυπικές μελέτες έχουν δείξει ότι σχεδόν κάθε άτομο το οποίο είναι θετικό στο ελικοβακτηρίδιο έχει ένα διακριτά μεμονωμένο στέλεχος (Carroll et al., 2004).

ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ *Helicobacter pylori*

Το *H.pylori* έχει χαρακτηριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως καρκινογόνο τύπου II. Σχεδόν το 50% του πληθυσμού εκτιμάται πως θα μολυνθεί από το *H.pylori*. Ο

επιπολασμός της λοίμωξης διαφέρει μεταξύ αναπτυσσόμενων και ανεπτυγμένων χωρών (Naja et al., 2007).

Μελέτες που έχουν γίνει έχουν αποδείξει ότι το *H.pylori* μπορεί να επιβιώσει τόσο στο νερό, όσο και σε βιοφίλμ. Η απομόνωση του όμως, από συστήματα ύδρευσης έχει αποδειχθεί πάρα πολύ δύσκολη (Mazari – Hiriati et al., 2001). Όταν το *H.pylori* εκτίθεται σε μεταβλητές περιβαλλοντικές συνθήκες, επέρχονται αλλαγές στην μορφολογία του, στον μεταβολισμό του και στον ρυθμό ανάπτυξης, με αποτέλεσμα να μετατρέπεται σε μία βιώσιμη κοκκοειδή κατάσταση (Bode et al., 1993). Η ικανότητα επιβίωσης αυτών των οργανισμών σε επιφανειακά ύδατα κυμαίνεται μεταξύ 20-30 ημερών (Hegarty et al., 1999).

Ο Yingzhi και οι συνεργάτες του (2001), κατάφεραν να απομονώσουν *H.pylori* από λύματα. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν πως το *H.pylori* μπορεί να επιβιώσει στο νερό και μπορεί να είναι και μία πιθανή πηγή μετάδοσης του, ιδίως όταν το νερό δεν επεξεργάζεται σωστά.

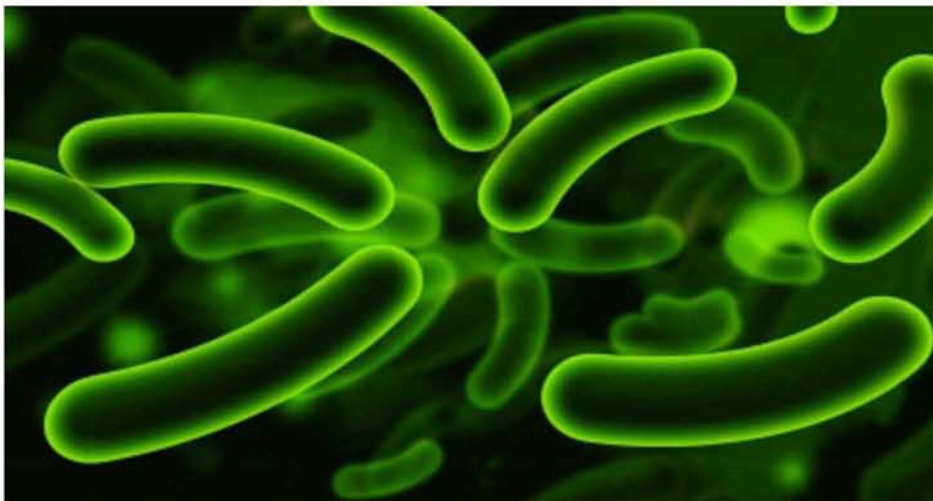
Μελέτη η οποία διεξήχθη στην Χιλή, επέδειξε πως το 60% των συμμετεχόντων, ήταν οροθετικοί στην ανίχνευση αντισωμάτων του *H.pylori*. Ο παράγοντας κινδύνου ήταν η κατανάλωση ωμών οστρακοειδών καθώς και ωμών λαχανικών τα οποία ποτίζονταν με ακατέργαστα λύματα (Hopkins et al., 1993).

Παρά το γεγονός ότι το *H.pylori* έχει απομονωθεί από γάτες, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν πως είναι ασυνήθιστο και σε κατοικίδιες γάτες. Κάποιες άλλες μελέτες έχουν δείξει πως τα πρόβατα αποτελούν μία πιθανή πηγή μετάδοσης. Η πιο πρόσφατη δεξαμενή για την μετάδοση του *H.pylori* στον άνθρωπο είναι η μύγα (Brown, 2000).

1.3.7 *Vibrio vulnificus*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το *Vibrio vulnificus* ανήκει στην οικογένεια *Vibrionaceae* (Oliver, 2005).



Εικόνα 7: *Vibrio vulnificus* [Ανατύπωση από www.scicraze.com]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Το *V.vulnificus* είναι ένα φυσικώς απαντώμενο βακτήριο, το οποίο συναντάται στις εκβολές ποταμών και στο θαλάσσιο περιβάλλον (Hoi et al., 1998).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το *V.vulnificus* είναι ένα gram αρνητικό, καμπυλωτό, ραβδόμορφο βακτήριο, με ένα μόνο πολικό μαστίγιο (Strom et Paranjpye, 2000).

ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ *V.vulnificus*

Το *V.vulnificus* απαντάται φυσικά σε εκβολές ποταμών και παράκτια ύδατα σε όλον τον κόσμο. Το συγκεκριμένο στέλεχος απομονώνεται πιο συχνά όταν η θερμοκρασία του νερού είναι πάνω από 20° C και η αλμυρότητα κυμαίνεται μεταξύ 5-25%.

Το πρώτο θανατηφόρο κρούσμα, από το *V.vulnificus*, αναφέρθηκε στην Δανία. Επρόκειτο για έναν 64χρονο άνδρα, με ιστορικό λευχαιμίας και κίρρωσης του ήπατος. Ο άνδρας μολύνθηκε ενώ αλίευε χέλια στη θάλασσα (Bock et al., 1994).

Στο νοσοκομείο της Δανίας κατά την διάρκεια ενός ασυνήθιστα ζεστού καλοκαιριού, κατεγράφησαν 11 περιστατικά που σχετίζονταν με το *V.vulnificus*. Όλοι οι ασθενείς είχαν μολυνθεί από την νόσο, μετά από την έκθεση τους σε θαλασσινό νερό. Ωστόσο κανείς δεν είχε καταναλώσει θαλασσινά (Dalsgaard et al., 1994).

Στην Σουηδία το πρώτο τεκμηριωμένο περιστατικό αναφέρθηκε το 1995. Μία 90χρονη γυναίκα η οποία κολυπούσε καθημερινά στη Βαλτική θάλασσα, ανέπτυξε μόλυνση σε ένα προϋπάρχον τραύμα, στο δάχτυλο του ποδιού. Μετά από δέκα μέρες νοσηλείας, η γυναίκα πήρε εξιτήριο (Melhus et al., 1995).

Στη Νέα Ζηλανδία, ένας άνθρωπος ο οποίος κολυπούσε στην περιοχή Όκλαντ, κατέληξε εξαιτίας της λοίμωξης του από το *V.vulnificus* (Upton et al., 2002).

Στην Φλόριντα από το 1981-1992, κατεγράφησαν 72 περιπτώσεις μόλυνσης από *V.vulnificus*. Οι 36 από τους 72 ασθενείς πέθαναν. Η κύρια αιτία των θανάτων ήταν η κατανάλωση ωμών οστρακοειδών (Heady et al., 1993).

Στις Η.Π.Α από το 1996, τα ποσοστά βιμπρίωσης συνεχώς αυξάνονταν. Ο αριθμός των λοιμώξεων που προκαλούνταν από το *V.vulnificus* και οδηγούσαν σε θάνατο, ολοένα και αυξάνονταν. Η αιτία όλων αυτών των λοιμώξεων ήταν η κατανάλωση ωμών οστρακοειδών, τα οποία συλλέγονταν από τον κόλπο του Μεξικού. Τον Απρίλιο του 2003, εφαρμόστηκε ένας κανονισμός, ο οποίος επέβαλε την επεξεργασία των στρειδιών πριν την πώλησή τους. Το μέτρο αυτό συνέβαλε στην μείωση των λοιμώξεων από το *V.vulnificus* (Vugia et al., 2013).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το *V.vulnificus* εμφανίζεται συνήθως στα θαλάσσια ύδατα και στις εκβολές των ποταμών. Υπάρχουν ενδείξεις για την σύνδεση της μόλυνσης από το *V.vulnificus*, με είδη προϋπάρχουσες ανοιχτές πληγές.

1.4 ΙΟΙ

1.4.1 ΑΔΕΝΟΪΟΙ

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι αδενοϊοί ανήκουν στην οικογένεια *Adenoviridae*. Υπάρχουν 4 γένη αδενοϊών τα οποία είναι τα εξής:

- 1) *Mastadenovirus*
- 2) *Aviadenovirus*
- 3) *Atadenovirus*
- 4) *Siadenovirus*

Προς το παρόν έχουν περιγραφεί 51 αντιγονικοί τύποι, ανθρώπινων αδενοϊών. Οι ανθρώπινοι αδενοϊοί έχουν ταξινομηθεί σε 6 ομάδες (Α-ΣΤ). Η ταξινόμηση έχει γίνει με βάση τις χημικές, φυσικές και βιολογικές τους ιδιότητες (WHO, 2008).

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Οι αδενοϊοί βρίσκονται παντού στο περιβάλλον. Η μόλυνση του ανθρώπου μπορεί να συμβεί είτε από τα κόπρανα, είτε από τα λύματα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των αδενοϊών, είναι ότι το γονιδίωμα τους αποτελείται από DNA και όχι από RNA. Είναι ασυνήθιστα ανθεκτικοί σε φυσικούς και χημικούς παράγοντες, καθώς και σε δυσμενείς συνθήκες (pH), επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο την επιβίωση τους, έξω από το ανθρώπινο σώμα, για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι αδενοϊοί έχει αποδειχθεί ότι είναι ανθεκτικοί στην τριτοβάθμια επεξεργασία και στην υπεριώδη ακτινοβολία των αστικών λυμάτων (Thomson et al, 2003).

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Έρευνες που έχουν γίνει, απέδειξαν πως οι εντερικοί αδενοϊοί που βρίσκονται στο νερό των θαλασσών, είναι πιο σταθεροί σε σύγκριση με τον HAV και με την πολιομυελίτιδα. Επιπλέον, είναι ανθεκτικοί στην αδρανοποίηση με ακτίνες UV. Αυτό σημαίνει πως οι εντερικοί αδενοϊοί μπορεί να επιζήσουν στο νερό για μεγάλο χρονικό διάστημα, και αντιπροσωπεύουν έναν πιθανό τρόπο μετάδοσης.

Οι φαρυγγίτιδες και οι επιπεφυκίτιδες, συνδέονται με την υδατογενή μετάδοση ορισμένων τύπων αδενοϊών. Τέτοια περιστατικά καταγράφονται συνήθως σε πισίνες, οι οποίες δεν είναι καλά χλωριωμένες καθώς και σε μικρές λίμνες (WHO, 2005).

Το 1998 αναφέρθηκε από τον Βανταράκη και την Παπαπετροπούλου, κρούσματα φαρυγγίτιδας και επιπεφυκίτιδας σε κολυμβητές. Το περιστατικό έλαβε χώρα στην Νότια Ελλάδα. Τουλάχιστον 80 άτομα παρουσίασαν συμπτώματα πυρετού, πονόλαιμου, επιπεφυκίτιδας, πονοκεφάλου και πόνου στην κοιλιά. Αποδείχτηκε ότι η συγκεκριμένη υδατογενή επιδημία, οφείλονταν σε αδενοϊό, ο οποίος είχε επιβιώσει σε κακώς χλωριωμένη πισίνα (Papapetropoulou & Vantarakis, 1998).

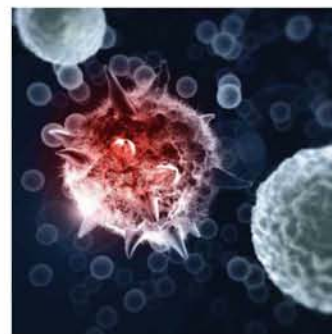
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Υπάρχουν 51 είδη αδενοϊών, και οι ασθένειες που προκύπτουν από τις μολύνσεις, περιλαμβάνουν επιπεφυκίτιδα, φαρυγγίτιδα, πνευμονία, βρογχολίτιδα, οξεία αναπνευστική νόσο και γαστρεντερίτιδα. Οι λοιμώξεις που προκύπτουν από τους αδενοϊούς είναι γενικά ήπιες. Παρόλα αυτά, στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται και ορισμένες περιπτώσεις που οδήγησαν σε θάνατο.

1.4.2 *Coxsackie virus*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι Κοξάκοι ιοί, ανήκουν στην οικογένεια των πικορναϊών. Χαρακτηρίζονται από δύο ομάδες την Α και την Β. Υπάρχουν 23 ορότυποι του ιού Κοξάκη Α και τουλάχιστον 6 ορότυποι του ιού Κοξάκη Β (King et al, 2002).



Εικόνα 8: *Coxsackie virus*
[Ανατύπωση από www.uochb.cz]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Λοιμώξεις από τον ιό Κοξάκη εμφανίζονται σε όλον τον κόσμο, με αυξημένη συχνότητα περιστατικών κυρίως τους καλοκαιρινούς μήνες. Οι μόνοι φυσικοί ξενιστές είναι οι άνθρωποι. Ο ιός μεταδίδεται κυρίως διαμέσου της κοπρανοστοματικής οδού (Parija, 2009).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι πικορναϊοί είναι μικροί RNA ιοί, διαμέτρου 25-30 nm. Μπορούν να παραμείνουν βιώσιμοι για πολλά χρόνια, σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (μεταξύ -20°C και 70 °C), και για βδομάδες στους 4°C με την διαφορά ότι η μολυσματικότητα τους μειώνεται, όταν αυξάνεται η θερμοκρασία.

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

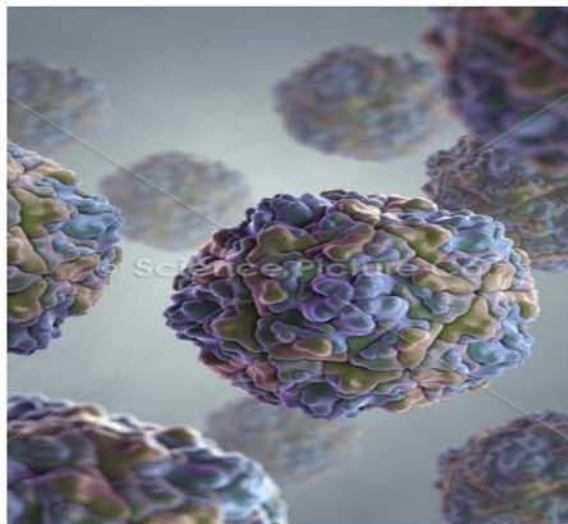
Ο Hewley et al (1973), περιέγραψαν μία έξαρση κρουσμάτων από τον ιό Κοξάκη Β₅. Η λοίμωξη έλαβε χώρα σε μία κατασκήνωση που λειτουργούσε τους θερινούς μήνες, στις ΗΠΑ. Ο ιός απομονώθηκε από 13 άτομα, εκ των οποίων ένα αγόρι εισήχθη στο νοσοκομείο με επιπεφυκίτιδα, ιγμορίτιδα και μηνιγγίτιδα. Ο ιός Κοξάκη απομονώθηκε από τη λίμνη που βρίσκονταν κοντά στην κατασκήνωση.

Ένα άλλο περιστατικό καταγράφηκε τον Μάιο του 1992, όπου ένας εικοσάχρονος άνδρας, μετά από μία εκδρομή που πραγματοποίησε στο Μαλιμπού, ανέπτυξε ναυτία. Τα συμπτώματα του χειροτέρευαν σταδιακά, με αποτέλεσμα να απομονωθεί από αυτόν ο ιός Κοξάκη Β. Ο ιός προκάλεσε βλάβη στην καρδιά, με αποτέλεσμα ο ασθενής μετά από λίγο καιρό να καταλήξει. Παρόλο που δεν αποδείχτηκε ότι ο ιός είχε σχέση με το σερφινγκ, θεωρήθηκε πως αυτή ήταν η αιτία του θανάτου του (WHO, 2005).

1.4.3 *ENTEPOΪΟΣ – Echovirus*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι ιοί echo, ανήκουν στην οικογένεια Picornaviridae, στο γένος των ανθρώπινων εντεροϊών. Πρόσφατα η ταξινόμηση του Picornaviridae έχει ενημερωθεί, με αποτέλεσμα να υπάρχουν συνολικά 28 διαφορετικοί ορότυποι που μπορούν να προσβάλλουν τον άνθρωπο (King et al, 2000).



**Εικόνα 9: Echovirus [Ανατύπωση από
www.sciencepicturecompany.com]**

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Ο ιός Κοξάκη εμφανίζεται σε όλον τον κόσμο. Οι ιοί echo αποβάλλονται από τα κόπρανα των μολυσμένων ανθρώπων. Μπορεί όμως, να ανιχνευτεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε λύματα, σε υδάτινους πόρους και κατά την επεξεργασία πόσιμου νερού (WHO, 2004).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι ιοί echo, είναι μικροί, γραμμικοί γενώματος RNA. Οι ιοί έχουν μία εικοσαεδρική δομή, με διάμετρο 27nm.

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Μία σειρά από μελέτες που έχουν γίνει, έδειξαν ότι οι ιοί echo μπορούν να απομονωθούν από νερά αναψυχής, γλυκά νερά, πισίνες και λύματα. Η εφαρμογή της PCR, σε δείγματα θαλασσινού νερού έδειξε την παρουσία ιών echo (WHO, 2005).

Το 1992, μία έξαρση κρουσμάτων γαστρεντερίτιδας αναφέρθηκε σε ένα χωριό, στην Νότια Ιρλανδία. 64 άνθρωποι ανέφεραν συμπτώματα εμετού, διάρροιας και πονοκεφάλου, μετά από μπάνιο που πραγματοποίησαν σε εξωτερική πισίνα. Από αυτούς 34 κολυμβητές νόσησαν και ένας έκανε εμετό. Έρευνα που έγινε έδειξε ότι τα άτομα τα οποία είχαν καταπιεί νερό, είχαν περισσότερες πιθανότητες να νοσήσουν σε σύγκριση με αυτούς που δεν είχαν. Από το περιστατικό που είχε σχέση με τον εμετό, καθώς και από άλλα 6 περιστατικά, απομονώθηκε ο Echovirus 30 (Kee et al, 1994).

Ο ιός Echo 6 (E6), είναι ένας από τους κυριότερους εντερικούς ορότυπους που απομονώθηκε από περιπτώσεις άσηπτης μηνιγγίτιδας και εγκεφαλίτιδας κατά την διάρκεια των τελευταίων ετών στην Ελλάδα. Το Μάιο του 2006, στην πόλη της Λάρισας, απομονώθηκαν δύο τύποι E6, από την μονάδα επεξεργασίας λυμάτων (Kyriakopoulou et al., 2012).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

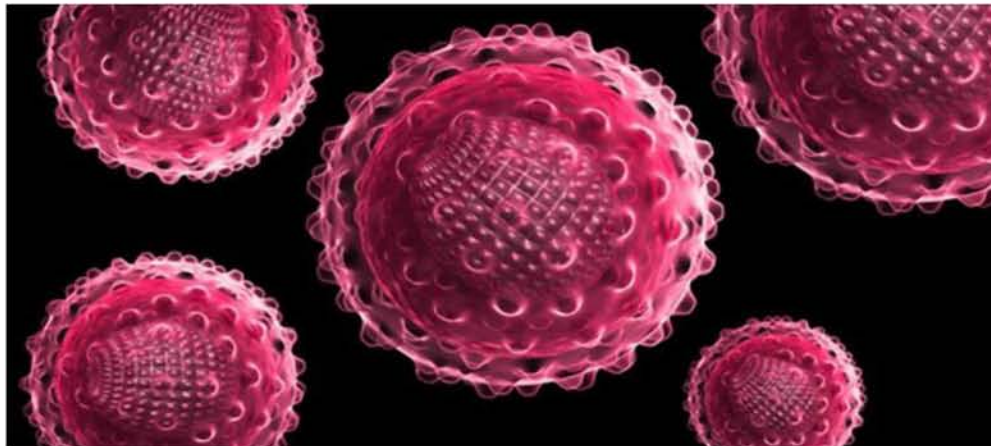
Παρόλο που υπάρχουν πολύ λίγες περιπτώσεις, που έχουν δημοσιευτεί, σχετικά με την απομόνωση Echovirus, σε ύδατα αναψυχής, παρόλα αυτά όσα περιστατικά καταγράφηκαν, έλαβαν χώρα κατά κύριο λόγο σε πισίνες.

Η πιο πιθανή πηγή μετάδοσης του ιού είναι διαμέσου της κοπρανοστοματικής οδού, ενώ αποκλείεται η μετάδοση από εκκρίσεις των ματιών και του λαιμού.

1.4.4 Hepatitis Virus A

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Ο ιός της Ηπατίτιδας Α είναι μικρός σε μέγεθος, αποτελείται από μονόκλωνο RNA και ανήκει στην οικογένεια Picornaviridae. Είναι το μόνο μέλος του γένους Hepatovirus (WHO, 2005).



Εικόνα 10: Ηπατίτιδα Α [Ανατύπωση από www.gastroenterologos.net]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Ο άνθρωπος είναι η μόνη γνωστή δεξαμενή.

ΔΙΑΝΟΜΗ

Ο ιός της Ηπατίτιδας Α, εμφανίζεται σε όλον τον κόσμο. Πιο συχνά όμως απαντάται σε τροπικές και υποτροπικές χώρες. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τα επίπεδα ενδημικότητας σε διάφορες περιοχές του κόσμου.

Πίνακας 5: Επίπεδα Ενδημικότητας σε διάφορες περιοχές του κόσμου

ΕΝΔΗΜΙΚΟΤΗΤ Α ΗΑΥ	ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΑΝΑ ΕΤΟΣ	ΠΙΘΑΝΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ
Πολύ Υψηλή	Αφρική, τμήματα της Νότιας Αμερικής, Ανατολική Μεσόγειος κ Νοτιοανατολική Ασία	Πάνω από 5	<ul style="list-style-type: none">• Από άτομο σε άτομο• Από μολυσμένα τρόφιμα και νερό
Υψηλή	Βραζιλία (περιοχή Αμαζονίου), Κίνα και Λατινική Αμερική	5-14	<ul style="list-style-type: none">• Από άτομο σε άτομο• Από μολυσμένο τρόφιμο ή νερό
Ενδιάμεση	Νότια και Ανατολική Ευρώπη, ορισμένες περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου	5-24	<ul style="list-style-type: none">• Από άτομο σε άτομο• Από μολυσμένο τρόφιμο ή νερό

Χαμηλή	Αυστραλία, Ηνωμένες Πολιτείες, Δυτική Ευρώπη	5-40	Κοινή πηγή επιδημιών
Πολύ Χαμηλή	Νότια Ευρώπη και Ιαπωνία	Πάνω από 20	Η έκθεση κατά την διάρκεια του ταξιδιού (σε ενδημικές περιοχές) αποτελεί ασυνήθιστη πηγή

WHO, 2003

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το σωματίδιο του ιού είναι σφαιρικό, έχει διάμετρο 27-28 nm. Ο ιός είναι σταθερός σε pH 3. Είναι ανθεκτικός σε ένζυμα του εντερικού σωλήνα και σε θερμοκρασία 60°C για 6h. Ο ιός παραμένει σταθερός σε θερμοκρασία δωματίου για μήνες (Percival et al, 2004).

ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Η μετάδοση και η διασπορά της Ηπατίτιδας Α, γίνεται με διάφορους τρόπους, είτε από άτομο σε άτομο, είτε μέσω του περιβάλλοντος. Η απευθείας μετάδοση από άτομο σε άτομο, γίνεται μέσω της κοπρανοστοματικής οδού, η οποία αποτελεί και τον πιο κοινό τρόπο μετάδοσης. Ωστόσο, έχουν καταγραφεί πολλές επιδημίες που έχουν σχέση με τα ωμά ή μαγειρεμένα οστρακοειδή (των οποίων η συγκομιδή τους γίνεται από μολυσμένα νερά), με την σεξουαλική επαφή και με το αίμα των μεταγγίσεων.

Δεδομένου ότι ο άνθρωπος αποτελεί τον μοναδικό φυσικό ξενιστή για τον HAV, η υδατογενής μετάδοση του ιού, πρέπει να προηγείται από την μόλυνση που προέρχεται από τα κόπρανα των ανθρώπων. Ο ιός περνάει από το στομάχι, αναπαράγεται στο κατώτερο τμήμα του εντέρου και στη συνέχεια περνά στο ήπαρ, όπου η αντιγραφή είναι ταχύτερη. Ο ιός απεκκρίνεται από το ήπαρ στη χολή και η μόλυνση προκαλείται από τα κόπρανα.

Εξαιτίας της φύσης του ιού της Ηπατίτιδας Α, οποιαδήποτε επιφανειακά νερά υπόκεινται σε μόλυνση από κόπρανα ή από λύματα, βρίσκονται σε κίνδυνο να μολυνθούν από HAV. Ο ιός της Ηπατίτιδας Α, απεκκρίνεται σε μεγάλες ποσότητες στα κόπρανα των μολυσμένων και ο ιός παραμένει ενεργός για μεγάλο χρονικό διάστημα, δεδομένου ότι είναι ιδιαίτερα ανθεκτικός στις περισσότερες συνθήκες.

ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α ΥΔΑΤΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται ορισμένες δημοσιευμένες περιπτώσεις του ιού της Ηπατίτιδας Α, που έχουν σχέση με τα ύδατα.

Πίνακας 6: Κρούσματα ηπατίτιδας Α, υδατογενούς προέλευσης

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ	ΧΩΡΑ	ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟ	ΠΗΓΗ
1992	Η.Π.Α	20 άτομα μεταξύ 4-36 χρόνων κόλλησαν HAV, μετά από την χρήση πισίνας	Mahoney et al, 1992
1994	ΓΑΛΛΙΑ	Οδηγοί οι οποίοι ήρθαν σε επαφή με περιβαλλοντικά ύδατα, εκτέθηκαν σε	Garin et al, 1994

		εντεροϊούς και στον ιό της Ηπατίτιδας Α	
1995	ΝΟΤΙΑ ΑΦΡΙΚΗ	Κωπηλάτες προσβλήθηκαν από HAV, από νερό το οποίο είχε μολυνθεί από κόπρανα	Taylor et al, 1995
1997	ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ	Κρούσματα που έχουν σχέση με τζακούζι	Tallis et al, 1997

1.4.5 Hepatitis Virus E

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Αρχικά ο ιός είχε χαρακτηριστεί ως ένα μέλος της οικογένειας *Coliciviridae*, αλλά πρόσφατα έχει τοποθετηθεί σε μία ξεχωριστή οικογένεια που ονομάζεται Ηπατίτιδα Ε, όπως οι ιοί (WHO, 2008).



Εικόνα 11: *Hepatitis Virus E* [Ανατύπωση από www.virology.wisc.edu]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Ο Ιός της Ηπατίτιδας Ε μεταδίδεται από μολυσμένα άτομα μέσω της κοπρανοστοματικής οδού, είτε από την στενή επαφή ή από την κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων ή πόσιμου νερού (WHO, 2005).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Ο HEV, είναι σχετικά ένας νέος ιός, ο οποίος ταυτοποιήθηκε το 1990. Ο HEV είναι ένας ιός χωρίς περίβλημα διαμέτρου από 27-38nm. Το γένωμα του αποτελείται από μία αλυσίδα RNA, θετικής κατεύθυνσης, μήκους 7,2 κιλοβάσεων περίπου (www.cdc.gov).

ΔΙΑΝΟΜΗ

Ο ιός της Ηπατίτιδας Ε εμφανίζεται πιο συχνά σε περιοχές όπου οι συνθήκες υγιεινής είναι κακές και η ασφάλεια του πόσιμου νερού δεν είναι ικανοποιητική. Ο HEV εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Ινδία το 1955, και έκτοτε έχει αναγνωριστεί σε πολλές περιοχές όπως: η Ασία, η Ανατολική Μεσόγειος, η Αφρική, η Ρωσία και η Κίνα (WHO, 2005).

ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Ο HEV μεταδίδεται κυρίως μέσω της εντερικής οδού. Μελέτες που έχουν γίνει πιστοποιούν την παρουσία του HEV στους χοίρους και στα κόπρανά. Τα ζώα που έχουν μολυνθεί από τον ιό, μπορούν να μολύνουν τα λύματα μέσω των κοπράνων. Η κατανάλωση μολυσμένου νερού αποτελεί έναν πολύ σημαντικό τρόπο μετάδοσης του ιού τόσο για τον άνθρωπο, όσο και για τα ζώα (WHO, 2005). Υπάρχουν όμως, βάσιμες υποψίες πως ο ιός μπορεί να μεταδοθεί ακόμα και από την κατανάλωση οστρακοειδών, τα οποία καλλιεργούνται σε μολυσμένα λύματα (Balayan, 1993).

Έχουν καταγραφεί πολλά κρούσματα HEV, που έχουν σχέση με την κατανάλωση μολυσμένου νερού ή τροφίμων. Δεν υπάρχει όμως, καταγεγραμμένο περιστατικό, που να σχετίζεται με την μόλυνση από άτομο σε άτομο (Karetnyi et al, 1999).

ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε

Τον Ιούνιο του 1991, ένας μαθητής λυκείου, ο οποίος είχε γεννηθεί στην Ινδία και ζούσε στις Η.Π.Α, από την ηλικία του ενός έτους, ταξίδεψε στην Ινδία. Πριν από το ταξίδι του έλαβε για προληπτικούς λόγους ανοσοσφαιρίνη κατά της Ηπατίτιδας Ε. Παρόλα αυτά τέσσερις βδομάδες μετά από την άφιξη του στην Ινδία ο ασθενής ανέπτυξε τα εξής συμπτώματα: διάρροια, πονοκέφαλο, πυρετό, απώλεια βάρους. Με την επιστροφή του στις Η.Π.Α, μία βδομάδα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων η κλινική εξέταση αποκάλυψε σκλήρυνση του χιτώνα του ματιού και μία ήπια διεύρυνση του ήπατος. Αν και οι ορολογικοί δείκτες για την Ηπατίτιδα Α, Β και Γ ήταν αρνητικοί, είχαν εντοπιστεί anti-HEV. Ο ασθενής αρνήθηκε οποιαδήποτε σχέση με ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών, με μεταγγίσεις αίματος, με αλκοολισμό ή με επαφή με οποιονδήποτε στον οποίο έχει διαγνωστεί ο ιός της Ηπατίτιδας. Ο ασθενής ανέφερε πως κατά την διάρκεια της παραμονής του στην Ινδία, το μεγαλύτερο μέρος του νερού που κατανάλωνε το έβραζε, ή χρησιμοποιούσε φιλτραρισμένο νερό. Ωστόσο, ανέφερε ότι περιστασιακά κατανάλωνε νερό το οποίο ήταν αφιλτράριστο και άβραστο. Ο ασθενής ανάνηψε πλήρως (WHO, 2005).

Ένα άλλο περιστατικό HEV, έλαβε χώρα στην Καλιφόρνια στις Η.Π.Α. Ένας άντρας μαζί με τα παιδιά του, είχαν πάει εκδρομή στην Σιέρα Νεβάδα για μία βδομάδα. Ένα μήνα μετά την επίσκεψή τους, διεγνώσθη πως ο άντρας έπασχε από HEV. Ο ασθενής ανέφερε πως στο κάμπινγκ που ήταν, κατανάλωσε νερό, το οποίο δεν ήταν βρασμένο και προέρχονταν από ένα πηγάδι που βρίσκονταν περίπου 60 πόδια από μία τουαλέτα. Ανέφερε επίσης, πως μόνο αυτός και όχι τα παιδιά του, κατανάλωσε νερό από την λίμνη, που ψάρευε. Τα παιδιά δεν ανέπτυξαν καμία ασθένεια μετά το ταξίδι. Η πηγή της μόλυνσης δεν μπόρεσε να διαπιστωθεί, αλλά ήταν σαφώς μέσα στην Καλιφόρνια. Παρά το γεγονός ότι ο ασθενής είχε εκτεθεί στο νερό της λίμνης ένας άλλος πιθανός τρόπος μετάδοσης του ιού της Ηπατίτιδας Ε είναι η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων (Reichier et al, 2000).

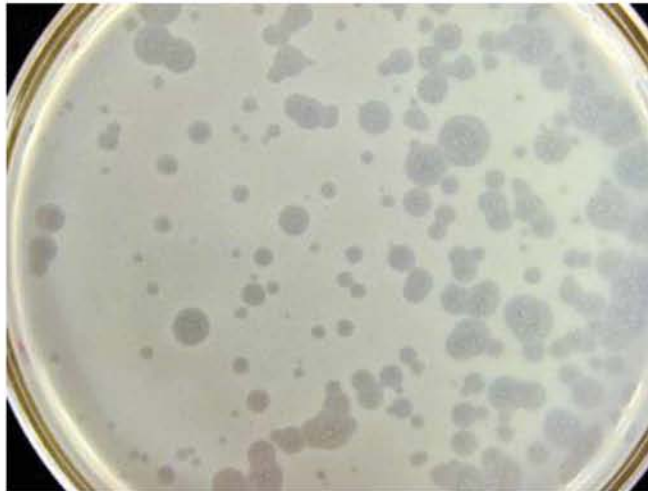
Έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε στο Μπαγκλαντές, στην κοινότητα Ντάκα απέδειξε πως ότι ο ιός της Ηπατίτιδας Ε, προκαλεί κρούσματα ίκτερου, που σχετίζονται με την μητρική θνησιμότητα. Τέσσερις θάνατοι κατεγράφησαν μεταξύ εγκύων γυναικών, στα

τέλη του 2008. Οι θάνατοι προκλήθηκαν από την μόλυνση του συστήματος ύδρευσης με λύματα (Gurley et al., 2014).

1.5 ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ

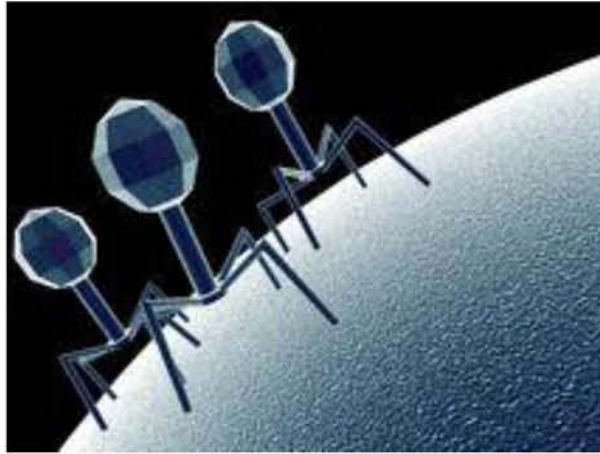
1.5.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ – ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ

Οι *βακτηριοφάγοι* ή *φάγοι* είναι οι ιοί που προσβάλουν και παρασιτούν αποκλειστικά τα βακτηριακά κύτταρα. Οι φάγοι είναι ευρέως διαδεδομένοι στη φύση. Υπάρχουν φάγοι για όλα σχεδόν τα βακτήρια και μπορούν να απομονωθούν αρκετά εύκολα στο εργαστήριο. Καλλιεργούνται όταν φρέσκιες αναπτυσσόμενες βακτηριακές καλλιέργειες σε θρεπτικό ζωμό ή στερεό θρεπτικό υλικό εμβολιαστούν με φάγους. Σε υγρές καλλιέργειες η λύση των βακτηρίων από τους φάγους μπορεί να μετατρέψει μια θολή βακτηριακή καλλιέργεια σε διαυγή, ενώ σε βακτηριακές καλλιέργειες σε στερεό θρεπτικό υλικό δημιουργούνται ζώνες διάλυσης οι οποίες είναι ορατές με γυμνό μάτι.



Εικόνα 12: Πλάκες διάλυσης σε στερεή καλλιέργεια

Οι βακτηριοφάγοι είναι απλοί οργανισμοί και αποτελούν μια εξαιρετικά ετερογενή ομάδα μικροοργανισμών που γενικά χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός μορίου νουκλεϊκού οξέως και ενός πρωτεϊνικού καλύμματος (καψίδιο). Η ταξινόμηση των φάγων γίνεται βάσει της μορφολογίας του καψιδίου, όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (εικοσαεδρική χωρίς ουρά, εικοσαεδρική με ουρά και η νηματοειδής) και της φύσης του ενός μορίου νουκλεϊκού οξέως που έχουν ως γενετικό υλικό (απλή ή διπλή, ευθύγραμμη ή κυκλική αλυσίδα DNA ή απλή αλυσίδα ευθύγραμμου RNA) (Bradley, 1967 ; Ackerman, 1978; Coetzee, 1987).



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση φάγου [Ανατύπωση από gr.dreamstime.com]

Υπάρχουν δύο κατηγορίες κύκλων ζωής, ο λυτικός και ο λυσιγονικός κύκλος. Ο φάγος που ακολουθεί μόνο το λυτικό κύκλο ονομάζεται λοιμογόνος (virulent). Στο λυσιγονικό κύκλο μπαίνουν οι φάγοι με διπλή έλικα DNA (υπολοιμογόνοι - temperate).

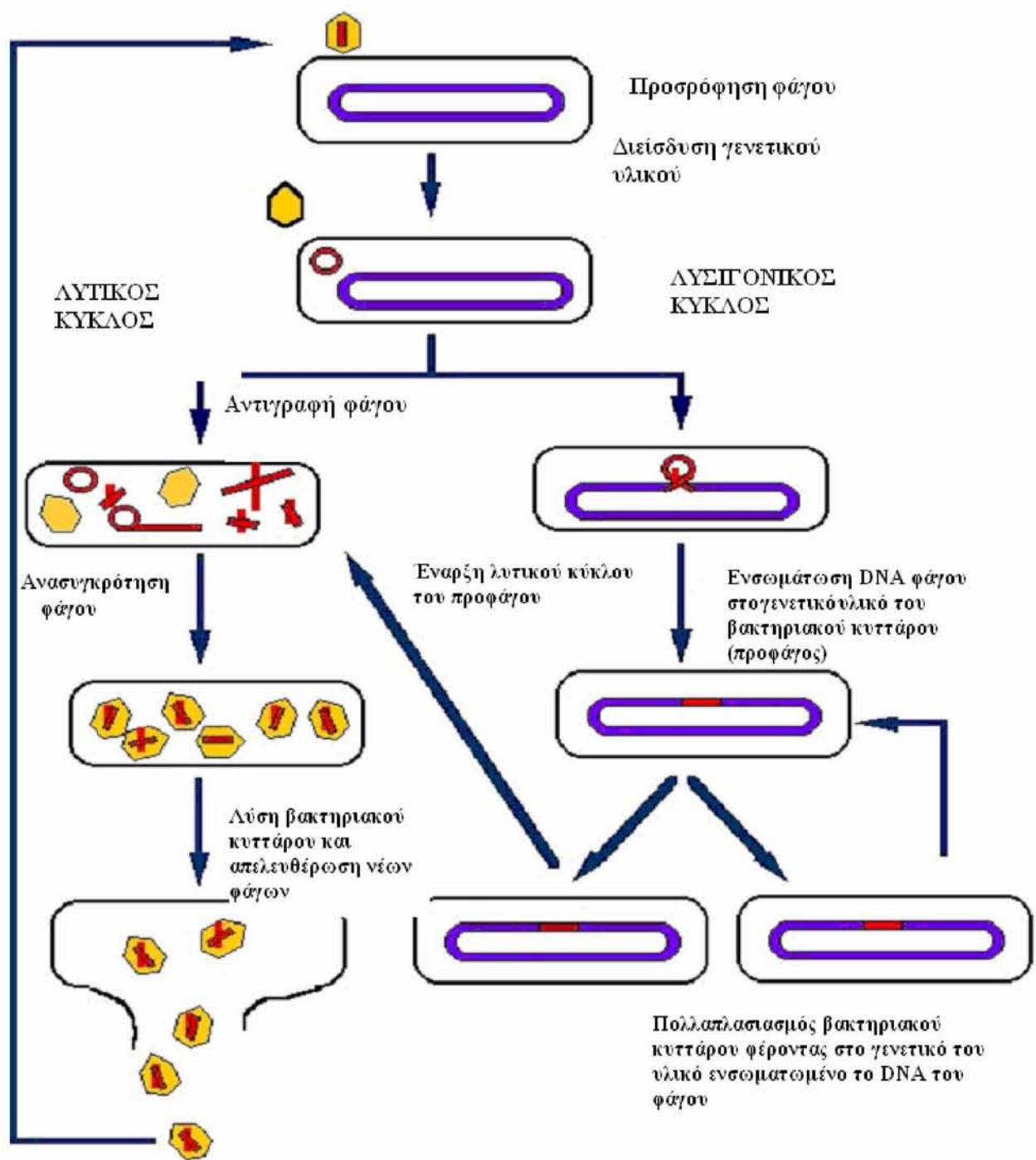
1.5.2 Λυτικός Κύκλος

Ο κύκλος ζωής των λοιμογόνων φάγων εξαρτάται αποκλειστικά από τις μεταβολικές δραστηριότητες του βακτηρίου – ξενιστή και ακολουθεί την παρακάτω πορεία (Duckworth, 1987) :

- α. προσρόφηση του φάγου σε υποδοχέα του βακτηριακού κυττάρου
- β. διείσδυση του γενετικού υλικού του φάγου στο βακτηριακό κύτταρο
- γ. αντιγραφή των γενετικού υλικού του φάγου από τους μηχανισμούς του βακτηρίου – ξενιστή
- δ. «ανασυγκρότηση» των συστατικών του φάγου στο εσωτερικού του βακτηριακού κυττάρου
- ε. λύση του βακτηριακού κυττάρου και απελευθέρωση των φάγων. Ο χρόνος που μεσολαβεί από την αρχική προσρόφηση του φάγου σε ένα βακτηριακό κύτταρο μέχρι την απελευθέρωση περίπου 200 νέων φάγων είναι περίπου 25 λεπτά.

1.5.3 Λυσιγονικός Κύκλος

Οι υπολοιμογόνοι φάγοι ενσωματώνουν το DNA τους στο βακτηριακό DNA (προφάγος). Το βακτήριο εξακολουθεί να αναπτύσσεται και να πολλαπλασιάζεται και τα γονίδια του φάγου διπλασιάζονται σαν τμήμα του βακτηριακού γενετικού υλικού. Συχνά, μετά από πολλές βακτηριακές γενιές και υπό κατάλληλες συνθήκες σπάει ο λυσιγονικός κύκλος και αρχίζει ο λυτικός κύκλος για το φάγο.



ΛΥΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΛΥΣΙΓΟΝΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΑΠΟ ΤΟΝ λ ΦΑΓΟ

Εικόνα 14: Λυτικός και λυσιγονικός κύκλος από το λ φάγο σε βακτηριακό κύτταρο [Ανατύπωση από Duckworth, 1987]

1.5.4 Οι Βακτηριοφάγοι ως Μικροβιολογικοί Δείκτες

Στις αναπτυγμένες χώρες πολλές επιδημιολογικές μελέτες για τις υδατογενείς λοιμώξεις δείχνουν ότι συχνότερο αίτιό τους είναι οι ιοί και τα πρωτόζωα, από ότι τα βακτήρια (Levi,1998). Η ανίχνευσή τους, όμως, απαιτεί πολύπλοκες και χρονοβόρες μεθόδους.

Επιπλέον, οι εντεροϊοί είναι πολύ πιο ανθεκτικοί στις περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά και σε διαδικασίες βιολογικής επεξεργασίας νερού ή λυμάτων από ότι τα βακτήρια. Επομένως, η απουσία των κλασικών βακτηριακών δεικτών, που προαναφέρθηκαν, σε ένα δείγμα νερού ή επεξεργασμένου λύματος ή ακόμα η μείωση των δεικτών αυτών κατά τη διάρκεια μιας βιολογικής επεξεργασίας νερού ή λύματος δεν εξασφαλίζει την απουσία ή μείωση και των εντεροϊών, καθώς οι τελευταίοι είναι πιο ανθεκτικοί. Κάποιες ομάδες βακτηριοφάγων, δηλαδή οι ιοί των βακτηρίων, παρουσιάζουν παρόμοια μορφολογία, ανθεκτικότητα και επιβίωση με τους εντεροϊούς, γι' αυτό και το 1949 προτάθηκε από τον Guelin οι φάγοι να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες κοπρανόδους ρύπανσης, αλλά και ως δείκτες παρουσίας εντεροϊών σε νερό και λύμα. Οι βακτηριοφάγοι που μελετώνται ανήκουν σε τρεις ομάδες: οι σωματικοί κολιφάγοι, οι φάγοι των F-RNA βακτηρίων και οι φάγοι του *Bacteroides fragilis*. Οι φάγοι αυτοί είναι άφθονοι στα κόπρανα και στα λύματα, δεν είναι παθογόνοι και οι μέθοδοι ανίχνευσής τους απαιτούν μεθόδους απλές, σύντομες και με χαμηλό κόστος. Επομένως, πληρούν όλες τις προϋποθέσεις ενός μικροβιολογικού δείκτη (Havelaar, 1983; 1985; 1986; 1987; 1988; 1991; 1993b; Grabow, 1986; Kott, 1974).

Για να είναι εύκολη η ανίχνευση των βακτηριοφάγων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες κοπρανόδους ρύπανσης και εντεροϊών και ως δείκτες επεξεργασίας μιας βιολογικής επεξεργασίας, βασική προϋπόθεση είναι οι φάγοι αυτοί να βρίσκονται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις στα ανθρώπινα κόπρανα και στα αστικά απόβλητα.

Τρεις ομάδες φάγων θεωρούνται κατάλληλοι:

- οι σωματικοί κολιφάγοι (Somatic coliphages -SOMCPH),
- οι φάγοι που λύουν βακτήρια που έχουν F-RNA πλασμίδιο (F-RNA phages – FRNAPH)
- και οι φάγοι του *Bacteroides fragilis* (Phages of *Bacteroides fragilis* - BFRPH).

Σε μελέτες που έχουν γίνει σε Ευρώπη και ΗΠΑ έχει βρεθεί ότι οι σωματικοί κολιφάγοι ανιχνεύθηκαν σε 2.5–88 % των δειγμάτων ανθρώπινων κοπράνων, οι F-specific RNA βακτηριοφάγοι στο 0-57% των δειγμάτων, ενώ οι φάγοι του *B.fragilis* στο 0-15% των δειγμάτων. (Grabow, 1993; Havelaar, 1986). Σε σύγκριση με τους φάγους, οι εντεροϊοί ανιχνεύονται μόνο στα κόπρανα ανθρώπων που έχουν μολυνθεί (είτε εμφανίζουν συμπτώματα της νόσου είτε όχι) και ο αριθμός τους ποικίλει στα διάφορα αστικά λύματα. Η μέση συγκέντρωση των εντεροϊών στα αστικά λύματα των χωρών της Ε.Ε. είναι 0.1 pfp/ml (Havelaar, 1993; Tartera, 1988; Tartera, 1989; Payment, 1989).

Πίνακας 7: Συγκεντρώσεις των τριών ομάδων φάγων σε κόπρανα και λύματα

	Συχνότητα ανίχνευσης	Συγκέντρωση pfu/g κοπράνων	Ανίχνευση σε ζωικά κόπρανα	Ανίχνευση σε αστικά απόβλητα (pfu/ml)
SOMCPH	90%	10^4 - 10^6	ίσως και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από ότι σε ανθρώπινα κόπρανα	Ναι (10^3 - 10^5)

FRNAPH	έως 60%	έως 10^3	κυρίως από ζώα της βιομηχανίας	Ναι (10^2 - 10^4)
BFRPH	15 %	έως 10^3	-	Ναι (10^1 - 10^3)

(Grabow, 1993; Havelaar, 1986)

Πίνακας 8: Τυπικές συγκεντρώσεις εντεροϊών, βακτηριοφάγων και βακτηριακών δεικτών σε αστικά λύματα. Η συγκέντρωση των κοπρανωδών κολοβακτηριοειδών είναι συνήθως υψηλότερη από αυτή των βακτηριοφάγων, ενώ η συγκέντρωση των εντεροκόκκων είναι παρόμοια με αυτή των SOMCPH.

Μικροοργανισμοί	Συγκέντρωση pfu ή cfu / ml
Εντεροϊοί	1×10^{-1}
SOMCPH	1×10^4
FRNAPH	1×10^3
BFRPH	1×10^2
Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή	1×10^5
Εντερόκοκκοι	1×10^4

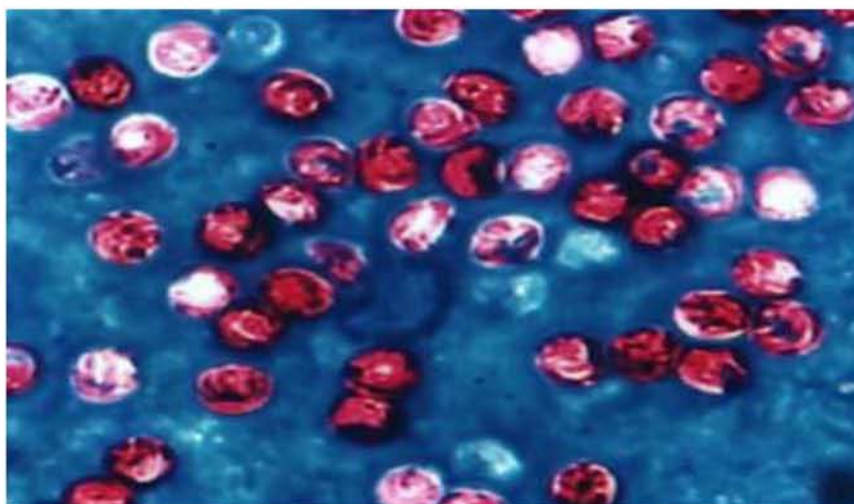
(Havelaar, 1993; Tartera, 1988; Tartera, 1989; Payment, 1989).

1.5 ΠΡΩΤΟΖΩΑ

1.5.1 *Cryptosporidium parvum*

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το *Cryptosporidium parvum*, ανήκει στο φύλο *Apicomplexa* (*Sporozoa*), στην κατηγορία/κλάση *Coccidae* και στην οικογένεια *Cryptosporididae*. Υπάρχουν 10 αναγνωρισμένα είδη, αλλά το *Cryptosporidium parvum* είναι αυτό που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον άνθρωπο (Morgan et al., 1999).



Εικόνα 15: *Cryptosporidium parvum* [Ανατύπωση από www.microbewiki.kenyon.edu]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ *Cryptosporidium parvum*

Το *Cryptosporidium parvum* είναι ένα εντερικό κοκκιδιακό παράσιτο, το οποίο μολύνει το γαστρεντερικό σωλήνα των ανθρώπων και των ζώων. Οι ωοκύστες του κρυπτοσποριδίου είναι διαδεδομένες στο περιβάλλον. Το κρυπτοσπορίδιο αποτελεί πρόβλημα για τα επιφανειακά ύδατα, στις περισσότερες περιοχές, κατά την διάρκεια των ανοιξιάτικων βροχών, λόγω του ότι αυξάνονται οι απορροές. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα ζώα που βρίσκονται στις περιοχές αυτές, να καταναλώνουν μεγάλο αριθμό ωοκύστεων. Πολλά ενήλικα ζώα συνεχίζουν να παράγουν χαμηλό αριθμό ωοκύστεων, σε τακτική βάση, ο οποίος επιβαρύνει το περιβάλλον και αποτελεί πηγή μόλυνσης για τα νεογνά (Castro-Hermida, 2002).

Οι βλάβες ή η υπερφόρτωση των δημόσιων παροχών νερού έχουν οδηγήσει σε επιδημίες κρυπτοσποριδίωσης (σε επίπεδο κοινότητας). Παρόλα αυτά όμως, υπάρχουν πολλές αναφορές, οι οποίες δεν έχουν δημοσιευτεί, σχετικά με την προέλευση των παρασίτων, από δημόσιες παροχές νερού. Πολλές περιπτώσεις, αντιπροσωπεύουν περιπτώσεις κρυπτοσποριδίωσης, οι οποίες μεταδίδονται στον άνθρωπο από ζώα συντροφιάς όπως γατάκια και σκυλάκια ή από την επαφή τους με άλλους ανθρώπους (Tzipori and al, 2002).

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΝΟΣΟΥ

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, το κρυπτοσπορίδιο έχει αναγνωριστεί ως μία από τις πιο κοινές αιτίες υδατογενών νόσων, σε ανθρώπους στις Ηνωμένες Πολιτείες (Groseclose

et al, 2002). Στην Νοτιοανατολική Ασία και στην Δυτική Περιφέρεια του Ειρηνικού, έχει αναφερθεί ότι η ετήσια επίπτωση της λοίμωξης κυμαίνεται από 2% έως 20% και στην Ινδία από 4% έως 15% (Nath et al, 1999).

Έρευνες που έχουν γίνει σε αναπτυσσόμενες χώρες, έχουν δείξει ότι ο επιπολασμός της λοίμωξης κυμαίνεται μεταξύ 1% έως 4,5% και πολλές από τις λοιμώξεις που παρουσιάζονται είναι υποκλινικές. Στις ΗΠΑ περίπου το 20% των νεαρών ενηλίκων εμφανίζουν αντισώματα IgG για το κρυπτοσπορίδιο. Στις περισσότερες αγροτικές περιοχές της Κίνας το 75% των παιδιών, ηλικίας 11 έως 13 χρονών είναι οροθετικά και στην Βραζιλία, σε μία παραγκούπολη πάνω από το 90% των παιδιών, από την ηλικία του 1 έτους ήταν οροθετικά (WHO,2005).

ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΕΠΩΑΣΗΣ

Ο χρόνος επώασης κυμαίνεται μεταξύ επτά και δέκα ημερών

ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η μολυσματική δόση των ωοκύστεων για τους ανθρώπους είναι άγνωστη, αλλά υπολογίζεται ότι είναι μικρότερη από 10 ωοκύστες. Ο αριθμός των ωοκύστεων που αποβάλλεται από άρρωστα άτομα κυμαίνεται μεταξύ 10^6 και 10^7 ανά γραμμάριο κοπράνων (Dillingham et al, 2002).

ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΚΡΥΠΤΟΣΠΟΡΙΔΙΑΣΗΣ

Το κρυπτοσπορίδιο είναι ένα κοσμοπολίτικο μικροσκοπικό παρασιτικό πρωτόζωο, που προκαλεί σοβαρές διαρροϊκές ασθένειες σε θηλαστικά συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων και των ζώων. Υπάρχουν ολόενα και αυξανόμενα στοιχεία, που πιστοποιούν τις τροφιμογενείς λοιμώξεις από το κρυπτοσπορίδιο. Ωστόσο η κατανάλωση νερού, εξακολουθεί να είναι η κύρια πηγή μόλυνσης (Macarisin et al., 2010).

Στις 14 - 16 Νοέμβριο του 2010, στην περιοχή Νιαγάρα του Καναδά αναφέρθηκαν 12 περιπτώσεις κρυπτοσποριδίασης. Όλοι είχαν επισκεφτεί το ίδιο θαλάσσιο πάρκο. Από την έρευνα που διεξήχθη αποκαλύφθηκε πως η πηγή της ρύπανσης ήταν το σύστημα απολύμανσης υπερϊόδους ακτινοβολίας, το οποίο ήταν εκτός λειτουργίας στις 14 Νοεμβρίου (Hopkins et al., 2013).

Η πρώτη περίπτωση κρυπτοσποριδίασης, στην Κορέα, αναφέρθηκε το 1995. Άλλη υδατογενή επιδημία που να οφείλονταν σε *Cryptosporidium* δεν είχε αναφερθεί μέχρι το 2012. Τον Μάιο του 2012, σε ένα παλιό συγκρότημα διαμερισμάτων στη Σεούλ, υπήρξαν 126 κρούσματα κρυπτοσποριδίασης. Το πιο κοινό κλινικό σύμπτωμα που ανέπτυξαν οι ασθενείς ήταν η διάρροια η οποία διήρκεσε 5 ημέρες, κατά μέσο όρο. Ο κοινός παράγοντας έκθεσης και των 126 ασθενών ήταν το νερό. Κατά την διάρκεια της έρευνας, διαπιστώθηκε πως οι αγωγοί των λυμάτων που περνούσαν πάνω από τους σωλήνες ύδρευσης, ήταν διαβρωμένοι (Moon et al., 2013).

Τον Νοέμβριο του 2010, στην περιοχή Όστερσαντ της Σουηδίας περίπου 27.000 κάτοικοι επηρεάστηκαν από υδατογενή επιδημία, κρυπτοσποριδίασης. Τα χαρακτηριστικά αυτής της επιδημίας ήταν η ταχεία έναρξη της, καθώς και τα υψηλά ποσοστά επιθετικότητας, ειδικά στα νεαρά άτομα και στους μεσήλικες. Ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της κρυπτοσποριδίασης προσδιορίστηκαν το νεαρό της ηλικίας, ο αριθμός των μολυσμένων μελών την οικογένειας, η ποσότητα του νερού που καταναλώνονταν καθημερινά (Widerstrom et al., 2014).

Μία συγχρονική μελέτη, 600 κατοίκων πραγματοποιήθηκε σε νοικοκυριά, τα οποία είτε εξυπηρετούνταν με επιτόπια συστήματα παροχής λυμάτων, είτε με ιδιωτικές γεωτρήσεις. Η έρευνα διεξήχθη σε τρεις διαφορετικές τοποθεσίες, στο κέντρο του

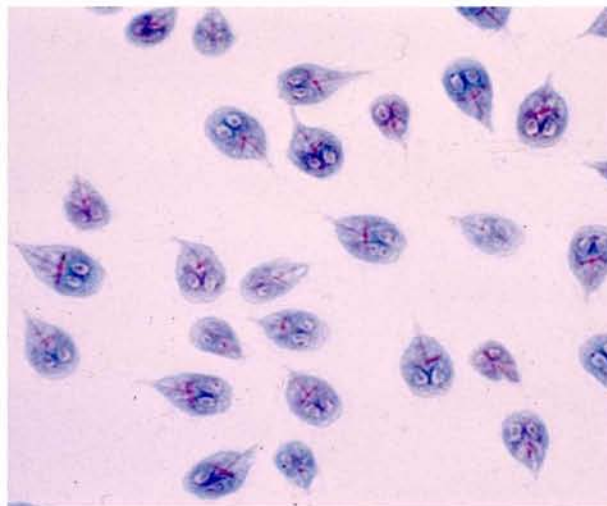
Μεξικού. Από κάθε συμμετέχοντα λαμβάνονταν ένα δείγμα αίματος και ένα δείγμα από το νερό που χρησιμοποιούνταν. Τα αποτελέσματα έδειξαν άμεση συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης νερού από τις παροχές λυμάτων – γεωτρήσεων με τον κίνδυνο λοίμωξης από *Cryptosporidium* (Tollestrup et al., 2014).

Το 2010 στην περιοχή της κομητείας της Στοκχόλμης και σε δύο πόλεις της Σουηδίας είχαμε περιπτώσεις κρυπτοσποριδίασης. Και στα 30 δείγματα κοπράνων που ελήφθησαν και από τις τρεις περιοχές, εντοπίστηκαν ωοκύστες *Cryptosporidium*. Οι έρευνες απέδειξαν πως η συγκεκριμένη έξαρση κρουσμάτων δεν οφείλονταν σε κάποιο τρόφιμο. Ωστόσο, υπήρχαν υποψίες πως τα φρέσκα βότανα ήταν η πηγή της μόλυνσης (Gherasim et al., 2012).

1.5.2 *Giardia* spp.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το γένος *Giardia* ανήκει στην τάξη *Diplomonadida* και στην οικογένεια *Hexamitidae*. Υπάρχουν τρία γνωστά είδη *Giardias*, εκ των οποίων μόνο η *G. Duodenalis* προσβάλλει τον άνθρωπο (Thomson et al., 2000).



Εικόνα 16: Τροφοζώidia *Giardias* [Ανατύπωση από www.cdc.gov]

ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Οργανισμοί γιαρδίασης είναι ευρέως κατανεμημένοι στη φύση (WHO,1996). Η κύρια δεξαμενή της, είναι τα ζώα (Thomson et al., 2000). Έχει αναφερθεί πως η *Giardia* έχει εντοπιστεί σε πάνω από 40 είδη ζώων, συμπεριλαμβανομένων των αμφιβίων, των πτηνών και των θηλαστικών (WHO,1996). Παρόλα αυτά, είναι άγνωστο εάν οι συγκεκριμένες πηγές ευθύνονται για τις ανθρώπινες ασθένειες. Τα περισσότερα κρούσματα έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση νερού, το οποίο έχει μολυνθεί από κόπρανα ανθρωπογενούς προέλευσης (Thomson et al., 2000).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΗΣΤΙΚΑ

Η *G. duodenalis* είναι διπύρρηνο, μαστιγοφόρο, πρωτόζωο που κατοικεί στο άνω μέρος του λεπτού εντέρου, των σπονδυλωτών ξενιστών του.

ΕΞΑΡΣΕΙΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ

Για το έτος 1991-1992, στις Η.Π.Α σε 17 πολιτείες καταγράφηκαν 34 εξάρσεις κρουσμάτων, που σχετίζονταν με την κατανάλωση ύδατος. 17.464 άτομα αρρώστησαν. Ως ένας από τους αιτιολογικούς παράγοντες, αναγνωρίστηκε το παρασιτικό πρωτόζωο *Giardia* (Moore et al., 1993).

Για την περίοδο 1995 – 1996, κατεγράφησαν 22 κρούσματα που σχετίζονταν με την κατανάλωση νερού, σε 13 πολιτείες των Η.Π.Α. Συνολικά 2.567 άτομα αρρώστησαν, χωρίς να αναφερθεί κανένας θάνατος. Σε δύο από τα είκοσι δύο κρούσματα, αναγνωρίστηκε η *G. lamblia* (Levy et al., 1998).

Τον Απρίλιο του 2010, στην επαρχία Τζεολαμπούκ της Κορέας, εννέα άτομα ηλικίας γύρω στα 25, παρουσίαζαν έντονο κοιλιακό άλγος, το οποίο συνοδεύονταν από διάρροια. Όλοι είχαν καταναλώσει νερό, το οποίο ήταν αποθηκευμένο μέσα σε μία δεξαμενή. Σε επτά από τα είκοσι πέντε άτομα, ανιχνεύτηκε μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης η *G. lamblia* (Cheun et al., 2013).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ύδατα αναψυχής, αποτελούν έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου της λαμβλίας. Η πλειοψηφία των ασθενών παραμένουν συμπτωματικοί για μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ οι ανοσοκοτεσταλμένοι ασθενείς, δεν μπορούν να ανακάμψουν και καταλήγουν. Ο κίνδυνος θανάτου και η πιθανότητα λοίμωξης από αυτήν την λοίμωξη είναι χαμηλή. Ωστόσο, η οξεία φάση της νόσου μπορεί να παραταθεί και να είναι μέτριας σοβαρότητας (WHO, 2005).

1.6 ΜΥΚΗΤΕΣ

Οι μύκητες είναι μία ομάδα οργανισμών που ανήκουν στο βασίλειο *Eumycota*. Τα είδη των μυκήτων κυμαίνονται από απλούς μονοκύτταρους οργανισμούς μέχρι πολύπλοκους πολυκύτταρους οργανισμούς. Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί, ετερότροφοι οργανισμοί. Τα κύτταρα τους περιπλέκονται από ανθεκτικό κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο αποτελείται κυρίως από χιτίνη και γλυκάνη. Είναι ετερότροφοι οργανισμοί. Εξαρτώνται από την διαθεσιμότητα των οργανικών ενώσεων, που είναι πλούσιες σε θρεπτικά συστατικά. Οι περισσότεροι μύκητες ζουν ελεύθερα και μπορούν να ταξινομηθούν στις εξής κατηγορίες:

- a. Νηματοειδείς μύκητες
- b. Ζύμες
- c. Μανιτάρια

Ορισμένοι μύκητες ζουν στο νερό, φυσιολογικά. Οι μύκητες αυτοί είναι zoosporio, και πολλοί ανήκουν στο φύλο *Chytridiomycota* (More et al., 2010).

Η ιλύ των λυμάτων περιέχει μία μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών όπως είναι οι ιοί, τα βακτήρια, οι μύκητες, τα φύκη, τα πρωτόζωα, τα σκουλήκια, η οποία αποτελεί μία πλούσια πηγή οργανικής ύλης. Η ιλύς των λυμάτων περιέχει τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά, που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των μυκήτων (Fakh-ru'l et al., 2007).

1.6.1 *Candida* spp.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το γένος *Candida* ανήκει στην οικογένεια *Candidaceae*. Υπάρχουν περισσότερα από 200 είδη *Candida*, αλλά μόνο 9 από αυτά θεωρούνται παθογόνα για τον άνθρωπο και είναι τα εξής: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae* και *C. glabrata*. Λοιμώξεις από άλλα είδη αναφέρονται σπάνια, όπως για παράδειγμα από τον *C. inconspicua*, ο οποίος είναι ανθεκτικός στα αζόλεα (Sigmundsdottir, 2010).



Εικόνα 17: *Candida* spp. [Ανατύπωση από www.doctorfungus.org]

ΔΕΞΑΜΕΝΗ

Η *Candida* είναι η πιο κοινή αιτία μυκητιακών λοιμώξεων, στους ανθρώπους σε όλον τον κόσμο. Είναι ένα φυσικό συστατικό της ανθρώπινης χλωρίδας και απαντάται συνήθως στο γαστρεντερικό σωλήνα, στα πύελα, στη γυναικεία γεννητική οδό, στα ούρα ασθενών με καθετήρα, και στο δέρμα. Παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία των λοιμώξεων με *Candida* είναι ενδογενούς προέλευσης, η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο είναι δυνατή. Παράδειγμα αποτελεί η μυκητώδης στοματίτιδα των νεογνών, τα οποία μπορούν να μολυνθούν από τον κόλπο της μητέρας (Elbaze et al., 1992; Chassot et al., 2008).

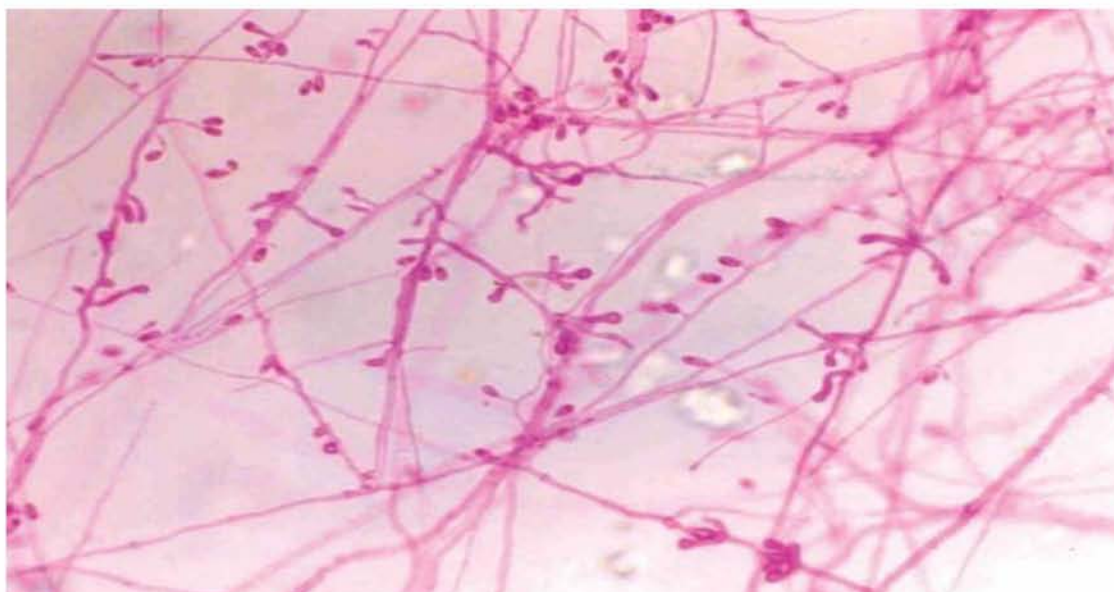
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Οι μικροοργανισμοί που ανήκουν στο γένος *Candida* είναι μικροκύτταρα (4-6 μm), ωοειδούς σχήματος, θετικά στην χρώση Gram. Πολλαπλασιάζονται με σεξουαλικό και με μη σεξουαλικό τρόπο αναπαραγωγής, αλλά κυρίως με εκβλάστηση (μίτωση). Τα είδη της *Candida*, αναπτύσσονται αερόβια στους 25 έως 37° C, σχηματίζοντας λευκές, κρεμώδεις, λείες αποικίες σε τρυβλία τα οποία περιέχουν αιματούχο άγαρ. Ανάπτυξη μπορεί να παρατηρηθεί σε τρυβλία με άγαρ μετά από 24h, αν και ως επί το πλείστον οι αποικίες γίνονται ορατές μετά από 48 έως 72h επώασης. Η χαρακτηριστική μορφολογία των κυτταρικών δομών των *Candida* είναι οι ψευδοϋφές και οι υφές οι οποίες μπορούν να ανιχνευθούν και με άμεση μικροσκόπηση των δειγμάτων (Hazen et al., 1987).

1.6.2 Pseudallescheria boydii

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το γένος *Pseudallescheria*, ανήκει στην οικογένεια *Microascaceae*. Το γένος *Pseudallescheria*, περιλαμβάνει μόνο ένα είδος, το *Pseudallescheria boydii* (www.doctorfungus.org).



Εικόνα 18: Μικροσκοπική μορφολογία του *Pseudallescheria boydii* [Ανατύπωση από www.ncbi.nlm.nih.gov]

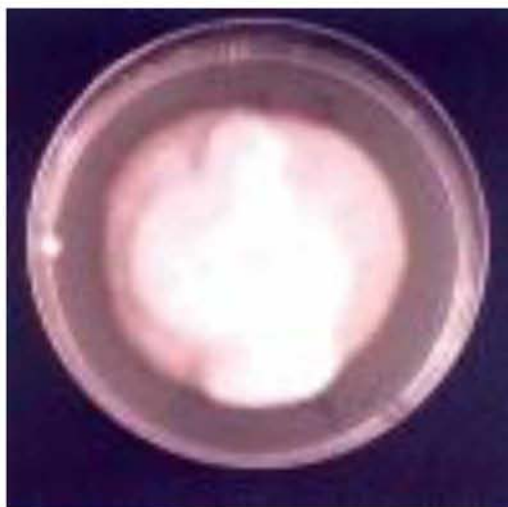
ΛΕΞΑΜΕΝΗ

Ο *Pseudallescheria boydii*, είναι ένας νηματοειδής μύκητας, ο οποίος βρίσκεται σε όλον τον κόσμο. Μέχρι στιγμής έχει απομονωθεί από το χώμα, τις αποχετεύσεις, τα μολυσμένα ύδατα, και από την κοπριά. Είναι ένα ευκαιριακά παθογόνο, και μπορεί να προκαλέσει διάφορες μολύνσεις στους ανθρώπους (www.doctorfungus.org). Ο *P.boydii*, εντοπίζεται όλο και περισσότερο σε ανοσοκατασταλμένους ξενιστές. Η πύλη εισόδου είναι το αναπνευστικό σύστημα, με πιθανή ευρεία διάδοση και σε άλλα όργανα (Bibashi et al., 2009).

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Ο *P.boydii*, είναι ένας σαπροφυτικός μύκητας, ο οποίος προκαλεί συνήθως δερματική λοίμωξη. Ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να προκαλέσει διεισδυτική νόσο, η οποία μπορεί να περιλαμβάνει και το κεντρικό νευρικό σύστημα. Όταν το κεντρικό νευρικό σύστημα προσβληθεί, η θεραπεία είναι δύσκολη. Οι θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες και η πρόγνωση είναι φτωχή. Για την συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών η έκβαση είναι θανατηφόρα, ακόμα και όταν η διάγνωση γίνει έγκαιρα (Nesky et al., 2014).

Οι αποικίες του *P.boydii*, αναπτύσσεται ταχέως στους 25° C, σχηματίζοντας λευκές, κρεμώδεις αποικίες.



Εικόνα 19: Μακροσκοπική εμφάνιση του *Pseudallescheria boydii*
[Ανατύπωση από www.ncbi.nlm.nih.gov]

1.7 ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΔΟΥΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ

Τα παθογόνα σπάνια μπορούν να μετρηθούν άμεσα στα λύματα ή στα περιττώματα και αυτό γιατί οι συγκεντρώσεις τους ποικίλουν και οι μέθοδοι ανάλυσης είναι συχνά δύσκολες ή ακριβές, για να πραγματοποιηθούν. Αντ' αυτού χρησιμοποιούνται οι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, όπως η *E.coli* και τα θερμοανθεκτικά κολοβακτηρίδια (WHO, 2004a).

Στον παρακάτω πίνακα παρέχονται ορισμένα παραδείγματα οργανισμών, οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί για να αξιολογήσουν τον κίνδυνο που προκύπτει από την χρήση λυμάτων στην γεωργία. Ωστόσο, πολλοί από αυτούς τους οργανισμούς έχουν χρησιμοποιηθεί σε ερευνητικές μελέτες αλλά δεν ενδείκνυται να χρησιμοποιηθούν στην ρουτίνα του εργαστηρίου, λόγω του υψηλού κόστους και του εξειδικευμένου εξοπλισμού που απαιτείται. Από την ομάδα των βακτηρίων η *E.coli* και τα θερμοανθεκτικά κολοβακτηρίδια χρησιμοποιούνται περισσότερο στους οδηγούς που έχουν σχέση με τα ύδατα δεδομένου ότι αυτά τα βακτήρια παρακολουθούνται πιο συχνά από τους δείκτες που σχετίζονται με την κοπρανώδη μόλυνση (WHO, 2004 ; Jimenez, 2003).

Πίνακας 9: παραδείγματα ανθρώπινων παθογόνων που εντοπίζονται στα λύματα

ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ	ΔΕΙΚΤΕΣ	ΣΧΟΛΙΑ
ΒΑΚΤΗΡΙΑ <i>Shigella</i> , enterotoxigenic <i>E.coli</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Vibrio cholerae</i>	<i>E.coli</i> , θερμοανθεκτικά κολοβακτηρίδια, εντερόκοκκος	Η <i>E.coli</i> / τα θερμοανθεκτικά κολοβακτηρίδια αποτελούν μία ομάδα βακτηρίων, τα οποία χρησιμοποιούνται εδώ και 100 χρόνια ως μοντέλα για παθογόνα βακτήρια. Η συμπεριφορά της <i>E.coli</i> και των εντερόκοκκων (όχι των ολικών κολοβακτηριδίων) κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες αναμένεται να αντικατοπτρίζει τα εντερικά παθογόνα, αλλά όχι περιβαλλοντικά βακτήρια, όπως η <i>Legionella</i> ή το <i>Mycobacterium</i>
ΙΟΙ Αδενοϊοί, Ροταϊοί, Εντεροϊοί, Νοροϊοί, Ιός Ηπατίτιδας Α	Βακτηριοφάγοι: σωματικοί κολιφάγοι ή F- RNA κολιφάγοι	Οι βακτηριοφάγοι είναι οι ιοί οι οποίοι μολύνουν τα βακτήρια. Θεωρούνται μη παθογόνα για τον άνθρωπο. Μπορούν να καλλιεργηθούν εύκολα στο εργαστήριο καθώς και να καταμετρηθούν. Γενικά παρουσιάζονται στα κόπρανα θερμόαιμων ζώων, αλλά ορισμένα στελέχη μπορεί να είναι ειδικά για τον άνθρωπο .
ΠΡΩΤΟΖΩΑ Ωοκύστες του <i>Cryptosporidium</i> , κύστες <i>Giardia</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Το <i>Clostridium perfringens</i> είναι ένα σπορογόνο βακτήριο, το οποίο είναι εξαιρετικά ανθεκτικό στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα χρήσιμο μοντέλο για τις ωοκύστες του <i>Cryptosporidium</i> και τις κύστες της <i>Giardia</i> . Τα αερόβια σπόρια (<i>Bacillus</i>) μπορούν να χρησιμοποιηθούν, αλλά μπορούν να αυξηθούν σε συστήματα επεξεργασίας, με

		αποτέλεσμα να έχουμε παραπλανητικά αποτελέσματα. Τα πρωτόζωα είναι πολύ μεγαλύτερα από τα σπόρια του <i>Cryptosporidium</i> , και χρειάζεται να απομακρυνθούν με διαφορετικούς τρόπους, κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των λυμάτων. Οι δοκιμές επικύρωσης, θα πρέπει να εκτελούνται με (ωο)κύστες πρωτόζωων ή σωματίδια τα οποία θα είναι παρόμοια σε μέγεθος.
ΕΛΜΙΘΕΣ <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichiura</i> ova	<i>Ascaris</i> ova	<i>Ascaris</i> και ορισμένα άλλα ωάρια ελμίνθων (π.χ. <i>Trichuris</i> , <i>Taenia</i>), μπορούν να μετρηθούν απευθείας. Η βιωσιμότητα των ωαρίων μπορεί να καθοριστεί.

(Pettersen & Ashbolt, 2003)

Η αξιοπιστία των δεικτών ως προς την πρόβλεψη παρουσίας παθογόνων είναι ένα θέμα που έχει απασχολήσει πολύ τους ερευνητές, όχι μόνο για τον έλεγχο της ποιότητας των λυμάτων αλλά και πολλών κατηγοριών νερών και τροφίμων. Σε μελέτη συσχέτισης δεικτών με παθογόνα (Harwood et al, 2005) δεν βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ κανενός από τους δείκτες κοπρανόδους ρύπανσης και παθογόνου μικροοργανισμού. Κατά τους ερευνητές όταν όλοι οι συνήθεις δείκτες (TC, FC, εντερόκοκκοι, *C. perfringens*, F-specific coliphages) αξιολογήθηκαν όλοι μαζί η παρουσία ωοκύστεων *Cryptosporidium*, κύστεων *Giardia* και εντεροϊών μπορούσε να προβλεφθεί σε ποσοστό 71% σε λύματα που είχαν υποστεί απολύμανση. Επομένως κατά τους ερευνητές οι ρυθμίσεις της ισχύουσας νομοθεσίας δεν προστατεύουν την Δημόσια Υγεία. Παρόμοια συμπεράσματα εξήχθησαν από μελέτη στην Ιταλία όπου η πληθώρα των ιών που ανιχνεύτηκαν στην έξοδο τριτοβάθμιας μονάδας επεξεργασίας δεν συσχετίστηκαν με κανέναν από τους βακτηριακούς δείκτες (Carducci et al, 2009).

Τα μη επεξεργασμένα λύματα και τα περιττώματα περιέχουν μία ποικιλία εκκρινόμενων οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων και των παθογόνων, με είδη και συγκεντρώσεις που ποικίλουν ανάλογα με τα επίπεδα της μόλυνσης στον πληθυσμό. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ένα εύρος τιμών που αφορά την συγκέντρωση διαφορετικών οργανισμών, οι οποίοι μπορεί να ανιχνευθούν στα λύματα και στα περιττώματα. Επειδή ο τύπος των παθογόνων και οι συγκεντρώσεις τους ποικίλουν σε μεγάλο εύρος, είναι χρήσιμη η συλλογή τοπικών δεδομένων, για την αξιολόγηση του κινδύνου και για την δημιουργία στρατηγικής διαχείρισης κινδύνου (WHO, 2006).

Πίνακας 10: Συγκεντρώσεις μικροοργανισμών που απεκκρίνονται στα υγρά απόβλητα και στα κόπρανα

ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΑ / L	ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΤΑ ΚΟΠΡΑΝΑ / gr*
ΒΑΚΤΗΡΙΑ		
Thermotolerant coliforms	$10^8 - 10^{10}$	$10^5 - 10^{11}$
<i>Campylobacter jejuni</i>	$10 - 10^4$	$10^6 - 10^9$
<i>Salmonella</i> spp.	$1 - 10^5$	$10^4 - 10^8$
<i>Shigella</i> spp.	$10 - 10^4$	10^7
<i>Vibrio cholerae</i>	$10^2 - 10^5$	10^7

ΕΛΜΙΘΕΣ		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1 - 10 ³	1 - 10 ⁵
<i>Schistosoma mansoni</i>	ND	1 - 10 ³
<i>Clonorchis sinensis</i>	ND	10 ²
ΠΡΩΤΟΖΩΑ		
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1 - 10 ⁴	10 ⁷ - 10 ⁸
<i>Entamoeba histolytica</i>	1 - 10 ²	10 ⁵ - 10 ⁸
<i>Giardia intestinalis</i>	10 ² - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁸
ΙΟΙ		
Enteric Viruses	10 ⁵ - 10 ⁶	10 ⁴ - 10 ⁹
Rotaviruses	10 ² - 10 ⁵	10 ⁷ - 10 ¹¹

ND = δεν υπάρχουν δεδομένα (Strauss, 1985; Mara & Silva, 1986; Yates & Gerba, 1998; WHO, 2002).

*Εκτιμώμενος αριθμός παθογόνων για μολυσμένα άτομα

1.7.1 Πλεονέκτημα & Μειονεκτήματα Μικροβιολογικών Ελέγχων

Τα πλεονεκτήματα που προκύπτουν από την μικροβιακές αναλύσεις των δειγμάτων είναι πολλές. Καταρχήν, μας δίνεται η δυνατότητα ανάλυσης πολλών διαφορετικών παραμέτρων, μας παρέχονται δεδομένα σχετικά με την πτώση της συγκέντρωσης των παθογόνων, μας βοηθήσουν ώστε να εντοπίσουμε τις πηγές των παθογόνων και τέλος, χρησιμοποιούνται για να μπορέσουμε να συνδέσουμε την μόλυνση – ασθένεια με το παθογόνο που την προκάλεσε.

Από την άλλη μεριά υπάρχουν και πολύ περιορισμοί, διότι οι περισσότεροι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση των λυμάτων είναι ιδιαίτερα ακριβές και χρονοβόρες. Επίσης, χρειάζεται εξειδικευμένο και καταρτισμένο προσωπικό καθώς και κατάλληλες εργαστηριακές εγκαταστάσεις. Επιπλέον, ένα πολύ μεγάλο πρόβλημα είναι η έλλειψη πρότυπων μεθόδων, για τον προσδιορισμό κάποιων παθογόνων ή για την ανάκτηση τους από προϊόντα διατροφής. Τέλος, ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα είναι η αδυναμία των μεθόδων να εντοπίσουν μη καλλιεργήσιμες μορφές μικροοργανισμών (WHO, 2006).

1.7.2 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ

Πολλά από τα παθογόνα που εκκρίνονται, μπορούν να επιβιώσουν στο περιβάλλον αρκετά ώστε να μεταδοθούν στον άνθρωπο μέσω της επαφής με τα λύματα ή με τα περιττώματα, είτε με την κατανάλωση μολυσμένων προϊόντων που καλλιεργούνται κοντά σε μολυσμένες λίμνες. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται διάφοροι οργανισμοί οι οποίοι επιβιώνουν σε διάφορα περιβάλλοντα μέσα στους 20 -30° C.

Πίνακας 11: Επιβίωση διάφορων μικροοργανισμών σε επιλεγμένα περιβαλλοντικά μέσα στους 20 – 30° C.

ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΣΕ ΜΕΡΕΣ	
	Φρέσκο νερό & Λύματα	Φυτά
ΙΟΙ		
Εντεροϊοί	<120 αλλά συνήθως <50	<60 αλλά συνήθως <15
ΒΑΚΤΗΡΙΑ		

Thermotolerant coliforms <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Vibrio cholerae</i>	<60 αλλά συνήθως <30 <60 αλλά συνήθως <30 <30 αλλά συνήθως <10 ND	<30 αλλά συνήθως <15 <30 αλλά συνήθως <15 <10 αλλά συνήθως <5 <5 αλλά συνήθως <2
ΠΡΩΤΟΖΩΑ <i>Entamoeba histolytica</i> cysts <i>Cryptosporidium</i> oocysts	<30 αλλά συνήθως <15 <180 αλλά συνήθως <70	<10 αλλά συνήθως <2 <3 αλλά συνήθως <2
ΕΛΜΙΘΕΣ <i>Ascaris</i> eggs Tapeworm eggs Trematode eggs	Χρόνια Πολλούς μήνες <30	<60 αλλά συνήθως <30 <60 αλλά συνήθως <30 <300

ND Δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία (Strauss, 1985; Robertson et al., 1992; Jenkins et al., 2002, Warnes & Keevil, 2003)

Γενικά η επιβίωση των παθογόνων σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την θερμοκρασία του νερού. Εάν λύματα ή περιττώματα προστίθενται συνεχώς σε μία λίμνη ή σε επιφανειακά ύδατα, όπου λαμβάνουν χώρα υδατοκαλλιέργειες, τότε υπάρχει μία μεγάλη πιθανότητα τα βιώσιμα παθογόνα να είναι συνεχώς παρούσα στο νερό (Buras, 1993).

Όπως φαίνεται και από τον παραπάνω πίνακα, πολλά είναι τα παθογόνα που μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο έδαφος ή στις επιφάνειες των καλλιεργειών, με αποτέλεσμα να μπορούν να μεταδοθούν στον άνθρωπο ή στα ζώα. Από τα παθογόνα τα πιο ανθεκτικά στο περιβάλλον είναι τα αυγά των έλμινθων, τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να επιβιώσουν για αρκετά χρόνια στο έδαφος. Η επιβίωση των παθογόνων εξαρτάται από τον αριθμό των παραγόντων όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 12: Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των παθογόνων στο περιβάλλον

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	ΣΧΟΛΙΟ
Υγρασία	Το υγρό περιβάλλον ευνοεί την επιβίωση των παθογόνων. Το ξηρό περιβάλλον διευκολύνει τον θάνατο των παθογόνων.
Σύσταση του εδάφους	Τα αργιλώδη εδάφη και τα εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα οργανικών, ευνοεί την ανάπτυξη των παθογόνων.
Θερμοκρασία	Ο σημαντικότερος παράγοντας για τον θάνατο των παθογόνων. Οι υψηλές θερμοκρασίες οδηγούν σε γρήγορο θάνατο, και η χαμηλή θερμοκρασία οδηγεί σε παρατεταμένη επιβίωση. Θερμοκρασίες ψύξης, μπορούν επίσης να προκαλέσουν το θάνατο των παθογόνων.
pH	Μερικοί ιοί επιβιώνουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε εδάφη με χαμηλό pH, ενώ αλκαλικά εδάφη σχετίζονται με τον ταχύ θάνατο των ιών. Ουδέτερα έως ελαφρώς αλκαλικά εδάφη ευνοούν την επιβίωση των βακτηρίων.
Ηλιακή ακτινοβολία (υπεριώδης ακτινοβολία)	Το άμεσο ηλιακό φως οδηγεί σε ταχεία αδρανοποίηση των παθογόνων μέσω της αποξήρανσης και της έκθεσης σε υπεριώδη ακτινοβολία.

Φύλλωμα / είδος φυτού	Ορισμένα φυτά, έχουν κολλώδεις επιφάνειες (π.χ. το κολοκύθι) ή μπορούν να απορροφήσουν τα παθογόνα από το έδαφος (π.χ. τα μαρούλια), οδηγώντας σε παρατεταμένη επιβίωση ορισμένων παθογόνων. Φυτά με βρώσιμες ρίζες όπως τα κρεμμύδια είναι πιο επιρρεπή σε μόλυνση και διευκολύνουν την επιβίωση των παθογόνων.
------------------------------	--

(Strauss, 1985; Jimenez, 2003).

Η απενεργοποίηση των παθογόνων είναι πολύ πιο γρήγορη στην ζέστη, παρά στο κρύο. Οι χαμηλές θερμοκρασίες παρατείνουν την επιβίωσή τους. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την αποθήκευση μετά την συγκομιδή. Εάν π.χ. τα φυτά μετά την συγκομιδή τους, μεταφερθούν και αποθηκευτούν σε συνθήκες ψύξης (π.χ. 4° C), τα παθογόνα μπορεί να επιβιώσουν για αρκετό χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να είναι εφικτή η μόλυνση του καταναλωτή. Για παράδειγμα που έγιναν σε μαρούλια με ωκύστες *Cryptosporidium* έδειξαν πως μετά από τρεις ημέρες επώασης στους 20° C, δεν μπορούσε να ανιχνευθεί καμία βιώσιμη ωκύστη, ενώ μετά από τρεις ημέρες στους 4° C, αναπτύχθηκαν 10% ζωντανές ωκύστες (Warnes & Keevil, 2003).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε για να προσδιορίσει την επίδραση της σύστασης του εδάφους και της ποιότητας του λύματος όσο αναφορά την προσρόφηση των παθογόνων ιών (Ιός Ηπατίτιδας Α / Poliovirus1) και την προσρόφηση πρότυπων στελεχών βακτηριοφάγων από το έδαφος. Επιπλέον, η επίδραση της θερμοκρασίας, η σύσταση του εδάφους και η ποιότητα του νερού μελετήθηκαν για το πώς επηρεάζουν τον θάνατο των παθογόνων ιών και των βακτηριοφάγων. Η απορρόφηση του ιού από το έδαφος είναι απόλυτα εξαρτημένη από το είδος του ιού.

Η απορρόφηση του Poliovirus ήταν η υψηλότερη ανεξάρτητα από τον τύπο του ύδατος, ενώ η μικρότερη απορρόφηση παρατηρήθηκε για τον βακτηριοφάγο MS2. Μέτριος ρυθμός απορρόφησης παρατηρήθηκε για τον βακτηριοφάγο PRD-1. Δεν παρατηρήθηκε κανένας θάνατος, για τους ιούς που μελετήθηκαν (HAV, poliol, MS2 και PRD-1) μετά από 20 ημέρες επώασης στους 30° C σε έδαφος κορεσμένο με λύματα τα οποία είχαν υποστεί δευτεροβάθμια επεξεργασία. Οι περισσότεροι θάνατοι καταγράφηκαν για τον βακτηριοφάγο MS2, μετά από επώαση στους 23° C, σε έδαφος κορεσμένο με λύματα τα οποία είχαν υποβληθεί σε δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία. Στο ενδιάμεσο παρατηρήθηκαν κάποιοι θάνατοι, οι οποίοι αφορούν τον Poliovirus 1. Από την άλλη μεριά οι θάνατοι που καταγράφηκαν για τον HAV και για τον βακτηριοφάγο PRD-1 ήταν αμελητέοι. Αυτό αποδεικνύει πως οι παθογόνοι ιοί μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο έδαφος. Ο βακτηριοφάγος PRD-1 είναι καταλληλότερος από τον MS2 στο να προβλέψει την ανθεκτικότητα των παθογόνων ιών ειδικά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Blanc and Nasser, 1998).

1.8 ΜΟΝΑΔΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ

Σύμφωνα με το ελληνικό νομικό πλαίσιο, το οποίο έχει εναρμονισθεί με την ευρωπαϊκή νομοθεσία, τα αστικά λύματα των οικισμών με πληθυσμό μεταξύ 2.000 και 10.000 κατοίκων θα πρέπει υποχρεωτικά να υποβάλλονται σε δευτεροβάθμια επεξεργασία ή ισοδύναμη επεξεργασία. Για μικρότερους οικισμούς, απαιτείται «κατάλληλη επεξεργασία». Ως κατάλληλη επεξεργασία, θεωρείται αυτή που επιτρέπει στον υδάτινο αποδέκτη να ανταποκρίνεται στους σχετικούς ποιοτικούς στόχους με βάση την προκαθορισμένη χρήση νερών και τις σχετικές διατάξεις του νόμου.

Κατά προσέγγιση ο αριθμός μονάδων επεξεργασίας αστικών υγρών αποβλήτων για αυτές τις δυναμικότητες ανέρχεται σε περίπου 500. Η επικρατούσα κατάσταση είναι αρκετά ανησυχητική, με το 25% των Συμβατικών Μονάδων Βιολογικού Καθαρισμού να έχουν αστοχήσει ή να έχουν σταματήσει οι εργασίες ή να μην έχουν τεθεί καθόλου σε λειτουργία λόγω τεχνικών προβλημάτων. Τα τελευταία χρόνια, στην Ελλάδα κατασκευάστηκε και εξακολουθεί να κατασκευάζεται ένας σημαντικός αριθμός εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων που ανέρχονται στις 290 και καλύπτουν το 75% του συνολικού πληθυσμού της χώρας (Μαρκαντωνάτος 2012).

1.8.1 ΣΤΑΔΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΑΤΡΑΣ

Τα στάδια της επεξεργασίας που ακολουθούνται στον βιολογικό καθαρισμό της Πάτρας είναι τα εξής:

- Εσχάρωση
- Αμμοσυλλογή
- Βιολογική Επεξεργασία – Αερισμός (οξειδωτική τάφρος)
- Δευτεροβάθμια Καθίζηση
- Χλωρίωση
- Σιλό πάχυνσης (πάχυνση ιλύος – κλίνες ξήρανσης)

1.8.2 ΣΤΑΔΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΛΙΒΑΔΕΙΑΣ

Τα στάδια επεξεργασίας που ακολουθούνται στην μονάδα επεξεργασίας λυμάτων της Λιβαδειάς είναι τα ακόλουθα:

- Φρεάτιο Άφιξης & Αντλιοστάσιο Αρχικής Ανύψωσης
- Εσχάρωση
- Αεριζόμενος Εξαμμωτής – Λιποσυλλέκτης
- Δεξαμενή Βιολογικής Αφαίρεσης Φωσφόρου
- Δεξαμενή Απονιτροποίησης
- Δεξαμενή Αερισμού / Μεριστής Παροχής Καθίζησης
- Δεξαμενή Τελικής Καθίζησης
- Χλωρίωση με υποχλωριώδες νάτριο
- Φρεάτιο φόρτισης με αγωγό διάθεσης
- Παχυντής Λάσπης
- Μηχανική Αφυδάτωση Λάσπης με ταινιοφίλτροπρέσσα

1.8.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΑΡΑΧΩΒΑΣ

Στην Αράχωβα ακολουθούνται τα εξής στάδια επεξεργασίας των λυμάτων:

- Φρεάτιο Εισόδου
- Αποάμωση
- Μετρητής Παροχής
- Δεξαμενή Αερισμού – Αντλιοστάσιο Ανακυκλοφορίας
- Δεξαμενή Καθίζησης

- Δεξαμενή Χλωρίωσης
- Αγωγός Εξόδου
- Παχυντής (μηχανικός) αντλιοστάσιο πάχυνσης ιλύος

1.9 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ

Η επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων μπορεί να αποτελέσει ένα εργαλείο ορθολογικής διαχείρισης των υδατικών πόρων. Η επαναχρησιμοποίηση κατάλληλα επεξεργασμένων αστικών ή βιομηχανικών λυμάτων παρουσιάζει εγγενή οφέλη που σχετίζονται με την εξοικονόμηση υδατικών πόρων, την προστασία του περιβάλλοντος και με οικονομικά οφέλη. Ωστόσο η επαναχρησιμοποίηση λυμάτων απαιτεί έναν ολοκληρωμένο και ορθολογικό σχεδιασμό, που λαμβάνει υπόψη τους ενδεχόμενους κινδύνους και περιορισμούς. Η επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων υπόκειται σε σοβαρούς περιορισμούς, οι οποίοι δεν γίνονται αποδεκτοί ιδίως σε χώρες με μεγάλες απαιτήσεις και υψηλά επίπεδα ασφάλειας ως προς τα θέματα της δημόσιας υγείας. Το γενικό συμπέρασμα που έχει προκύψει μετά από πολύχρονες διεθνείς έρευνες δεν είναι καθόλου ενθαρρυντικό για την άμεση επαναχρησιμοποίηση του νερού για σκοπούς ύδρευσης προς πόση ενώ σοβαροί ενδοιασμοί υπάρχουν και για τον εμπλουτισμό υπόγειων υδροφορέων που τα νερά τους προορίζονται για πόση. Πολύ καλύτερες προοπτικές παρουσιάζει η επαναχρησιμοποίηση για άρδευση, αστικές χρήσεις (πλην πόσης), το περιαστικό πράσινο, τη δημιουργία ή τον εμπλουτισμό υδατίνων σωμάτων για αναψυχή και για ορισμένες βιομηχανικές δραστηριότητες (www.ypeka.gr).

1.9.1 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΑΡΔΕΥΣΗ

Απαιτείται αρχικά, διαχωρισμός μεταξύ περιορισμένης και απεριόριστης άρδευσης βάση των αρδευόμενων καλλιεργειών και του τρόπου εφαρμογής του νερού.

Η περιορισμένη άρδευση αφορά καλλιέργειες τα προϊόντα των οποίων καταναλώνονται μετά από θέρμανση ή δεν προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση. Οι καρποί δεν έρχονται σε άμεση επαφή με το έδαφος. Καλλιέργειες σπόρων και καλλιέργειες που παράγουν προϊόντα, υποβάλλονται σε περαιτέρω επεξεργασία πριν την κατανάλωσή τους. Ως προς τους τρόπους εφαρμογής του νερού, η μέθοδος του καταιονισμού δεν επιτρέπεται καθώς και η πρόσβαση του κοινού. Σε περίπτωση που υπάρχει προσβασιμότητα σε ανθρώπους ή ζώα, εκτός των χρηστών, πρέπει να λαμβάνονται κατά περίπτωση πρόσθετα μέτρα, όπως περίφραξη, ορισμός απαγορευτικής ζώνης για ορισμένες χρήσεις από τα όρια της αρδευόμενης έκτασης, απαγόρευση βοσκής ζώων για ορισμένο χρόνο μετά την άρδευση. Απαιτείται η δευτεροβάθμια επεξεργασία, προκειμένου οι τιμές για τις παρακάτω παραμέτρους να είναι οι εξής:

- *E.coli* ≤ 200 EC/100mL
- BOD < 25 mg/L
- SS < 35 mg/L

Η απεριόριστη άρδευση, αφορά σε όλα τα άλλα είδη καλλιεργειών όπως λαχανικά, αμπέλια, ή καλλιέργειες των οποίων τα προϊόντα καταναλώνονται ωμά. Κατά την απεριόριστη άρδευση επιτρέπονται διάφορες μέθοδοι εφαρμογής του νερού συμπεριλαμβανομένου του καταιονισμού, καθώς και η πρόσβαση του κοινού. Η ελάχιστη επεξεργασία λυμάτων που απαιτείται για την απεριόριστη άρδευση είναι η τριτοβάθμια βιολογική επεξεργασία για την παραγωγή εκροής με συγκεντρώσεις BOD₅ ≤ 10 mg/L για το 80% των δειγμάτων, SS ≤ 10 mg/L για το 80% των δειγμάτων, *E.coli* ≤ 5 EC/100 mL για το 80% των δειγμάτων και θολότητα ≤ 2 ntu (ΥΠΕΚΑ, 2013).

1.9.2 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΑΣΤΙΚΗ & ΠΕΡΙΑΣΤΙΚΗ ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Η επαναχρησιμοποίηση με επεξεργασμένα υγρά απόβλητα για αστικές και περιαστικές δραστηριότητες αναφέρεται κυρίως στο αστικό και περιαστικό πράσινο, τις δασικές εκτάσεις, την αναψυχή, την αποκατάσταση φυσικού περιβάλλοντος, την πυρόσβεση, τον καθαρισμό οδών, εκτός των χρήσεων για πόση, την κολύμβηση και τις οικιακές δραστηριότητες. Οι δυνατότητες επαναχρησιμοποίησης περιλαμβάνουν κυρίως το πότισμα συγκεντρωμένων εκτάσεων πρασίνου, όπως δάση, άλση, νεκροταφεία, πρανή και νησίδες αυτοκινητοδρόμων, γήπεδα γκολφ, δημόσια πάρκα, αυλές οικιών, ελεύθερος χώρος ξενοδοχειακών εγκαταστάσεων και εγκαταστάσεων αναψυχής, νερό για την κατάσβεση πυρκαγιών, για τη συμπύκνωση εδαφών, για τον καθαρισμό οδών και πεζοδρομίων, για διακοσμητικά σιντριβάνια, για τη δημιουργία τεχνητών ή τη διατήρηση φυσικών λιμνών ή υγροβιότοπων, για την ενίσχυση της παροχής επιφανειακών ρευμάτων (ΚΥΑ 145116/2011).

1.9.3 ΕΠΑΝΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ

Η επαναχρησιμοποίηση υγρών αποβλήτων στη βιομηχανία περιλαμβάνει εφαρμογές όπως χρήση νερών ψύξης, αναπλήρωση νερών λεβήτων και αξιοποίηση για τις διάφορες βιομηχανικές διεργασίες. Η ως άνω επαναχρησιμοποίηση δεν εφαρμόζεται στις βιομηχανίες προϊόντων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση (**ypaka.plexscape.com**). Σε περιπτώσεις νερών ψύξης μιας χρήσης, μπορεί να χρησιμοποιηθούν δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις, συμπεριλαμβανομένου του νερού που ανακυκλώνεται στα αντίστοιχα συστήματα ψύξης, η ελάχιστη απαίτηση επεξεργασίας είναι η τριτοβάθμια. Πρόσθετη επεξεργασία μπορεί να απαιτηθεί σε ειδικές περιπτώσεις (Galil & Levinsky, 2007).

1.9.4 ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΥΠΟΓΕΙΟΥ ΥΔΡΟΦΟΡΕΑ

Ο εμπλουτισμός του υπόγειου υδροφορέα με επεξεργασμένα λύματα επιτρέπεται στις περιπτώσεις όπου ο υδροφορέας δεν χρησιμοποιείται για σκοπούς ύδρευσης. Η ποιότητα των υπόγειων υδάτων μετά τον εμπλουτισμό του υδροφορέα με λύματα θα πρέπει να είναι κατ' ελάχιστον ισοδύναμη με την ποιότητα που απαιτείται για απεριόριστη αρδευτική ή αστική χρήση (ΚΥΑ 39626/2208/2009). Ωστόσο, με δεδομένη την αβεβαιότητα ως προς μελλοντικές πιθανές χρήσεις του υδροφορέα θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή για την αποφυγή συσσώρευσης οργανικών στα υπόγεια ύδατα. Κατά συνέπεια απαιτείται επαρκής βαθμός επεξεργασίας για την απομάκρυνση οργανικών που θα περιλαμβάνει, εκτός από δευτεροβάθμια βιολογική και τριτοβάθμια επεξεργασία, προχωρημένες μεθόδους κατάλληλες για την απομάκρυνση διαλυτού οργανικού υλικού (π.χ. ενεργός άνθρακας ή μεμβράνες). Σε περιπτώσεις εμπλουτισμού μέσω διήθησης από την επιφάνεια του εδάφους με κατάλληλα χαρακτηριστικά και επαρκές βάθος αναμένεται απομάκρυνση των οργανικών που θα κατακρατηθούν στο έδαφος, με αποτέλεσμα να αποφεύγεται η προχωρημένη επεξεργασία (Johnson, 2009). Θα πρέπει να τονιστεί ωστόσο ότι ανεξάρτητα από τον ελάχιστο απαιτούμενο βαθμό επεξεργασίας, είναι απαραίτητη η εκτέλεση ειδικών υδρογεωλογικών μελετών, που θα αναφέρονται στην εκάστοτε περιοχή ώστε να είναι δυνατή η με ασφάλεια αποφυγή διείσδυσης λυμάτων σε υπόγειους υδροφορείς που χρησιμοποιούνται για απόληψη πόσιμου νερού (National Research Council, 1994).

1.10 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ

Σύμφωνα με την **ΚΥΑ 145116/2011** (Φ.Ε.Κ 354/Β/8.3.2011), όσο αναφορά την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων, για άρδευση, διακρίνουμε δύο τύπους α. την περιορισμένη και β. την απεριόριστη. Ο διαχωρισμός αυτός γίνεται με βάση:

- το είδος των καλλιεργειών
- το σύστημα άρδευσης
- την προσβασιμότητα του κοινού στην αρδευόμενη περιοχή

Στην περιορισμένη άρδευση, η οποία αφορά καλλιεργείες τα προϊόντα των οποίων καταναλώνονται μετά από θερμική ή άλλου είδους επεξεργασία ή δεν προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση ή δεν έρχονται σε άμεση επαφή με το έδαφος, όπως βιομηχανικές καλλιεργείες, καλλιεργείες ζωοτροφών, λιβάδια, δέντρα (μη συμπεριλαμβανομένων των οπωροφόρων), με την προϋπόθεση ότι κατά την συλλογή οι καρποί δεν βρίσκονται σε άμεση επαφή με το έδαφος. Ως προς το σύστημα της άρδευσης δεν επιτρέπεται ο καταιονισμός. Επίσης δεν επιτρέπεται και η πρόσβαση του κοινού στην αρδευόμενη έκταση. Σε περίπτωση που υπάρχει πρόσβαση σε ανθρώπους και ζώα θα πρέπει να ληφθούν κάποια πρόσθετα μέτρα όπως η περίφραξη, ο ορισμός απαγορευτικής ζώνης, απαγόρευση βοσκής ζώων για ορισμένο χρονικό διάστημα μετά από την άρδευση.

Στην απεριόριστη άρδευση, η οποία αφορά όλα τα είδη των καλλιεργειών, όπως αμπέλια, λαχανικά, προϊόντα τα οποία καταναλώνονται ωμά, δεν υπάρχει κάποιος περιορισμός όσο αναφορά την άρδευση. Επιτρέπονται διάφοροι μέθοδοι χρήσης του ανακτημένου νερού συμπεριλαμβανομένου και του καταιονισμού. Επιπλέον, δεν υπάρχει κανένας περιορισμός στην πρόσβαση.

Σύμφωνα με την **ΚΥΑ 145116/2011** (Φ.Ε.Κ 354/Β/8.3.2011), για την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων για βιομηχανική χρήση απαιτείται μελέτη εφαρμογής με την οποία τεκμηριώνεται η συγκεκριμένη χρήση.

Πίνακας 12: Όρια για μικροβιακές και συμβατικές παραμέτρους καθώς και η κατ' ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία και συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων στην περίπτωση επαναχρησιμοποίησης επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων για περιορισμένη άρδευση, βιομηχανική χρήση νερού ψύξης μιας χρήσης και εμπλουτισμό υπογείου υδροφορέα, που δεν χρησιμοποιείται για πόση και με διήθηση διαμέσου κατάλληλου εδαφικού στρώματος

Τύπος Επαναχρησιμοποίησης	<i>Escherichia coli</i> (EC/100 ml)	BOD5 (mg/l)	SS (mg/l)	Θολότητα (NTU)	Κατ ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία	Ελάχιστη συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων νερού προς επαναχρησιμοποίηση
Περιορισμένη άρδευση Περιοχές όπου δεν αναμένεται πρόσβαση του κοινού, καλλιεργείες, λιβάδια, δέντρα (μη συμπεριλαμβανομένων των οπωροφόρων), με την προϋπόθεση ότι κατά την συλλογή οι καρποί δεν βρίσκονται σε επαφή με το	≤200 διάμεση τιμή	Σύμφωνά με τις επιταγές της ΚΥΑ 5673/400/1997	Σύμφωνα με τις επιταγές της ΚΥΑ 5673/400/1997	-	Δευτεροβάθμια βιολογική επεξεργασία (α),(β) Απολύμανση ^(γ)	BOD ₅ , SS, N, P: σύμφωνα με τις επιταγές της ΚΥΑ 5673/400/5.3.97 EC: μία ανά βδομάδα Υπολειμματικό χλώριο: συνεχώς

<p>έδαφος καλλιέργειες σπόρων και καλλιέργειες που παράγουν προϊόντα τα οποία υποβάλλονται σε περαιτέρω επεξεργασία πριν την κατανάλωση τους. Άρδευση με καταιονισμό δεν θα εφαρμόζεται.</p> <p>Βιομηχανική χρήση Νερό ψύξης μιας χρήσης</p> <p>Τροφοδότηση υπογείων υδροφορέων που δεν εμπίπτουν στις διατάξεις του άρθρου 7 του ΠΔ 51/2-3-2007, (με την επιφύλαξη των παραγράφων 4 και 5 του άρθρου 5 της παρούσας), με διήθηση διάμεσου εδαφικού στρώματος με επαρκές πάχος και κατάλληλα χαρακτηριστικά⁽⁶⁾</p>						(εφόσον εφαρμόζεται χλωρίωση)
--	--	--	--	--	--	-------------------------------

Όσο αναφορά την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων για περιορισμένη άρδευση η διάμεση τιμή του βακτηριακού δείκτη *E.coli*, θα πρέπει να είναι ≤ 200 EC/100 mL. Τα όρια για το BOD ≤ 25 mg/L, τα SS ≤ 35 mg/L, είναι τα ίδια με αυτά που ορίζει η **KYA 5673/400/5.3.97** (ΦΕΚ 192/Β/14.3.97).

Η χλωρίωση, η οζόνωση, η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV), εξασφαλίζουν στην εκροή την απαιτούμενη διάμεση συγκέντρωση *E.coli*. στο βαθμό που η επεξεργασία επιτυγχάνεται στην ελάχιστη απαιτούμενη κατά την εφαρμογή της χλωρίωσης, θα εξασφαλίζεται γινόμενο υπολειμματικού χλωρίου επί χρόνο επαφής \geq από 30 mg · min / lt, και ελάχιστος χρόνος επαφής 30 min. Ενώ για απολύμανση με υπεριώδους ακτινοβολία θα εξασφαλίζεται η ελάχιστη δόση 70mWsec/cm². Θα πρέπει με κατάλληλη μελέτη, η οποία συμπεριλαμβάνεται στην μελέτη εφαρμογής, να τεκμηριώνεται η επάρκεια, η αποτελεσματικότητα και η ευχέρεια ελέγχου της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης

Πίνακας 13: Όρια για μικροβιολογικές και συμβατικές παραμέτρους καθώς και η κατ' ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία και συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων στην περίπτωση επαναχρησιμοποίησης επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων για απεριόριστη άρδευση και βιομηχανική χρήση πλην νερού ψύξης μίας χρήσης.

Τύπος Επαναχρησιμοποίησης	<i>Escherichia coli</i> (EC/100 ml)	BOD5 (mg/l)	SS (mg/l)	Θολότητα (NTU)	Κατ ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία	Ελάχιστη συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων νερού προς επαναχρησιμοποίηση
<p>Απεριόριστη άρδευση Όλες οι καλλιέργειες όπως οπωροφόρα δέντρα, λαχανικά, αμπέλια ή καλλιέργειες των οποίων τα προϊόντα καταναλώνονται ωμά, θερμοκήπια. Η απεριόριστη άρδευση επιτρέπει την εφαρμογή διαφόρων μεθόδων εφαρμογής της άρδευσης συμπεριλαμβανομένου του καταονισμού.</p> <p>Βιομηχανική χρήση πλην νερού ψύξης μίας χρήσης επανακυκλοφορούμενο νερό για λέβητες, νερό διεργασιών κλπ^(η)</p>	≤5 για το 80 % των δειγμάτων και ≤50 για το 95% των δειγμάτων	≤ 10 για το 80% των δειγμάτων	≤10 για το 80% των δειγμάτων	≤2 διάμεση τιμή	<p>Δευτεροβάθμια βιολογική επεξεργασία^(ε) ακολουθούμενη από Τριτοβάθμια επεξεργασία^(στ) και Απολύμανση^(ζ)</p>	<p>BOD₅, SS, N, P: σύμφωνα με τις επιταγές της ΚΥΑ 5673/400/5.3.97 (ΦΕΚ 192/Β/14.3.97)</p> <p>Θολότητα και διαπερατότητα: για ανακτημένο νερό από εγκαταστάσεις επεξεργασίας με ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο από 50000 κατοίκους τέσσερις ανά εβδομάδα και δύο ανά εβδομάδα στις υπόλοιπες περιπτώσεις</p> <p>EC: για ανακτημένο νερό από εγκαταστάσεις επεξεργασίας με ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο από 50000 κατοίκους τέσσερις ανά εβδομάδα και δύο ανά εβδομάδα στις υπόλοιπες περιπτώσεις... Κατ εξαίρεση για νησιωτικές περιοχές με τεκμηριωμένη έλλειψη κατάλληλης εργαστηριακής υποδομής μία ανά εβδομάδα</p> <p>Υπολειμματικό Cl₂ συνεχώς (εφόσον εφαρμόζεται χλωρίωση)</p>

Η ΚΥΑ όσο αναφορά την απεριόριστη άρδευση, επισημαίνει την αναγκαιότητα κατάλληλου συστήματος, ώστε να επιτυγχάνει τα επιθυμητά όρια για το BOD5 (≤10 mg/L για το 80% των δειγμάτων), για το SS (≤10 mg/L για το 80% των δειγμάτων), και για την θολερότητα (≤ 2 NTU).

Σχετικά με τις μεθόδους απολύμανσης (χλωρίωση, οζόνωση, χρήση UV), θα πρέπει να εξασφαλίζουν στην εκροή την απαιτούμενη συγκέντρωση *E.coli* (≤ 5 EC/100 mL για το 80% των δειγμάτων). Κατά την εφαρμογή της χλωρίωσης θα εφαρμόζεται

συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου ≥ 2 mg/L, με ελάχιστο χρόνο επαφής 60 min. Η αναγκαιότητα αποχλωρίωσης, πριν από την επαναχρησιμοποίηση θα εξετάζεται κατά περίπτωση. Για απολύμανση με UV θα εξασφαλίζεται ελάχιστη δόση 60 mWsec/cm². Θα πρέπει με κατάλληλη μελέτη, η οποία συμπεριλαμβάνεται στη μελέτη εφαρμογής να τεκμηριώνεται η επάρκεια, η αποτελεσματικότητα και κυρίως η ευχέρεια ελέγχου της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης. Για νερό βιομηχανικών διεργασιών, θα εφαρμόζονται από την ενδιαφερόμενη βιομηχανία τα εκάστοτε απαιτούμενα, πρόσθετα συστήματα επεξεργασίας για την απομάκρυνση των ιόντων και άλλων διαλυμένων ενώσεων.

Σύμφωνα με την **KYA 145116/2011** (Φ.Ε.Κ 354/B/8.3.2011) όσο αναφορά την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων, για την αποφυγή συσσώρευσης οργανικών στα υπόγεια ύδατα απαιτείται:

1. Στις περιπτώσεις άμεσου εμπλουτισμού μέσω γεωτρήσεων, υπό πίεση ή με βαρύτητα σε επιλεγμένες θέσεις γεωτρήσεων, επαρκής βαθμός επεξεργασίας για την απομάκρυνση οργανικών που περιλαμβάνει εκτός από την δευτεροβάθμια επεξεργασία και τριτοβάθμια για την απομάκρυνση διαλυτού οργανικού υλικού.
2. Στις περιπτώσεις εμπλουτισμού με την μέθοδο της διήθησης διά μέσω στρώματος εδάφους με κατάλληλα χαρακτηριστικά και επαρκές βάθος. Αποφεύγονται οι πρόσθετες προχωρημένες μέθοδοι επεξεργασίας, στο βαθμό που επιτυγχάνεται επαρκής κατακράτηση οργανικών από το έδαφος.

Η ΚΥΑ ορίζει ότι απαιτείται η εκπόνηση ειδικής υδρογεωλογικής μελέτης, με την οποία τεκμηριώνεται η διασφάλιση της αποφυγής διείσδυσης υγρών αποβλήτων στους υπόγειους υδροφορείς, τα ύδατα των οποίων χρησιμοποιούνται για απόληψη πόσιμου νερού.

Πίνακας 14: Όρια για μικροβιακές και συμβατές παραμέτρους καθώς και η κατ' ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία και συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων στην περίπτωση επαναχρησιμοποίησης επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων για αστική και περιαστική χρήση και εμπλουτισμό υπόγειων υδροφορέων με γεωτρήσεις.

Τύπος Επαναχρησιμοποίησης	Ολικά κολλοβακτηρίδια (TC/100 ml)	BOD5 (mg/l)	SS (mg/l)	Θολότητα (NTU)	Κατ ελάχιστον απαιτούμενη επεξεργασία	Ελάχιστη συχνότητα δειγματοληψιών και αναλύσεων νερού προς επαναχρησιμοποίηση
Αστική Χρήση Μεγάλες εκτάσεις (νεκροταφεία, πρανή αυτοκινητόδρομων γήπεδα γκολφ, δημόσια πάρκα), εγκαταστάσεις αναψυχής, κατάσβεση πυρκαγιών, συμπίκνωση εδαφών, καθαρισμός οδών και πεζοδρόμων, διακοσμητικά	≤ 2 για το 80 % των δειγμάτων και ≤ 20 για το 95% των δειγμάτων	≤ 10 για το 80% των δειγμάτων	≤ 2 για το 80% των δειγμάτων	≤ 2 διάμεση τιμή	Δευτεροβάθμια βιολογική επεξεργασία ^(ε) ακολουθούμενη από Τριτοβάθμια επεξεργασία ^(ι) και Απολύμανση ^(κ)	BOD ₅ , SS, N, P: σύμφωνα με τις επιταγές της ΚΥΑ 5673/400/5.3.97 (ΦΕΚ 192/B/14.3.97) Θολότητα και διαπερατότητα: για ανακτημένο νερό από εγκαταστάσεις επεξεργασίας με ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο από 50000 κατοίκους τέσσερις ανά εβδομάδα και δύο ανά εβδομάδα στις υπόλοιπες περιπτώσεις TC: για ανακτημένο νερό από εγκαταστάσεις επεξεργασίας με ισοδύναμο πληθυσμό μεγαλύτερο

<p>σιντριβάνια Πότισμα και απαγορεύεται.</p> <p>Εμπλουτισμός υπόγειων υδροφορέων που δεν εμπίπτουν στις διατάξεις του άρθρου 7 του ΠΔ 51/2-3-2007 (ΦΕΚ 54Α/8-3-2007), με γεωτρήσεις</p> <p>Περιαστικό πράσινο Συμπεριλαμβανομένων των αλσών και δασών^(λ)</p>						<p>από 50000 Κατοίκους επτά ανά εβδομάδα και τρεις ανά εβδομάδα στις υπόλοιπες περιπτώσεις. Κατ'εξάιρεση για νησιωτικές περιοχές με τεκμηριωμένη έλλειψη κατάλληλης εργαστηριακής υποδομής δύο ανά εβδομάδα</p> <p>Υπολειμματικό Cl₂ συνεχώς (εφόσον εφαρμόζεται χλωρίωση)</p>
---	--	--	--	--	--	---

Η ΚΥΑ ορίζει πως τα αποδεκτά όρια για τα ολικά κολοβακτηριοειδή είναι ≤ 2 για το 80% των δειγμάτων και ≤ 25 για το 95% των δειγμάτων. Τα όρια για το BOD είναι ≤ 10 για το 80% των δειγμάτων, τα SS ≤ 2 για το 80% των δειγμάτων, η θολότητα ≤ 2 NTU διάμεση τιμή.

Η χλωρίωση, η οζόνωση, η χρήση υπερϊώδους ακτινοβολίας, που εξασφαλίζουν στην εκροή την απαιτούμενη συγκέντρωση ολικών κολοβακτηριδίων για το 80% των δειγμάτων, κρίνεται απαραίτητη. Κατά την εφαρμογή της χλωρίωσης θα εξασφαλίζεται συγκέντρωση υπολειμματικού χλωρίου ≥ 2 mg/L και ελάχιστος χρόνος επαφής 60 min, ενώ η αναγκαιότητα αποχλωρίωσης πριν από την επαναχρησιμοποίηση θα εξετάζεται κατά περίπτωση. Για απολύμανση με UV θα εξασφαλίζεται ελάχιστη δόση 60 mWsec/cm². Θα πρέπει με κατάλληλη μελέτη, η οποία συμπεριλαμβάνεται στη μελέτη εφαρμογής να τεκμηριώνεται η επάρκεια, η αποτελεσματικότητα και κυρίως η ευχέρεια ελέγχου της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης.

Πίνακας 15: Μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις μετάλλων και στοιχείων

ΜΕΤΑΛΛΟ	ΜΕΓΙΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (mg/l)
Al (αργίλιο)	5
As (αρσενικό)	0,1
Be (βηρύλλιο)	0,1
Cd (κάδμιο)	0,01
Co (κοβάλτιο)	0,05
Cr (χρώμιο)	0,1
Cu (χαλκός)	0,2
F (φθόριο)	1,0
Fe (σίδηρος)	3,0
Li (λίθιο)	2,5
Mn (μαγγάνιο)	0,2
Mo (μόλυβδαίνιο)	0,01
Ni (νικέλιο)	2
Pb (μόλυβδος)	0,1
Se (σελήνιο)	0,02

V (βανάδιο)	0,1
Zn (ψευδάργυρος)	2,0
Hg (υδράργυρος)	0,002
B (βόριο)	2

1.11 ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΟΥ ΥΠΟΓΕΙΟΥ ΥΔΡΟΦΟΡΕΑ

Σηπτικές δεξαμενές, βόθροι, αποχωρητήρια και άλλα συστήματα χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση και για την επεξεργασία των λυμάτων. Το νερό που περνάει από αυτές τις εγκαταστάσεις περιέχει ιούς, βακτήρια και παράσιτα, τα οποία μπορούν να μολύνουν τα υπόγεια ύδατα. Στις ΗΠΑ, τα συστήματα σηπτικών δεξαμενών καταλαμβάνουν τις υψηλότερες θέσεις όσο αναφορά τον όγκο των μη επεξεργασμένων λυμάτων που απορρίπτονται στα υπόγεια ύδατα και είναι και η πιο συχνά αναμενόμενη πηγή μόλυνσης του υπόγειου υδροφορέα.

Από τους υπονόμους μπορεί να παρουσιαστεί διαρροή λυμάτων στην ακόρεστη ζώνη, με αποτέλεσμα να προκληθεί μόλυνση στον υπόγειο υδροφορέα. Κατά την διάρκεια των έντονων βροχοπτώσεων η συλλογή όμβριων σε υπονόμους μπορεί να αυξήσει την διαρροή, με αποτέλεσμα την αύξηση της μόλυνσης. Το μολυσμένο νερό διηθείται στο έδαφος διαμέσου της ακόρεστης ζώνης και κινείται προς τους υπόγειους υδροφορείς όπου διακλαδίζεται προς διάφορες διευθύνσεις ανάλογα με τις συνθήκες ροής που επικρατούν στον υδροφορέα. Η μεταφορά παθογόνων, στους υδροφορείς γίνεται με ελεύθερη μετακίνηση στα διάκενα που επηρεάζεται από την ταχύτητα κίνησης του υπόγειου νερού καθώς και από το φορτίο του πορώδους μέσου (**www.who.int**).

Παράμετροι που έχουν επιπτώσεις στην θανάτωση ή την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών στο περιβάλλον είναι η θερμοκρασία, οι τοπικές ανταγωνιστικές συνθήκες καθώς και τα χαρακτηριστικά των γενών τους. Όσο αναφορά στην θερμότητα οι παθογόνοι μικροοργανισμοί αδρανοποιούνται κατά την διάρκεια της έκθεσης τους σε θερμοφιλικές θερμοκρασίες. Εντούτοις ορισμένα βακτήρια έχουν την δυνατότητα να παράγουν ενδοσπόρια όπως κλωστρίδια, οπότε απαιτούν υψηλότερες θερμοκρασίες προκειμένου να επιτευχθεί η θανάτωσή τους (**Μαυρίδου & Παπαπετροπούλου, 1995**).

1.12 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ ΣΕ ΜΟΝΑΔΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι διεργασίες που συντελούνται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (βιολογικοί καθαρισμοί), εμπεριέχουν μια πληθώρα βλαπτικών εργασιακών παραγόντων με σοβαρές επιπτώσεις στην Υγεία και στην Ασφάλεια των εργαζομένων. Η ύπαρξη βλαπτικών παραγόντων στον εργασιακό χώρο δε συμβάλλει μόνο στην εμφάνιση συγκεκριμένων επαγγελματικών νοσημάτων, αλλά περιορίζει σημαντικά και την ικανότητα του εργαζομένου να αντιδράσει σωστά στα εξωτερικά ερεθίσματα ή να παρακολουθήσει σύνθετες διαδικασίες, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται εκείνες οι προϋποθέσεις που οδηγούν στα εργατικά ατυχήματα (http://www.elinyae.gr/el/lib_file_upload/Biol_katharismoi.1110201522560.pdf).

Οι κίνδυνοι που προκύπτουν από τις δραστηριότητες που λαμβάνουν χώρα σε αυτούς τους χώρους μπορεί να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες ομάδες:

1^η ΟΜΑΔΑ: περιλαμβάνει τους κινδύνους που έχουν σχέση με την ασφάλεια των εργαζομένων και ευθύνονται για την πιθανότητα πρόκλησης ατυχήματος με ή χωρίς σοβαρό τραυματισμό (π.χ. ηλεκτροπληξία από την επαφή με φθαρμένα ή ελαττωματικά

καλώδια, κοψίματα από αιχμηρά αντικείμενα, καψίματα από ατμούς, ζεστά υγρά, πτώσεις σε δεξαμενές οι οποίες προκαλούν τραυματισμό ή πνιγμό, κ.λπ.)

2^η ΟΜΑΔΑ: περιλαμβάνει τους κινδύνους που έχουν σχέση με την υγεία των εργαζομένων. Πρόκειται για κινδύνους που είναι υπεύθυνοι για την πιθανότητα εκδήλωσης Επαγγελματικής Ασθένειας, ως συνέπεια της έκθεσης των εργαζομένων σε φυσικούς (π.χ. θόρυβο, κακό φωτισμό, χαμηλές θερμοκρασίες), βιολογικούς (βακτήρια, μύκητες) και χημικούς (όξινα ή αλκαλικά διαλύματα κ.α.) βλαπτικούς παράγοντες.

3^η ΟΜΑΔΑ: περιλαμβάνει τους κινδύνους που έχουν σχέση με την υγεία καθώς και με την ασφάλεια των εργαζομένων, που οφείλονται κατά κύριο λόγο:

- σε εργονομικούς παράγοντες (επίμονες στάσεις του σώματος, χειρονακτική εργασία κ.λπ.)
- σε αντίξοες συνθήκες εργασίας όπως είναι η εργασία σε κλειστούς χώρους, σε ψυχρό ή θερμό περιβάλλον
- σε ψυχολογικούς παράγοντες όπως η ηθική παρενόχληση, η μονοτονία κ.λπ.
- στην οργάνωση της εργασίας όπως βάρδιες, οι παραγωγικοί ρυθμοί κ.λπ.

Τα λύματα και τα υγρά απόβλητα περιλαμβάνουν έναν μεγάλο αριθμό παθογόνων, με αποτέλεσμα οι εργαζόμενοι να παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο, να παρουσιάσουν μία ποικιλία συμπτωμάτων που αφορούν κυρίως τα μάτια, τα αυτιά την μύτη και το δέρμα. Οι εργαζόμενοι στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων εκτίθενται καθημερινά σε παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μεταδίδονται αερογενώς, καθώς και σε ενδοτοξίνες. Οι ενδοτοξίνες περιλαμβάνουν τους μύκητες (που απελευθερώνονται από τα λύματα) καθώς και την ιλύ, οι οποίοι είναι παθογόνα και μπορούν να προκαλέσουν στους εργαζομένους ερεθισμό και αλλεργικές παθήσεις. Άλλες ασθένειες που εμφανίζονται συχνά στην κατηγορία αυτή των εργαζομένων είναι η λεπτοσπείρωση και η γιαρδίαση (Sullivan et al, 2001).

Στην βιβλιογραφία αναφέρονται αρκετές περιπτώσεις κρουσμάτων από διάφορες λοιμώξεις, σε εργαζομένους σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Μία από αυτές αφορούσε μία περίπτωση πυρετού Pontiac (ήπιο σύμπτωμα από *Legionella spp.*), σε εργαζομένους βιολογικού καθαρισμού. Οι εργαζόμενοι μολύνθηκαν μετά από εισπνοή αερολύματος κατά την διάρκεια επιδιόρθωσης ενός διαχωριστή λυματολάσσης (Gegersen et al, 1999). Παρόμοιο περιστατικό έλαβε χώρα στην Φιλανδία όπου ένας εργαζόμενος στην μονάδα παρουσίασε συμπτώματα της νόσου των λεγεωνάριων μετά από έκθεση σε μολυσμένα αερολύματα κατά την διόρθωση της βαλβίδας της δεξαμενής αερισμού (Kusnetsov et al, 2010).

1.12.1 ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ

Τα μέτρα προστασίας που προτείνονται από τον **WHO** και από το **Ελληνικό Ινστιτούτο Υγιεινής & Ασφάλειας** της εργασίας, για την ασφάλεια των εργαζομένων στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων περιλαμβάνουν:

1. Την χρήση προστατευτικών γυαλιών ασφαλείας, για την προστασία των οφθαλμών από την σκόνη, τα αιωρούμενα σωματίδια και τα βλαβερά υγρά
2. Την χρήση προστατευτικού εξοπλισμού προσώπου (ανθεκτικός στα χημικά), ώστε να αποφευχθεί η έκθεση του δέρματος και των ματιών σε διαβρωτικά ή και μολυσματικά στερεά, υγρά και ατμούς
3. Την χρήση μάσκας αερίων ή αναπνευστικών συσκευών όταν εκτίθενται σε βλαβερά αερολύματα, σκόνες, ατμούς ή αέρια
4. Το προσεκτικό πλύσιμο των χεριών μετά από κάθε εργασία
5. Την χρήση παπουτσιών ασφαλείας (μπότες) με αντιολισθητικά πέλματα

6. Προσεκτική ανάμειξη χημικών ουσιών, πάντα με υπό την επίβλεψη καταρτισμένου τεχνικού ασφαλείας ή χημικού
7. Αυστηρή τήρηση όλων των οδηγιών που σχετίζονται με την αποθήκευση, την μεταφορά, την έκχυση και τον χειρισμό χημικών ουσιών
8. Τον έλεγχο του ηλεκτρολογικού εξοπλισμού πριν την χρήση του. Οποιαδήποτε βλάβη διαπιστώνεται θα πρέπει να αναφέρεται ή να διορθώνεται από καταρτισμένο ηλεκτρολόγο.
9. Ιδιαίτερη προσοχή κατά τον χειρισμό διαβρωτικών υλικών, όπως το υγρό ή το αέριο χλώριο, τα αλκάλια, ή τα πυκνά οξέα ή όταν τοξικά αέρια εκπέμπονται από τα αντιδραστήρια
10. Έλεγχο της ατμόσφαιρας, από τους εργαζομένους, εάν έχει επαρκή η ποσότητα οξυγόνου όταν μπαίνουν εισέρχονται σε κλειστούς χώρους, για μικρό χρονικό διάστημα.
11. Την υποβολή των εργαζομένων σε περιοδικές εξετάσεις από τον γιατρό εργασίας, για να διαπιστωθεί έγκαιρα η ύπαρξη τυχόν προβλημάτων
12. Ένα ακόμα σημαντικό μέτρο προστασίας είναι οι εμβολιασμοί

1.12.2 ΠΟΛΙΤΙΚΗ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΩΝ

Η πρακτική των εμβολιασμών που ακολουθούν οι γιατροί εργασίας στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων είναι:

- Εμβολιασμός για τον τυφοειδή πυρετό, με εμβολιασμό που παρέχει προστασία 60% και διαρκεί τρία χρόνια
- Εμβολιασμός για τον τέτανο, που μετά την συμπλήρωση τριών δόσεων παρέχει προστασία για δέκα χρόνια
- Εμβολιασμός για την Ηπατίτιδα Α και Ηπατίτιδα Β. Τα εμβόλια παρέχουν άριστη προστασία μετά την συμπλήρωση των δόσεων.

Στόχος του εμβολιασμού είναι η δημιουργία ειδικής άμυνας του οργανισμού – ανοσοποίηση για μία συγκεκριμένη νόσο. Ο εμβολιασμός δεν προστατεύει μόνο τον εργαζόμενο, μπορεί να οδηγήσει στην εξαφάνιση πολλών λοιμωδών νοσημάτων (Ελληνικό Ινστιτούτο Υγιεινής και Ασφάλειας της εργασίας, 2007).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι να αξιολογήσει την μικροβιολογική και χημική ποιότητα από την εισροή και την εκροή λυμάτων, σε εγκαταστάσεις λυμάτων στην Ελλάδα, με βάση την υπάρχουσα ΚΥΑ.

Συγκεκριμένα, τα λύματα τριών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, τα οποία χρησιμοποιούνται για άρδευση, θα αναλυθούν για πληθώρα μικροβιολογικών και χημικών παραμέτρων. Τα αποτελέσματα θα δώσουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά :

- με την απόδοση κάθε εγκατάστασης (απομάκρυνση παθογόνων, χημικών παραμέτρων κ.α.) μετά από όλες τις διαδικασίες επεξεργασίας
- με την πραγματική ποιότητα των λυμάτων, και αν αυτή η ποιότητα είναι σύμφωνη με τις νέες απαιτήσεις της νομοθεσίας για την ποιότητα, καθώς και αν τα λύματα είναι κατάλληλα για άρδευση
- με την παρουσία του *Cryptosporidium spp.* στα ελληνικά λύματα, ένα ερώτημα, το οποίο βρίσκεται σε εκκρεμότητα εδώ και πολλά χρόνια
- με την επάρκεια της νέας ΚΥΑ: προστατεύει την δημόσια υγεία; Είναι εφικτή; Είναι ρεαλιστική;
- με τις πιθανές αναθεωρήσεις των κατευθυντήριων γραμμών, και ενδεχόμενη πρόταση για διαφορετικά/άλλα κριτήρια ποιότητας

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα δείγματα αναλύθηκαν για βακτηριακούς δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης (Ολικά Κολοβακτηριοειδή και *E.coli*), *Salmonella spp.*, χημικές παραμέτρους (COD, BOD₅₀, αγωγιμότητα και αιωρούμενα στερεά), ιούς (αδενοϊούς), μύκητες και παράσιτα (*Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*).

Οι αναλύσεις που αφορούν τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης και την *Salmonella spp.* πραγματοποιήθηκαν στο ΤΕΙ Αθήνας. Οι υπόλοιπες παράμετροι διεξήχθησαν σε άλλα εργαστήρια (τα οποία αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με πρότυπες μεθόδους.

Πίνακας 16: Συμμετέχοντα εργαστήρια

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ	ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ
ΤΕΙ Αθηνών (ΤΙΕ) – Ερευνητικό Εργαστήριο	Δείκτες & <i>Salmonella spp.</i>
Ιατρική Αθηνών & ΤΕΙ Αθηνών (ΤΙΕ)	Μύκητες
ΤΕΙ Αθηνών (Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας)	Χημικά
Πανεπιστήμιο Πατρών – Τμήμα Ιατρικής – Εργαστήριο Υγιεινής	Ιούς
Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας (Τομέας Παρασιτολογίας)	Παράσιτα & Σκώληκες

Για κάθε παράμετρο εφαρμόστηκαν πρότυπες μέθοδοι.

3.2 ΥΛΙΚΟ

Υλικό της έρευνας αποτέλεσαν τα υγρά απόβλητα, τριών εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων της Λιβαδειάς, της Αράχωβας και της Πάτρας, στην είσοδο και στην έξοδο από τις μονάδες.

7. Όγκος λυμάτων στην είσοδο: Μέση παροχή 3000 μ/ημέρα
8. Είδος λυμάτων του βιολογικού καθαρισμού: 1. Αστικά 2. Νοσοκομειακά 3. Μικτά 4. Αγροτικά/κτηνοτροφικά 5. Μεικτό σύστημα αποχέτευσης που συμπεριλαμβάνει όμβρια νερά
9. Παροχή λυμάτων στην είσοδο: Μέση ωριαία παροχή 250μ/ώρα
10. Κατηγορία επεξεργασίας λυμάτων στο σταθμό (σύμφωνα με καταστατικό λειτουργίας): 1. Πρωτοβάθμια 2. Δευτεροβάθμια 3. Τριτοβάθμια 4. Τεταρτοβάθμια 5. Άλλη
11. Είδος απολυμαντικού που χρησιμοποιείται στην έξοδο: 1. Χλώριο 2. Υποχλωριώδες Νάτριο 3. Οζον 4. Κανένα 5. Άλλο
12. Ποσότητα απολυμαντικού στην έξοδο: Αποχλωρίωση
13. Αποδέκτης επεξεργασμένων εκροών βιολογικού καθαρισμού: 1. Θάλασσα 2. Λίμνη 3. Επιφανειακή απόθεση 4. Άρδευση 5. Άλλο
14. Ύπαρξη εναλλακτικού αποδέκτη: 1. Ναι 2. Όχι
15. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης αποβλήτων βιολογικού: 90 – 95%
16. Τύποι καλλιεργειών αποδεκτών των αποβλήτων: Άρδευση καλλιεργήσιμων εκτάσεων (ελαιώνας), σιτάρι, βαμβάκι, πότισμα κήπων
17. Συχνότητα λήψης μετρήσεων στην έξοδο: 1. Καθημερινά 2. Εβδομαδιαία 3. Μηνιαία 4. Καθόλου 5. Άλλο
18. Είδος μετρήσεων: 1. COD 2. BOD 3. Υπολειματικό Χλώριο 4. Κανένα 5. Άλλο pH, αιωρούμενα στερεά, λίπη, έλαια
19. Επεξεργασία υλός: 1. Ναι 2. Όχι
20. Τρόπος επεξεργασίας υλός: 1. Ξήρανση 2. Μηχανική αφυδάτωση
21. Τρόπος εναπόθεσης υλός: 1. Λίπασμα για χωράφια 2. ΧΑΔΑ 3. Προσωρινή αποθήκευση σε ειδικά δοχεία – μεταφορά στο ΧΥΤΑ
22. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης υλός: Δεν επαναχρησιμοποιείται
23. Τύποι καλλιεργειών: -
24. Διάθεση λίπους από το λιποσυλλέκτη: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
25. Διάθεση στραγγιδίων: 1. Ναι 2. Όχι (με αντλία στην είσοδο) 3. Μερικώς
26. Διάθεση εσχαρισμάτων: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
27. Φαινόμενο υπερχειλίσης (λόγω ομβρίων) στο βιολογικό καθαρισμό: 1. Ναι 2. Όχι
28. Συχνότητα υπερχειλίσης: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου
29. Άλλα προβλήματα που παρατηρούνται στην λειτουργία του βιολογικού καθαρισμού
Αναφέρετε: Οσμές – θόρυβος κατά την αρχική φάση λειτουργίας
30. Συχνότητα προβλημάτων: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου

3.3.3 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΛΙΒΑΔΕΙΑΣ

1. Σταθμός Βιολογικού: Μονάδα επεξεργασίας λυμάτων Δήμου Λιβαδειάς
2. Θέση Βιολογικού Καθαρισμού (GIS): -
3. Θεσμικό πλαίσιο: Ε1β/221/1965 – Α52280/1983 – 5673/400/1997
4. Έτος αρχικής λειτουργίας: 1993
5. Αριθμός μόνιμων εργαζομένων: -
6. Ειδικότητα & αριθμός εργαζομένων:

- i. Χημικός: -
 - ii. Χημικός Μηχανικός: -
 - iii. Μηχανολόγος Μηχανικός: -
 - iv. Μηχανικός (άλλη ειδικότητα): -
 - v. Ειδικευόμενος Τεχνίτης: -
 - vi. Ανειδίκευτος: -
 - vii. Άλλο: -
7. Όγκος λυμάτων στην είσοδο: Μέση παροχή 5500 μ/ημέρα
 8. Είδος λυμάτων του βιολογικού καθαρισμού: 1. Αστικά 2. Νοσοκομειακά 3. Μικτά 4. Αγροτικά/κτηνοτροφικά 5. Μεικτό σύστημα αποχέτευσης που συμπεριλαμβάνει όμβρια νερά
 9. Παροχή λυμάτων στην είσοδο: Μέση ωριαία παροχή 400μ/ώρα
 10. Κατηγορία επεξεργασίας λυμάτων στο σταθμό (σύμφωνα με καταστατικό λειτουργίας): 1. Πρωτοβάθμια 2. Δευτεροβάθμια 3. Τριτοβάθμια 4. Τεταρτοβάθμια 5. Άλλη
 11. Είδος απολυμαντικού που χρησιμοποιείται στην έξοδο: 1. Χλώριο 2. Υποχλωριώδες Νάτριο 3. Όζον 4. Κανένα 5. Άλλο
 12. Ποσότητα απολυμαντικού στην έξοδο: 14% μετά από χρόνο επαφής 30 min. Υπολειμματικό 0,3 – 0,5 mg/l
 13. Αποδέκτης επεξεργασμένων εκροών βιολογικού καθαρισμού: 1. Θάλασσα 2. Λίμνη 3. Επιφανειακή απόθεση 4. Άρδευση 5. Άλλο – Ποτάμι Έρκυνα
 14. Ύπαρξη εναλλακτικού αποδέκτη: 1. Ναι 2. Όχι
 15. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης αποβλήτων βιολογικού: 10% ανάγκες σε βιομηχανικό νερό
 16. Τύποι καλλιεργειών αποδεκτών των αποβλήτων: Ελεγχόμενη άρδευση καλλιεργήσιμων εκτάσεων κατά τη διάρκεια της αρδευτικής περιόδου
 17. Συχνότητα λήψης μετρήσεων στην έξοδο: 1. Καθημερινά 2. Εβδομαδιαία 3. Μηνιαία 4. Καθόλου 5. Άλλο
 18. Είδος μετρήσεων: 1. COD 2. BOD 3. Υπολειμματικό Χλώριο 4. Κανένα 5. Άλλο pH, αιωρούμενα στερεά, ολικό άζωτο, φώσφορος
 19. Επεξεργασία ιλύος: 1. Ναι 2. Όχι
 20. Τρόπος επεξεργασίας ιλύος: 1. Ξήρανση 2. Μηχανική αφυδάτωση
 21. Τρόπος εναπόθεσης ιλύος: 1. Λίπασμα για χωράφια 2. ΧΑΔΑ 3. Προσωρινή αποθήκευση σε ειδικά δοχεία – μεταφορά στο ΧΥΤΑ
 22. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης ιλύος: Δεν επαναχρησιμοποιείται
 23. Τύποι καλλιεργειών: -
 24. Διάθεση λίπους από το λιποσυλλέκτη: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
 25. Διάθεση στραγγιδίων: 1. Ναι 2. Όχι (με αντλία στην είσοδο) 3. Μερικώς
 26. Διάθεση εσχαρισμάτων: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
 27. Φαινόμενο υπερχειλίσσης (λόγω ομβρίων) στο βιολογικό καθαρισμό: 1. Ναι 2. Όχι
 28. Συχνότητα υπερχειλίσσης: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου
 29. Άλλα προβλήματα που παρατηρούνται στην λειτουργία του βιολογικού καθαρισμού
Αναφέρετε: προβλήματα στη διάρκεια απογλωρίωσης, οσμές
 30. Συχνότητα προβλημάτων: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου

3.3.4 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΑΤΡΑΣ

1. Σταθμός Βιολογικού: Ε.Ε.Λ.ΔΕΥΑ.ΠΑΤΡΩΝ
2. Θέση Βιολογικού Καθαρισμού (GIS): 38° 12' 17-50⁴ β 21° 42' 48, 18 Α
3. Θεσμικό πλαίσιο: -
4. Έτος αρχικής λειτουργίας: 2001
5. Αριθμός μόνιμων εργαζομένων: 16
6. Ειδικότητα & αριθμός εργαζομένων:
 - i. Χημικός: 1
 - ii. Χημικός Μηχανικός: 1
 - iii. Μηχανολόγος Μηχανικός: -
 - iv. Μηχανικός (άλλη ειδικότητα): Ηλεκτρολόγος
 - v. Ειδικευόμενος Τεχνίτης: 7
 - vi. Ανειδίκευτος: 6
 - vii. Άλλο: -
7. Όγκος λυμάτων στην είσοδο: 39000 m³
8. Είδος λυμάτων του βιολογικού καθαρισμού: 1. Αστικά 2. Νοσοκομειακά 3. Μικτά 4. Αγροτικά/κτηνοτροφικά 5. Μεικτό σύστημα αποχέτευσης που συμπεριλαμβάνει όμβρια νερά
9. Παροχή λυμάτων στην είσοδο: -
10. Κατηγορία επεξεργασίας λυμάτων στο σταθμό (σύμφωνα με καταστατικό λειτουργίας): 1. Πρωτοβάθμια 2. Δευτεροβάθμια 3. Τριτοβάθμια (Μερική) 4. Τεταρτοβάθμια 5. Άλλη
11. Είδος απολυμαντικού που χρησιμοποιείται στην έξοδο: 1. Χλώριο 2. Υποχλωριώδες Νάτριο 3. Οξον 4. Κανένα 5. Άλλο ClO₂
12. Ποσότητα απολυμαντικού στην έξοδο: -
13. Αποδέκτης επεξεργασμένων εκροών βιολογικού καθαρισμού: 1. Θάλασσα 2. Λίμνη 3. Επιφανειακή απόθεση 4. Άρδευση 5. Άλλο
14. Ύπαρξη εναλλακτικού αποδέκτη: 1. Ναι 2. Όχι
15. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης αποβλήτων βιολογικού: 5%
16. Τύποι καλλιεργειών αποδεκτών των αποβλήτων: Πράσινο
17. Συχνότητα λήψης μετρήσεων στην έξοδο: 1. Καθημερινά 2. Εβδομαδιαία 3. Μηνιαία 4. Καθόλου 5. Άλλο
18. Είδος μετρήσεων: 1. COD 2. BOD 3. Υπολειματικό Χλώριο 4. Κανένα 5. Άλλο pH, TKN, TSS + DSVI, Θ°C, TAC, NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, VA, VS, Λίπη
19. Επεξεργασία ιλύος: 1. Ναι 2. Όχι
20. Τρόπος επεξεργασίας ιλύος: 1. Ξήρανση 2. Άλλη: Αφυδάτωση
21. Τρόπος εναπόθεσης ιλύος: 1. Λίπασμα για χωράφια 2. ΧΑΔΑ 3. Άλλο
22. Ποσοστό επαναχρησιμοποίησης ιλύος: Κομποστοποίηση 100%
23. Τύποι καλλιεργειών: -
24. Διάθεση λίπους από το λιποσυλλέκτη: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
25. Διάθεση στραγγιδίων: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς
26. Διάθεση εσχαρισμάτων: 1. Ναι 2. Όχι 3. Μερικώς (XYTA)
27. Φαινόμενο υπερχείλισης (λόγω ομβρίων) στο βιολογικό καθαρισμό: 1. Ναι 2. Όχι
28. Συχνότητα υπερχείλισης: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου

29. Άλλα προβλήματα που παρατηρούνται στην λειτουργία του βιολογικού καθαρισμού

Αναφέρετε: -

30. Συχνότητα προβλημάτων: 1. 1-3 ανά έτος 2. 4-6 ανά έτος 3. > 6 ανά έτος 4. Καθόλου

3.4 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιούνταν ως επί των πλείστων μία φορά τον μήνα, τόσο από τα εισερχόμενα όσο και από τα εξερχόμενα λύματα των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, της Λιβαδειάς, της Αράχωβας και της Πάτρας. Υπήρξαν βέβαια και κάποιοι μήνες, κατά τους οποίους πραγματοποιήθηκαν διπλές δειγματοληψίες. Το σύνολο των δειγμάτων μας ήταν 76 και οι δειγματοληψίες μας διήρκησαν ένα χρόνο.

Όλα τα δείγματα συγκεντρώνονταν στο ερευνητικό εργαστήριο, όπου γίνονταν ο διαχωρισμός των κατάλληλων ποσοτήτων ανάλογα με τις αναλύσεις που θα πραγματοποιούνταν σε κάθε εργαστήριο. Εν συνεχεία ακολουθούσε φύλαξη τους, σε θερμοκρασία κάτω των 20°C και την επομένη μέρα αποστέλλονταν στα αντίστοιχα εργαστήρια, προκειμένου να ξεκινήσει η επεξεργασία των δειγμάτων.

3.5 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.5.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΣΩΛΗΝΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΩΝ & *E.coli*

Στη μέθοδο αυτή γίνεται χρήση δεκαδικών αραιώσεων μέχρι την 10^{-7} . Για κάθε αραιώση εμβολιάζονται 3 σωλήνες, οι οποίοι περιέχουν ένα κατάλληλο θρεπτικό υλικό (Fluorocult), για την ανάπτυξη των βακτηρίων και αντεστραμμένα σωληνάριο Durham, στα οποία συγκεντρώνονται τα παραγόμενα αέρια από την βιολογική αποικοδόμηση του θρεπτικού υλικού.

Σε κάθε σωληνάριο προσθέτουμε την ποσότητα του δείγματος (λύματος) που καθορίζεται από την προδιαγραφή της μεθόδου και στη συνέχεια τοποθετούμε τα σωληνάκια σε επωαστικό κλίβανο για 24h στους 37° C.

Θετικά για ολικά κολοβακτηριοειδή κρίνονται τα σωληνάκια στα οποία διαπιστώνεται η ύπαρξη αερίου, μέσα στα σωληνάκια Durham. Για την *E.coli* ελέγχουμε για φθορισμό με την λάμπα UV. Αν δεν υπάρχει φθορισμός επωάζουμε για άλλες 24h. Ελέγχουμε για φθορισμό και για την παραγωγή ινδόλης, με το αντιδραστήριο Kovacs. Ο αριθμός των βακτηρίων που περιέχονται στο δείγμα μας, υπολογίζεται με την βοήθεια ειδικών πινάκων, συναρτήσει του αριθμού των θετικών σωληναρίων. Η μέθοδος είναι η μόνη ενδεδειγμένη σε περιπτώσεις παχύρευστων υγρών ή νερών με πολλά φερτά υλικά (<http://users.auth.gr/darakas/3Mikroorganismoι.pdf>)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Kovack's

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

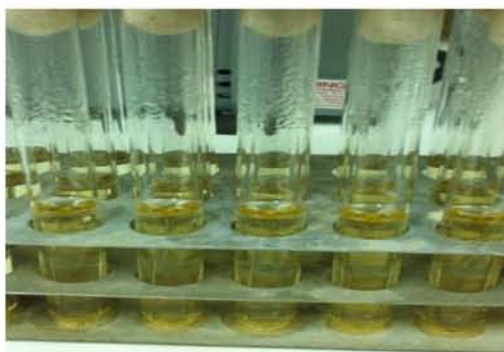
- Fluorocult
- Bacteriological Peptone

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Ψυγεία Μεταφοράς Δειγμάτων
- Παγοκύστες
- Ψυγεία Συντήρησης
- Vortex
- Αυτόματη Πιπέτα Αναρρόφησης
- Ογκομετρικοί Κύλινδροι
- Κωνικές Φιάλες
- Λύχνος Bunsen
- Πιπέτα των 1000μl
- Επωαστικός Κλίβανος 37° C
- Λάμπα Φθορισμού (UV)

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- Α. Παραλαβή δείγματος
- Β. Χωρίς να αφαιρεθεί το κούμπωμα, από το μπουκάλι δειγματοληψίας, γίνεται ανάδευση 10 – 20 φορές, ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη κατανομή των βακτηριδίων. Εάν το μπουκάλι είναι γεμάτο μέχρι το στόμιο, αφαιρούνται 20 – 30 mL, προκειμένου να εξασφαλιστεί η πλήρη ανάμειξη.
- Γ. Σε ένα αποστειρωμένο μπουκάλι το οποίο περιέχει 180 mL διαλύματος βακτηριακής πεπτόνης, προστίθενται 20 mL από το δείγμα μας. Ακολουθεί καλή ανάδευση.
- Δ. Στη συνέχεια, με μία αποστειρωμένη πιπέτα, λαμβάνεται 1 mL από το διάλυμα που παρασκευάστηκε στο προηγούμενο στάδιο, και εμβολιάζεται στον πρώτο σωλήνα (ο οποίος περιέχει 9 mL διαλύματος βακτηριακής πεπτόνης). Γίνονται διαδοχικές αραιώσεις από την 10^{-1} μέχρι την 10^{-7} . Εν συνεχεία γίνεται καλή ανάδευση των σωλήνων μας στο Vortex.



Εικόνα 20: Δοκιμαστικοί σωλήνες που περιέχουν διάλυμα βακτηριακής πεπτόνης και ένα σωληνάριο Durham.

- Ε. Για κάθε δείγμα, έχει προετοιμαστεί ένα στατό, το οποίο περιέχει 21 σωλήνες, με 3 σωλήνες για κάθε σειρά (αραίωση του δείγματος). Επομένως εμβολιάζεται αυτούσιο το δείγμα και στις 7 αραιώσεις. Ο κάθε σωλήνας εμπεριέχει 9 mL Fluorocult και ένα αντεστραμμένο σωλήνα Durham. Λαμβάνεται 1mL δείγματος από κάθε έναν σωλήνα της προηγούμενης αραιώσης και αρχίζουν οι διαδοχικές αραιώσεις από την 10^{-7} μέχρι και την 10^{-1} .
- Φ. Ακολουθεί επώαση των σωλήνων για 24h ή 48h στους 37° C.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΟΛΙΚΑ ΚΟΛΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ

- Μετά το τέλος της 24ωρης επώασης, εξετάζεται ο κάθε σωλήνας για την παραγωγή αερίου. Το εάν έχει σχηματιστεί αέριο, φαίνεται μέσα στον σωλήνα Durham. Άρα ως "θετικοί " χαρακτηρίζονται οι σωλήνες στους οποίους έχει σχηματιστεί αέριο μέσα στα σωληνάρια Durham και μόνο.



Εικόνα 21 : Διάλυμα βακτηριακής πεπτόνης με παραγωγή αερίου λόγω παρουσίας ολικών κολοβακτηριδίων

- Για την διεξαγωγή των αποτελεσμάτων γίνεται χρήση ενός πίνακα στον οποίο καταγράφεται ο αριθμός των θετικών σωλήνων μετά από 24ωρη επώαση. Με την χρήση ειδικών στατιστικών πινάκων, γίνεται η καταμέτρηση των ολικών κολοβακτηριδίων.

Πίνακας 17: Πίνακας MPN- για την καταμέτρηση των ολικών κολοβακτηριοειδών & *E.coli*

0,1	0,01	0,001	MPN	95 % Confidence Range	0,1	0,01	0,001	MPN	95 % Confidence Range
0	0	0	<3.0	0-9.5	2	2	0	21	4.5-42
0	0	1	3	0.15-9.6	2	2	1	28	8.7-942
0	1	0	3	0.15-11	2	2	2	35	8.7-94
0	1	1	6.1	1.2-18	2	3	0	29	8.7-94
0	2	0	6.2	1.2-18	2	3	1	36	8.7-94
0	3	0	9.4	3.6-38	3	0	0	23	4.6-94
1	0	0	3.6	0.17-18	3	0	1	38	8.7-110
1	0	1	7.2	1.3-18	3	0	2	64	17-180
1	0	2	11	3.6-38	3	1	0	43	9-180
1	1	0	7,4	1.3-18	3	1	1	75	17-200
1	1	1	11	3.6-38	3	1	2	120	37-420
1	2	0	11	3.6-42	3	1	3	160	40-420
1	2	1	15	4.5-42	3	2	0	93	18-420
1	3	0	16	4.5-42	3	2	1	150	37-420
2	0	0	9.2	1.4-38	3	2	2	210	40-430
2	0	1	14	3.6-42	3	2	3	290	90-1000

2	0	2	20	4.5-42	3	3	0	240	42-1000
2	1	0	15	3.7-42	3	3	1	460	90-2000
2	1	1	20	4.5-4.2	3	3	2	1100	180-4100
2	1	2	27	8.7-94	3	3	3	>1100	420-4000

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αν οι σωλήνες, είναι αρνητικοί, δηλαδή δεν παρατηρείται σχηματισμός αερίου, ακολουθεί επώαση για άλλες 24h και επανεξετάζεται ο σχηματισμός αερίου. Ακολουθεί καταγραφή του αριθμού των θετικών σωλήνων μετά από 48h.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ *E. Coli*

1. Οι θετικοί σωλήνες, τοποθετούνται κάτω από την λάμπα UV, για έλεγχο φθορισμού.



Εικόνα 22: Φθορισμός *E.coli* κάτω από λάμπα UV σε διάλυμα βακτηριακής πεπτόνης

2. Σε κάθε σωλήνα, στον οποίο παρατηρείται παραγωγή αερίου και φθορισμός, προστίθενται 2-3 σταγόνες αντιδραστηρίου Kovack's. Η παρουσία της ινδόλης επιβεβαιώνεται με τον σχηματισμό ενός κόκκινου δακτυλίου.



Εικόνα 23: Θετική αντίδραση ινδόλης σε διάλυμα βακτηριακής πεπτόνης για την επιβεβαιωτική δοκιμή παρουσίας *E.coli*

Άρα

- Όταν παρατηρείται παραγωγή αερίου & η δοκιμή της ινδόλης είναι θετική → τότε το δείγμα θεωρείται **θετικό** στην παρουσία *E.coli*
 - Όταν παρουσιάζεται παραγωγή αερίου και **απουσία ινδόλης** → τότε το δείγμα θεωρείται θετικό στην παρουσία **θερμοανθεκτικών κολοβακτηριδίων**.
3. Χρησιμοποιείται ένας πίνακας στον οποίο καταγράφεται ο αριθμός των θετικών σωλήνων και με την χρήση ειδικών στατιστικών πινάκων υπολογίζεται ο ακριβής πληθυσμός τους.
(CEN BT/TF 151 – prEN 15214-3)

3.5.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ *Salmomella* spp.

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Buffer Peptone Water
- MKTTn
- Rappaport Vassiliadis
- BGA
- XLD
- Kligler Iron Agar

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- API 20E

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Ψυγεία Μεταφοράς Δειγμάτων
- Παγοκύστες
- Ψυγεία Συντήρησης
- Vortex
- Αυτόματη Πιπέτα Αναρρόφησης
- Ογκομετρικοί Κύλινδροι
- Κωνικές Φιάλες
- Λύχνος Bunsen
- Πιπέτες των 1000μl, 100μl
- Επωαστικός Κλίβανος 37° C
- Επωαστικός Κλίβανος 42° C

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

1^ο Στάδιο: ΠΡΟΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ

- ➔ Ο προεμπλουτισμός επιτρέπει την αναζωογόνηση των τραυματισμένων ή στρεσαρισμένων κυττάρων, καθώς και τον πολλαπλασιασμό τους.
- Σε ένα αποστειρωμένο γυάλινο μπουκάλι, το οποίο περιέχει 450 mL Buffered Peptone Water, προστίθενται 50 mL δείγματος.

- Ανάδευση σε 150 rpm για 30 min
- Επώαση στους 37°C για 20 h

2^ο Στάδιο: ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ

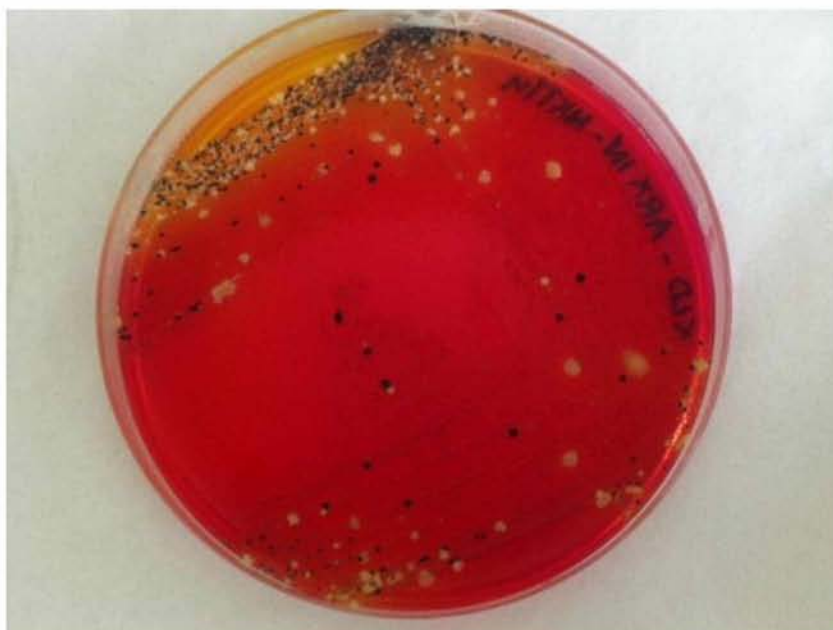
Στο στάδιο αυτό δύο είναι τα κύρια υλικά που θα χρησιμοποιήσουμε:

- I. Τετραθειονικό ζωμό (MKTTh), στον οποίο προστίθεται **1 mL** από το προεμπλουτιστικό διάλυμα. Ακολουθεί επώαση στους **37° C για 24 h**.
- II. Rappaport Vassiliadis, στον οποίο προστίθεται **0,1 mL** από το προεμπλουτιστικό διάλυμα. Επώαση στους **42° C για 24 h**.

➔ Με τον εμπλουτισμό επιτυγχάνεται η αύξηση της συγκέντρωσης της *Salmonellas*, σε σχέση με την υπόλοιπη βακτηριακή χλωρίδα.

3^ο Στάδιο: ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΥΠΙΚΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ

- I. Ανακαλλιέργεια από MKTTh σε: **BGA** και **XLD** → επώαση στους 37° C για 24h.
 - II. Ανακαλλιέργεια από RV σε: **BGA** και **XLD** → επώαση στους 37° C για 24h.
- Οι τυπικές αποικίες από το MKTTh ➔ στο XLD είναι **διανγείς με μαύρο κέντρο**
 - Οι αποικίες από το RV ➔ στο BGA έχουν **ροζ – κόκκινο χρώμα**



Εικόνα 24: XLD Agar με αποικίες *Salmonella spp.*

4^ο Στάδιο: ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

- Επιλέγονται οι τυπικές αποικίες και ανακαλλιεργούνται σε κεκλιμένους σωλήνες, οι οποίοι περιέχουν Kligler Iron Agar
- Επώαση στους 37° C για 24h

Η τυπική εικόνα που λαμβάνεται μετά από την 24ωρη επώαση, είναι η παρουσία αερίου και το μαύρισμα του υποστρώματος εξαιτίας της παραγωγής H₂S.



Εικόνα 25: Kligler ύποπτα για *Salmonella*

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ

- Από τους ύποπτους σωλήνες, γίνεται ανακαλλιέργεια σε XLD άγαρ, επώαση στους 37° C για 24h.
- Ανακαλλιέργεια σε Nutrient agar, επώαση στους 37° C για 24h.
- Ακολουθεί ταυτοποίηση με API 20E

(DRAFT ISO 19250:2009 (E))

3.5.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ *Cryptosporidium* spp.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Citric acid monohydrate molecular biology grade
- Tri-sodium citrate dehydrate molecular biology grade
- Aluminium Sulfate Hydrate Crystalline
- Sodium Hydrate Solution (1M) Molecular biology grade
- NaOH
- Sodium Hydrate Solution
- Lyses Buffer
- Κιτ Ανοσοφθορισμού
- Πράσινο του μαλαχίτη
- Φαινούχος Φουξίνη
- Αποχρωματιστικό Διάλυμα (1% HCl σε αλκοόλη 95%)

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Ψυγεία Μεταφοράς Δειγμάτων
- Παγοκύστες
- Ψυγεία Συντήρησης
- Φυγόκεντρος
- ΡΗμετρο
- Συσκευή Ανάδευσης

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

ΗΜΕΡΑ 1^η

- Το μπουκάλι που περιέχει την ποσότητα του δείγματος που θα εξεταστεί (1L), τοποθετείται πάνω στην συσκευή ανάδευσης. Στη συνέχεια τοποθετείται ένα μαγνητάκι μέσα στο δείγμα και προστίθενται 2 mL $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Αρχίζει η ανάδευση σε χαμηλές στροφές.
- Ακολουθεί ρύθμιση του pH μεταξύ 5,4 – 5,8, προσθέτοντας σταγόνες από το διάλυμα HCl. Μόλις το pH σταθεροποιηθεί, σταματάει η ανάδευση.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αν το pH, έχει πέσει πιο κάτω από το επιθυμητό προστίθενται λίγες σταγόνες Sodium Hydrate Solution.
- Τοποθετούνται τα δείγματα σε σκοτεινό μέρος, σε θερμοκρασία δωματίου για 24 h.

ΗΜΕΡΑ 2^η

- Την επόμενη μέρα, στον πάτο του μπουκαλιού, θα είναι ορατό ένα λευκό σύννεφο. Το σύννεφο αυτό, επειδή μπορεί να διαλυθεί πολύ εύκολα, θα πρέπει η μεταφορά των δειγμάτων, να γίνει προσεκτικά.



Εικόνα 26: Σχηματισμός σύννεφου μετά από την προσθήκη $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ & NaOH

- Τα δείγματα τοποθετούνται πάνω στον πάγκο εργασίας.
- Απορρίπτεται το υπερκείμενο, χρησιμοποιώντας αντλία νερού. Η αναρρόφηση γίνεται μέχρι την ένδειξη των 200 mL. Προσοχή κατά την διάρκεια της αναρρόφησης δεν θα πρέπει να διαταραχθεί το ίζημα.



Εικόνα 27: Αντλία νερού

- Μεταφορά του ιζήματος σε 4 αποστειρωμένους σωλήνες, χωρητικότητας 50mL.
- Πλένεται ο πάτος του μπουκαλιού με απεσταγμένο νερό και γίνεται ελαφρά ανακίνηση, ώστε να συλλεχθεί ότι έχει απομείνει με σκοπό την πλήρωση του τελευταίου από τους τέσσερις σωλήνες.
- Φυγοκέντρωση στις 2.100 στροφές για 10min.
- Απόρριψη του υπερκείμενου με προσοχή, ώστε να μην συμπαρασύρει το ίζημα. Συγκέντρωση όλων των ιζημάτων σε έναν σωλήνα και προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι τα 50mL.
- Φυγοκέντρωση για 10 min στις 2.100 στροφές.
- Αφαίρεση του υπερκείμενου, χρησιμοποιώντας την αντλία νερού. ΠΡΟΣΟΧΗ: είναι απαραίτητη η παρουσία μικρής ποσότητας νερού ίσα – ίσα για να καλύπτει το ίζημα.
- Προστίθεται ρυθμιστικό διάλυμα. Ακολουθεί ανάδευση των δειγμάτων στο Vortex και γίνεται επώαση σε θερμοκρασία δωματίου, για 1 h. Κάθε 15 min, πραγματοποιείται ανάδευση με την βοήθεια του vortex.
- Προστίθεται απεσταγμένο νερό, στους σωλήνες, μέχρι τα 50mL. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 10 min στις 2.100 στροφές.
- Απόρριψη του υπερκείμενου, προσθήκη νερού, ανάδευση στο Vortex και φυγοκέντρωση για 10 min στις 2.100 στροφές. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για άλλη μία φορά.
- Στρώνεται πλακάκι.
- Ακολουθεί χρώση (τροποποιημένη Zielen Nielsen) και ανοσοφθορισμός.

(Karanis et al., 2006)

3.5.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΖΥΜΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Candida*

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Γλυκερόλη
- Φυσιολογικός Ορός
- API 32ID

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Dextrose Broth
- Sabouraud Dextrose Agar
- Sabouraud Agar
- Malt Extract Broth
- Malt Agar

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Ψυγεία Μεταφοράς Δειγμάτων
- Παγοκύστες
- Ψυγεία Συντήρησης
- Vortex
- Συσκευή Διήθησης
- Επωαστικός Κλίβανος 35° C

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Για την απομόνωση της *Candida*, στα δείγματα εισόδου, ακολουθείται η εξής διαδικασία:

- i. Σε αποστειρωμένο μπουκάλι που περιέχει 180 mL φυσιολογικού ορού, προστίθενται 20 mL δείγματος. Ακολουθεί ανάδευση για μισή ώρα.
- ii. Λαμβάνεται 1 mL από το διάλυμα που παρασκευάστηκε στο προηγούμενο στάδιο, και το εμβολιάζεται στον πρώτο σωλήνα (ο οποίος περιέχει 9 mL φυσιολογικό ορό). Γίνονται διαδοχικές αραιώσεις από την 10^{-1} μέχρι την 10^{-7} . Είναι απαραίτητη η καλή ανάδευση των σωληνών στο Vortex.
- iii. Για κάθε δείγμα, έχει προετοιμαστεί ένα στατό, το οποίο περιέχει 21 σωλήνες. Ο κάθε σωλήνας εμπεριέχει 9 mL Sabouraud Dextrose Broth & αντιβιοτικά (chloramphenicol, ciprofloxacin, streptomycin sulfate). Λαμβάνεται 1mL X 3 δείγματος από κάθε έναν σωλήνα του προηγούμενου σταδίου και αρχίζουν οι διαδοχικές αραιώσεις από την 10^{-7} μέχρι και την 10^{-1} .
- iv. Επώαση στους 25° C για 24h
- v. Την επόμενη μέρα παρατηρείται ποιοι από τους σωλήνες, παρουσιάζουν θόλωση ή ίζημα. Από τους σωλήνες που είναι θετικοί λαμβάνονται 20 μl και εμβολιάζονται σε τρυβλία που περιέχουν Sabouraud Dextrose Agar & αντιβιοτικά.
- vi. Επώαση στους 25° C για 24 h.
- vii. Ακολουθεί μικροσκοπική εξέταση νωπού παρασκευάσματος, για να επιβεβαιωθεί ότι πρόκειται για ζύμη.
- viii. Ακολουθεί ανακαλλιέργεια σε Sabouraud. Πραγματοποιείται επώαση στους 25°– 30° C για 24h.
- ix. Φύλαξη στελέχους *Candida* σε γλυκερόλη, για να ταυτοποιηθεί στην συνέχεια με API 32ID.

Διαδικασία ανίχνευσης *Candida* στα δείγματα εξόδου

- i. Διηθούνται 300ml/100 mL δείγματος, στην συσκευή διήθησης.



Εικόνα 28: Συσκευή Διήθησης

- ii. Η κάθε μεμβράνη τοποθετείται σε ένα μεγάλο τρυβλίο , το οποίο περιέχει Sabouraud Dextrose Agar με αντιβιοτικά. Ακολουθεί επώαση στους 25 -30° C, για 48h. Παρακολουθείται από την πρώτη κιόλας μέρα η ανάπτυξη ζυμών, γιατί αν παραμείνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα παρουσιάζεται ανάπτυξη υφομυκήτων, οι οποίοι καλύπτουν τις ζύμες.
- iii. Αν αναπτυχθούν λευκές & κρεμώδεις ζύμες, κατασκευάζεται νωπό παρασκεύασμα, για να επιβεβαιωθεί εάν πρόκειται για ζύμες. Εάν είναι, ακολουθεί ανακαλλιέργεια σε Sabouraud και επώαση στους 25 -30° C για 48h. Από την πρώτη κιόλας ημέρα ελέγχεται πιθανή ανάπτυξη. Ταυτοποίηση των νηματοειδών μυκήτων με την παρασκευή νωπού παρασκευάσματος.
- iv. Εάν είναι *Candida* φυλάσσεται το στέλεχος σε γλυκερόλη και πραγματοποιείται ταυτοποίηση μέσω του API 32ID.

Διαδικασία ανίχνευσης *Scedosporium* στα δείγματα εισόδου

1. Από τις διαδοχικές αραιώσεις, που πραγματοποιήθηκαν για την ανίχνευση της *Candida*, μετά από επώαση 24-72h στους 25°C, από κάθε θετικό σωλήνα λαμβάνονται 200μl και εμβολιάζονται σε θρεπτικό υλικό malt extra agar, το οποίο εμπεριέχει και άλλα αντιβιοτικά (chloramphenicol, ciprofloxacin, streptomycin sulfate, dichloran, benomyl).
2. Επώαση στους 25° C – 27° C για 24-72h
3. Παρακολούθηση για την πιθανή ανάπτυξη *Scedosporium*
4. Αν υπάρχει ανάπτυξη ακολουθεί η παρασκευή νωπού παρασκευάσματος.

Διαδικασία ανίχνευσης *Scedosporium* στα δείγματα εξόδου

1. Ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία, με την διαφορά ότι αλλάζει το υλικό εμβολιασμού, το οποίο είναι malt extract broth, με αντιβιοτικά και με θρεπτικές ουσίες.
2. Επώαση στους 25°C, για 24 – 32h.
3. Παρακολούθηση για την πιθανή ανάπτυξη αποικιών.
4. Ανακαλλιέργεια των ύποπτων αποικιών σε malt agar και επώαση στους 25°C για 24 – 72h.
5. Παρατηρείται η ανάπτυξη αποικιών.

6. Μικροσκόπηση σε νωπό παρασκεύασμα για επιβεβαίωση ότι πρόκειται για *Scedosporium*.
(Katragkou et al, 2007; Cortez et al, 2008; Stripeli et al, 2009)

3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

3.6.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΧΗΜΙΚΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ- COD

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Σετ αντιδραστηρίων μέτρησης COD για φασματοφωτόμετρο, Test N Tube, στην περιοχή 3-150mg/L

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Ψυγεία Μεταφοράς Δειγμάτων
- Παγοκύστες
- Ψυγεία Συντήρησης
- Επωαστήρας / Θερμαντήρας
- Φασματοφωτόμετρο

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ύλη που περιέχεται στο δείγμα και οξειδώνεται όταν θερμαίνεται, από το διχρωμικό κάλιο, προκαλεί αναγωγή του διχρωμικού ιόντος σε τρισθενές χρώμιο. Τα ιόντα αυτά έχουν διαφορετική απορρόφηση φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- 2 mL δείγματος, τοποθετούνται μέσα στο σωληνάριο επώασης (περιέχει διάλυμα χώνευσης: θειικό οξύ και διχρωμικό κάλιο).
- Το δείγμα τοποθετείται στον επωαστήρα, όπου θερμαίνεται στους 140° C για 2h.



Εικόνα 29: Επωαστήρας

- Μετά την ψύξη του υγρού (σε θερμοκρασία περιβάλλοντος) ο σωλήνας τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο που έχει έτοιμη καμπύλη αναφοράς για το COD και αναγιγνώσκεται η σχετική τιμή.



Εικόνα 30: Φασματοφωτόμετρο

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Το υπάρχον φασματοφωτόμετρο έχει αποθηκευμένη έτοιμη καμπύλη αναφοράς για την μέτρηση του COD και η ανάγνωση γίνεται σε mg/L.

3.6.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ- BOD

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- BOD Nutrient Buffer Pillows
- Lithium Hydrate

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Θερμοστατικός θάλαμος 20° C

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Με την μανομετρική μέθοδο μετράται άμεσα το καταναλισκόμενο από τους μικροοργανισμούς οξυγόνο που περιέχεται σε κλειστή φιάλη σε σταθερή θερμοκρασία και ανάδευση.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Υπολογίζεται το εύρος του BOD με βάση την τιμή του COD.



Η ποσότητα του δείγματος υπολογίζεται με βάση το εύρος του BOD.

- Στην κατάλληλη φιάλη της συσκευής, όπου περιέχεται το δείγμα μας, προστίθεται θρεπτικό υλικό με την μορφή αμπούλας (BOD Nutrient Buffer Pillows) και LiOH.
- Η φιάλη συνδέεται με μανόμετρο της συσκευής και τοποθετείται σε θερμοστατικό (σκοτεινό) θάλαμο σε θερμοκρασία 20° C.



Εικόνα 31: Θερμοστατικός Θάλαμος 20° C

- Καταγράφεται η μανομετρική πίεση επί διάστημα 5 ημερών.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η πτώση της μανομετρικής πίεσης αντιστοιχεί σε κατανάλωση οξυγόνου και λαμβανομένου υπόψη του όγκου του δείγματος ανάγεται σε mg/L δείγματος.

3.6.3 ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΑΙΟΡΟΥΜΕΝΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ - TSS

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Συσκευή διήθησης
- Ξηραντήρας
- Κλίβανος 103° C
- Ζυγός

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ομογενοποιημένο δείγμα φιλτράρεται σε προζυγισμένο κατάλληλο φίλτρο, το οποίο ξηραίνεται στους 103° C – 105° C μέχρι σταθερού βάρους.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- Η κάψα μαζί με τον διηθητικό ηθμό ζυγίζεται και τοποθετείται στην ειδική συσκευή διήθησης.



Εικόνα 32: Αναλυτικός Ζυγός

- Ποσότητα δείγματος 100 ml διηθείται στην συσκευή διήθησης.



Εικόνα 33: Συσκευή Διήθησης

- Μετά το τέλος της διήθησης το φίλτρο τοποθετείται στην κάψα και κατόπιν στον κλίβανο στους 103 -104° C για 1h.



Εικόνα 34: Κλίβανος 103° C

- Ψύχεται για 15 λεπτά σε ξηραντήρα και κατόπιν το φίλτρο ζυγίζεται εκ νέου.



Εικόνα 35: Ξηραντήρας

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Τα ολικά αιωρούμενα στερεά υπολογίζονται από την διαφορά των δύο ζυγίσεων. Το αποτέλεσμα ανάγεται σε mg αιωρούμενων στερεών / L δείγματος.

3.6.4 ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Αγωγιμόμετρο

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- Το αγωγιμόμετρο βαθμονομείται με κατάλληλο buffer.
- Το ηλεκτρόδιο ξεπλένεται με απεσταγμένο νερό και εμβαπτίζεται στο δείγμα μας.
- Καταγράφεται η τιμή που εμφανίζεται στη οθόνη του αγωγιμόμετρου και ξεπλένεται το ηλεκτρόδιο με απεσταγμένο νερό.

(Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1999)

3.7 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΙΩΝ

ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- Φυγόκεντρος υψηλής ταχύτητας (8000 x g)
- pHμετρο, θερμόμετρο & αγωγιμόμετρο
- Αποστειρωμένες πιπέτες
- Eppendorf, falcons
- Δοχεία φυγοκέντρωσης (500 mL)
- Μαγνητικοί αναδευτήρες & μαγνητάκια
- Πλαστικά μπουκάλια δειγματοληψίας

- Χρονόμετρο

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Hydrochloric acid
- Sodium Hydroxide
- Skimmed Milk
- Phosphate Buffer

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

50 mL δείγματος αναμιγνύονται με ρυθμιστικό διάλυμα γλυκίνης 0.25 N, pH 9.5, για την έκλυση των ιόν από την οργανική ύλη. Το δείγμα μετά από 30 λεπτά ανατάραξης σε πάγο, φυγοκεντρείται. Το υπερκείμενο που προκύπτει οξυνίζεται. Προστίθεται προ-κροκυδωμένο αποβουτυρωμένο γάλα και το δείγμα αναδεύεται για 8-10 ώρες, ώστε οι ιοί που υπάρχουν να προσροφηθούν στα κροκίδια. Το δείγμα ρυθμίζεται για 8-10 ώρες, ώστε να υπάρξει καθίζηση των κροκιδίων. Ακολουθεί φυγοκέντρηση και το ίζημα που προκύπτει επαναιωρείται σε 1mL ρυθμιστικού φωσφορικού διαλύματος, με pH 7.5.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

ΒΗΜΑ 1^ο: Παρασκευή του προ-κροκιδωμένου αποβουτυρωμένου γάλακτος (PSM)

- Για κάθε δείγμα παρασκευάζονται 100mL skimmed milk και ρυθμίζεται το pH στο 3.5.

ΒΗΜΑ 2^ο : Ρύθμιση pH δείγματος και κροκίδωση

- Χρησιμοποιείται ένα επιπλέον δείγμα ως θετικό control. Το δείγμα αυτό θα πρέπει να είναι ένα περιβαλλοντικό δείγμα, όπως τα δείγματα που πρόκειται να εξεταστούν, αλλά θα εμβολιαστεί / ενοφθαλμιστεί σε μία γνωστή συγκέντρωση ιικών σωματιδίων.
- Προετοιμάζεται ένα αρνητικό control (νερό βρύσης).
- Σε 50 mL δείγματος προστίθενται 100 mL ρυθμιστικού διαλύματος γλυκίνης 0.25 N, με pH 9.5. Ακολουθεί ανάδευση επί 30 min σε πάγο ή στους 4° C με μαγνητικό αναδευτήρα.
- Το δείγμα φυγοκεντρείται στις 8000 στροφές για 15 min στους 4° C.
- 150 mL υπερκείμενου τοποθετούνται σε καθαρά μπουκάλια και το pH ρυθμίζεται στο 3.5, με την προσθήκη HCl 1N. Όταν προστίθεται το HCl ακολουθεί έντονη ανάδευση.
- Καταγράφεται το pH του δείγματος πριν και μετά την ρύθμιση του, καθώς και ο όγκος του HCl που χρησιμοποιήθηκε. Επίσης, καταγράφεται η αγωγιμότητα του δείγματος μετά την ρύθμιση του pH.
- Προστίθεται 1,5 mL PSM 1%
- Τα δείγματα αναδεύονται για 8-10 h για να προσροφηθούν από τις κροκίδες. Μόλις περάσουν οι 8-10 h, σταματάει η ανάδευση και το δείγμα παραμένει σε ηρεμία για άλλες 8 -10 h, προκειμένου να καθιζάνουν οι κροκιδώσεις.

ΒΗΜΑ 3^ο : Συλλογή και εκ νέου διάλυση των κροκιδώσεων. Φυγοκέντρηση. Δημιουργία εναιωρήματος από το ίζημα.

- Φυγοκέντρηση στις 8.000 στροφές για 30 min στους 4° C
- Απόρριψη του υπερκείμενου

- Το ίζημα αναδιαλύεται σε 1 mL ρυθμιστικού φωσφορικού διαλύματος 0,2 M με pH 7.5. Αποθηκεύεται στους -80° C, έως ότου πραγματοποιηθεί περαιτέρω ανάλυση.

ΒΗΜΑ 4^ο : Ακολουθεί Real Time PCR (Calqua et al., 2008)

3.8 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΔΙΠΛΟΣΤΟΙΒΑΔΑΣ

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- MSB (Modified Scholtens' Broth)
- Agar technical
- Agar No 1

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- 1 mL δείγματος λύματος αναμιγνύεται σε 2.5 mL SSMSA
- Στο δείγμα γίνεται προσθήκη 1mL καλλιέργειας του WG5*
- Το μίγμα τοποθετείται σε αντίστοιχο στερεό θρεπτικό υλικό (MSA)
- Ακολουθεί επώαση στους 37° C για 18±2 ώρες
- Μέτρηση των πλακών διαύγασης που δημιουργούνται από την λύση των βακτηριακών κυττάρων από τους φάγους.
- Έκφραση των αποτελεσμάτων σε pfu/mL
- Παράλληλα με τα δείγμα αναλύονται και δύο δείγματα μάρτυρες, ο θετικός και ο αρνητικός. Στον αρνητικό προστίθεται αντί δείγματος 1mL αποστειρωμένου νερού, ενώ στο θετικό μάρτυρα προστίθεται αντί δείγματος 1 mL αντίστοιχου στελέχους βακτηριοφάγου αναφοράς.

*Στέλεχος – ξενιστής: Στέλεχος E.coli CN (WG5) (ATCC 700078)
(ISO 10705-2:2000)

3.9 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι μετρήσεις που έγιναν χωρίζονται σε 2 μεγάλες και αρκετές μικρότερες κατηγορίες, ανάλογα με τον χρόνο και τον τόπο διεξαγωγής τους.

1. Επιτόπιες μετρήσεις

Κατά την διάρκεια της δειγματοληψίας σε κάθε μονάδα συμπληρώνοντας ένα δελτίο δειγματοληψίας οποίο περιλαμβάνει:

- Ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας
- Το ακριβές σημείο δειγματοληψίας
- Τον όγκο του δείγματος (ποικίλει σε σχέση με τον απαιτούμενο όγκο, για λόγους όγκου παροχής και άλλες τεχνικές παραμέτρους)
- Στοιχεία καιρικών συνθηκών (θερμοκρασία, βροχή, άνεμος)
- Ορισμένες χημικές παραμέτρους που πρέπει να μετρώνται επί τόπου (ελεύθερο χλώριο, αγωγιμότητα, pH, θολερότητα)

2. Μετρήσεις στα εργαστήρια

Έγιναν μετρήσεις σε 5 εργαστήρια για 6 διαφορετικές κατηγορίες παραμέτρων. Η κάθε κατηγορία περιελάμβανε μια σειρά παραμέτρων. Η μείωση των συγκεντρώσεων όλων αυτών των παραμέτρων στην έξοδο των μονάδων σε σχέση με τις συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν στην είσοδο αποτελεί κριτήριο αποτελεσματικότητας το οποίο παρεμβαίνει στην στατιστική επεξεργασία και στην δημιουργία μοντέλου. Το σύνολο επομένως των εργαστηριακών δεδομένων ήταν:

78 δείγματα X 15 κατηγορίες / και υποκατηγορίες = 1170 εργαστηριακά αποτελέσματα

Τα αναλυτικά αποτελέσματα μαζί με τα δεδομένα που συλλέχτηκαν κατά την διάρκεια των δειγματοληψιών παρουσιάζονται παρακάτω.

ΕΤΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΩΝ 2013																		
Sample ID	Month	Time	temperature	ph	chlorine	Total coliforms	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Bacteriophages	COD	BOD	Suspended solids	Conductivity	Virus	<i>Cryptosporidium spp. & Giardia</i>	Molds	<i>Candida spp.</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i>
PAT_I N	JA N	0.43 8	18.5	7.8	0	4.6*10^4	4.6*10^4	NC	6.1*10^2	5.15*10^2	1*10^2	1.11*10^2	1.742*10^3	50.81			<i>Candida</i> <i>sp.</i> , <i>Geotric</i> <i>hum.sp.</i>	<i>Candida</i> <i>sp.</i>
PAT_ OUT	JA N	0.43 8	18.5	7.5	0	9.3*10^3	9.3*10^3	NC	2.2*10^2	6	<5	1.9*10^1	1.62*10^3	33.54		<i>Mucor</i> <i>sp.</i>	<i>Candida</i> <i>sp.</i>	<i>Candida</i> <i>sp.</i>
LEV_I N	JA N	13.0 0			0	1.1*10^7	1.1*10^7	NC	3.4*10^3	7.8*10^2	1.78*10^2	6.9*10^2	1.7*10^3	3125.7 1				
LEV_ OUT	JA N	13.3 0			0	1.5*10^4	1.5*10^4	NC	5*10^1	1.03*10^2	1.8*10^1	1.07*10^2	1.239*10^3	6.95		<i>Mucor</i> <i>sp.</i>	<i>Candida</i> <i>sp.</i>	<i>Geotric</i> <i>hum.sp.</i>
ARH_ IN	JA N	12.2 0			0	1.1*10^7	3.5*10^5	NC	1.1*10^4	5.15*10^2	1.18*10^2	2.08*10^2	1.174*10^3	597.56			<i>C.lipolytica</i> , <i>Rhodoto</i> <i>rula</i> , <i>Geotric</i> <i>hum.sp.</i>	
ARH_ OUT	JA N	12.5 0		7.35	0.25	2.4*10^4	2.4*10^4	NC	1.1*10^3	9.3*10^1	2.2*10^1	3.3*10^1	7.18*10^2	165.56		<i>Mucor</i> <i>sp.</i>		
PAT_I N	FE B	0.45 8	18	8	0	1.5*10^6	1.5*10^6	NC	3.3*10^3	9*10^1	7.4*10^1	7.3*10^1	4.64*10^3	156.1	<i>Crypto</i> <i>sporidi</i> <i>um</i>			
PAT_ OUT	FE B	0.45 8	18	7.52	0	1.5*10^4	1.5*10^4	NC	1.4*10^1	3	<5	1.3*10^1	1.82*10^3	33.54	<i>Crypto</i> <i>sporidi</i>	<i>Mucor</i> <i>sp.</i>	<i>Rhodoto</i> <i>rula</i>	

Library & Information Centre - University of Thessaly
Tel: +30 210 7723800
Fax: +30 210 7723801
E-mail: lib@lib.uth.gr
Web: www.lib.uth.gr

															<i>um</i>	<i>Aspergil lus sp., Geotric hum sp.</i>		
LEV_I N	FE B	12.3 0			0	$>1,1*10^7$	$>1,1*10^7$	NC	$7*10^3$	$4.8*10^2$	$2.68*10^2$	$2.12*10^2$	$1.27*10^3$	442.28	<i>G.lam blia, Crypto sporidi um</i>			
LEV_ OUT	FE B	13.2 0	13.5	7.8	0	$1.1*10^5$	$1.1*10^5$	NC	$1.8*10^3$	$9.2*10^1$	$4.2*10^1$	$2.6*10^1$	$1.26*10^3$	7.62	<i>G.lam blia, Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor sp., Aspergil lus sp., Geotric hum sp., Penicilli um sp.</i>	<i>Candida sp., Rhodoto rula</i>	
ARH_ IN	FE B	10.3 0			0	$1.1*10^6$	$1.1*10^6$	NC	$1.75*10^3$	$2.6*10^2$	$1.45*10^2$	$1.12*10^2$	$7.63*10^2$	125.47				
ARH_ OUT	FE B	11.0 0	11	7.4	0.01	$1.1*10^6$	$1.1*10^6$	NC	$6.9*10^2$	$1.53*10^2$	$4.7*10^1$	$1.9*10^1$	$8.07*10^2$			<i>Mucor sp., Penicilli um sp.</i>	<i>Candida sp., Rhodoto rula</i>	
PAT_I N	FE B	0.43 8	19	7.8	0	$4.6*10^4$	$1.5*10^4$	NC	$6.7*10^3$	$2.6*10^2$	$8*10^1$	$1.11*10^2$	$1.696*10^3$	9.17	<i>G.lam blia, Crypto sporidi um</i>			<i>C.collic ulosa</i>
PAT_	FE	0.43	19	7.7	0	$1.5*10^4$	$9.3*10^3$	NC	7	5	<5	3	$1.772*10^$	0.54	<i>Crypto</i>	<i>Mucor</i>	<i>C.</i>	<i>C.pellic</i>

OUT	B	8											3		<i>sporidium</i>	<i>sp., Penicillium sp.</i>	<i>rugosa, C.lipolytica, Rhodotomula,</i>	<i>ulosa</i>
LEV_IN	FE B	10.3 0				$1.1 \cdot 10^5$	$4.6 \cdot 10^4$	NC	0	$2.8 \cdot 10^2$	$1.2 \cdot 10^2$	$1.17 \cdot 10^2$	$3.38 \cdot 10^3$	144.29			<i>Will.saturnus</i>	<i>C.pelliculosa</i>
LEV_OUT	FE B	11.2 0	17	7.4	0	$9.3 \cdot 10^3$	$9.3 \cdot 10^3$	NC	$6.7 \cdot 10^2$	$3.8 \cdot 10^1$	$1.8 \cdot 10^1$	2	$9.44 \cdot 10^2$	29.5		<i>Mucor sp., Aspergillus sp., Penicillium sp.</i>	<i>Rhodotomula, Candida sp., Geotrichum sp</i>	<i>Geotrichum sp.</i>
ARH_IN																		
ARH_OUT																		
PAT_IN	MA R	0.46 9	19	7.8	0	$1.1 \cdot 10^5$	$1.1 \cdot 10^5$	NC	$1 \cdot 10^3$	$2.4 \cdot 10^2$	$9 \cdot 10^1$	$1.12 \cdot 10^2$	$2.42 \cdot 10^3$	129.08	<i>G.lambliia, Cryptosporidium</i>		<i>C.pelliculosa</i>	<i>Geotrichum sp.</i>
PAT_OUT	MA R	0.46 9	19	7.7	0	$3.8 \cdot 10^3$	$2.3 \cdot 10^3$	NC	$1.1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	5	$1.5 \cdot 10^1$	$1.52 \cdot 10^3$	1.01		<i>Mucor sp., Penicillium sp.</i>	<i>C.colliculosa, Rhodotomula</i>	<i>C.sake</i>
LEV_IN	MA R	11.3 0	14			$1.1 \cdot 10^7$	$1.1 \cdot 10^7$	NC	$6.7 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$4 \cdot 10^1$	$5.05 \cdot 10^2$	56.99	<i>G.lambliia, Crypto</i>			

															<i>sporidi um</i>			
LEV_ OUT	MA R	11.0 0		7.2	0	$1.5 \cdot 10^3$	$7.4 \cdot 10^2$	NC	$3.2 \cdot 10^1$	5	<5	$1.4 \cdot 10^1$	$2.71 \cdot 10^2$	42.45	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor sp., Aspergil lus sp., Penicilli um sp.</i>	<i>C.sake</i>	<i>Geotric hum sp., Trichos poron</i>
ARH_ IN	MA R	09.3 0	12			$2.8 \cdot 10^6$	$1.1 \cdot 10^6$	NC	$1.15 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^1$	$2 \cdot 10^1$	$3.4 \cdot 10^1$	$4.95 \cdot 10^2$	No Ct			<i>C.tropic alis</i>	
ARH_ OUT	MA R	09.4 5		7.4	0.02	$1.5 \cdot 10^3$	$1.5 \cdot 10^3$	NC	$1.65 \cdot 10^2$	$1.6 \cdot 10^1$	8	$2 \cdot 10^1$	$2.73 \cdot 10^2$	6.13		<i>Mucor sp., Aspergil lus sp., Geotric hum sp., Penicilli um sp.</i>	<i>C.lusita niae</i>	<i>Trichos poron</i>
PAT_I N	AP R	0.44 4	19	7.9	0	$2.5 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$	NC	$7.2 \cdot 10^3$	$2.1 \cdot 10^2$	$1.1 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^1$	$1.475 \cdot 10^3$	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>		<i>Candida sp.</i>	<i>C.holaii</i>
PAT_ OUT	AP R	0.44 4	19	7.85	0	$3.5 \cdot 10^3$	$3.5 \cdot 10^3$	NC	$9 \cdot 10^1$	$1.5 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	$1.63 \cdot 10^3$	8.56	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor hiemalis , Penicilli um sp.</i>	<i>Rhodoto rula</i>	
LEV_I N	AP R	12.3 0	21			$1.5 \cdot 10^7$	$4.6 \cdot 10^7$	NC	$1.52 \cdot 10^3$	$3.2 \cdot 10^2$	$1.6 \cdot 10^2$	$2.66 \cdot 10^2$	$1.201 \cdot 10^3$	557.99			<i>Sacchar o.cerevi siae,</i>	<i>Geotric hum sp.</i>

																	<i>Geotric hum sp</i>	
LEV_OUT	AP R	11.40		7.1	0	$2 \cdot 10^5$	$7.5 \cdot 10^5$	NC	$1.06 \cdot 10^3$	$8.5 \cdot 10^1$	$3.7 \cdot 10^1$	$6 \cdot 10^1$	$1.218 \cdot 10^3$	101.51		<i>Mucor sp., Aspergillus sp., Penicillium sp.</i>		<i>Geotric hum sp., C.boidinii</i>
ARH_IN	AP R	10.00	17			$1.6 \cdot 10^3$	$1.1 \cdot 10^5$	NC	$8.2 \cdot 10^2$	$3.2 \cdot 10^1$	$1.7 \cdot 10^1$	$4.9 \cdot 10^1$	$4.64 \cdot 10^2$	1947.52			<i>C.Krusei</i>	<i>Saccharo.cerevisiae</i>
ARH_OUT	AP R	10.30		7.2	0.08	$3.6 \cdot 10^2$	$3.6 \cdot 10^2$	NC	$2.1 \cdot 10^1$	$1 \cdot 10^1$	5	$1.4 \cdot 10^1$	$3.4 \cdot 10^2$	0.94		<i>Mucor sp., Geotric hum sp., Penicillium sp.</i>	<i>Rhodotula</i>	
PAT_IN	MA Y	0.458	20	7.8	0	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$	Salomonella spp.	$4.6 \cdot 10^2$	$4.8 \cdot 10^2$	$2.4 \cdot 10^2$	$1.62 \cdot 10^2$	$6.6 \cdot 10^2$	23.72	<i>Cryptosporidium</i>			
PAT_OUT	MA Y	0.458	20	7.7	0	$4.3 \cdot 10^3$	$1.1 \cdot 10^3$	θετικό kligler	$1.4 \cdot 10^1$	7	4	$2 \cdot 10^1$	$5.12 \cdot 10^2$	2.11		<i>Mucor sp.</i>	<i>zygosacch.sp.</i>	
LEV_IN	MA Y	12.30	30			$4.6 \cdot 10^7$	$6.2 \cdot 10^4$	θετικό kligler	$8 \cdot 10^3$	$1.8 \cdot 10^2$	$1.15 \cdot 10^2$	$5.1 \cdot 10^1$	$1.705 \cdot 10^3$	101.51	<i>G.lambli, Cryptosporidium</i>	<i>Geotric hum sp.</i>	<i>Kloeckera japonica</i>	<i>Sacchar . Klyverii , Geotric hum sp.</i>
LEV_	MA	13.0		7.4	0.04	$4.6 \cdot 10^5$	$7.4 \cdot 10^2$	θετικό	$3.6 \cdot 10^1$	5	4	$1.2 \cdot 10^1$	$7.35 \cdot 10^2$	3.58	<i>Crypto</i>	<i>Aspergil</i>		

OUT	Y	0						kligler								& cryptol i	lus sp., Mucor sp.		
ARH_ IN	MA Y	10.3 0				1.1*10^5	1.1*10^5	θετικό kligler	1.4*10^4	5.28*10^ 2	2.9*10^2	2.07*10^ 2	6.73*10^2	223.13	Crypto sporidi um		C.tropic alis , C.melibi osa	C.sake	
ARH_ OUT	MA Y	11.0 0	28	7.15	0.18	1.5*10^4	3*10^2	Citroba cter 99,9%	4*10^1	2*10^1	1.4*10^1	4*10^1	5.15*10^2	2.17	G.lam blia, Crypto sporidi um	Aspergil lus sp.	Rhodoto rula		
PAT_ IN	MA Y	0.43 8	19	7.9	0	9.3*10^3	2.3*10^3	Salmon ella arizone	2.1*10^2	1.2*10^2	8.5*10^1	6.4*10^1	7.6*10^2	377.27			Candida sp		
PAT_ OUT	MA Y	0.43 8	19	7.7	0	2.3*10^3	3.6*10^2		1.9*10^1	1.5*10^1	1*10^1	9	7.37*10^2	9.01			C.sake, C.quilli ermondi i	Rhodoto rula,	
LEV_ IN	MA Y	11.5 0	26			2*10^5	1.1*10^5	θετικό kligler	2.4*10^3	1.8*10^2	1.2*10^2	1.07*10^ 2	2.77*10^2	27	Crypto sporidi um			Geotric hum sp.	
LEV_ OUT	MA Y	11.0 0		7.5	0.05	3.6*10^2	3.6*10^2		1.6*10^1	1*10^1	5	5	1.72*10^2	0.35	Crypto sporidi um	Mucor sp., Aspergil lus sp., Geotric hum sp			
ARC_I	MA	9.30	26			1.5*10^4	1.5*10^4	θετικό	2.19*10^3	1.75*10^	1.1*10^2	1.29*10^	2.78*10^2	7.74			C.tropic	C.lipolit	

N	Y							kligler		2		2					<i>alis,</i> <i>C.lipoly</i> <i>tica</i>	<i>ica,</i> <i>C.zeyla</i> <i>noides</i>
ARC_OUT	MAY	10.00		7.4	0.2	3.6*10 ²	3.6*10 ²	ΘETIKO (Cytrobacter)	1.13*10 ²	1.5*10 ¹	5	5	1.32*10 ²	7.39		<i>Mucor</i> <i>sp.</i> , <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i> , <i>Geotrichum</i> <i>sp</i>	<i>Rhodotula</i>	
PAT_IN	JUNE	0.458	21	7.8	0	1.1*10 ⁷	4.6*10 ⁵	kligler θετικό- επιμόλ υνση	1.075*10 ³	2.1*10 ²	1.18*10 ²	7.2*10 ¹	1.64*10 ³	1.4	<i>Cryptosporidium</i>			
PAT_OUT	JUNE	0.458	21	7.75	0	1.5*10 ³	9.2*10 ²		4	1*10 ¹	5	8	1.561*10 ³	4.8		<i>Mucor</i> <i>sp.</i> , <i>Penicillium</i> <i>sp.</i>		
LEV_IN	JUNE	10.30	25			>1,1*10 ⁷	2.1*10 ⁶	Salmonella spp.	7.5*10 ³	6.2*10 ²	4.2*10 ²	2.86*10 ²	1.072*10 ³	92.9			<i>Debaryo.etch./c</i> <i>arso</i>	
LEV_OUT	JUNE	11.00		7.2	0	2*10 ⁴	1.5*10 ³	Salmonella spp.	1.55*10 ³	6*10 ¹	4*10 ¹	3.1*10 ¹	1.02*10 ³	84.95		<i>Aspergillus</i> <i>sp.</i> , <i>Mucor</i> <i>sp.</i>	<i>S.cerevisiae</i> , <i>C.pulcherrima</i>	
ARH_IN	JUNE	9.00	22			1.5*10 ⁶	1.1*10 ⁶	Salmonella spp.	6.1*10 ³	4.4*10 ²	3*10 ²	2.55*10 ²	1.067*10 ³	139.65			<i>C.pelliculosa</i>	<i>Geotrichum</i> <i>sp.</i> , <i>C.famata</i> , <i>C.collic</i>

																		<i>ulosa</i>
ARH_OUT	JUNE	9.30		7.4	0.01	2.4×10^4	2.4×10^4	ΘΕΤΙΚΟ (Salmonella arizonae)	1.46×10^3	6.2×10^1	3.8×10^1	3.4×10^1	1.004×10^3	130.15	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Mucor</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Geotrichum</i> sp.	<i>C.colliculosa</i> , <i>Rhodotulula</i> , <i>Crypto. laurentii</i>	<i>C.boidinii</i>
PAT_IN	JULY	0.441	21	7.8	0	2.1×10^5	2.1×10^5	Salmonella arizonae	2.1×10^2	2.45×10^2	1.2×10^2	4.9×10^1	1.337×10^3	16.11			<i>C.colliculosa</i> , <i>Rhodotulula</i>	
PAT_OUT	JULY	0.441	21	8.05	0	9.3×10^3	1.5×10^3	θετικό kligler	8	1.2×10^1	9	1×10^1	9.05×10^2	54.87	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Mucor</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Geotrichum</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>A. Niger</i> , <i>Alternaria</i> sp.		
LEN_IN	JULY	10.00	28			4.6×10^6	4.6×10^6	Salmonella spp.	6.4×10^4	6.2×10^2	4.2×10^2	2.09×10^2	6.79×10^2	253.51				<i>C.intermedia</i> , <i>Geotrichum</i> sp.
LEV_OUT	JULY	10.30		7.1	0.15				6	1.5×10^1	1×10^1	1.5×10^1	4.26×10^2	83.45	<i>Cryptosporidi</i>	<i>Mucor</i> sp	<i>C.intermedia</i>	<i>C.pelliculosa</i>

															<i>um</i>			
ARH_IN	JUL Y	11.3 0	26			1.1*10 ⁷	1.1*10 ⁷	Salmon ella arizona e	1.45*10 ⁴	6.25*10 ²	3.66*10 ²	2.2*10 ²	6.77*10 ²	417.97	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Geotric hum sp.</i>	<i>Rhodoto rula</i>	<i>Crypto. albidus</i>
ARH_OUT	JUL Y	12.0 0		7.3	0.4			Salmon ella arizona e	7	6	5	1*10 ¹	4.33*10 ²	64.02	<i>Crypto sporidi um</i>		<i>Rhodoto rula</i>	
PAT_I N	SEP	0.44 4	20	7.9	0	4.6*10 ⁷	2*10 ⁵		1.35*10 ³	3.1*10 ²	1.4*10 ²	8.8*10 ¹	1.011*10 ³	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>		<i>C.glabr ata</i>	
PAT_OUT	SEP	0.44 4	20	8.05	0	4.3*10 ³	9.2*10 ²		1.5*10 ¹	1.5*10 ¹	1*10 ¹	1*10 ¹	8.4*10 ²	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor sp., Aspergil lus sp., Geotric hum sp., Penicilli um sp., A. Niger</i>	<i>Rhodoto rula</i>	
LEV_I N	SEP	10.0 0	26			1.5*10 ⁷	1.5*10 ⁷	Salmon ella spp. - Salmon ella arizona e	1.1*10 ⁴	3.75*10 ²	2.2*10 ²	8.6*10 ¹	4.28*10 ²	12.64	<i>Crypto sporidi um</i>		<i>V.lipolyt ica, S.cerevi siae</i>	<i>C.sake</i>
LEV_	SEP	10.3		7.1	0.2	2.4*10 ⁴	4.3*10 ³	Salmon	4.1*10 ¹	1*10 ¹	8	5	1.96*10 ²	No Ct		<i>Mucor</i>		

OUT		0						ella								<i>sp., Aspergil lus sp., Geotric hum sp.,</i>		
ARH_ IN	SEP	12.0 0	25			4.6*10^7	1.5*10^7	Salmon ella arizona e	1*10^4	3.85*10^ 2	2.16*10^ 2	1.01*10^ 2	4.12*10^2	No Ct	<i>G.lam blia</i>	<i>Geotric hum sp.</i>	<i>Debary o.etch./c arso,C.g labrata, Will.sat urnus, Kl.apis/ apiculat a</i>	<i>C.boidi nii</i>
ARH_ OUT	SEP	12.3 0		7.2	0.3	4.6*10^4	1.5*10^4	κλινγερ θετικό- επιμόλ υνση	4.3*10^1	1.5*10^1	1.2*10^1	1*10^1	1.94*10^2	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor sp., Aspergil lus sp.</i>		
PAT_I N	OC T	0.45 1	20	7.8	0	4.6*10^5	9.3*10^4	Salmon ella arizona e	1.25*10^2	3.1*10^2	1.25*10^ 2	7.8*10^1	9.02*10^2	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>		<i>C.albica ns</i>	
PAT_ OUT	OC T	0.45 1	20	7.36	0	4.3*10^3	2.3*10^3	Salmon ella arizona e	6*10^1	1.2*10^1	5	7	7.7*10^2	No Ct	<i>Crypto sporidi um</i>	<i>Mucor sp., Geotric hum sp.,</i>	<i>Rhodoto rula</i>	
LEV_I N	OC T	10.0 0	20			1.5*10^7	1.5*10^7	Salmon ella arizona	1.85*10^3	4.25*10^ 2	1.7*10^2	1.58*10^ 2	6.01*10^2	17.22	<i>G.lam blia</i>		<i>Geotric hum sp., V.lipolyt</i>	<i>G.capil atum</i>

								e									<i>ica,T.mucoides, S.cerevisiae</i>	
LEV_OUT	OC T	11.00		7	0.18	4.6*10 ⁵	4.6*10 ⁵	θετικό kligler	1.24*10 ³	8.6*10 ¹	4*10 ¹	5.8*10 ¹	6.02*10 ²	33.37	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Mucor sp., Aspergillus sp.</i>		
ARH_IN	OC T	12.00	16			1.1*10 ⁸	1.1*10 ⁸	kligler θετικό-επιμόλυνση	7.3*10 ³	2.15*10 ²	8.5*10 ¹	1.57*10 ²	6.06*10 ²	34.11	<i>G.lambia, Cryptosporidium</i>		<i>V.lipolytica, Geotrichum sp.</i>	
ARH_OUT	OC T	12.30		7.2	0.25	1.1*10 ⁷	1.5*10 ⁵	Salmonella arizonae	7.7*10 ²	1.2*10 ²	6.5*10 ¹	5.5*10 ¹	6.04*10 ²	1.71		Mucor sp., Aspergillus sp.		
PAT_IN	NO V	0.431	19	7.8	0	>1,1*10 ⁵	>1,1*10 ⁵		3.75*10 ²	3.45*10 ²	1.8*10 ²	7.9*10 ¹	1.217*10 ³	21.95				
PAT_OUT	NO V	0.431	19	7.83	0	9.3*10 ³	4300		8.6*10 ¹	5	1	3	1.177*10 ³	No Ct		Mucor sp., Aspergillus sp., Penicillium sp.	<i>Rhodotula, Geotrichum sp.</i>	
LEV_IN	NO V	11.00				2.1*10 ⁷	4.6*10 ⁶		2.4*10 ³	7.8*10 ²	3*10 ²	3.3*10 ²	1.2*10 ³	39.94			<i>C.famata, C.colliculosa</i>	<i>C.famata</i>
LEV_	NO	11.3		7.2	0.1	3.6*10 ⁴	1.5*10 ⁴		1.3*10 ³	1.1*10 ²	4*10 ¹	3.7*10 ¹	1.012*10 ⁴	145.97		Mucor		

OUT	V	0											3			sp., Aspergil lus sp., Rhodoto rula		
ARH_ IN	NO V	09.3 0				1.1*10 ⁷	2*10 ⁵		8.35*10 ²	8.15*10 ²	3.22*10 ²	3.6*10 ²	1.196*10 ³	112.12			<i>C.famat a,C.pelli culosa, C.glabr ata,C.pe lliculosa ,P.anom ala,Tor ulopsis</i>	
ARH_ OUT	NO V	10.0 0		7.4	0.35	4.6*10 ⁵	1.1*10 ⁵		2*10 ¹	9*10 ¹	3*10 ¹	2.6*10 ¹	1.005*10 ³	5.61		Mucor sp., Aspergil lus sp.		<i>C.pellic ulosa,</i>
PAT_I N	DE C	0.45 8	18.5	7.8	0	4.6*10 ⁵	1.5*10 ⁴		2.83*10 ²	4.15*10 ²	1.82*10 ²	1.18*10 ²	1.363*10 ³	30.78				
PAT_ OUT	DE C	0.45 8	18.5	6.9	0	2.4*10 ⁴	1.5*10 ³		8.9*10 ¹	3.7*10 ¹	1*10 ¹	1.7*10 ¹	1.479*10 ³	No Ct		A.niger	<i>Rhodoto rula,Ge otrichu m sp., C.holmi i</i>	
LEV_I N	DE C	12.3 0	11			>1,1*10 ⁷	4.6*10 ⁶		1.61*10 ³	2.65*10 ²	1.8*10 ²	1.44*10 ²	1.11*10 ³	177.71 7			<i>C.Collic ulosa,</i>	
LEV_ _	DE	13.3		7.3	0.25	4.6*10 ⁴	2.4*10 ⁴		7.7*10 ²	7*10 ¹	4*10 ¹	4	1.1*10 ³	80.27		Mucor,		

OUT	C	0														A.niger		
ARH_IN	DEC	10.30	5			1.5×10^7	1.5×10^7		1.353×10^3	3.2×10^2	1.9×10^2	1.47×10^2	1.118×10^3	360.95			<i>C.sake, Geotric hum sp.</i>	<i>Geotric hum sp.</i>
ARH_OUT	DEC	11.00		7.2	0.4	4.6×10^4	2.8×10^3		5.8×10^2	6.4×10^1	3.4×10^1	4	1.08×10^3	76.79		Mucor sp., Aspergilus sp.		

3.10 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

(I) ΕΙΣΟΔΟΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

1. Περιγραφικά στατιστικά μέτρα ποσοτικών παραμέτρων ποιότητας λυμάτων στην είσοδο

WTP		logTC (in)	log E.coli (in)	Bacteriophages (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
PAT	Αριθμός δειγμάτων	13	13	13	13	13	13	13	13
	Μέσος	5,661825	4,96093	1761,385	62,79923	288,4615	874,1538	126,4615	1604,846
	Διάμεσος	5,662758	5,041393	610	21,95	260	120	118	1363
	Τυπική απόκλιση	0,984817	0,807194	2452,451	106,8535	126,9085	2685,301	48,3660	1026,956
	Συντελεστής ασυμμετρίας	0,404992	-0,3451	1,753668	2,487039	0,34196	3,60359	1,2209	2,401349
	Τυπ. σφάλμα ασυμμετρίας	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,6163	0,616336
	Συντελεστής κύρτωσης	0,472068	-0,24865	1,819718	6,60141	-0,37185	12,98981	1,1490	6,858983
	Τυπικό σφάλμα κύρτωσης	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,1909	1,190874
	Ελάχιστη τιμή	3,968483	3,361728	125	0	90	74	74	660
	Μέγιστη τιμή	7,662758	6,176091	7200	377,27	515	9810	240	4640
LEV	Αριθμός δειγμάτων	13	13	13	13	13	13	13	13
	Μέσος	7,0558	6,534319	8565,385	388,4382	409,6154	206,2308	207,3846	1163,692
	Διάμεσος	7,176091	6,662758	2400	101,51	375	178	158	1110
	Τυπική απόκλιση	0,943792	1,070163	16991,05	839,5021	236,6913	119,3134	170,6612	807,8187
	Συντελεστής ασυμμετρίας	-1,23221	-0,76519	3,365856	3,363859	0,232318	0,627107	2,03115	1,779785
	Τυπ. σφάλμα ασυμμετρίας	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336	0,616336
	Συντελεστής κύρτωσης	1,102473	-0,3848	11,72756	11,68568	-0,80949	0,112986	5,226479	4,345641
	Τυπικό σφάλμα κύρτωσης	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874	1,190874
	Ελάχιστη τιμή	5,041393	4,662758	0	12,64	20	10	40	277
	Μέγιστη τιμή	8,041393	8,041393	64000	3125,71	780	420	690	3380
ARH	Αριθμός δειγμάτων	12	12	12	12	12	12	12	12
	Μέσος	6,257555	6,05526	5916,5	330,5183	363,3333	181,5833	164,9167	743,5833
	Διάμεσος	6,744275	6,041393	4145	132,56	352,5	167,5	152	675
	Τυπική απόκλιση	1,448131	1,121995	5309,269	542,956	234,8935	118,2405	91,43747	320,5284
	Συντελεστής ασυμμετρίας	-1,02804	0,179724	0,562526	2,786559	0,338433	0,116537	0,601302	0,267729
	Τυπ. σφάλμα ασυμμετρίας	0,637302	0,637302	0,637302	0,637302	0,637302	0,637302	0,637302	0,637302
	Συντελεστής κύρτωσης	0,401021	-0,58921	-1,36941	8,45867	-0,35026	-1,26944	0,544076	-1,40264
	Τυπικό σφάλμα κύρτωσης	1,232246	1,232246	1,232246	1,232246	1,232246	1,232246	1,232246	1,232246
	Ελάχιστη τιμή	3,20412	4,176091	820	0	32	17	34	278
	Μέγιστη τιμή	8,041393	8,041393	14500	1947,52	815	366	360	1196

2.ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΥΠΑΡΞΗΣ ΤΥΧΟΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΣΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΤΩΝ ΕΙΣΕΡΧΟΜΕΝΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ WWTPS

Προκαταρκτικά: Έλεγχοι κανονικότητας & έλεγχοι ομοιογένειας διακυμάνσεων

Έλεγχοι κανονικότητας ποσοτικών παραμέτρων ποιότητας λυμάτων στην είσοδο

WTP		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
PAT	Log TC (in)	0,967245	13	0,85938
	Log E.coli (in)	0,966713	13	0,852208
	Bacteriophages (in)	0,675533	13	0,000319
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	0,641174	13	0,000152
	COD (in)	0,96176	13	0,780597
	BOD (in)	0,884725	13	0,082658
	Suspended solids (SS) (in)	0,962502	13	0,791775
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	0,738961	13	0,001401
LEV	Log TC (in)	0,835358	13	0,018503
	Log E.coli (in)	0,884922	13	0,083169
	Bacteriophages (in)	0,483242	13	7,58E-06
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	0,473192	13	6,38E-06
	COD (in)	0,954708	13	0,670985
	BOD (in)	0,922296	13	0,26936
	Suspended solids (SS) (in)	0,804916	13	0,007802
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	0,83293	13	0,017242
ARH	Log TC (in)	0,903473	12	0,175857
	Log E.coli (in)	0,961583	12	0,806173
	Bacteriophages (in)	0,844588	12	0,031497
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	0,62505	12	0,000175
	COD (in)	0,974184	12	0,949328
	BOD (in)	0,943585	12	0,545858
	Suspended solids (SS) (in)	0,963302	12	0,829727
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	0,911346	12	0,221986

Με κόκκινο: p-value < 0,5 (απόρριψη υπόθεσης κανονικότητας).

Ο λογαριθμικός μετασχηματισμός των μεταβλητών SS και Conductivity, επιλύει το πρόβλημα της μη κανονικότητας τους (βλ. επόμενο Πίνακα).

Tests of Normality

Sampling Station		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Log SS (in)	PAT	,943	13	,491
	LEV	,984	13	,992
	ARH	,930	12	,384
Log Conductivity (in)	PAT	,947	13	,549
	LEV	,970	13	,899
	ARH	,937	12	,457

Έλεγχοι ισότητας διακυμάνσεων ποσοτικών παραμέτρων ποιότητας λυμάτων στην είσοδο

Η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων είναι απαραίτητη για την ANOVA, Kruskal-Wallis.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Log TC (in)	1,445	2	35	,250
Log E.coli (in)	,543	2	35	,586
Bacteriophages (BP) (in)	2,291	2	35	,116
Virus (VR)(GC/mL) (in)	2,242	2	35	,121
COD (in)	2,803	2	35	,074
BOD (in)	4,869	2	35	,014
Log SS (in)	1,690	2	35	,199
Log Conductivity (in)	1,090	2	35	,347

Από τον παραπάνω Πίνακα βλέπουμε ότι η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων παραβιάζεται μόνο στην περίπτωση του BOD ($p\text{-value}=0.014 < 0.05$). Δεν παραβιάζεται, σε καμία από τις υπόλοιπες ποσοτικές μεταβλητές (αρχικές ή μετασχηματισμένες) στην είσοδο των WWTP.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΙΣΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ
ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΤΩΝ WWTP**

Για τις αρχικές ή μετασχηματισμένες μεταβλητές για τις οποίες δεν απορρίπτεται η υπόθεση κανονικότητας σε κάθε μία από τις WWTP και η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, προς διερεύνηση της υπόθεσης ισότητας των μέσων τιμών τους στις 3 WWTP χρησιμοποιείται ANOVA (ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (WWTP)). Για τις υπόλοιπες μεταβλητές χρησιμοποιείται ο έλεγχος Kruskal-Wallis. Ειδικά στην περίπτωση του BOD που έχουμε παραβίαση της υπόθεσης ομοιογένειας των διακυμάνσεων, χρησιμοποιήθηκε ANOVA με κατάλληλο στατιστικό (Brown-Forsythe ή Welch) αντί για F statistic.

ANOVA σε Log TC, Log E.coli, COD, Log SS, Log Conductivity, BOD

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Log TC (in)	Between Groups	12,715	2	6,357	4,902	,013
	Within Groups	45,395	35	1,297		
	Total	58,110	37			
Log E.coli (in)	Between Groups	16,868	2	8,434	8,337	,001
	Within Groups	35,409	35	1,012		
	Total	52,277	37			
COD (in)	Between Groups	97086,420	2	48543,210	1,154	,327
	Within Groups	1472466,974	35	42070,485		
	Total	1569553,395	37			
Log SS (in)	Between Groups	,596	2	,298	3,793	,032
	Within Groups	2,752	35	,079		
	Total	3,348	37			
Log Conductivity (in)	Between Groups	,627	2	,313	5,336	,009
	Within Groups	2,056	35	,059		
	Total	2,683	37			

Robust Tests of Equality of Means

BOD (in)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch	3,116	2	19,103	,067
Brown-Forsythe	2,114	2	26,479	,141

a. Asymptotically F distributed.

Με εξαίρεση το COD, σε όλες τις υπόλοιπες μεταβλητές απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών τους στις 3 WTP (p-value < 0,05).

Από τον Πίνακα πολλαπλών συγκρίσεων που ακολουθεί, παρατηρούμε τις παρακάτω στατιστικά σημαντικές διαφορές των μέσων τιμών σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$:

- Total coliforms: PAT < LEV
- E.coli: PAT < LEV, ARH
- SS: PAT < LEV
- Conductivity: PAT > ARH

Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στο COD.

Multiple Comparisons

Bonferroni

Dependent Variable	(I) Sampling Station	(J) Sampling Station	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
log TC (in)	PAT	LEV	-1,39397*	,44670	,011	-2,5172	-,2707
		ARH	-,59573	,45591	,600	-1,7421	,5507
	LEV	PAT	1,39397*	,44670	,011	,2707	2,5172
		ARH	,79824	,45591	,266	-,3482	1,9446
	ARH	PAT	,59573	,45591	,600	-,5507	1,7421
		LEV	-,79824	,45591	,266	-1,9446	,3482
log E.coli (in)	PAT	LEV	-1,57339*	,39452	,001	-2,5654	-,5814
		ARH	-1,09433*	,40265	,030	-2,1068	-,0818
	LEV	PAT	1,57339*	,39452	,001	,5814	2,5654
		ARH	,47906	,40265	,726	-,5334	1,4916
	ARH	PAT	1,09433*	,40265	,030	,0818	2,1068
		LEV	-,47906	,40265	,726	-1,4916	,5334
COD (in)	PAT	LEV	-121,154	80,451	,423	-323,45	81,14
		ARH	-74,872	82,110	1,000	-281,34	131,60
	LEV	PAT	121,154	80,451	,423	-81,14	323,45
		ARH	46,282	82,110	1,000	-160,19	252,75
	ARH	PAT	74,872	82,110	1,000	-131,60	281,34
		LEV	-46,282	82,110	1,000	-252,75	160,19
log SS (in)	PAT	LEV	-,28725*	,10998	,040	-,5638	-,0107
		ARH	-,22918	,11225	,146	-,5114	,0531
	LEV	PAT	,28725*	,10998	,040	,0107	,5638
		ARH	,05806	,11225	1,000	-,2242	,3403
	ARH	PAT	,22918	,11225	,146	-,0531	,5114
		LEV	-,05806	,11225	1,000	-,3403	,2242
log Conductivity (in)	PAT	LEV	,16874	,09506	,254	-,0703	,4078
		ARH	,31634*	,09702	,007	,0724	,5603
	LEV	PAT	-,16874	,09506	,254	-,4078	,0703
		ARH	,14760	,09702	,412	-,0964	,3916
	ARH	PAT	-,31634*	,09702	,007	-,5603	-,0724
		LEV	-,14760	,09702	,412	-,3916	,0964

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Έλεγχος kruskal-wallis στις μεταβλητές bacteriophages, virus, για τον έλεγχο ισότητας των διάμεσων κάθε μιας, στην είσοδο των 3 WWTP

	Sampling Station	N	Mean Rank
Bacteriophages (BP) (in)	PAT	13	11,92
	LEV	13	22,96
	ARH	12	23,96
	Total	38	
Virus (VR)(GC/mL) (in)	PAT	13	13,38
	LEV	13	23,23
	ARH	12	22,08
	Total	38	

Test Statistics(a,b,c)

	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)
Chi-Square	9,239	6,063
df	2	2
Asymp. Sig.	,010	,048

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Sampling Station

Παρατηρούμε στατιστικά σημαντικές διαφορές των διαμέσων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ για τους Bacteriophages και τους Virus. Συγκεκριμένα έχουμε:

- Bacteriophages: PAT < LEV, ARH
- Virus: PAT < LEV, ARH

3.ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΤΩΝ WTP (και μετεωρολογικών μεταβλητών)

Correlations στο σύνολο των δειγμάτων εισόδου											
	Spearman's rho	Air temperature (°C)	rain (mm)	coliforms (TC) (CFU/100ml)	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
Air temperature (°C)	Corr. Coef.	1									
	Sig. (2-tailed)	.									
	N	33									
rain (mm)	Corr. Coef.	-0,192	1								
	Sig. (2-tailed)	0,286	.								
	N	33	37								
Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coef.	-0,013	0,14	1							
	Sig. (2-tailed)	0,944	0,409	.							
	N	33	37	38							
E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coef.	-0,107	-0,039	,762(**)	1						
	Sig. (2-tailed)	0,553	0,819	0	.						
	N	33	37	38	38						
Bacteriophages (BP) (in)	Corr. Coef.	,386(*)	0,032	,430(**)	,393(*)	1					
	Sig. (2-tailed)	0,026	0,851	0,007	0,015	.					
	N	33	37	38	38	38					
Virus (VR)(GC/mL) (in)	Corr. Coef.	-0,263	-0,02	0,055	0,228	0,17	1				
	Sig. (2-tailed)	0,139	0,906	0,742	0,169	0,308	.				
	N	33	37	38	38	38	38				
COD (in)	Corr. Coef.	0,004	0,28	0,289	0,291	0,311	0,258	1			

	Sig. (2-tailed)	0,984	0,093	0,079	0,076	0,057	0,119	.			
	N	33	37	38	38	38	38	38			
BOD (in)	Corr. Coef.	0,291	0,193	,384(*)	,378(*)	,334	,170	,833(**)	1,000		
	Sig. (2-tailed)	0,101	0,252	0,017	,019	,040	,307	,000	.		
	N	33	37	38	38	38	38	38	38		
Suspended solids (SS) (in)	Corr. Coef.	-0,055	0,215	,340(*)	,378(*)	,352(*)	,481(**)	,807(**)	,706(**)	1	
	Sig. (2-tailed)	0,761	0,201	0,037	0,019	0,03	0,002	0	,000	.	
	N	33	37	38	38	38	38	38	38	38	
Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	Corr. Coef.	-,377(*)	0,262	-0,021	-0,231	-0,197	0,19	0,107	-,106	0,037	1
	Sig. (2-tailed)	0,03	0,118	0,898	0,163	0,236	0,253	0,524	,528	0,824	.
	N	33	37	38	38	38	38	38	38	38	38

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations ανά WTP		Spearman's rho	Air temperature (°C)	rain (mm)	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
WTP	Air temperature (°C)											
PAT		Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	1 . 8									
	rain (mm)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,234 0,577 8	1 . 12								
	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	0,06 0,888 8	0,207 0,519 12	1 . 13							
	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,119 0,779 8	0,163 0,613 12	,667(*) 0,013 13	1 . 13						
	Bacteriophages (BP) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,19 0,651 8	0,204 0,525 12	0,262 0,386 13	0,097 0,754 13	1 . 13					
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,286 0,493 8	-0,122 0,707 12	-0,294 0,329 13	-0,072 0,815 13	-0,202 0,508 13	1 . 13				
	COD (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,275 0,509 8	0,098 0,762 12	-0,187 0,541 13	-0,106 0,729 13	-0,301 0,318 13	-0,127 0,678 13	1 . 13			
	BOD (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	0,476 0,233 8	-0,046 0,888 12	0,201 0,509 13	0,163 0,596 13	-0,421 0,152 13	-0,370 0,213 13	0,672* 0,021 13	1 . 13		

Correlations ανά WTP		Spearman's rho	Air temperature (°C)	rain (mm)	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
WTP												
	Suspended solids (SS) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,347 0,399 8	0,256 0,421 12	-0,03 0,922 13	-0,134 0,663 13	-0,028 0,929 13	0,246 0,417 13	,692(**) 0,009 13	0,338 0,258 13	1 . 13	
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-,762(*) 0,028 8	0,154 0,633 12	0,215 0,48 13	0,149 0,628 13	,583(*) 0,036 13	0,249 0,413 13	-0,292 0,333 13	-0,643* 0,018 13	0,019 0,95 13	1 . 13
LEV	Air temperature (°C)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	1 . 13									
	rain (mm)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,225 0,46 13	1 . 13								
	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,145 0,636 13	0,072 0,815 13	1 . 13							
	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,337 0,261 13	-0,309 0,305 13	0,255 0,4 13	1 . 13						
	Bacteriophages (BP) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	0,544 0,055 13	-0,019 0,951 13	0,253 0,403 13	0,017 0,957 13	1 . 13					
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed)	-0,414 0,16	0,063 0,838	0,061 0,843	0,152 0,619	-0,052 0,865	1 .				

Correlations ανά WTP		Spearman's rho	Air temperature (°C)	rain (mm)	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
WTP		N	13	13	13	13	13	13				
	COD (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,175 0,569 13	0,181 0,555 13	0,177 0,562 13	0,255 0,401 13	0,417 0,156 13	0,24 0,43 13	1 . 13			
	BOD (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	0,011 0,971 13	0,234 0,441 13	0,402 0,174 13	0,197 0,518 13	,570(*) 0,042 13	0,102 0,74 13	,806(**) 0,001 13	1 . 13		
	Suspended solids (SS) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,361 0,225 13	0,155 0,614 13	0,239 0,431 13	0,249 0,411 13	0,11 0,72 13	0,478 0,098 13	,872(**) 0 13	,645(*) 0,017 13	1 . 13	
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,306 0,309 13	0,196 0,522 13	0,161 0,598 13	-0,183 0,55 13	-0,14 0,648 13	,665(*) 0,013 13	0,19 0,533 13	-0,085 0,781 13	0,33 0,271 13	1 . 13
ARH	Air temperature (°C)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	1 . 12									
	rain (mm)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,202 0,529 12	1 . 12								
	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed) N	-0,145 0,654 12	0,277 0,384 12	1 . 12							
	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Corr. Coeff. Sig. (2-tailed)	-0,136 0,673	-0,065 0,841	,843(**) 0,001	1 .						

Correlations ανά WTP		Spearman's rho	Air temperature (°C)	rain (mm)	Total coliforms (TC) (CFU/100ml) (in)	E.coli (EC) (CFU/100ml) (in)	Bacteriophages (BP) (in)	Virus (VR)(GC/mL) (in)	COD (in)	BOD (in)	Suspended solids (SS) (in)	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)
WTP		N	12	12	12	12						
	Bacteriophages (BP) (in)	Corr. Coeff.	0,557	0,025	0,275	0,23	1					
		Sig. (2-tailed)	0,06	0,939	0,388	0,473	.					
		N	12	12	12	12	12					
	Virus (VR)(GC/mL) (in)	Corr. Coeff.	-0,177	-0,015	-0,243	-0,207	0,112	1				
		Sig. (2-tailed)	0,582	0,964	0,446	0,518	0,729	.				
		N	12	12	12	12	12	12				
	COD (in)	Corr. Coeff.	0,21	0,566	0,303	0,035	0,517	0,228	1			
		Sig. (2-tailed)	0,512	0,055	0,339	0,913	0,085	0,477	.			
		N	12	12	12	12	12	12	12			
	BOD (in)	Corr. Coeff.	0,315	0,416	0,232	0,131	0,441	0,105	,902(**)	1		
		Sig. (2-tailed)	0,318	0,179	0,467	0,685	0,152	0,745	0	.		
		N	12	12	12	12	12	12	12	12		
	Suspended solids (SS) (in)	Corr. Coeff.	0,14	0,553	0,218	-0,025	0,378	0,308	,839(**)	,748(**)	1	
		Sig. (2-tailed)	0,664	0,062	0,495	0,939	0,226	0,33	0,001	0,005	.	
		N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	Conductivity (Ms/cm) 25C (in)	Corr. Coeff.	-0,536	0,533	0,275	0,11	-0,007	0,427	,650(*)	0,503	,706(*)	1
		Sig. (2-tailed)	0,073	0,075	0,388	0,735	0,983	0,166	0,022	0,095	0,01	.
		N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

(II) ΕΞΟΔΟΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΑΛΗΤΕΣ

Περιγραφικά στατιστικά μέτρα ποσοτικών παραμέτρων ποιότητας λυμάτων στην έξοδο

WTP		Log TC (out)	Log E.coli (out)	Bacteriophages (BP) (out)	Virus (VR)(GC/mL) (out)	COD (out)	BOD (out)	Suspended solids (SS) (out)	Conductivity (Ms/cm) 25C (out)
PAT	N	13	13	13	13	13	13	13	13
	Mean	3,7846	3,3763	49	11,3831	11,69	5,885	11,08	1257,15
	Median	3,6335	3,3617	15	2,11	10	5	10	1479
	Std. Deviation	0,35121	0,46911	61,53	17,69974	8,654	3,4348	5,484	450,069
	Skewness	0,037	0,194	2,006	1,68	2,243	0,164	0,191	-0,341
	Std. Error of Skewness	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616
	Kurtosis	-0,737	-0,55	4,534	1,917	6,441	-1,729	-0,778	-1,553
	Std. Error of Kurtosis	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191
	Minimum	3,18	2,56	4	0	3	1	3	512
	Maximum	4,38	4,18	220	54,87	37	10	20	1820
LEV	N	12	12	13	13	13	13	13	13
	Mean	4,4538	4,032	659,31	47,69	53	23,423	28,92	784,23
	Median	4,4683	4,0723	670	33,37	60	18	15	944
	Std. Deviation	0,93492	1,08774	670,284	47,05843	40,513	16,4821	30,522	408,477
	Skewness	-0,628	0,392	0,399	0,752	0,007	-0,044	1,586	-0,4
	Std. Error of Skewness	0,637	0,637	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616
	Kurtosis	0,215	-0,811	-1,486	-0,389	-1,827	-2,068	2,515	-1,486
	Std. Error of Kurtosis	1,232	1,232	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191
	Minimum	2,56	2,56	6	0	5	2,5	2	172
	Maximum	5,66	5,88	1800	145,97	110	42	107	1260
ARH	N	11	11	12	12	12	12	12	12
	Mean	4,4815	3,9462	417,42	38,3725	55,33	23,75	22,5	592,08
	Median	4,3802	4,1761	139	5,87	41	18	19,5	559,5
	Std. Deviation	1,40278	1,19981	495,479	57,84556	49,542	19,3725	15,577	331,276
	Skewness	0,253	0,242	1,054	1,434	0,761	0,911	0,754	0,165
	Std. Error of Skewness	0,661	0,661	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637
	Kurtosis	-0,322	-1,017	0,021	0,867	-0,598	0,108	-0,007	-1,391
	Std. Error of Kurtosis	1,279	1,279	1,232	1,232	1,232	1,232	1,232	1,232
	Minimum	2,56	2,48	7	0	6	5	4	132
	Maximum	7,04	6,04	1460	165,56	153	65	55	1080

**(III) ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ
ΜΕΤΑΒΑΗΤΕΣ**

**1. Plant Removal Rate (PRR) = Entry load – Exit load
(Τα loads για TC, E.coli, Bacteriophages και Virus είναι σε Log)**

WTP		TC (Log)	E.coli (Log)	Bacterio phages (Log)*	Virus (Log)*	COD	BOD	SS	Conductivity
PAT	N	13	13	13	13	13	13	13	13
	Mean	1,8772	1,5847	1,4986	0,5913	276,7692	120,5769	77,1538	347,6923
	Median	1,8539	1,6797	1,5166	0,6678	255	111,0000	76	122
	Std. Deviation	1,10382	0,80425	0,8593	0,96053	125,877	48,46083	31,70133	791,2298
	Skewness	0,826	-0,309	0,07	-0,088	0,409	1,310	0,204	2,954
	Std. Error of Skewness	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616
	Kurtosis	0,317	-1,344	-1,138	-1,264	-0,21	1,367	0,477	9,31
	Std. Error of Kurtosis	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191
	Minimum	0,49	0,21	0,32	-0,93	87	71,5	20	-155
	Maximum	4,03	2,7	2,98	2,11	509	236,00	142	2820
LEV	N	12	12	13	13	13	13	13	13
	Mean	2,6348	2,4916	1,0383	0,8025	356,6154	182,8077	178,4615	379,4615
	Median	2,7809	2,4859	0,6847	0,6894	339	140	140	188
	Std. Deviation	0,86386	0,94413	1,64544	0,93343	212,8848	113,6195	145,3121	673,1633
	Skewness	-0,376	-0,118	-0,583	0,494	0,281	0,867	1,918	2,781
	Std. Error of Skewness	0,637	0,637	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616	0,616
	Kurtosis	-0,597	0,165	1,972	-0,361	-1,061	0,437	4,759	8,234
	Std. Error of Kurtosis	1,232	1,232	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191	1,191
	Minimum	1,07	0,69	-2,83	-0,56	15	7,5	26	-17
	Maximum	3,87	4,17	4,03	2,65	677	410	583	2436
ARH	N	11	11	12	12	12	12	12	12
	Mean	1,7048	2,0194	1,4116	0,9446	308	157,8333	142,4167	151,5
	Median	1,6198	2,4851	1,1437	0,7435	313	130,5	133,5	152
	Std. Deviation	1,051	1,18421	0,9207	1,13509	233,4718	119,8308	87,49074	132,9193
	Skewness	0,032	-0,516	0,874	0,635	0,407	0,27	0,682	0,778
	Std. Error of Skewness	0,661	0,661	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637
	Kurtosis	-1,08	-0,678	0,005	0,333	-0,962	-1,247	0,884	1,472
	Std. Error of Kurtosis	1,279	1,279	1,232	1,232	1,232	1,232	1,232	1,232
	Minimum	0	0	0,37	-0,79	22	12	14	-44
	Maximum	3,27	3,73	3,32	3,32	725	361	334	456

*Για αποτελέσματα του τύπου ($\alpha_i, 0$): $PRR = \text{Log}(\alpha_i + 1)$

Για αποτελέσματα του τύπου ($0, b_i$): $PRR = -\text{Log}(b_i + 1)$

Για αποτελέσματα του τύπου ($0, 0$): $PRR = \text{Log}(1) - \text{Log}(1) = 0$

**2. ΈΛΕΓΧΟΙ ΚΑΝΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ PRR ΤΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ
ΜΕΤΑΒΛΗΤΩΝ ΣΕ ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΑΠΟ ΤΙΣ WWTP**

Προκαταρκτικοί Έλεγχοι κανονικότητας των PRR

WTP		Shapiro- Wilk Statistic	df	Sig.
PAT	TC (Log)	0,904	13	0,151
	E.coli (Log)	0,926	13	0,305
	Bacteriophages (Log)	0,942	13	0,487
	Virus (Log)	0,951	13	0,608
	COD	0,961	13	0,762
	BOD	0,868	13	0,048
	SS	0,989	13	0,999
	Conductivity	0,584	13	0
LEV	TC (Log)	0,95	12	0,64
	E.coli (Log)	0,994	12	1
	Bacteriophages (Log)	0,926	13	0,3
	Virus (Log)	0,971	13	0,900
	COD	0,928	13	0,322
	BOD	0,905	13	0,156
	SS	0,824	13	0,013
	Conductivity	0,605	13	0
ARH	TC (Log)	0,964	11	0,822
	E.coli (Log)	0,936	11	0,473
	Bacteriophages (Log)	0,917	12	0,262
	Virus (Log)	0,959	12	0,767
	COD	0,938	12	0,472
	BOD	0,924	12	0,316
	SS	0,962	12	0,807
	Conductivity	0,945	12	0,565

Σε κάθε WTP όπου το PRR για μια παράμετρο ποιότητας ακολουθεί την κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε One-Sample Test (ισοδύναμος έλεγχος με τον Paired Samples t-test για τα ζεύγη (είσοδος, έξοδος)) για τον έλεγχο των υποθέσεων:

$$H_0: \mu_{PRR}=0 \text{ vs } H_1: \mu_{PRR} \neq 0$$

Τα αποτελέσματα των ελέγχων παρουσιάζονται στον Πίνακα που ακολουθεί.

One-Sample Test

WTP		Test Value = 0					
		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper
PAT	PRR_TC (Log)	6,132	12	,000	1,87722	1,2102	2,5443
	PRR_E.coli (Log)	7,104	12	,000	1,58466	1,0987	2,0707
	PRR_Bacteriophages (Log)*	6,288	12	,000	1,49857	,9793	2,0178
	PRR_Virus (Log)*	2,220	12	0,046	0,59134	0,0109	1,1718
	PRR_COD	7,928	12	,000	276,76923	200,7025	352,8360
	PRR_SS	8,775	12	,000	77,15385	57,9969	96,3108
LEV	PRR_TC (Log)	10,566	11	,000	2,63479	2,0859	3,1837
	PRR_E.coli (Log)	9,142	11	,000	2,49158	1,8917	3,0915
	PRR_Bacteriophages (Log)*	2,275	12	,042	1,03828	,0440	2,0326
	PRR_Virus (Log)*	3,100	12	0,009	0,80248	0,2384	1,3665
	PRR_COD	6,040	12	,000	356,61538	227,9704	485,2604
	PRR_BOD	5,801	12	,000	182,80769	114,1481	251,4673
ARH	PRR_TC (Log)	5,380	10	,000	1,70482	,9987	2,4109
	PRR_E.coli (Log)	5,656	10	,000	2,01940	1,2238	2,8150
	PRR_Bacteriophages (Log)*	5,311	11	,000	1,41163	,8266	1,9966
	PRR_Virus (Log)*	2,883	11	0,015	0,9446	0,2234	1,6658
	PRR_COD	4,570	11	,001	308,00000	159,6591	456,3409
	PRR_BOD	4,563	11	,001	157,83333	81,6965	233,9702
	PRR_SS	5,639	11	,000	142,41667	86,8277	198,0056
	PRR_Conductivity	3,948	11	,002	151,50000	67,0471	235,9529

*Για αποτελέσματα του τύπου (α_i , 0): $PRR = \text{Log}(\alpha_i + 1)$

Για αποτελέσματα του τύπου (0, b_i): $PRR = -\text{Log}(b_i + 1)$

Για αποτελέσματα του τύπου (0, 0): $PRR = \text{Log}(1) - \text{Log}(1) = 0$

Σε όλους τους παραπάνω ελέγχους απορρίπτεται η H_0 σε $\alpha=0,05$. Δεδομένου ότι το στατιστικό καθενός από τους ελέγχους είναι > 0 , συμπεραίνουμε ότι σε $\alpha=0,05$, η μέση τιμή της διαφοράς (είσοδος – έξοδος) των τιμών μιας μεταβλητής είναι > 0 .

Ως μη παραμετρικό ανάλογο του Paired Samples t-Test, στις περιπτώσεις έλλειψης κανονικότητας των PRR, χρησιμοποιήθηκε ο Προσημικός έλεγχος (Sign Test). (Ο πιο ισχυρός έλεγχος Wilcoxon Signed Ranks Test, δεν θα μπορούσε να εφαρμοστεί λόγω μη συμμετρίας των κατανομών). Συγκεκριμένα, ο προσημικός έλεγχος χρησιμοποιήθηκε για το BOD στην PAT, το SS στην LEV και την Conductivity στην PAT και LEV. Σκοπός ήταν να ελεγχθεί αν οι τιμές των μεταβλητών στην έξοδο τείνουν να είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες στη είσοδο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες που ακολουθούν.

Frequencies			
WTP			N
PAT	BOD (Exit) - BOD (Enter)	Negative Differences(a)	13
		Positive Differences(b)	0
		Ties(c)	0
		Total	13
	Conductivity (Exit) - Conductivity (Enter)	Negative Differences(a)	10
		Positive Differences(b)	3
		Ties(c)	0
		Total	13
LEV	Suspended solids (Exit) - Suspended solids (Enter)	Negative Differences(a)	13
		Positive Differences(b)	0
		Ties(c)	0
		Total	13
	Conductivity (Exit) - Conductivity (Enter)	Negative Differences(a)	11
		Positive Differences(b)	2
		Ties(c)	0
		Total	13

a: Value at "Exit" < Value at "Enter"

b: Value at "Exit" > Value at "Enter"

c: Value at "Exit" = Value at "Enter"

Sign Test Statistics				
WTP		BOD (Exit) - BOD (Enter)	SS (Exit) - SS (Enter)	Conductivity (Exit) - Conductivity (Enter)
PAT	Exact Sig. (2-tailed)	0,000		0,092
LEV	Exact Sig. (2-tailed)		0,000	0,022

Binomial distribution used.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, για όλους τους παραπάνω Προσημικούς ελέγχους υπάρχουν στατιστικά σημαντικές ενδείξεις ότι απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση

H_0 : $P(\text{Value at "Exit"} > \text{Value at "Enter"}) = P(\text{Value at "Exit"} < \text{Value at "Enter"})$
έναντι της εναλλακτικής

H_1 : $P(\text{Value at "Exit"} > \text{Value at "Enter"}) < P(\text{Value at "Exit"} < \text{Value at "Enter"})$

Η ισοδύναμα: H_0 : Η διάμεσος της PRR = 0 vs H_1 : Η διάμεσος της PRR > 0.

3.ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΙΣΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ PRR ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ, ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΩΝ ΚΑΙ ΙΩΝ ΣΤΙΣ 3 WTPs

Για τη διερεύνηση της ισότητας των μέσων τιμών των PRR στις 3 WTP χρησιμοποιείται ANOVA (ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (WTP)). Προηγείται ο έλεγχος ισότητας των διακυμάνσεων.

Έλεγχος ισότητας των διακυμάνσεων των PRR κάθε μεταβλητής μεταξύ των WTPs

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
PRR_TC (Log)	,265	2	33	,769
PRR_E.coli (Log)	1,145	2	33	,330
PRR_Virus (Log)	,208	2	35	,813
PRR_Bacteriophages (Log)	1,990	2	35	,152

Δεν παραβιάζεται η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, σε καμία από τις ποσοτικές μεταβλητές PRR του παραπάνω Πίνακα.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PRR_TC (Log)	Between Groups	5,776	2	2,888	2,813	,074
	Within Groups	33,876	33	1,027		
	Total	39,652	35			
PRR_E.coli (Log)	Between Groups	5,132	2	2,566	2,681	,083
	Within Groups	31,591	33	,957		
	Total	36,723	35			
PRR_Virus (Log)	Between Groups	,794	2	,397	,389	,681
	Within Groups	35,700	35	1,020		
	Total	36,493	37			
PRR_Bacteriophages (Log)	Between Groups	1,546	2	,773	,534	,591
	Within Groups	50,675	35	1,448		
	Total	52,221	37			

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, δεν απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών των PRR των TC (Log), E.coli (Log), Virus (Log) και Bacteriophages (Log) στις 3 WTP ($p\text{-value} > 0,05$).

4.ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΩΝ PRR ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΜΕ ΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ WTPs

Correlations

			Air temperature (°C)	rain (mm)	PRR_TC (Log)	PRR_E.coli (Log)	PRR_Bacteriophages (Log)	PRR_Virus (Log)	PRR_COD	PRR_BOD	PRR_SS	PRR_Conductivity
Spearman's rho	Air temperature (°C)	Correlation Coefficient	1,000	-,192	-,042	,134	,499**	-,017	,066	,381*	-,036	,058
		Sig. (2-tailed)	.	,286	,824	,473	,003	,924	,714	,029	,843	,749
		N	33	33	31	31	33	33	33	33	33	33
	rain (mm)	Correlation Coefficient	-,192	1,000	,179	-,096	,053	,067	,309	,193	,268	,162
		Sig. (2-tailed)	,286	.	,303	,582	,755	,693	,063	,252	,108	,337
		N	33	37	35	35	37	37	37	37	37	37
	PRR_TC (Log)	Correlation Coefficient	-,042	,179	1,000	,668**	,099	-,363*	,089	,241	,021	,282
		Sig. (2-tailed)	,824	,303	.	,000	,567	,030	,604	,157	,905	,096
		N	31	35	36	36	36	36	36	36	36	36
	PRR_E.coli (Log)	Correlation Coefficient	,134	-,096	,668**	1,000	,186	-,053	-,007	,224	,008	,205
		Sig. (2-tailed)	,473	,582	,000	.	,278	,757	,969	,189	,963	,231
		N	31	35	36	36	36	36	36	36	36	36
	PRR_Bacteriophages (Log)	Correlation Coefficient	,499**	,053	,099	,186	1,000	,168	,026	,064	-,142	,383*
		Sig. (2-tailed)	,003	,755	,567	,278	.	,312	,878	,702	,395	,018
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38
	PRR_Virus (Log)	Correlation Coefficient	-,017	,067	-,363*	-,053	,168	1,000	,002	-,018	,186	-,019
		Sig. (2-tailed)	,924	,693	,030	,757	,312	.	,992	,914	,264	,909
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38
	PRR_COD	Correlation Coefficient	,066	,309	,089	-,007	,026	,002	1,000	,811**	,720**	,121
		Sig. (2-tailed)	,714	,063	,604	,969	,878	,992	.	,000	,000	,471
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38
	PRR_BOD	Correlation Coefficient	,381*	,193	,241	,224	,064	-,018	,811**	1,000	,669**	-,009
		Sig. (2-tailed)	,029	,252	,157	,189	,702	,914	,000	.	,000	,958
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38
	PRR_SS	Correlation Coefficient	-,036	,268	,021	,008	-,142	,186	,720**	,669**	1,000	-,026
		Sig. (2-tailed)	,843	,108	,905	,963	,395	,264	,000	,000	.	,878
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38
	PRR_Conductivity	Correlation Coefficient	,058	,162	,282	,205	,383*	-,019	,121	-,009	-,026	1,000
		Sig. (2-tailed)	,749	,337	,096	,231	,018	,909	,471	,958	,878	.
		N	33	37	36	36	38	38	38	38	38	38

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

WTP		Spearman's rho Correlations α _{WTP}	Air temperature (°C)	rain (mm)	PRR_TC (Log)	PRR_E.coli (Log)	PRR_Bacteriophages (Log)	PRR_Virus (Log)	PRR_COD	PRR_BOD	PRR_SS	PRR_Conductivity
PAT	Air temperature (°C)	Correlation Coefficient	1	-0.234	0.119	0.476	0.143	-0.071	-0.238	0.214	-0.143	-0.429
		Sig. (2-tailed)	.	0.577	0.779	0.233	0.736	0.867	0.57	0.61	0.736	0.289
		N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	rain (mm)	Correlation Coefficient	-0.234	1	0.225	0.137	0.312	0.377	0.079	0.337	0.345	0.054
		Sig. (2-tailed)	0.577	.	0.483	0.67	0.323	0.227	0.807	0.284	0.272	0.867
		N	8	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	PRR_TC (Log)	Correlation Coefficient	0.119	0.225	1	.758(**)	0.22	-0.275	-0.132	0.511	-0.126	0.434
		Sig. (2-tailed)	0.779	0.483	.	0.003	0.471	0.363	0.668	0.074	0.681	0.138
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_E.coli (Log)	Correlation Coefficient	0.476	0.137	.758(**)	1	0.165	-0.184	-0.005	0.495	-0.077	0.451
		Sig. (2-tailed)	0.233	0.67	0.003	.	0.59	0.547	0.986	0.086	0.803	0.122
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_Bacteriophages (Log)	Correlation Coefficient	0.143	0.312	0.22	0.165	1	-0.094	-.566(*)	-0.176	0.033	0.176
		Sig. (2-tailed)	0.736	0.323	0.471	0.59	.	0.761	0.044	0.566	0.915	0.566
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_Virus (Log)	Correlation Coefficient	-0.071	0.377	-0.275	-0.184	-0.094	1	0.124	0.239	0.517	-0.011
		Sig. (2-tailed)	0.867	0.227	0.363	0.547	0.761	.	0.687	0.431	0.07	0.972
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_COD	Correlation Coefficient	-0.238	0.079	-0.132	-0.005	-.566(*)	0.124	1	0.511	.681(*)	-0.104
		Sig. (2-tailed)	0.57	0.807	0.668	0.986	0.044	0.687	.	0.074	0.01	0.734
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_BOD	Correlation Coefficient	0.405	0.071	0.346	0.538	-0.358	-0.129	0.681*	1	0.341	-0.121
		Sig. (2-tailed)	0.320	0.827	0.247	0.058	0.194	0.674	0.010	.	0.255	0.624
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_SS	Correlation Coefficient	-0.143	0.345	-0.126	-0.077	0.033	0.517	.681(*)	0.341	1	0.005
		Sig. (2-tailed)	0.736	0.272	0.681	0.803	0.915	0.07	0.01	0.255	.	0.986
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13
	PRR_Conductivity	Correlation Coefficient	-0.429	0.054	0.434	0.451	0.176	-0.011	-0.104	-0.121	0.005	1
		Sig. (2-tailed)	0.289	0.867	0.138	0.122	0.566	0.972	0.734	0.694	0.986	.
		N	8	12	13	13	13	13	13	13	13	13

LEV	Air temperature (°C)	Correlation Coefficient	1	-0.225	-0.387	-0.112	0.497	0.019	-0.166	0.069	-0.337	0.155
		Sig. (2-tailed)	.	0.46	0.214	0.728	0.084	0.95	0.589	0.823	0.261	0.614
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	rain (mm)	Correlation Coefficient	-0.225	1	0.197	0.094	-0.11	-0.006	0.252	0.136	0.237	0.229
		Sig. (2-tailed)	0.46	.	0.54	0.77	0.72	0.984	0.405	0.659	0.436	0.452
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR TC (Log)	Correlation Coefficient	-0.387	0.197	1	.846(**)	0.399	-0.042	0.077	0.357	0.098	-0.046
		Sig. (2-tailed)	0.214	0.54	.	0.001	0.199	0.897	0.812	0.255	0.762	0.888
		N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	PRR E.coli (Log)	Correlation Coefficient	-0.112	0.094	.846(**)	1	.608(*)	0.07	0.182	0.385	-0.021	0.112
		Sig. (2-tailed)	0.728	0.77	0.001	.	0.036	0.829	0.572	0.217	0.948	0.729
		N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	PRR Bacteriophages (Log)	Correlation Coefficient	0.497	-0.11	0.399	.608(*)	1	0.401	0.049	0.253	-0.225	0.41
		Sig. (2-tailed)	0.084	0.72	0.199	0.036	.	0.174	0.873	0.405	0.459	0.164
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR Virus (Log)	Correlation Coefficient	0.019	-0.006	-0.042	0.07	0.401	1	-0.082	-0.187	-0.027	0.259
		Sig. (2-tailed)	0.95	0.984	0.897	0.829	0.174	.	0.789	0.541	0.929	0.394
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR COD	Correlation Coefficient	-0.166	0.252	0.077	0.182	0.049	-0.082	1	.819(**)	.769(**)	0.074
		Sig. (2-tailed)	0.589	0.405	0.812	0.572	0.873	0.789	.	0.001	0.002	0.809
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR BOD	Correlation Coefficient	0.069	0.136	0.357	0.385	0.253	-0.187	.819(**)	1	.643(*)	-0.212
		Sig. (2-tailed)	0.823	0.659	0.255	0.217	0.405	0.541	0.001	.	0.018	0.487
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR SS	Correlation Coefficient	-0.337	0.237	0.098	-0.021	-0.225	-0.027	.769(**)	.643(*)	1	-0.162
		Sig. (2-tailed)	0.261	0.436	0.762	0.948	0.459	0.929	0.002	0.018	.	0.596
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
	PRR Conductivity	Correlation Coefficient	0.155	0.229	-0.046	0.112	0.41	0.259	0.074	-0.212	-0.162	1
		Sig. (2-tailed)	0.614	0.452	0.888	0.729	0.164	0.394	0.809	0.487	0.596	.
		N	13	13	12	12	13	13	13	13	13	13
ARH	Air temperature (°C)	Correlation Coefficient	1	-0.202	-0.182	0.155	.753(**)	-0.004	0.266	0.456	0.102	0.172
		Sig. (2-tailed)	.	0.529	0.592	0.649	0.005	0.991	0.403	0.136	0.753	0.594
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	rain (mm)	Correlation Coefficient	-0.202	1	0.337	-0.369	0.1	-0.208	0.566	0.317	0.553	0.37
		Sig. (2-tailed)	0.529	.	0.311	0.264	0.758	0.516	0.055	0.316	0.062	0.236
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12

	PRR TC (Log)	Correlation Coefficient	-0.182	0.337	1	0.451	-0.1	-.900(**)	0.127	-0.032	-0.045	.645(*)
		Sig. (2-tailed)	0.592	0.311	.	0.164	0.77	0	0.709	0.926	0.894	0.032
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	PRR E.coli (Log)	Correlation Coefficient	0.155	-0.369	0.451	1	-0.023	-0.364	-0.26	-0.126	-0.392	0.018
		Sig. (2-tailed)	0.649	0.264	0.164	.	0.947	0.27	0.441	0.713	0.233	0.958
		N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	PRR Bacteriophages (Log)	Correlation Coefficient	.753(**)	0.1	-0.1	-0.023	1	0.133	0.497	0.483	0.196	.594(*)
		Sig. (2-tailed)	0.005	0.758	0.77	0.947	.	0.681	0.101	0.111	0.542	0.042
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	PRR Virus (Log)	Correlation Coefficient	-0.004	-0.208	-.900(**)	-0.364	0.133	1	0.014	0.046	0.105	-0.427
		Sig. (2-tailed)	0.991	0.516	0	0.27	0.681	.	0.966	0.888	0.746	0.167
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	PRR COD	Correlation Coefficient	0.266	0.566	0.127	-0.26	0.497	0.014	1	.886(**)	.867(**)	0.462
		Sig. (2-tailed)	0.403	0.055	0.709	0.441	0.101	0.966	.	0	0	0.131
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	PRR BOD	Correlation Coefficient	0.456	0.317	-0.032	-0.126	0.483	0.046	.886(**)	1	.760(**)	0.207
		Sig. (2-tailed)	0.136	0.316	0.926	0.713	0.111	0.888	0	.	0.004	0.519
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	PRR SS	Correlation Coefficient	0.102	0.553	-0.045	-0.392	0.196	0.105	.867(**)	.760(**)	1	0.175
		Sig. (2-tailed)	0.753	0.062	0.894	0.233	0.542	0.746	0	0.004	.	0.587
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12
	PRR Conductivity	Correlation Coefficient	0.172	0.37	.645(*)	0.018	.594(*)	-0.427	0.462	0.207	0.175	1
		Sig. (2-tailed)	0.594	0.236	0.032	0.958	0.042	0.167	0.131	0.519	0.587	.
		N	12	12	11	11	12	12	12	12	12	12

IV. ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΕΙΣΟΔΟΥ

Cryptosporidium (Είσοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Cryptosporidium (Είσοδος)	Negative	Count	5	7	8	20
		% within WTP	38,5%	53,8%	66,7%	52,6%
	Positive	Count	8	6	4	18
		% within WTP	61,5%	46,2%	33,3%	47,4%
Total	Count		13	13	12	38
	% within WTP		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

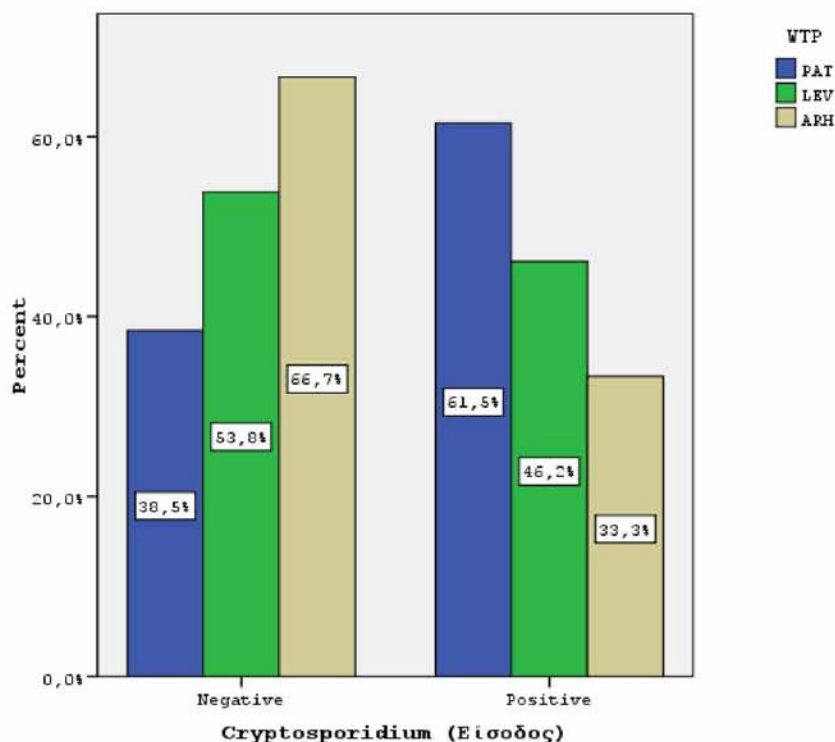
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2,003(a)	2	,367	,433		
Likelihood Ratio	2,029	2	,362	,433		
Fisher's Exact Test	1,975			,433		
Linear-by-Linear Association	1,945(b)	1	,163	,173	,115	,061
N of Valid Cases	38					

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,68.

b. The standardized statistic is -1,395.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Cryptosporidium* ($p\text{-value} > 0,05$) στα λύματα εισόδου.



Διάγραμμα 1: ποσοστά παρουσίας *Cryptosporidium* spp, στην είσοδο των τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Helminths (Είσοδος) * WTP Crosstabulation

			Sampling Station			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Helminths (Είσοδος)	Negative	Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Απουσία Helminths στα λύματα εισόδου σε όλες τις WTP.

Molds (Είσοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Molds (Είσοδος)	Negative	Count	13	12	10	35
		% within WTP	100,0%	92,3%	83,3%	92,1%
	Positive	Count	0	1	2	3
		% within WTP	,0%	7,7%	16,7%	7,9%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

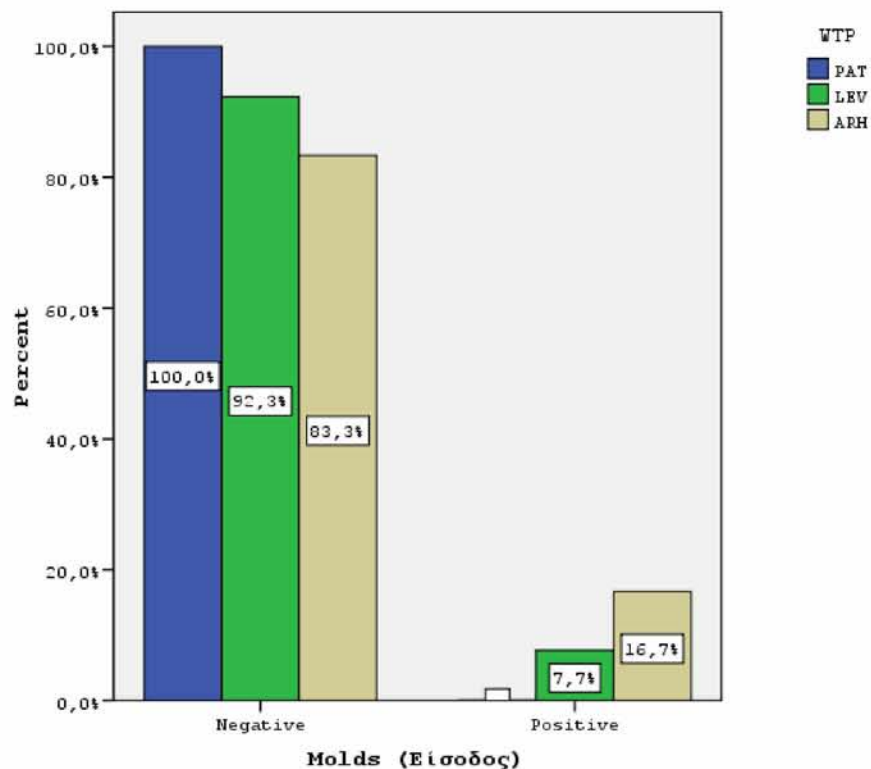
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2,385(a)	2	,303	,297		
Likelihood Ratio	3,126	2	,209	,297		
Fisher's Exact Test	2,161			,297		
Linear-by-Linear Association	2,317(b)	1	,128	,162	,128	,102
N of Valid Cases	38					

a 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,95.

b The standardized statistic is 1,522.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας Molds (p-value > 0,05) στα λύματα εισόδου.



Διάγραμμα 2: Ποσοστά εμφάνισης μυκήτων, στην είσοδο τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Candida (Είσοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Candida (Είσοδος)	Negative	Count	6	5	2	13
		% within WTP	46,2%	38,5%	16,7%	34,2%
	Positive	Count	7	8	10	25
		% within WTP	53,8%	61,5%	83,3%	65,8%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

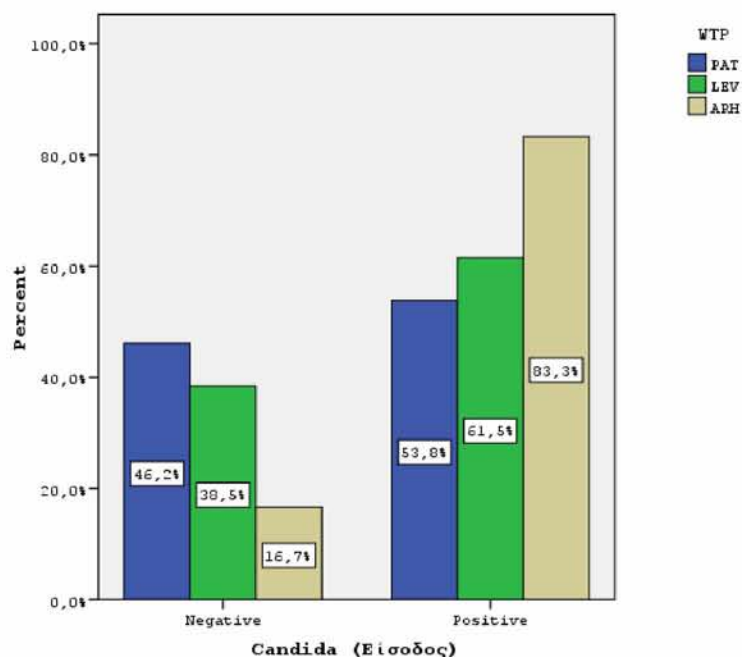
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2,569(a)	2	,277	,323		
Likelihood Ratio	2,743	2	,254	,323		
Fisher's Exact Test	2,560			,323		
Linear-by-Linear Association	2,318(b)	1	,128	,148	,094	,053
N of Valid Cases	38					

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,11.

b. The standardized statistic is 1,522.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Candida* ($p\text{-value} > 0,05$) στα λύματα εισόδου.



Διάγραμμα 3: Ποσοστά εμφάνισης *Candida spp.* στην είσοδο τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

***Pseudallescheria boydii* (Είσοδος) * WTP Crosstabulation**

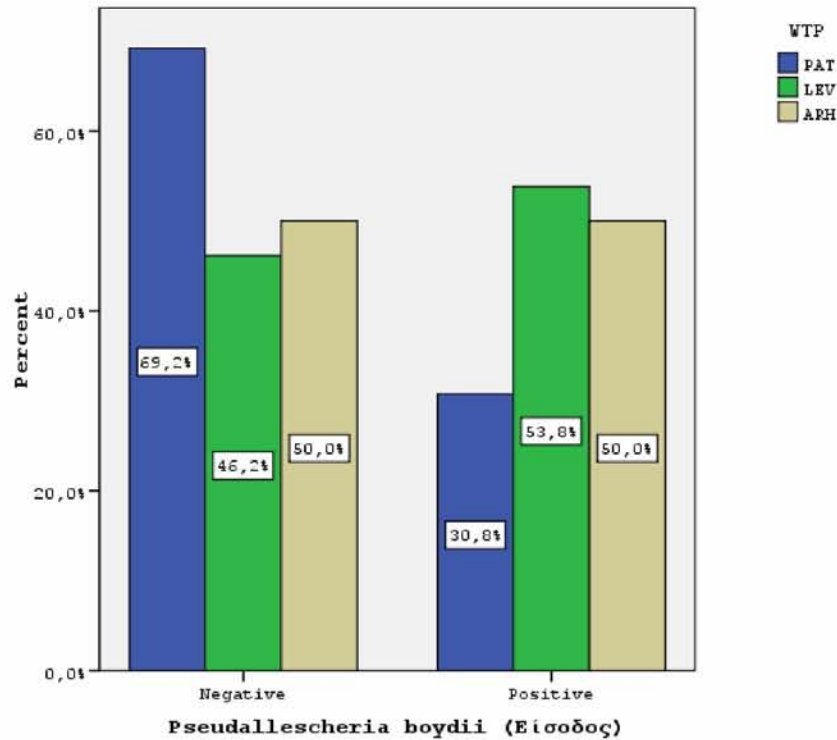
			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Pseudallescheria boydii (Είσοδος)	Negative	Count	9	6	6	21
		% within WTP	69,2%	46,2%	50,0%	55,3%
	Positive	Count	4	7	6	17
		% within WTP	30,8%	53,8%	50,0%	44,7%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1,597(a)	2	,450	,509		
Likelihood Ratio	1,629	2	,443	,509		
Fisher's Exact Test	1,610			,509		
Linear-by-Linear Association	,945(b)	1	,331	,428	,220	,099
N of Valid Cases	38					

- a 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,37.
b The standardized statistic is ,972.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Pseudallescheria boydii* ($p\text{-value} > 0,05$) στα λύματα εισόδου.



Διάγραμμα 4: Ποσοστά παρουσίας *Pseudallescheria boydii* στην είσοδο των τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

**V. ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ
ΕΞΟΔΟΥ ΑΠΟ ΤΗΝ WTP**

Cryptosporidium (Εξόδο) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Cryptosporidium (Εξόδο)	Negative	Count	7	7	8	22
		% within WTP	53,8%	53,8%	66,7%	57,9%
	Positive	Count	6	6	4	16
		% within WTP	46,2%	46,2%	33,3%	42,1%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

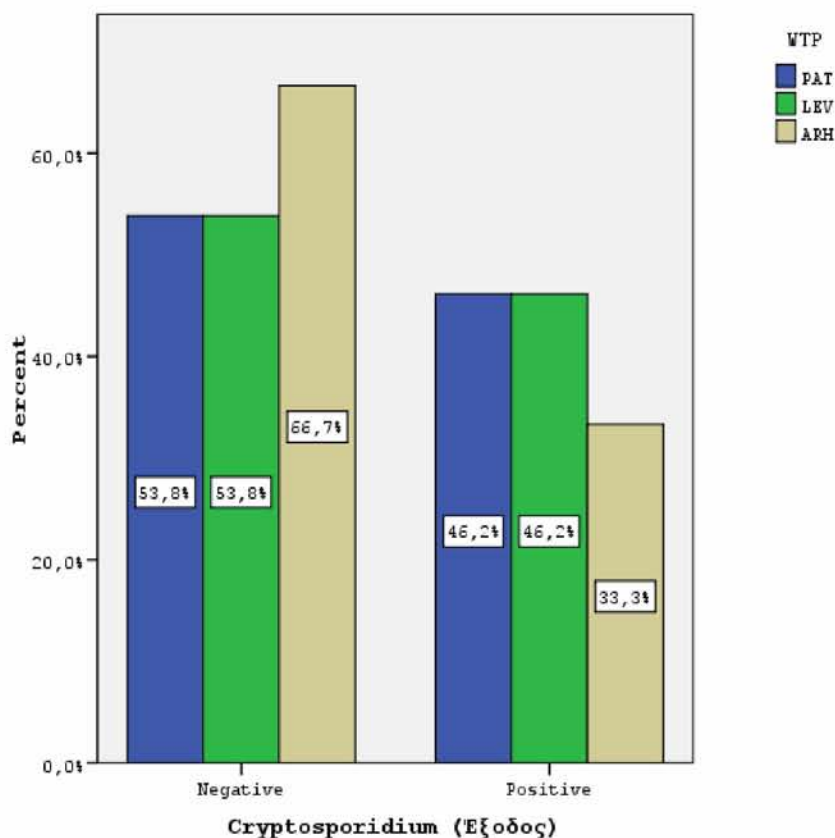
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	,554(a)	2	,758	,774		
Likelihood Ratio	,562	2	,755	,774		
Fisher's Exact Test	,620			,774		
Linear-by-Linear Association	,399(b)	1	,528	,555	,334	,130
N of Valid Cases	38					

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,05.

b. The standardized statistic is -,631.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Cryptosporidium* (p-value > 0,05 στα λύματα εξόδου).



Διάγραμμα 5: Ποσοστά παρουσίας *Cryptosporidium* στην έξοδο των τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Helminths (Εξοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Helminths (Εξοδος)	Negative	Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Απουσία Helminths στα λύματα εισόδου σε όλες τις WTP.

Molds (Εξοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Molds (Εξοδος)	Negative	Count	1	0	1	2
		% within WTP	7,7%	,0%	8,3%	5,3%
	Positive	Count	12	13	11	36
		% within WTP	92,3%	100,0%	91,7%	94,7%
Total		Count	13	13	12	38

% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
--------------	--------	--------	--------	--------

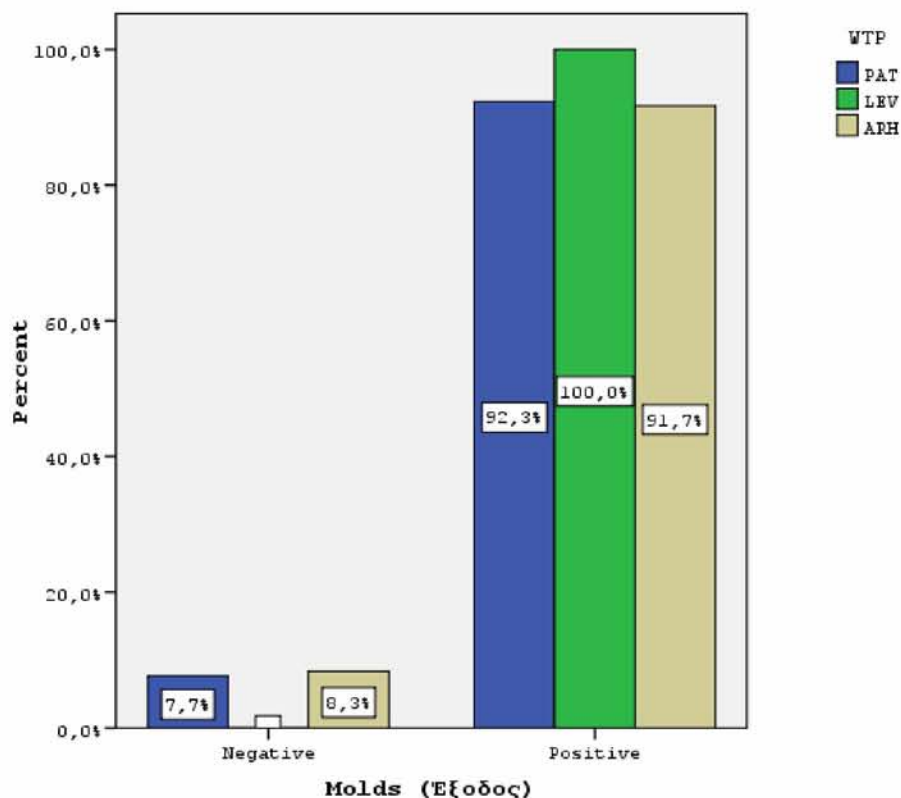
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1,103(a)	2	,576	,760		
Likelihood Ratio	1,736	2	,420	,760		
Fisher's Exact Test	1,355			,760		
Linear-by-Linear Association	,002(b)	1	,963	1,000	,649	,333
N of Valid Cases	38					

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,63.

b. The standardized statistic is -,047.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας Molds (p-value > 0,05) στα λύματα εξόδου.



Διάγραμμα 6: ποσοστά παρουσίας μυκήτων στην έξοδο των τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Candida (Εξόδοζ) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Candida (Εξόδοζ)	Negative	Count	2	7	4	13
		% within WTP	15,4%	53,8%	33,3%	34,2%
	Positive	Count	11	6	8	25
		% within WTP	84,6%	46,2%	66,7%	65,8%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

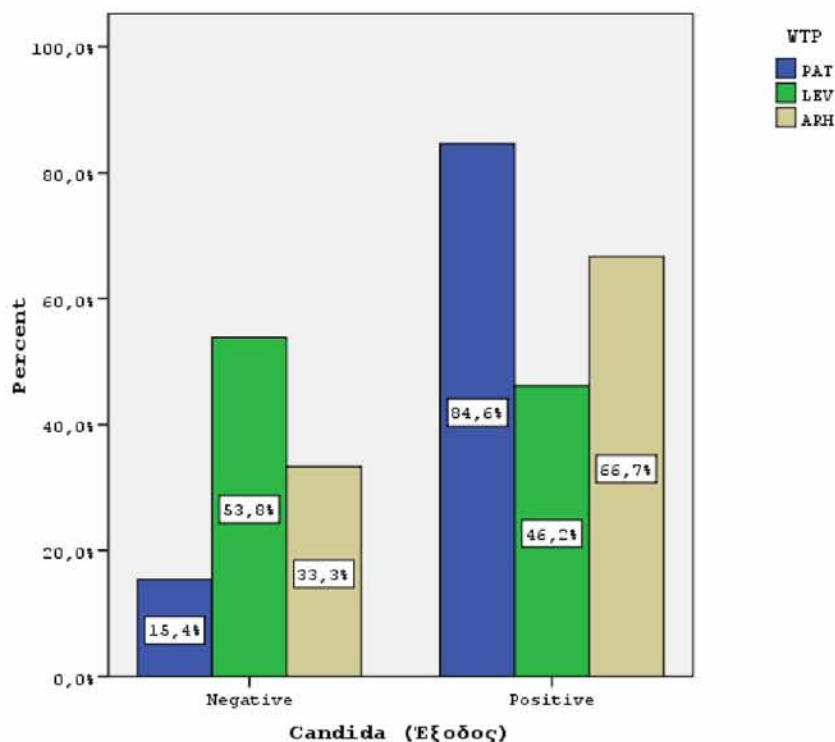
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4,278(a)	2	,118	,126		
Likelihood Ratio	4,441	2	,109	,114		
Fisher's Exact Test	4,137			,126		
Linear-by-Linear Association	,950(b)	1	,330	,407	,222	,104
N of Valid Cases	38					

a 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,11.

b The standardized statistic is -,975.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Candida* ($p\text{-value} > 0,05$) στα λύματα εξόδου.



Διάγραμμα 7: Ποσοστά ανίχνευσης *Candida spp.* στην έξοδο των τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

Pseudallescheria boydii (Εξοδος) * WTP Crosstabulation

			WTP			Total
			PAT	LEV	ARH	PAT
Pseudallescheria boydii (Εξοδος)	Negative	Count	9	8	9	26
		% within WTP	69,2%	61,5%	75,0%	68,4%
	Positive	Count	4	5	3	12
		% within WTP	30,8%	38,5%	25,0%	31,6%
Total		Count	13	13	12	38
		% within WTP	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

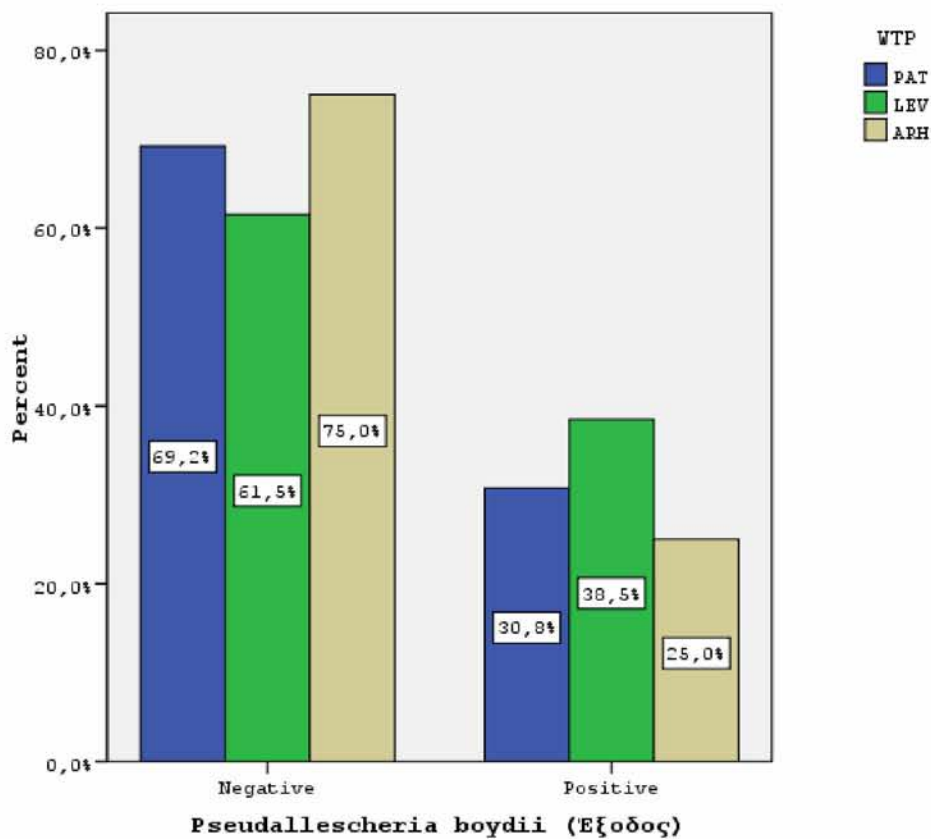
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	,529(a)	2	,767	,907		
Likelihood Ratio	,530	2	,767	,907		
Fisher's Exact Test	,598			,907		

Linear-by-Linear Association	,084(b)	1	,771	,834	,469	,161
N of Valid Cases	38					

a 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,79.

b The standardized statistic is -,291.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 WTP στα ποσοστά παρουσίας *Pseudallescheria boydii* ($p\text{-value} > 0,05$) στα λύματα εξόδου.



Διάγραμμα 8: ποσοστά παρουσίας *Pseudallescheria boydii* στα λύματα εισόδου τριών μονάδων βιολογικού καθαρισμού

IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

McNemar Test για την σημαντικότητα της αλλαγής μιας κατάστασης.
1=απουσία, 2= παρουσία

Cryptosporidium (Είσοδος) & Cryptosporidium (Εξόδος)

WTP	Cryptosporidium (Είσοδος)	Cryptosporidium (Εξόδος)	
		1	2
PAT	1	4	1
	2	3	5
LEV	1	6	1
	2	1	5
ARH	1	7	1
	2	1	3

Test Statistics(b)

WTP		Cryptosporidium (Είσοδος) & Cryptosporidium (Εξόδος)
PAT	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,625(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,313
	Point Probability	,250
LEV	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	1,000(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,750
	Point Probability	,500
ARH	N	12
	Exact Sig. (2-tailed)	1,000(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,750
	Point Probability	,500

a Binomial distribution used.

b McNemar Test

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία *Cryptosporidium* σε κάθε μία WTP.

Molds (Είσοδος) & Molds (Εξόδος)

WTP	Molds (Είσοδος)	Molds (Εξόδος)	
		1	2
PAT	1	1	12
	2	0	0
LEV	1	0	12
	2	0	1
ARH	1	0	10
	2	1	1

Test Statistics(b)

WTP		Molds (Είσοδος) & Molds (Εξόδος)
PAT	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,000(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,000
	Point Probability	,000
LEV	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,000(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,000
	Point Probability	,000
ARH	N	12
	Exact Sig. (2-tailed)	,012(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,006
	Point Probability	,005

a Binomial distribution used.

b McNemar Test

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία *Cryptosporidium* σε κάθε μία WTP.

Παρατηρούμε ότι η επεξεργασία έχει σημαντική επίδραση στην εμφάνιση Molds στην έξοδο.

Candida (Είσοδος) & Candida (Έξοδος)

WTP	Candida (Είσοδος)	Candida (Έξοδος)	
		1	2
PAT	1	1	5
	2	1	6
LEV	1	1	4
	2	6	2
ARH	1	0	2
	2	4	6

Test Statistics(b)

WTP		Candida (Είσοδος) & Candida (Έξοδος)
PAT	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,219(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,109
	Point Probability	,094
LEV	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,754(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,377
	Point Probability	,205
ARH	N	12
	Exact Sig. (2-tailed)	,687(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,344
	Point Probability	,234

a Binomial distribution used.

b McNemar Test

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία Candida σε κάθε μία WTP.

Pseudallescheria boydii (Είσοδος) & Pseudallescheria boydii (Εξοδος)

WTP	Pseudallescheria boydii (Είσοδος)	Pseudallescheria boydii (Εξοδος)	
		1	2
PAT	1	8	1
	2	1	3
LEV	1	4	2
	2	4	3
ARH	1	4	2
	2	5	1

Test Statistics(b)

WTP	Pseudallescheria boydii (Είσοδος) & Pseudallescheria boydii (Εξοδος)	
PAT	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	1,000(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,750
	Point Probability	,500
LEV	N	13
	Exact Sig. (2-tailed)	,687(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,344
	Point Probability	,234
ARH	N	12
	Exact Sig. (2-tailed)	,453(a)
	Exact Sig. (1-tailed)	,227
	Point Probability	,164

a Binomial distribution used.

b McNemar Test

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία *Pseudallescheria boydii* σε κάθε μία WTP.

3.11 ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

3.11.1 ΕΙΣΟΔΟΣ- ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

1. Για τις παραμέτρους ποιότητας των εισερχομένων λυμάτων σε κάθε WWTP που εκφράζονται με ποσοτικές μεταβλητές, παρουσιάζονται σε Πίνακα τα στατιστικά περιγραφικά αριθμητικά μέτρα τους. Οι μεταβλητές *TC* και *E.coli* είναι σε log10.

2. Για τη διερεύνηση ύπαρξης τυχόν διαφορών στις παραμέτρους κεντρικής τάσης των ποσοτικών μεταβλητών των εισερχόμενων λυμάτων μεταξύ των τριών WWTPs, διενεργήθηκε η μέθοδος Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) ή η μέθοδος Kruskal-Wallis (μη παραμετρικό ανάλογο της ANOVA) ανάλογα με την κανονικότητα ή μη των κατανομών τους σε κάθε μία από τις WWTPs αντίστοιχα.

Ως έλεγχος κανονικότητας χρησιμοποιήθηκε ο Shapiro-Wilk, ο οποίος ενδείκνυται για μικρά δείγματα. Σε περίπτωση απόρριψης της υπόθεσης της κανονικότητας, στις μεταβλητές όπου αυτό ήταν εφικτό χρησιμοποιήθηκε ο log10 μετασχηματισμός. Ο λογαριθμικός μετασχηματισμός δεν χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωση των *Bacteriophages* και *Virus* καθώς οι μεταβλητές αυτές είχαν και μηδενικές τιμές. Ο λογαριθμικός μετασχηματισμός επέλυσε το πρόβλημα της μη κανονικότητας για τις μεταβλητές *SS* και *Conductivity*.

Τόσο η ANOVA όσο και ο έλεγχος Kruskal-Wallis προϋποθέτουν ομοιογένεια των διακυμάνσεων. Ο σχετικός έλεγχος για την ομοιογένεια των διακυμάνσεων είναι ο έλεγχος Levene και χρησιμοποιήθηκε στις αρχικές μεταβλητές αν ακολουθούν κανονική κατανομή ή στις log10 μετασχηματισμένες σε αντίθετη περίπτωση. Σημειώνεται ότι ο λογαριθμικός μετασχηματισμός των *BOD* αν και δεν επέλυσε το πρόβλημα της μη κανονικότητας, φάνηκε χρήσιμος στο να επιτευχθεί η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων μεταξύ των τριών WTPs για τη μεταβλητή αυτή. Βάσει των ελέγχων Levene, η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων δεν παραβιάζεται, σε καμία από τις ποσοτικές μεταβλητές (αρχικές ή μετασχηματισμένες) ποιότητας των λυμάτων στην είσοδο των WWTP.

Τελικά, για τη διερεύνηση ισότητας μέσων τιμών των ποσοτικών μεταβλητών ποιότητας των λυμάτων στην είσοδο των WWTP χρησιμοποιήθηκε ANOVA (ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (WWTP)) για τις αρχικές μεταβλητές ή τους μετασχηματισμούς τους (με τους οποίους επιτυγχάνεται η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων) για τις οποίες δεν απορρίπτεται η υπόθεση κανονικότητας σε κάθε μία από τις WWTP, προς διερεύνηση της υπόθεσης ισότητας των μέσων τιμών τους στις 3 WTP χρησιμοποιείται. Οι μεταβλητές αυτές είναι: Log *TC*, Log *E.coli*, COD, Log *SS*, Log *Conductivity*. Για τις υπόλοιπες μεταβλητές (*Bacteriophages*, *Virus*, Log *BOD*) χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis.

Το χρησιμοποιηθέν επίπεδο σημαντικότητας σε όλους τους ελέγχους κανονικότητας είναι $\alpha=0.05$.

Από τα αποτελέσματα του ελέγχου ANOVA για τις μεταβλητές Log *TC*, Log *E.coli*, COD, Log *SS*, Log *Conductivity*, παρατηρούμε ότι με εξαίρεση το COD, σε όλες τις υπόλοιπες μεταβλητές απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών τους στις 3 WWTP ($p\text{-value} < 0,05$). Δηλαδή, με εξαίρεση το COD για όλες τις άλλες μεταβλητές παρουσιάζονται διαφορές στις μέσες τιμές τους μεταξύ των 3 μονάδων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$.

Από τον Πίνακα πολλαπλών συγκρίσεων, για τη σύγκριση μεταξύ των 3 μονάδων ανά μεταβλητή παρατηρούμε τις παρακάτω στατιστικά σημαντικές διαφορές των μέσων τιμών σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$:

- Για τα *Total coliforms*: PAT < LEV

- Για τα *E.coli*: PAT < LEV, ARH
- Για τα SS: PAT < LEV
- Για την Conductivity: PAT > ARH

Από τα αποτελέσματα του ελέγχου Kruskal-Wallis για τις μεταβλητές Bacteriophages, Virus, Log BOD, παρατηρούμε ότι με εξαίρεση το BOD, για κάθε μία από τις άλλες δύο μεταβλητές απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των διαμέσων τους στις 3 WWTP ($p\text{-value} < 0,05$). Δηλαδή, παρατηρούμε στατιστικά σημαντικές διαφορές των διαμέσων των Bacteriophages και των Virus μεταξύ των 3 μονάδων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$. Συγκεκριμένα έχουμε:

- Για τους Bacteriophages: PAT < LEV, ARH
- Για τους Virus: PAT < LEV, ARH

3. Για τον έλεγχο ύπαρξης μονότονης συσχέτισης μεταξύ των ποσοτικών μεταβλητών αλλά και των μετεωρολογικών μεταβλητών στην είσοδο των λυμάτων στις 3 μονάδες επεξεργασίας, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho. Η διερεύνηση συσχετίσεων έγινε στο σύνολο των δειγμάτων εισόδου στις τρεις WWTPs αλλά και ξεχωριστά για κάθε WTP. Οι συντελεστές συσχέτισης φέρουν κανένα, ένα ή δύο* ανάλογα με το αν δεν είναι στατιστικά σημαντικές σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, είναι στατιστικά σημαντικές σε $\alpha=0.05$ ή είναι στατιστικά σημαντικές ακόμα και σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.01$ αντίστοιχα. Για τους σκοπούς της ερμηνείας των δεδομένων η αρκετά ισχυρή συσχέτιση μπορεί να θεωρηθεί ως η μεγαλύτερη του 0.75, η μέτρια συσχέτιση ως 0.50 – 0.75 και η ασθενής ως 0.30 – 0.50.

A) Συσχετίσεις στο σύνολο των δεδομένων και των 3 μονάδων: Οι μετεωρολογικές μεταβλητές (θερμοκρασία αέρα και βροχόπτωση) δεν φαίνεται να επηρεάζουν τις μικροβιολογικές και χημικές μεταβλητές. Έχουμε μόνο ασθενή θετική συσχέτιση μεταξύ θερμοκρασίας περιβάλλοντος και βακτηριοφάγων καθώς και ασθενή αρνητική συσχέτιση μεταξύ θερμοκρασίας περιβάλλοντος και αγωγιμότητας.

Στατιστικά ισχυρή θετική συσχέτιση παρουσιάζουν όπως αναμενόταν τα TC με την *E.coli*, το BOD με το COD καθώς και τα αιωρούμενα στερεά (SS) με το COD. Μέτρια θετική συσχέτιση παρουσιάζεται μεταξύ BOD και τα αιωρούμενα στερεά (SS). Από τις σχετικά ασθενείς συσχετίσεις, παρουσιάζουν ενδιαφέρον οι θετικές συσχετίσεις μεταξύ βακτηριοφάγων και TC, βακτηριοφάγων και *E.coli* καθώς και μεταξύ βακτηριοφάγων και ιών. Στατιστικά σημαντική αλλά σχετικά ασθενή συσχέτιση παρουσιάζουν επίσης οι βακτηριοφάγοι με τα αιωρούμενα στερεά.

B) Συσχετίσεις των μεταβλητών ανά μονάδα επεξεργασίας: Παρουσιάζεται ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ *E.coli* και TC στην Αράχωβα και μέτρια προς ισχυρή στην Πάτρα. Σημειώνεται ότι η συσχέτιση των δύο αυτών παραμέτρων είναι εξαιρετικά ασθενής και μη στατιστικά σημαντική στην Λιβαδειά.

Και στις 3 μονάδες χωριστά φαίνεται ισχυρή θετική συσχέτιση των SS με το COD ισχυρές θετικές συσχετίσεις (λιγότερο έντονη στην Πάτρα). Μεταξύ BOD - COD παρουσιάζεται ισχυρή θετική συσχέτιση στη Λιβαδειά και την Αράχωβα ενώ στην Πάτρα είναι μέτρια και μη στατιστικά σημαντική (σε $\alpha=0.05$). Μεταξύ SS – BOD παρουσιάζεται ισχυρή θετική συσχέτιση στην Αράχωβα, μέτρια προς ισχυρή στη Λιβαδειά ενώ στην Πάτρα μέτρια και μη στατιστικά σημαντική. Επίσης, παρουσιάζεται μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ αγωγιμότητας – COD και αρκετά έντονη θετική συσχέτιση μεταξύ αγωγιμότητας - SS στην Αράχωβα. Ακόμα, έχουμε ασθενή προς μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ αγωγιμότητας και ιών στη Λιβαδειά.

Παρουσιάζονται επίσης και άλλες σχετικά μέτριες συσχετίσεις μεταξύ κάποιων παραμέτρων στην Λιβαδειά (βακτηριοφάγοι – θερμοκρασία περιβάλλοντος) και στην Αράχωβα (βακτηριοφάγοι - θερμοκρασία περιβάλλοντος, βακτηριοφάγοι – COD) οι οποίες όμως δεν είναι στατιστικά σημαντικές σε $\alpha=0.05$ (πιθανόν λόγω του μικρού μεγέθους των δειγμάτων).

3.11.2 ΕΞΟΔΟΣ- ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

Για τις παραμέτρους ποιότητας του εξερχόμενου νερού από κάθε WWTP που εκφράζονται με ποσοτικές μεταβλητές, παρουσιάζονται σε Πίνακα τα στατιστικά περιγραφικά αριθμητικά μέτρα τους. Οι μεταβλητές TC και E.coli είναι σε \log_{10} .

3.11.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

1. Για κάθε ποσοτική μεταβλητή υπολογίστηκε η απόδοση της μονάδας επεξεργασίας όσον αφορά στην απομάκρυνση των ρύπων (**Plant Removal Rate – PRR**). Η τεχνική αυτή επιλέχτηκε δεδομένου ότι τα δείγματα είχαν συλλεχθεί στην είσοδο και έξοδο κάθε WWTP τις ίδιες ημέρες και επομένως δεν μπορεί να ληφθεί υπόψη ο χρόνος κατακράτησης των υγρών αποβλήτων (**Carducci & Verani, (2013)**). Για τον υπολογισμό των PRR κάθε μεταβλητής, χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{Plant Removal Rate (PRR)} = \text{Entry load} - \text{Exit load}$$

Όπου Entry load: η τιμή της μεταβλητής στην είσοδο της μονάδας και

Exit load: η τιμή της μεταβλητής στην έξοδο της μονάδας για την ίδια ημέρα δειγματοληψίας.

Τα Entry load και Exit load για τις μεταβλητές TC, E.coli, Bacteriophages και Virus είναι σε \log_{10} .

Για αποτελέσματα του τύπου $(a_i, 0)$, $(0, b_i)$ και $(0, 0)$, το PRR υπολογίζεται ως $\log(a_i + 1)$, $-\log(b_i + 1)$ και $\log(1)-\log(1)=0$ αντίστοιχα.

Για τα PRR κάθε μίας από τις ποσοτικές μεταβλητές σε κάθε WWTP, παρουσιάζονται σε Πίνακα τα στατιστικά περιγραφικά αριθμητικά μέτρα τους.

2. Έλεγχοι υποθέσεων για τα PRR των ποσοτικών μεταβλητών σε κάθε μια από τις WWTP.

Σκοπός ήταν να ελεγχθεί αν υπάρχει διαφοροποίηση στην συγκέντρωση κάθε μίας παραμέτρου μεταξύ εισόδου των λυμάτων στην μονάδα επεξεργασίας και εξόδου από αυτήν. Ελέγχεται δηλαδή αν οι τιμές των παραμέτρων ποιότητας στην έξοδο είναι μικρότερες από τις τιμές στην είσοδο της WWTP.

Ο κατάλληλος έλεγχος υποθέσεων επιλέχτηκε βάσει της κανονικότητας ή όχι της κατανομής κάθε PRR σε κάθε WWTP. Η υπόθεση της κανονικότητας, βάσει του ελέγχου Shapiro-Wilk απορρίφθηκε μόνο στις περιπτώσεις των PRR για το BOD στην PAT, το SS στην LEV και την Conductivity στην PAT και LEV.

Σε κάθε WTP όπου το PRR για μια παράμετρο ποιότητας ακολουθεί την κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε One-Sample Test (ισοδύναμος έλεγχος με τον Paired Samples t-test για τα ζεύγη (είσοδος, έξοδος). για τον έλεγχο των υποθέσεων:

$$H_0: \mu_{PRR}=0 \text{ vs } H_1: \mu_{PRR}>0$$

Δεδομένου ότι στο στατιστικό πακέτο SPSS παρέχεται η δυνατότητα μόνο αμφίπλευρου ελέγχου, διεξήχθη αρχικά ο έλεγχος $H_0: \mu_{PRR}=0 \text{ vs } H_1: \mu_{PRR} \neq 0$ και βάσει των αποτελεσμάτων του, ελήφθη η απόφαση για τον μονόπλευρο έλεγχο υποθέσεων.

Σε όλους τους ελέγχους One-Sample Test απορρίφθηκε η H_0 σε $\alpha=0.05$. Δεδομένου ότι το στατιστικό καθενός από τους ελέγχους ήταν θετικός αριθμός, συμπεραίνουμε ότι σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, η μέση τιμή της διαφοράς (είσοδος – έξοδος) των τιμών μιας μεταβλητής είναι θετική. Δηλαδή υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση της μέσης συγκέντρωσης μιας παραμέτρου στην έξοδο έναντι αυτής στην είσοδο.

Ως μη παραμετρικό ανάλογο του Paired Samples t-Test, στις περιπτώσεις έλλειψης κανονικότητας των PRR, χρησιμοποιήθηκε ο Προσημικός έλεγχος (Sign Test). Ο πιο ισχυρός μη παραμετρικός έλεγχος Wilcoxon Signed Ranks Test, δεν θα μπορούσε να εφαρμοστεί λόγω μη συμμετρίας των κατανομών (βλέπε Πίνακα στατιστικών περιγραφικών αριθμητικών μέτρων των PRR). Συγκεκριμένα, ο Προσημικός έλεγχος χρησιμοποιήθηκε για το BOD στην PAT, το SS στην LEV και την Conductivity στην PAT και LEV. Σκοπός ήταν να ελεγχθεί αν οι τιμές των μεταβλητών στην έξοδο τείνουν να είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες στη είσοδο.

Οι υποθέσεις του Προσημικού ελέγχου ήταν:

$$H_0: P(\text{Value at "Exit"} > \text{Value at "Enter"}) = P(\text{Value at "Exit"} < \text{Value at "Enter"})$$

έναντι της εναλλακτικής

$$H_1: P(\text{Value at "Exit"} > \text{Value at "Enter"}) < P(\text{Value at "Exit"} < \text{Value at "Enter"})$$

$$\text{Η ισοδύναμη: Η διάμεσος της PRR} = 0 \text{ vs } H_1: \text{Η διάμεσος της PRR} > 0$$

Σε όλους τους προσημικούς ελέγχους που διεξήχθησαν, απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$. Συνεπώς, υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης μιας παραμέτρου στην έξοδο έναντι αυτής στην είσοδο.

3. Διερεύνηση ισότητας μέσων τιμών των PRR των βακτηρίων, βακτηριοφάγων και ιών στις 3 WTPs

Για τη διερεύνηση της ισότητας των μέσων τιμών των PRR των βακτηρίων, βακτηριοφάγων και ιών στις 3 WTP χρησιμοποιείται ANOVA (ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (WTP)). Προηγείται ο έλεγχος ισότητας των διακυμάνσεων. Από τα αποτελέσματα του ελέγχου διακυμάνσεων, έχουμε ότι δεν παραβιάζεται η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, σε καμία από τις υπό εξέταση μεταβλητές PRR.

Από την ANOVA έχουμε ότι σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, δεν απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών των PRR των *TC* (Log), *E.coli* (Log), *Virus* (Log) και *Bacteriophages* (Log) στις 3 WTP ($p\text{-value} > 0,05$). Δηλαδή, ως προς τις μειώσεις των τιμών των μικροβιολογικών παραμέτρων δεν μπορούμε να πούμε ότι σε κάποια από τις μονάδες η επεξεργασία είναι πιο αποτελεσματική από τις υπόλοιπες.

4. Συσχετίσεις των PRR μεταξύ τους και με μετεωρολογικές μεταβλητές στο σύνολο των δεδομένων και των 3 μονάδων (συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho).

Μέτρια θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της μείωσης των βακτηριοφάγων και της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος καθώς και μεταξύ *TC*, *E.coli*. Επίσης

παρατηρήθηκαν μέτριες έως αρκετά ισχυρές θετικές συσχετίσεις μεταξύ μείωσης SS-BOD, SS-COD και BOD-COD.

Συσχετίσεις των PRR μεταξύ τους και με μετεωρολογικές μεταβλητές ανά μονάδα επεξεργασίας (συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho).

Μεταξύ μείωσης *E.coli* - TC παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση που είναι ισχυρή στην Πάτρα και την Λιβαδειά ενώ είναι ασθενής και μη στατιστικά σημαντική στην Αράχωβα.

Στην Πάτρα παρατηρήθηκε μέτρια αρνητική συσχέτιση μεταξύ μείωσης COD – βακτηριοφάγων.

Στη Λιβαδειά παρατηρήθηκε μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ μείωσης *E.coli* – βακτηριοφάγων. Στην Αράχωβα παρατηρήθηκε ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ μείωσης TC - Virus, ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ μείωσης βακτηριοφάγων-θερμοκρασίας περιβάλλοντος και μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ μείωσης βακτηριοφάγων – αγωγιμότητας και TC - αγωγιμότητας.

Μέτρια έως ισχυρή θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ SS-COD σε όλες τις μονάδες επεξεργασίας και μεταξύ BOD-COD και SS-BOD στην Λιβαδειά και την Αράχωβα.

Παρουσιάζονται επίσης και άλλες σχετικά μέτριες συσχετίσεις μεταξύ κάποιων παραμέτρων οι οποίες όμως δεν είναι στατιστικά σημαντικές σε $\alpha=0.05$ (πιθανόν λόγω του μικρού μεγέθους των δειγμάτων).

3.11.4 ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΕΙΣΟΔΟΥ

Πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι X^2 για τον έλεγχο των υποθέσεων ισότητας των ποσοστών παρουσίας καθεμιάς από τις μεταβλητές *Cryptosporidium*, *Helminths*, Molds, *Candida* και *Pseudallescheria boydii* στα λύματα εισόδου μεταξύ των 3 WWTPs. Παρατηρήθηκε απουσία *Helminths* στα λύματα εισόδου σε όλες τις WWTP. Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση της ισότητας των ποσοστών και συνεπώς δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p\text{-value} > 0,05$) μεταξύ των 3 WWTP στα ποσοστά παρουσίας καθεμιάς από τις άλλες μεταβλητές στα λύματα εισόδου.

Δηλαδή, έγινε σύγκριση της ανίχνευσης των διαφόρων παραμέτρων μεταξύ των 3 μονάδων επεξεργασίας ως προς την συχνότητα ανίχνευσής τους στην είσοδο.

Δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0,05$) στην συχνότητα ανίχνευσης των *Cryptosporidium*, σκωλήκων (απουσιάζουν και από τις 3 μονάδες), molds, *Candida spp.*, *Pseudallescheria boydii* στην είσοδο των 3 μονάδων επεξεργασίας.

3.11.5 ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΕΞΟΔΟ

Πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι X^2 για τον έλεγχο των υποθέσεων ισότητας των ποσοστών παρουσίας καθεμιάς από τις μεταβλητές *Cryptosporidium*, Molds, *Candida* και *Pseudallescheria boydii* στο νερό εξόδου μεταξύ των 3 WWTPs. Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση της ισότητας των ποσοστών και συνεπώς δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p\text{-value} > 0,05$) μεταξύ των 3 WWTP στα ποσοστά παρουσίας καθεμιάς από τις άλλες μεταβλητές στην έξοδο.

Δηλαδή, έγινε σύγκριση της ανίχνευσης των διαφόρων παραμέτρων μεταξύ των 3 μονάδων επεξεργασίας ως προς την συχνότητα ανίχνευσής τους στην έξοδο.

Ομοίως με την είσοδο, δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0,05$) στην συχνότητα ανίχνευσης των *Cryptosporidium*, molds, *Candida spp*, *Pseudallescheria boydii* στην έξοδο των 3 μονάδων επεξεργασίας.

3.11.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ – ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ

Αξιολογήθηκε κατά πόσον η επεξεργασία επηρεάζει την εμφάνιση των μεταβλητών *Cryptosporidium*, Molds, *Candida* και *Pseudallescheria boydii* στην έξοδο του λύματος. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος McNemar για την σημαντικότητα της αλλαγής μιας κατάστασης.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία *Cryptosporidium* σε κάθε μία WWTP. Παρατηρούμε ότι η επεξεργασία έχει σημαντική επίδραση στην εμφάνιση Molds στην έξοδο.

Σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την απουσία / παρουσία των υπολοίπων μεταβλητών σε κάθε μία WWTP.

Φάνηκε δηλαδή ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την εμφάνιση των *Cryptosporidium*, *Candida spp*, *Pseudallescheria boydii* σε καμία μονάδα ενώ επηρεάζει την εμφάνιση των molds.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τον **Π.Ο.Υ.(2006)** περισσότερο από το 10% του παγκόσμιου πληθυσμού καταναλώνει τρόφιμα που παράγονται με πότισμα που προέρχεται από λύματα. Η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού θα αυξήσει και τις ανάγκες σε νερό άρδευσης και επομένως σε ανακυκλωμένο νερό. Όπως αποδεικνύεται από πολλές επιδημιολογικές μελέτες, νερό άρδευσης κακής μικροβιολογικής ή χημικής ποιότητας αποτελεί πηγή τεράστιων προβλημάτων δημόσιας υγείας. Πρόσφατη επισκόπηση παρουσιάζει πως οι άνθρωποι εντεροϊοί είναι οι κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες τόσο στις αναπτυσσόμενες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες πολλών μη βακτηριακών λοιμώξεων του γαστρεντερικού σωλήνα, και του αναπνευστικού συστήματος. Επίσης, μπορούν να προκαλέσουν επιπεφυκίτιδα, Ηπατίτιδα και άλλες πιο σημαντικές λοιμώξεις με υψηλή θνησιμότητα σε ανοσοκοτεσταλμένα άτομα όπως σε περιπτώσεις εγκεφαλίτιδας και μηνιγγίτιδας. Οι άνθρωποι εντεροϊοί μολύνουν και αναπαράγονται στον εντερικό σωλήνα των ξενιστών τους και απελευθερώνονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα κόπρανα των μολυσμένων ατόμων. Η απόρριψη μη επαρκώς επεξεργασμένων λυμάτων, είναι η πιο κοινή πηγή παθογόνων στο υδάτινο περιβάλλον. Εξαιτίας της έλλειψης συσχέτισης μεταξύ των ποσοστών αδρανοποίησης των βακτηριακών δεικτών και των ιικών παθογόνων, οι άνθρωποι αδενοϊοί έχουν προταθεί ως κατάλληλοι δείκτες για την αποτελεσματική ένδειξη της επιβάρυνσης των ιών στο ανθρώπινο περιβάλλον (**Okoh et al, 2010**). Σε πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη στο Μεξικό αποδείχθηκε ότι τα παιδιά που ζούσαν σε οικογένειες εκτεθειμένες σε μη επεξεργασμένο νερό άρδευσης είχαν 33% μεγαλύτερο κίνδυνο να παρουσιάσουν διάρροια από παιδιά που ζούσαν σε περιοχές που υπήρχε φυσική άρδευση από βροχή (**Cifuentes E, 2010**). Άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι καλή επεξεργασία έχει σαν αποτέλεσμα απολύτως ασφαλές πόσιμο νερό, με το οποίο μπορούν να εμπλουτιστούν υδάτινοι ταμιευτήρες (**Rubiano et al, 2012**).

Βέβαια, όπως κάποιες μελέτες τονίζουν η επίπτωση της χρήσης επεξεργασμένου λυμάτων στο DALY κάποιου πληθυσμού εξαρτάται από μια αλυσίδα καταστάσεων που αρχίζει από την αποτελεσματικότητα της μονάδας στην μείωση των παθογόνων. Σε μελέτη που έγινε για τους ιούς υπολογίστηκαν σταδιακές μειώσεις από την μονάδα επεξεργασίας (4-6 log ακόμα και με απλή επεξεργασία) και συνεχίζεται από απλά μέτρα πληθυσμιακής υγιεινής (1 log) , την μείωση των πληθυσμών των παθογόνων λόγω της επίδρασης περιβαλλοντικών παραγόντων στο χωράφι (ποσοστά επιβίωσης) που μπορούν να μειώσουν περεταίρω την συγκέντρωση των παθογόνων κατά 1-2 log, το πλύσιμο με κρύο νερό (μείωση 1 log) και η απολύμανση των λαχανικών (μείωση 3 log) (**Mara & Sleight, 2010**). Κινέζοι ερευνητές μελετούν την μείωση της μικροβιακής μόλυνσης των μαρουλιών που ποτίζονται με λύματα σε μία αστική γεωργική έκταση στην Γκανά. Η αξιολόγηση έγινε κάτω από πραγματικές συνθήκες πεδίου (καλλιέργεια μαρουλιών σε αστική γεωργική έκταση στην Γκανά). Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε ένα τυχαίο τετράγωνο τόσο κατά την περίοδο της ανομβρίας όσο και κατά την υγρή περίοδο. Ελήφθησαν 726 μαρούλια και 36 δείγματα νερού, τα οποία αναλύθηκαν για θερμοανθεκτικά κολοβακτηριοειδή και για αυγά ελμίνθων. Κατά μέσο όρο υπήρξε μία μείωση 0,65 log στα θερμοανθεκτικά κολοβακτηριοειδή και 0,4 log στα αυγά των ελμίνθων ανά 100gr μαρουλιών, για κάθε μέρα που δεν πραγματοποιήθηκε άρδευση (την περίοδο της ανομβρίας). Αυτό αντιστοιχεί σε μία καθημερινή απώλεια της τάξης του 1,4 τόνου ανά εκτάριο μαρουλιών (**Kerita et al, 2007**).

4.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 3 μονάδες επεξεργασίας στις οποίες έγιναν δειγματοληψίες για ένα χρόνο, μία φορά τον μήνα. Η πολυπλοκότητα του σχεδιασμού (3 πόλεις, 6 εργαστήρια) έκανε αδύνατη την λήψη περισσότερων δειγμάτων στα πλαίσια αυτού του προγράμματος. Επομένως, η αξιολόγηση με στατιστικά κριτήρια των ευρημάτων της κάθε μονάδας χωριστά, παρόλο που προσπαθήθηκε (βλ κεφάλαιο στατιστική επεξεργασία) θα ήταν παρακινδυνευμένη. Επομένως τα σχόλια αφορούν στην συνολική αξιολόγηση των ευρημάτων στις 3 μονάδες. Η προσέγγιση αυτή είναι δυνατή, εφόσον φάνηκε στην αρχή της στατιστικής επεξεργασίας ότι παρά τις διαφορές τους, δεν υπάρχει μονάδα που να υπερτερεί σε απόδοση από τις υπόλοιπες.

Πίνακας 18: Μειώσεις των μέσων όρων των χημικών και βιολογικών παραμέτρων των τριών μονάδων επεξεργασίας λυμάτων

	log TC	Log E.C	Bacterio phages	Virus	COD	BOD	SS	Conducti vity
PAT IN	5,661825	4,96093	1761,385	62,79923	288,4615	874,1538	88,23077	1604,846
PAT OUT	3,7846	3,3763	49	11,3831	11,69	5,885	11,08	1257,15
LEV IN	7,0558	6,534319	8565,385	388,4382	409,6154	206,3808	207,3846	1163,692
LEV OUT	4,4538	4,032	659,31	47,69	53	23,423	28,92	784,23
ARX IN	6,257555	6,05526	5910,5	330,5183	363,3333	181,5833	164,9167	743,5833
ARX OUT	4,4815	3,9462	417,42	38,3725	55,33	23,75	22,5	592,08

4.1.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΟΝΑΔΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΥΜΑΤΩΝ

Η αποτελεσματικότητα των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων ως προς την μείωση των συγκεντρώσεων των μικροβιολογικών και χημικών παραμέτρων του λύματος αποτελεί σημαντικό θέμα συζήτησης. Οι μονάδες χρησιμοποιούν επεξεργασίες σε πολλά στάδια και με πολλές τεχνολογίες και η αποτελεσματικότητα ποικίλει. Η απόδοσή τους ποικίλει (Scott et al, 2003). Σε μελέτη που διήρκεσε 6 μήνες (Payment et al., 2001) τα κολοβακτηριοειδή απομακρύνθηκαν σε ποσοστό 25% , οι εντερόκοκκοι 29% η E.coli 12% ενώ η παρουσία των ωοκύστεων *Cryptosporidium* και των εντεροϊών δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τις επεξεργασίες.

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται και φυσικά συστήματα επεξεργασίας με ποικίλη απόδοση. Για παράδειγμα σε μελέτη (Garcia & Becaren, 1997), έγινε σύγκριση της αποδοτικότητας 3 διαφορετικών φυσικών επεξεργασιών και διαπίστωσαν ότι η επεξεργασία με υδρόβια φυτά είχε την καλύτερη απόδοση.

Σε άλλη μελέτη διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης μικροβιακών παθογόνων μίας συμβατικής μονάδας επεξεργασίας λυμάτων, και μίας μονάδας η οποία χρησιμοποιούσε τεχνολογία μεμβράνης βιοαντιδραστήρα (MBR). Τα ολικά κολοβακτηριοειδή, οι σωματικοί και οι F-specific κολιφάγοι χρησιμοποιήθηκαν ως

δείκτες για τα παθογόνα βακτήρια και τους ιούς. Η απομάκρυνση που παρατηρήθηκε κατά την διάρκεια της συμβατικής διαδικασίας επεξεργασίας λυμάτων με εφαρμογή προηγμένης τριτοβάθμιας επεξεργασίας ήταν έως και της τάξης των 5,7 log για τα κολοβακτηριοειδή και έως 5,5 log για τους κολιφάγους. Η προσθήκη χημικών φαίνεται να βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας και δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, όσο αναφορά την απομάκρυνση μικροοργανισμών. Πλήρη απομάκρυνση των κολοβακτηριοειδών και μία μείωση της τάξης μέχρι και 5,8 log για τους κολιφάγους, παρατηρήθηκε με την εφαρμογή του συστήματος MBR. Αποδείχτηκε ότι το σύστημα MBR είναι ικανό για την απομάκρυνση μεγάλου μέρους των κολιφάγων, παρά την διακύμανση που παρουσιάζουν όσο αναφορά την συγκέντρωσή τους σε τροφή. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης απέδειξαν ότι το σύστημα MBR μπορεί να επιτύχει καλύτερη απομάκρυνση μικροοργανισμών σε λιγότερα στάδια, σε σύγκριση με την συμβατική τριτοβάθμια επεξεργασία της ενεργού ιλύος. Η τελική εκροή από οποιαδήποτε διαδικασία εξυγίανσης μπορεί δυνητικά να ξαναχρησιμοποιηθεί (Zhang & Farahbankhsh, 2007).

Υπάρχουν όμως και οικονομικά, περιβαλλοντικά και κοινωνικά θέματα, τα οποία πρέπει να διερευνηθούν. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Muga & Mihelcic, 2007. Οι οικονομικοί δείκτες που επιλέχθηκαν, για να διερευνηθούν την βιωσιμότητα των διαφόρων τεχνικών εξυγίανσης λυμάτων, ήταν το κόστος λειτουργίας, διαχείρισης και το κόστος των χρηστών, επειδή οι δείκτες αυτοί καθορίζουν την οικονομική προσιτότητα μίας συγκεκριμένης τεχνολογίας για μία κοινότητα. Οι περιβαλλοντικοί δείκτες, συμπεριλαμβάνουν και την χρήση ενέργειας διότι έμμεσα αξιολογεί τους πόρους και την απόδοση της τεχνολογίας όσο αναφορά την απομάκρυνση συμβατικών λυμάτων, όπως το βιομηχανικά απαιτούμενο οξυγόνο, το αμμωνιακό άζωτο, το φώσφορο και τα παθογόνα. Αυτοί οι δείκτες προσδιορίζουν επίσης, την δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης των επεξεργασμένων λυμάτων. Οι κοινωνικοί δείκτες αναπαριστούν την πολιτισμική αποδοχή της τεχνολογίας μέσω της συμμετοχής του κοινού. Επίσης, μπορεί να μετρήσει εάν υπάρχει βελτίωση στην κοινωνία από την εξειδικευμένη τεχνολογία διά μέσου της οποίας αυξάνονται οι θέσεις εργασίας, υπάρχει η δυνατότητα καλύτερης εκπαίδευσης, ακόμα και η επίτευξη ενός βελτιωμένου περιβάλλοντος. Τέλος, η επιλογή ενός σετ δεικτών εξαρτάται από το γεωγραφικό και δημογραφικό πλαίσιο μίας κοινότητας.

4.1.2 ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ

Στην παρούσα μελέτη και με βάση όλους τους προσημικούς ελέγχους που διεξήχθησαν, απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$. Συνεπώς, υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των παραμέτρων στην έξοδο έναντι αυτής στην είσοδο. Από την ANOVA έχουμε ότι σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$, δεν απορρίπτεται η υπόθεση της ισότητας των μέσων τιμών των PRR των TC (Log), E.coli (Log), Virus (Log) και Bacteriophages (Log) στις 3 WTP ($p\text{-value} > 0,05$). Δηλαδή, ως προς τις μειώσεις των τιμών των μικροβιολογικών παραμέτρων δεν μπορούμε να πούμε ότι σε κάποια από τις μονάδες η επεξεργασία είναι πιο αποτελεσματική από τις υπόλοιπες.

Η επιλογή κατάλληλων δεικτών που να συσχετίζονται σταθερά με την παρουσία παθογόνων και στους οποίους η επίδραση των επεξεργασιών να συσχετίζεται με την επίδραση σε παθογόνα αποτελεί θέμα πολλών μελετών. Η αξιοπιστία των βακτηριοφάγων ως δείκτες παρουσίας εντεροϊών είναι το ζητούμενο πολλών ερευνητών (Lucena & Jofre, 2010). Η απομάκρυνση των παθογόνων και των δεικτών αποτελεί το

θέμα πολλών ερευνητικών εργασιών. Σε εργαστηριακή μελέτη (Qinxue et al, 2009) μελετήθηκε η απομάκρυνση πολλών παθογόνων και δεικτών σε προσομοίωση μονάδας δευτερογενούς επεξεργασίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση 2-3 log₁₀ όλων των δεικτών με εξαίρεση τα σπόρια του *C. perfringens* των οποίων η μείωση ήταν πολύ χαμηλή λόγω μη αναστρεπτής απορρόφησής τους από τα συσσωματώματα της ενεργούς ιλύος. Οι βακτηριοφάγοι έδειξαν μικρότερο ποσοστό μείωσης από τον Poliovirus, του οποίου θεωρούνται δείκτες.

Ο ρόλος του νερού στην μετάδοση των μολυσματικών ασθενειών έχει προσδιοριστεί, άριστα. Ενδεχομένως, να ενεργεί σαν δεξαμενή διαφορετικών ειδών παθογόνων. Οι εντεροϊοί μπορούν να επιβιώσουν και να υπάρχουν στο νερό για μεγάλο χρονικό διάστημα, διατηρώντας την μολυσματικότητα τους σε πολλές περιπτώσεις. Αυτό υποδεικνύει την ανάγκη να συμπεριλάβουμε την ανίχνευση των ιών και την αξιολόγηση της μικροβιακής ποιότητας των νερών. Σε αυτή την μελέτη, οι εντεροϊοί (enteroviruses και HAV) διερευνήθηκαν με την RT-PCR και οι κολιφάγοι γνωστοί ως δείκτες ιογενούς μόλυνσης) καταμετρήθηκαν με την μέθοδο της διπλοστοιβάδας στα λύματα και στην λυματολάσπη, σε τρεις μονάδες βιολογικού καθαρισμού στην Τυνησία. Η μοριακή ανίχνευση έδειξε πως το 7,7 % των δειγμάτων λυματολάσπης ήταν θετικό για εντεροϊούς. Κανένα από τα δείγματα δεν ήταν θετικά για HAV. Το όριο ανίχνευσης των μοριακών ιών εκτιμήθηκε ότι είναι 103 pfu/100 mL. Όλα τα δείγματα περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις κολιφάγων εκτός από αυτά που περιέχονταν από την ξηρή ιλύ. Μειώσεις στην συγκέντρωση των βακτηριοφάγων, επιτυγχάνονται στις μονάδες βιολογικού καθαρισμού και ανέρχονται στην ίδια τάξη μεγέθους, όπως περιγράφεται παραπάνω. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ακατέργαστα λύματα συνδέονται με τις χειμερινές βροχοπτώσεις. Αποδείχτηκε πως δεν υπάρχει σαφής συσχέτιση μεταξύ των εντεροϊών που μελετήθηκαν και της συγκέντρωσης των κολιφάγων. Η άφθονη παρουσία κολιφάγων στα συγκεκριμένα δείγματα προκαλεί ανησυχία για την μετάδοση των εντεροϊών στον άνθρωπο, καθώς αυτά ξαναχρησιμοποιούνται σε καλλιεργήσιμη γη (Jebri et al, 2012).

Σε άλλη μελέτη (Ottoson et al, 2006) μελετήθηκε η ποικιλία στην συγκέντρωση και ο βαθμός απομάκρυνσης παθογόνων και δεικτών σε πιλοτική μονάδα τριτογενούς επεξεργασίας στην Σουηδία. Ζεύγη δειγμάτων ελήφθησαν από την είσοδο και από την έξοδο, κάθε γραμμής επεξεργασίας (τριτογενής διήθηση, MBR, UASB). Η καταμέτρηση των ωοκύστεων και των δεικτών, έγινε χρησιμοποιώντας πρότυπες μεθόδους και η καταμέτρηση των ιών έγινε με την RT-PCR. Κύστες *Giardia* και εντεροϊοί ανιχνεύονταν συνεχώς, με μέση τιμή κύστεων 103.11 και 104 PCR units L⁻¹ αντίστοιχα. Ωοκύστες βρέθηκαν σε 5 από τα 19 δείγματα, με μέση τιμή 5 L⁻¹. Νοροϊοί βρέθηκαν σε 6 από τα 7 δείγματα εισόδου, με μέσο τίτλο 103.28 L⁻¹, κατά την διάρκεια του χειμώνα, αλλά ίλη την υπόλοιπη χρονιά από τα 15 δείγματα μόνο 2 ήταν θετικά. Η επεξεργασία MBR, απομάκρυνε τους δείκτες πολύ πιο αποτελεσματικά, σε σύγκριση με τις άλλες δύο γραμμές επεξεργασίας. Η απομάκρυνση της *E.coli* με την τεχνική MBR, ήταν της τάξης των 5 log. Η απομάκρυνση του γονιδιώματος του ανθρώπινου ιού δεν διέφερε πολύ μεταξύ MBR και της τριτοβάθμιας γραμμής επεξεργασίας. Στην UASB υπήρξε η μικρότερη απομάκρυνση μικροοργανισμών. Η απομάκρυνση της *E.coli*, του εντερόκοκκου και του *Cl. perfringens* συσχετίστηκε ($p < 0,5$), με την απομάκρυνση των εντεροϊών με R-values γύρω στο 0,4. Ωστόσο, οι τιμές που αφορούν την απομάκρυνση των δεικτών παρουσιάζουν μία πιο έντονη συσχέτιση μεταξύ τους. Η απομάκρυνση των ιών βασίστηκε στην καταμέτρηση χρησιμοποιώντας RT-PCR, υποτιμώντας πιθανά την μολυσματικότητα των ιών.

4.1.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΗΝ ΜΕΙΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Η συσχέτιση περιβαλλοντικών παραμέτρων με την μείωση παθογόνων έδωσε αποτελέσματα μόνο μεταξύ της βροχόπτωσης και της μείωσης του HAdV σε μελέτη που διήρκησε 3 χρόνια. Δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στις μικροβιολογικές και τις ιολογικές, τις χημικές και τις χημικές παραμέτρους (Carducci and Verani, 2013).

4.1.4 ΣΥΣΧΕΤΗΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΜΕ ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

Στη μελέτη μας, στατιστικά ισχυρή θετική συσχέτιση παρουσιάζουν όπως αναμενόταν τα TC με την *E.coli*, το BOD με το COD καθώς και τα αιωρούμενα στερεά (SS) με το COD. Μέτρια θετική συσχέτιση παρουσιάζεται μεταξύ BOD και τα αιωρούμενα στερεά (SS). Από τις σχετικά ασθενείς συσχετίσεις, παρουσιάζουν ενδιαφέρον οι θετικές συσχετίσεις μεταξύ βακτηριοφάγων και TC, βακτηριοφάγων και *E.coli* καθώς και μεταξύ βακτηριοφάγων και ιών. Η τελευταία αυτή συσχέτιση επιβεβαιώνει την πρόταση που κάνουν πολλοί ερευνητές ώστε να χρησιμοποιηθούν οι βακτηριοφάγοι ως δείκτες παρουσίας παθογόνων ιών. Στατιστικά σημαντική αλλά σχετικά ασθενή συσχέτιση παρουσιάζουν επίσης οι βακτηριοφάγοι με τα αιωρούμενα στερεά.

Πολλές μελέτες στην βιβλιογραφία ασχολούνται με την συσχέτιση των παραμέτρων των λυμάτων. Σε μία μελέτη έγινε σύγκριση της συγκέντρωσης των βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους προέλευσης (κολοβακτηριοειδή, *E.coli*, Εντερόκοκκοι) με μία μεγάλη ποικιλία οργανικών χημικών ουσιών που υπάρχουν στα λύματα και επιλεγμένων βακτηριακών γονιδίων, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης σε 18 δείγματα επιφανειακού πόσιμου νερού. Ελέγχθηκαν γονίδια συμπεριλαμβανομένου του *esp* (υποδεικνύοντας το παθογόνο ENT για τον άνθρωπο) και 9 γονίδια τα οποία συνδέονται με ιούς ζωικής προέλευσης της Shiga-τοξίνης, που προέρχεται από την *E.coli*. Από τα 13 δείγματα με $<50 \text{ EC } 100 \text{ mL}^{-1}$, ανθρώπινα φαρμακευτικά σκευάσματα ή χημικοί δείκτες μονάδων επεξεργασίας λυμάτων εμφανίστηκαν σε 6, κτηνιατρικά αντιβιοτικά σε 3 και *stx1* ή *stx2* γονίδια (τα οποία υποδεικνύουν διαφορετική πηγή ζωικής υλής) ανιχνεύτηκαν σε 8 από τα δείγματα. Η εφαρμογή δεικτών για την ποιότητα του νερού ποικίλης περιβαλλοντικής ανθεκτικότητας, μπορεί να προσδώσει μεγαλύτερη εμπιστοσύνη στην αξιολόγηση της κοπρανώδους μόλυνσης και να οδηγηθούμε στην λήψη αποφάσεων για ανακούφιση ή θεραπεία στις υπάρχουσες περιοχές (Haack et al, 2009).

Σε άλλη μελέτη ο έλεγχος ποιότητας των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων παρακολουθείται χρησιμοποιώντας κλασικούς και νέους φυσικοχημικούς και μικροβιολογικούς δείκτες. Οι μικροβιακοί δείκτες που παρακολουθήθηκαν ήταν HPC, TC, FC, FS, SRC, *Pseudomonas aeruginosa* και *Salmonella spp.* Τα στάδια της βιολογικής επεξεργασίας αξιολογήθηκαν μέσω του προσδιορισμού της αμμωνίας, του BOD₅, του COD, του χλωρίου, της αγωγιμότητας, των λιπών, των νιτρικών, των νιτρωδών, του ολικού αζώτου, του PH, των φωσφορικών αλάτων και του ολικού φωσφόρου. Οι επιπρόσθετοι δείκτες που περιλαμβάνονται είναι *E.coli* για την εκτίμηση της ολικής τοξικότητας των λυμάτων, ο φασματικός καθορισμός σε μήκος κύματος 190 – 650nm και η διαλυτή SP. πρωτεΐνη. Από τους συνηθισμένους φυσικοχημικούς παραμέτρους μόνο το BOD₅, COD, τα αιωρούμενα στερεά, τα ολικά στερεά και τα λίπη, έδειξαν μια στατιστική σημαντική μείωση μεταξύ του επεξεργασμένου νερού και των λυμάτων. Για τους μικροβιακούς δείκτες σημαντική μείωση παρατηρήθηκε μόνο για το HPC, FC, *Ps.aeruginosa*. Προτείνουν ότι ο καθορισμός *Ps.aeruginosa* μπορεί να

χρησιμοποιηθεί ευρέως ως δείκτης ποιότητας των λυμάτων. Οι φασματικές αναλύσεις – και κυρίως οι τιμές απορρόφησης στα 225, 295 nm – αποκαλύπτουν μια στατιστική σημαντική συσχέτιση με αρκετές φυσικοχημικές παραμέτρους. Οι στατιστικές αναλύσεις των τιμών, με SP και TP έδειξαν ότι είναι καλοί δείκτες μόλυνσης. Η ποσοτική μελέτη της *Salmonella spp.* και τα αποτελέσματα από το IGEC, καταδεικνύουν την ανάγκη για στενό έλεγχο των μολυσματικών και τοξικών κινδύνων τόσο στα λύματα όσο και στα απόβλητα (Howard et al, 2004).

Στη παρούσα μελέτη η παρουσία της Σαλμονέλλας δεν έδωσε σταθερά και αξιολογήσιμα αποτελέσματα. Η *P.aeruginosa* δεν περιελήφθη στην μελέτη εφόσον δεν αναφέρεται στην ΚΥΑ. Επίσης μελέτες του εργαστηρίου μας δείχνουν πόσο ευαίσθητη είναι στην επίδραση του περιβάλλοντος και επομένως του πλούσιου και ασταθούς περιβάλλοντος των λυμάτων (Pappa et al., 2014) αλλά ίσως πρέπει να συμπεριληφθεί στο μέλλον.

4.1.5 RISK ASSESSMENT

Η επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων, οι κατευθυντήριες γραμμές για την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων καθώς και η νομοθεσία, βασίζεται παραδοσιακά και αποκλειστικά στον προσδιορισμό των βακτηριακών δεικτών και στην παρουσίαση των νηματοειδών αυγών. Παρόλα αυτά σύμφωνα με ορισμένους ερευνητές α.η παρουσία των ιών δεν είναι καλά θεσμοθετημένη με βάση τους βακτηριακούς δείκτες, β.η βιωσιμότητα των νηματοειδών αυγών δεν έχει καθοριστεί, γ.η παρουσία των παρασίτων δεν έχει αναλυθεί, δ.η συμπεριφορά όλων των παθογόνων στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, στα σημεία εισόδου δεν είναι γνωστή, ε.η συμπεριφορά των παθογόνων στο περιβάλλον επίσης δεν είναι γνωστή, ς.ο χημικός κίνδυνος δεν έχει αξιολογηθεί. Επιπλέον, θα πρέπει να εκτιμηθεί ο κίνδυνος που έχει άμεση συσχέτιση με την επαναχρησιμοποίηση η οποία είναι άμεσα συνδεδεμένη με τον τελικό έλεγχο του ξενιστή, ή με την κατάποση χημικών και με την επαφή με το ανθρώπινο σώμα. Κατά συνέπεια, κάποια μελλοντική εξέλιξη των νόμων, των κανόνων και των κανονισμών για την επεξεργασία και την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων θα πρέπει να περιλαμβάνει: 1.πιο λεπτομερείς μικροβιακές και χημικές αναλύσεις για την επαναχρησιμοποίηση υδάτων και για το περιβάλλον, 2.την ανάπτυξη εργαλείων για τον προσδιορισμό των περιβαλλοντικών επιπτώσεων της επαναχρησιμοποίησης υδάτων και των υποπροϊόντων της ανακύκλωσης αυτής, 3.την εγκατάσταση εργαλείων που να εγγυούνται την μείωση της επαφής του παθογόνου με τον ξενιστή, 4.την εκτίμηση του κινδύνου και μηχανισμό διαχείρισης. Έγιναν συστάσεις και προτάσεις για να συμπεριληφθούν όλα αυτά τα στοιχεία σε επόμενη νομοθεσία η οποία θα αφορά την επεξεργασία και την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων (Salgot et al, 2002). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή RA με σύγχρονη προσέγγιση.

4.1.6 ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ *Cryptosporidium spp*, *Giardia spp*, μύκητες

Από την στατιστική επεξεργασία, φάνηκε ότι η επεξεργασία δεν επηρεάζει την εμφάνιση των *Cryptosporidium*, *Candida spp*, *Pseudallescheria boydii* σε καμία μονάδα ενώ επηρεάζει την εμφάνιση των molds. Ως προς τα παράσιτα το αποτέλεσμα δίδει πολύ σημαντική πληροφορία εφόσον οι 3 μονάδες έχουν διαφορετικές διαδικασίες επεξεργασίας και διαφορετικό δυναμικό.

Το *Cryptosporidium* και η *Giardia* είναι δύο σημαντικά παθογόνα παράσιτα, τα οποία έχουν προκαλέσει πολλές υδατογενείς επιδημίες, οι οποίες επηρέασαν εκατοντάδες χιλιάδες ανθρώπους. Στην βιβλιογραφία παρουσιάζονται μελέτες με διάφορα συμπεράσματα. Σε μελέτη σκοπός ήταν να αξιολογηθεί η μείωση του *Cryptosporidium* και των ωοκύστεων της *Giardia*, σε δύο εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων (STPA και STPB) στην Μαλαισία, οι οποίες χρησιμοποιούσαν διαφορετικό σύστημα επεξεργασίας. Η έρευνα διήρκεσε 1 χρόνο. Ακατέργαστα λύματα και επεξεργασμένα λύματα συγκεντρώθηκαν με επαναλαμβανόμενη φυγοκέντρωση. Υπεβλήθηκαν σε επίπλευση πυκνότητας ζακχαρόζης και συγκεντρώθηκαν με τον μικρότερο δυνατό όγκο, ανάλογα βέβαια με επίπεδα μόλυνσης στο ίζημα. Η καταμέτρηση των ωοκύστεων του *Cryptosporidium* και των κύστεων της *Giardia* έγινε με την χρήση μικροσκοπίου φθορισμού. Οι συγκεντρώσεις των παρασίτων στα ακατέργαστα λύματα ήταν 18-8480 κύστες / L για την *Giardia* και 1-10 ωοκύστες / L για το *Cryptosporidium*. Στα επεξεργασμένα λύματα η συγκέντρωση των παρασίτων κυμαίνεται από 1-1462 κύστες / L και 20-80 ωοκύστες / L για την *Giardia* και για το *Cryptosporidium* αντίστοιχα. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων που χρησιμοποιείται παρατεταμένος αερισμός θα μπορούσε να μειωθεί σημαντικά η συγκέντρωση του *Cryptosporidium* και των ωοκύστεων της *Giardia*, ενώ η διαδικασία επεξεργασίας λυμάτων που εμπεριέχει αεριζόμενες δεξαμενές θα μπορούσε να μειώσει μόνο την συγκέντρωση των κύστεων της *Giardia* και όχι την συγκέντρωση των ωοκύστεων του *Cryptosporidium*. Το φαινόμενο αυτό προκαλεί μεγάλη ανησυχία σε περιοχές στις οποίες τα λύματα από τις μονάδες επεξεργασίας απορρίπτονται στις εκβολές των ποταμών και στο τέλος χρησιμοποιούνται για άντληση πόσιμου νερού. Κατά τους ερευνητές είναι ιδιαίτερα σημαντικό οι αρχές να επανεξετάσουν την σημασία του *Cryptosporidium* και της *Giardia*, καθώς και τα επίπεδα μόλυνσης των λυμάτων και των λεκανών απορροής. Επίσης είναι ιδιαίτερα σημαντική η δημιουργία μέτρων αντιστάθμισης στις μονάδες επεξεργασίας (Lim et al., 2007).

Εφόσον, οι συγκεντρώσεις των ιών στα πόσιμα ύδατα είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης, ο κίνδυνος μόλυνσης από την κατανάλωση πόσιμου νερού απαιτεί την αξιολόγηση της συγκέντρωσης του ιού στην πηγή, καθώς και την αποτελεσματική απομάκρυνση του κατά την διαδικασία της επεξεργασίας. Σε αυτήν την μελέτη εκτιμήθηκε η παρουσία νοροϊών, οι οποίοι ευθύνονται για τις πιο διαδεδομένες υδατογενείς γαστρεντερίτιδες. Ελήφθησαν δείγματα από ποτάμια, όπου ήταν παρόντες σε 4 (0,2-38) έως 4900 (303 έως $4,6 \times 10^4$) PDU / L νερού. Αυτές οι συγκεντρώσεις του ιού είναι υψηλές, σε σύγκριση με τα 896-7499 PDU / L στα επεξεργασμένα λύματα και με τα 5111 έως 850000 PDU / L στα ακατέργαστα λύματα. Ορίστηκαν αναλύσεις αλληλουχίας, του ανθρώπινου νοροϊού GGII.4 Lordsdale, ο οποίος κατά την περίοδο 1998-1999, ήταν το πιο διαδεδομένο στέλεχος τόσο για τα λύματα όσο για τα επιφανειακά ύδατα. Σε αφθονία βρέθηκαν και άλλα στελέχη GGII, υποδεικνύοντας ότι η πλειονότητα της ιογενούς μόλυνσης, προέρχονταν από αστικά λύματα. Παρόλα αυτά πολλά αποκλίνοντα στελέχη, και ένα στέλεχος που προέρχονταν από ζώα ανιχνεύθηκαν στα επιφανειακά ύδατα και στα λύματα. Ροταϊοί, επίσης, ανιχνεύθηκαν σε δύο μεγάλους ποταμούς σε συγκέντρωση 57 έως 5386 PDU / L. Οι υψηλές συγκεντρώσεις του ιού προσδιορίστηκαν με PCR, το οποίο μπορεί εν μέρει να εξηγηθεί από την ανίχνευση RNA ιών αντί μολυσματικών σωματιδίων. Πράγματι, ρεοϊοί και ροταϊοί οι οποίοι μπορούσαν να καλλιεργηθούν, ήταν παρόντες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, από 0,3 έως 1 και από 2 έως 10 PDU / L, αντίστοιχα. Υποθέτοντας ότι το 1% των νοροϊών και των ροταϊών είναι μολυσματικό, μια πολύ πιο επιβαρυντική ασθένεια, μπορεί να προκληθεί από άλλους ιούς, όχι μόνο λόγω των υψηλότερων επιπέδων τους αλλά και

λόγω των υψηλότερων ποσοστών μολυσματικότητας τους (Lodder & de Roda Husman, 2005).

Η αποτελεσματική απομάκρυνση των παθογόνων, όπως *Salmonella* (S), ωάρια ελμίνθων (H), κύστες πρωτόζωων (P), ολικά κολοβακτηρίδια (FC) και κολοβακτηρίδια στρεπτόκοκκων (FS) τριών σταδίων επεξεργασίας : αεριζόμενη δεξαμενή (AL), ενεργός ιλύς (AS), και αναερόβια μεμβράνη βιοαντιδραστήρα (MBR), αξιολογήθηκαν με την βοήθεια προτύπων μικροβιακών μεθόδων. Η μικρο-τοξικότητα και η φυτο-τοξικότητα των υγρών αποβλήτων παρακολουθήθηκαν από Lumistox and germination index (GI) of *Lepidium sativum* tests. Το αποτέλεσμα των αστικών λυμάτων που λαμβάνουν βιομηχανικά απόβλητα συγκρίθηκαν με αυτά άλλων αστικών λυμάτων που λαμβάνονταν κυρίως από οικιακά απόβλητα. Με την επεξεργασία MBR επετεύχθη η ουσιαστική απομάκρυνση των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν στο 100%. Η μέση απομάκρυνση των TC, FC, FS, S, H και P ήταν της τάξης του 1,65 log10, 1,42 log10, 1,23 log10, 0,91 log10, 52,23% και 76,15% στο σύστημα επεξεργασίας AL και 0,62-0,84 log10, 0,87-0,93 log10, 0,71-0,78 log10, 0,81-2,71 log10, 59-74,1% και 59,84-72,2% στο σύστημα επεξεργασίας AS, αντίστοιχα. Lumistox και GI από *L. sativum* tests έδειξε ότι ksour-Essof λυμάτων ήταν αρκετά τοξικό, ενώ τα λύματα SFax παρουσίασαν υψηλότερη τοξικότητα. Αυτή η τοξικότητα προκάλεσε την αναστολή της αναερόβιας κοινοπραξίας = consortia, όταν το MBR τροφοδοτήθηκε με SW. Επιπλέον, το COD και η μικρο-τοξικότητα αυξήθηκαν κατά την διάρκεια της ημέρας, παράλληλα με τις βιομηχανικές και οικιακές δραστηριότητες, αποτέλεσμα του τοξικού χαρακτήρα της SW κατά την διάρκεια της ημέρας. Η επεξεργασία MBR, έδειξε μια υψηλή απομάκρυνση της τοξικότητας τόσο για το SW όσο και για το KW. Η ποιότητα του MBR συμφωνεί σε μεγάλο βαθμό με τις μικροβιολογικές κατευθυντήριες γραμμές του ΠΟΥ, όσο αναφορά την απεριόριστη άρδευση (Ellouze M., et al., 2009).

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Ευρωπαϊκή Κοινότητα** (2001). <http://www.oieau.org>
2. **Ελληνικό Ινστιτούτο Υγιεινής και Ασφάλειας της Εργασίας** (2008). *Υγεία και Ασφάλεια στην Εργασία στις Εγκαταστάσεις των Βιολογικών Καθαρισμών – Μέτρα για την πρόληψη των επαγγελματικών κινδύνων*.
3. **Ελληνικό Ινστιτούτο Υγιεινής και Ασφάλειας της Εργασίας** (2007). Α' Έκδοση, *Εκτίμηση και Πρόληψη των Επαγγελματικών Κινδύνων στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Υγρών Λυμάτων (Βιολογικών Καθαρισμών)*, σελ: 101-102
4. **ΚΥΑ 145116/2011** (Φ.Ε.Κ. 354/Β/8.3.2011) Καθορισμός μέτρων, όρων και διαδικασιών για την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων και άλλες διατάξεις στην υπ' αριθμόν 145447/23.6.2011 εγκύκλιο του Υπουργείου Περιβάλλοντος, Ενέργειας και Κλιματικής Αλλαγής (Υ.Π.Ε.ΚΑ).
5. **ΚΥΑ 39626/2208/2009**. Καθορισμός μέτρων, όρων και διαδικασιών για την επαναχρησιμοποίηση επεξεργασμένων υγρών αποβλήτων και άλλες διατάξεις.
6. **Κουϊμτζή, Θ., Φυτιανού, Κ., Σαμαρά – Κωνσταντίνου, Κ.** (1998). *Χημεία Περιβάλλοντος*, University Studio Press, σελ: 193-198.
7. **Μαρκαντωνάτος, Π.** (2012). Σημειώσεις Επεξεργασίας των Αστικών Λυμάτων και η εφαρμογή τους στην πόλη της Λάρισας.
8. **Μαυρίδου, Α., Βανταράκης, Α., Αδαμαντίου – Ευστρατίου, Μ., Αρβανιτίδου – Βαγιωνά, Μ.** (2014). *Μικροβιολογία & Επιδημιολογία νερού*, Broken Hill, σελ: 27-28,196.
9. **Μαυρίδου, Α., και Παπαπετροπούλου, Μ.** (1995). *Μικροβιολογία του Υδάτινου Περιβάλλοντος. Βασικές Αρχές*. Εκδόσεις Π. Τραυλός – Ε. Κωσταράκη.
10. **Υπουργείο Περιβαλλοντικής Ενέργειας & Κλιματολογικής Αλλαγής.** (2013). *Θεσμικό Πλαίσιο για την Επαναχρησιμοποίηση Επεξεργασμένων Υγρών Αποβλήτων*.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Ackerman, HW.** (1978). *Natural groups of Bacteriophages*. CRC Handbook of Microbiology. Boca Raton: CRC Press. II, 639-695.
2. **Arvanitidou, A., Constantinidis, T.C. and Katsouyannopoulos, V.** (1995). "A survey on *Campylobacter* and *Yersinia* spp. occurrence in sea and river waters in northern Greece", *The Science of the Total Environment* 171(1/3):101-106.
3. **Althaus, H.** (2000). "*Legionellas in drinking, bathing and warm water*", *Das Öffentliche Gesundheitswesen*, 49(1), 8–13.
4. **Balayan, M.S.** (1993). "*Hepatitis E virus infection in Europe: regional situation regarding laboratory diagnosis and epidemiology*", *Clinical and Diagnostic Virology*, 1(1), 1–9.
5. **Bibashi, E., de Hoog, GS., Kostopoulou, E., Tsivitanidou, M., Sevatsidou, J., Gelaris, P.** (2009). "*Invasive infection caused by *Psudallescheria bodyi* in a immunocompetent patient*", *Pub Med*, 13,3:184-186.
6. **Blank, R. and Nasser, A.** (1998). "*Effect of effluent quality and temperature on the persistence of viruse in soil* ". **ScienceDirect**, volume 33, Issues 10-11, pp.237-242.
7. **Bock, T., Christensen, N., Eriksen, NHR., Winter, S., Rygaard, H., Jørgensen, F.** (1994). "*The first fatal case of *Vibrio vulnificus* infection in Denmark*", 102(11): 874–876, PMID 7833008.
8. **Bode, G., Mauch, F., Malfertheiner, P.** (1993). "*The coccoid forms of *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability*". **PubMed**, 111(3):483-490.
9. **Bradley, DE.** (1967). "*Ultrastucture of Bacteriophages and bacterionics*". *Bacteriol Rev.* 31, 230-314.
10. **Brown, LM.** (2000). "*Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission*", **PubMed** 22(2):283-97.
11. **Calqua, B., Mangewe, A., Grunert, A., Bofill – Mass, S., Clemente – Casares, P., Hundesa, A., Wyn – Jones, A.P., Lopez – Pila, J.M, Girones, R.** (2008). "*Development and application of a one-step low cost procedure to concentrate viruses from seawater sample*". **J. Virol. Methods** 153(2), 79-83.
12. **Carducci, A., Bettistini, R., Rovini, E., Verani, M.** (2009). "*Viral Removal by Wastewater Treatment: Monitoring of Indicators and Pathogens*". **Springer Link**, Food and Environmental Virology. Volume 1, Issue 2, pp 85-91.
13. **Carducci, A. and Verani, M.** (2013). "*Effects of Bacterial, Chemical, Physical and Meteorological Variables on Virus Removal by a Wastewater Treatment Plant*". **PubMed** 5(1):69-76.
14. **Carroll, I.M., Khan, A.A. and Ahmed, N.** (2004). "*Revisiting the pestilence of *Helicobacter pylori*: insights into geographical genomics and pathogen evolution*", *Infection, Genetics and Evolution*, 4, 81–90.

15. **Castro-Hermida, J.A., González-Losada, Y.A., Mezo-Menéndez, M., Ares-Mazás, E.** (2002). "*A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves*", *Veterinary Parasitology*, 106(1), 11–17
16. **Castro-Rosas, J., Cerna-Cortes, JF., Mendez-Reyes, E., Lopez- Hernandez, D., Gomez-Aldapa, C., Estrada-Garcia, T.** (2012). "*Presence of faecal coliforms, Escherichia coli and diarrheagenic E.coli pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water*", *PubMed*, 156:176-80.
17. **CEN BT/TF 151 – prEN 15214-3**
18. **Chassot, F., Negri Melyssa, F.N., Svidzinski Arthur, E., Donatti, L., Paratta Rosane, M., Svidzinski Terezinha, I.E., Consolaro Maria, E.L.** (2008), "*Can intrauterine contraceptive devices be a Candida albicans reservoir?*", volume 77, issue 5, pages 355-359.
19. **Cheun, Hl., Kim, CH., Cho, SH., Ma, DW., Goo, BL., Na, MS., Youn SK., Lee WJ.** (2013). "*The first outbreak of giardiasis with drinking water in Korea*". *PubMed* 4(2):89-92.
20. **Cifuentes, E.** (2010). "*The epidemiology of enteric infections in agricultural communities exposed to wastewater irrigation: Perspectives for risk control*". *International Journal of Environmental Health Research*. Vol 8, issue 3.
21. **Coetzee, JN.** (1987). *Bacteriophage taxonomy. Phage ecology*. New York: John Wiley & Sons, p.45-85.
22. **Cortez, KJ., Roilides, E., Quiroz-Telles, F., Meletiadiis, J., Antachopoulos, C., Knudsen, T.** (2008). "*Infections Caused by Scedosporium spp.*" *Clin Microbiol. Rev.* 21:157-197.
23. **Dalsgaard, A., Frimodt-Møller, N., Bruun, B., Hvi, L., Larsen, JL.** (1996). "*Clinical manifestations and molecular epidemiology of Vibrio vulnificus infections in Denmark*", *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 15(3):227-32, PMID: 8740858
24. **De Serres, G., Levesque, B., Higgins, R., et al.** (1995). "*Need for vaccination of sewer workers against leptospirosis and hepatitis A*". *Occup. Environ. Med.* 52: 505-507
25. **Dillingham, R.A., Lima, A.A. and Guerrant, R.L.** (2002). Cryptosporidiosis: Epidemiology and impact, *Microbes and Infection*, 4(10), 1059–1066.
26. **Do Thuy Trang, Bui Thi Thu Hien, Kare Mølbak, Phung Dac Cam, Dalsgaard, A.** (2007). *Epidemiology and aetiology of diarrhoeal diseases in adults engaged in wastewater-fed agriculture and aquaculture in Hanoi, Vietnam. Tropical Medicine and International Health*, volume 12 suppl. 2 pp 23–33
27. **DRAFT ISO 19250:2009 (E).** Water quality – Detection of Salmonella spp.
28. **Duckworth, DH.** (1987). *History and basic properties of bacterial viruses. Phage ecology*. New York. John Wiley & Sons 1-43.
29. **Edwards, P.** (1992). "*Reuse of human wastes in aquaculture: a technical review*". Washington, DC, United Nations Development Programme and the World Bank, Water and Sanitation Program.
30. **Elbaze, P., Lacour, JP. , Cattalorda, J., Le Fichoux, Y. , Ortonne, JP.** (1992). "*The skin as the possible reservoir for Candida albicans in the oculocutaneous candidiasis of heroin addicts*", *Europe Pub Med Central*, 72(3):180-181.
31. **Ellouze, M., Saddoud, A., Dhouib, A., Sayadi, S.** (2009). "*Assessment of the impact of excessive chemical additions to municipal wastewaters and*

- comparison of three technologies in the removal performance of pathogens and toxicity". Science Direct*, volume 164, issue 2, p. 138 – 148.
32. **Fakhru'l-Razi, A., Alam, M.Z., Idris, A., Abd-Aziz, S., Molla, A.H.** (2002), *"Filamentous fungi in Indah Water Konsortium (IWK) sewage treatment plant for biological treatment of domestic wastewater sludge"*, **Journal of Environmental Science and Health** 37 (3), 309–320.
 33. **Ford, T.E** (1999). Microbiological Safety of Drinking Water: United States and Global Perspectives, *Environmental Health Perspectives*, vol 107, supplement 1.
 34. **Galil, N.I., Levinsky, Y.** (2007). *"Sustainable reclamation and reuse of industrial wastewater including membrane bioreactor technologies: case studies"*. **Science Direct** ,411–41
 35. **Garin, D., Fuchs, F., Crance, J.M., Rouby, Y., Chapalain, J.C., Lamarque, D., Gounot, A.M. and Aymard, M.** (1994). Exposure to enteroviruses and hepatitis A virus among divers in environmental waters in France, first biological and serological survey of a controlled cohort, *Epidemiology and Infection*, p: 113(3), 541–549.
 36. **Garcia, M. and Becaren, E.** (1997). *"Bacterial removal in three pilot-scale wastewater treatment systems for rural areas"*. *Water Science and Technology*, p.197-200.
 37. **Gherasim, A., Lebbad, M., Insulander, M., Decraene, V., Kling, A., Hjertqvist, M., Wallensten, A.** (2012). *"Two geographically separated food-borne outbreaks in Sweden linked by an unusual Cryptosporidium parvum subtype, October 2010"*. *PubMed* 15:17(46).
 38. **Qinxue, W., Candati, T., Feegan, A., Bo, J.** (2009). *"Fate of pathogenic microorganisms and indicators in secondary activated sludge wastewater treatment plants"*. **ScienceDirect**, vol.90, issue 3, pp. 1442-1447.
 39. **Grabow, WOK., Holtzhausen, CS., DeVilliers, JC.** (1993). *Research on Bacteriophages as indicators of water quality. Water Research Commision. Project Report.* p.312,147.
 40. **Gregersen, P, Grunnet, K, Uldum, SA, Andersen, BH, Madsen, H.** (1999). *"Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry"*. **Scand J Work Environ Health.** 25(3):291-5.
 41. **Groseclose, S.L., Braithwaite, W.L., Hall, P.A., Knowles, C., Adams, D.A., Connor, F., Hester, M., Sharp, P., Anderson, W.J. and Fagan, R.F.** (2002). *"Summary of notifiable diseases – United States"*. **MMWR**, 49(53), 1–102.
 42. **Gurley, ES., Hossain, MJ., Paul, RC., Sazzad, HM., Islam, MS., Parveen, S., Faruque, LI., Husain, M., Ara K., Jahan, Y., Rahman, M., Luby, SP.** (2014). *"Outbreak of hepatitis E in urban Bangladesh resulting in maternal and perinatal mortality"*. **PubMed**.
 43. **Haack, S.K., Duris, J.W., Fogarty, L.R., Kolpin, D.W., Focazio, M.J., Furlong, E.T., Meyer, M.T.** (2009). *"Comparing Wastewater Chemicals, Indicator Bacteria Concentrations, and Bacterial Pathogens Genes as Fecal Pollution Indicators"* **J. Environ. Qual.** 38:248-258.
 44. **Hanninen, M-L., Haajanen, H., Pummi, T., Wermundsen, K., Katila, M-L., Sarkkinen, H., Miettinen, I., Routelin, H.** (2003). *"Detection and Typing of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli and Analysis of Indicator Organisms in Tree Waterborne Outbreaks in Finland"* **Appl. Environ. Microbiol.** 69(3):1931-1936.

45. Harwood, V.J., Levine, A.D., Scott, T.M., Chivukula, V., Lukasik, J., Farrah, S.M., Rose, J.B. (2005). "Validity of the Indicator Organism Paradigm for the Pathogen Reduction in Reclaimed Water and Public Health Protection". *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.71, no 63163-3170.
46. Havelaar, AH., Pot-Hogeboom, WM., Koot, W., Pot, R. (1987). "*F*-specific Bacteriophages as indicators of the disinfection efficiency of secondary effluent with ultraviolet radiation". *Ozone Sci Engng*, 9, 353-368.
47. Havelaar, AH. (1987). "Bacteriophages as model organisms in water treatment". *Microbiological Science*, 12,262-364.
48. Havelaar, AH., Furuse, K., Hogeboom, WM. (1986). "Bacteriophages and indicator bacteria in human and animal faeces". *Journal of Applied Bacteriology*, 60,255-262.
49. Havelaar, AH., Hogeboom, WM. (1983). "Factors affecting the enumeration of coliphages in sewage and sewage polluted waters". *Antonie Van Leeuwenhoek*, 49,387-397.
50. Havelaar, AH., Pot-Hogeboom, WM. (1998). "*F* –specific RNA Bacteriophages as model viruses in water hygiene: Ecological aspects". *Water Science Technology*, 20, 399-407.
51. Havelaar, AH., Olphen, M., Drost, YC. (1993). "*F* –specific RNA Bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water". *Applied and Enviromental Microbiology* 59,2956-2962.
52. Havelaar, AH., Nieuwstad, TJ., Meulemans, CCE., Van Olphen, M. (1991). "*F* –specifi Bacteriophages as model organisms in UV disinfection of wastewater ". *Water Science Technology*, 24, 53-56.
53. Havelaar, AH. and Nieuwstad, TJ. (1985). "Bacteriophages and faecal bacteria as indicators of chlorination effiviency of biologically teated wastewater." *Journal of Water Pollution Control Fed*, 57, 1084-1088.
54. Hegarty, J.P., Dowd, M. and Baker, K.H. (1999). "Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface waters in the United States". *Journal of Applied Microbiology*, 87, 697–701.
55. Hildebrand, S.H., Maguire, H.C., Holliman, R.R. and Kangesu, E. (1996). An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection linked to paddling pools, *Communicable Disease Reports Reviews*.
56. Heady, WG., Mullen, RC., Hopkin, RS. (1993). "*Vibrio vulnificus* from row oysters. Leading cause of reported deaths from foodborne illness in Florida" *Europe PubMed Central*, 80(8):536-538
57. Hoi, L., Larsen, J.L., Dalsgaard, I., Dalsgaard, A. (1998). " Occurrence of *Vibrio vulnificus* Biotypes in Danish Marine Environments", *Envirom. Microbiol* 64(1):7-13, PMC 124664, PMCID:PMC 124664
58. Hopkins, J., Haque, H., Hudqin, G., Ross, L., More, D. (2013). "An outbreak of *Cryptosporidium* at a recreational water park in Niagara Region, Canada". *PubMed* 75(9):28-23.
59. Howard, I., Espigares, E., Lardelli, P., Martin, J.L., Espigares, M. (2004). "Evaluation of microbiological and physicochemical indicators for wastewater treatment". *Environ. Toxicol.* Vol. 19, issue 3, p.241-249.
60. ISO 10705-2:2000, Water quality – Detection and enumeration of Bacteriophages – Part 2: Enumeration of somatic coliphages.

61. **Jebri, S., Jofre J., Barkallah, I., Saidi, M., Hmaied, F.** (2012). "*Presence and fate of coliphages and enteric viruses in three wastewater treatment plants effluents and activated sludge from Tunisia*". **PubMed** 19(6):2195-201.
62. **Jeppesen, C., Bagge, L. and Jeppesen, V.F.** (2000). *Legionella pneumophila* in pool water. *Ugeskrift for Laeger*, **162**(25), 3592–3594.
63. **Jimenez, B.** (2003). *Health risk in aquifer recharge with recycled water*. In: Aertgeerts R, Angelakis A., eds. *Health risks in aquifer recharge using reclaimed water – State of the art report*. Geneva, World Health Organization (WHO). (http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/wsh0308/en/index.html).
64. **Johnson, TA.** (2009). "*Ground water recharge using recycled municipal waste water in Los Angeles County and the California Department of Public Health's draft regulations on aquifer retention time*". **Pub Med**, 47(4):496-9.
65. **Katragkou A., Dotis J., Kotsiou M., Tamiolaki M., Roilides E.** (2007) "*Scedosporium apiospermum* after near-drowning". **Mycoses** 50:412-421.
66. **Karetnyi, Y.V., Gilchrist, M.J.R. and Naides, S.J.** (1999). "*Hepatitis E virus infection prevalence among selected populations in Iowa*". **Journal of Clinical Virology**, 14(1), 51–55.
67. **Kee, F., McElroy, G., Stewart, D., Coyle, P and Watson, J.** (1994). "*A community outbreak of echovirus infection associated with an outdoor swimming pool*", **Journal of Public Health Medicine**, p:16, 145–148.
68. **Keene, W.E., McAnulty, J.M., Hoesly, F.C., Williams, L.P Jr., Hedberg, K., Oxman, G.L., Barrett, T.J., Pfaller, M.A and Fleming, D.W.** (1994). "*A swimming associated outbreak of haemorrhagic colitis caused by Escherichia coli 0157:H7 and Shigella sonnei*". **New England Journal of Medicine**, **331**, 579–584.
69. **Keraita, B., Konradsen, F., Drechsel, P., Abaidoo, R.C.** (2007). "*Reducing microbial contamination on wastewater-irrigated lettuce by cessation of irrigation before harvesting*". **Tropical Medicine & International Health**, 12:8-14.
70. **Karanis, P., Sotiriadou, I., Kartashev, V., Kourenti, C., Tsvetkova, N., Stojanova K.** (2006). "*Investigations on Giardia and Cryptosporidium in drinking water supplies of Rostov region (Southern Russia) and Sofia (Bulgaria)*". **Environmental Research** 102, 260-271.
71. **King, A.M.Q., Brown, F., Christian, P., Hovi, T., Hyypiä, T., Knowles, N.J., Lemon, S.M., Minor, P.D., Palmenberg, A.C., Skern, T. and Stanway, G.** (2002). *Picornaviridae*. In: *Virus Taxonomy, Seventh Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses* (ed. M.H.V. Van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L., Bishop, C.H. Calisher, E.B. Carsten, M.K. Estwes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle, and R.B. Wickner), Academic Press, New York, San Diego, USA, pp.657–673.
72. **Kott Y., Roze N., Sperder S., Betzer N.** (1974). "*Bacteriophages as viral pollution indicators*". **Water Research**, 8,165-171.
73. **Kuntz, T.B. and Kuntz, S.T.** (1999). "*Enterohaemorrhagic E. coli infection*". *Primary Care Update Ob/Gyns*, **6**(6), 192–195.
74. **Kuroki, T., Sata, S., Yamai, S., Yagita, K., Katsube, Y. and Endo, T.** (1998). "*Occurrence of free-living amoebae and Legionella in whirlpool baths*". **The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases**, **72**(10), 1056–1063.

75. Kusnetsov, J., Neuvonen, L.K., Korpio, T., Uldum, S.A., Mentula, S., Putus, T., Tran Minh. NN., Martimo, KP. (2010). "Two Legionnaires' disease cases associated with industrial waste water treatment plants: a case report". **BMC Infect Dis.** 2:10:343.
76. Kyriakopoulou, Z., Pliaka, V., Tsakogiannis, D., Ruther IG., Komiotis, D., Gargonika, C., Levidiotou – Stefanou, S., Markoulatos, P. (2012). "Genome analysis of two type 6 echovirus (E6) strains recovered from sewage specimens in Greece in 2006". **PubMed** 44(2):207-16.
77. Lee, J.V. and Joseph, C. (2002). "Guidelines for investigating single cases of legionnaires'disease", **Communicable Disease and Public Health**, 5(2), 157–162.
78. Lee, S.H., Levy, D.A., Craun, G.F., Michael, M.P.H., Beach, J. and Calderon, R.L. (2000a). Surveillance for waterborne-disease outbreaks – United States, 1999–2000 **MMWR**, 51(SS08), 1–28.
79. Leoni, E., Legnani, P.P., Bucci Sabattini, M.A. and Righi, F. (2001). "Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment". **Water Research**, 35(15), 3749–3753.
80. Levy, D.A., Bens, M.S., Craun, G.F., Galderon, R.L., Herwaldt, B.L. (1998). "Surveillance for waterborne-disease outbreak – United States, 1995 - 1996". **Journal Morbidity and Mortality Weekly Report** Vol.47, No SS-5 p.1-33.
81. Lim, Y.A.L., Wan Hafiz, W.I., Nissapatom, V. (2007) "Reduction of *Cryptosporidium* and *Giardia* by sewage treatment processes". **Tropical Biomedicine**, 24 (1). pp. 95-104 (eprints.um.edu.my/4166).
82. Lodder, W.J. and de Roda Husman, A.M. (2005). " Presence of Noroviruses and Other Enteric Viruses in Sewage and Surface Waters in the Netherlands ". **American Society of Microbiology**. vol. 71 no. 3 1453-1461.
83. Luby, SP., Faizan, MK., Fisher-Hoch, SP., Syed, A., Mintz, ED., Bhutta, ZA., McCormick, JB. (1998). "Risk factors for typhoid fever in an endemic setting, Karachi, Pakistan". **Epidemiol Infect** 120:129-138.
84. Lucena, F., Jofre, J. (2010). "Potential use of bacteriophages as indicators of water quality and wastewater treatment processes". Bacteriophages in the control of food- and waterborne pathogens pp. 103-118. (www.cabdirect.org).
85. Macarisin, D., Bauchan, G., Faver, G., (2010). "*Spinacio oleracea* L. leaf stomata harboring *Cryptosporidium parvum* oocysts: a potential treat to food safety". **PubMed**, 76(2):555-9.
86. Mahoney, F.J., Farley, T.A., Kelso, K.Y., Wilson, S.A., Horan, J.M. and McFarland, L.M. (1992). "An outbreak of hepatitis A associated with swimming in a public pool", **Journal of Infectious Diseases**, p: 165, 613–618.
87. Mara, D. D., Sleigh, P. A, Blumenthal, U. J., Carr, R. M. (2007). "Health risks in wastewater irrigation: Comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies", **Journal of Water and Health**
88. Mara, D. and Sleigh, A. (2010). "Estimation of norovirus infection risks to consumers of wastewater-irrigated food crops eaten raw". **Journal of Water and Health** vol. 08 No 1, pp 39-43.
89. Mara, DD. and Silva, SA. (1986). " Removal of intestinal nematode eggs in tropical waste stabilization ponds." **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 89(2):71-74.
90. Mazari-Hiriart, M., López-Vidal, Y., Castillo-Rojas, G., Ponce de León, S. and Cravioto, A. (2001). "*Helicobacter pylori* and other enteric bacteria in

- freshwater environments in Mexico City*". **Archives of Medical Research**, **32**(5), 458–467.
91. **Melloul, A.A., Hassani, L., Rafouk, L.** (2001). "*Salmonella contamination of vegetable irrigation with untreated water*", **World Journal of Microbiology & Biotechnology** **17**:207-209.
 92. **Melhus, A., Homdahl, T., Tjernberg, I.** (1995). "*First documented case of bacteremia with Vibrio vulnificus in Sweden*", *Scand J Dis* **27**: 81–82.
 93. **Mobley, H., Mendez, G., Hozell S.** (2001). "*Helicobacter Pylori, Physiology and Genetics*", ASM Press, ISDN-10: 1-55581-213-9.
 94. **Moore, A.C., Herwaldt, B.L., Craun, G.F., Calderon, R.L., Highsmith, A.K., Juranek, D.D.** (1993). "*Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks – United States, 1991 - 1992*", **CDC**, Vol 42. No SS-5.
 95. **More, T.T, Yan, S., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y.** (2010). "*Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment*", **Bioresource Technology** **101** 7691–7700
 96. **Morgan, U.M., Xiao, L., Fayer, R., Lal, A.A, Andrew Thompson, R.C.** (1999). "*Variation in Cryptosporidium: towards a taxonomic revision of the genus*" **ScienceDirect**, Volume 29, Issue 11.
 97. **Muga, HE., Mihelcic, JR.** (2007). "*Sustainability of wastewater treatment technologies*". **ScienceDirect**, vol.88, issue 3, pp. 437 -447.
 98. **Nath, G., Choudhury, A.M., Shukla, B.N., Singh, T.B. and Reddy, D.C.** (1999). "*Significance of Cryptosporidium in acute diarrhoea in north-eastern India*", **Journal of Medical Microbiology**, **48**(6), 523–526.
 99. **Naja, F., Kreigen, N., Sulliyen, T.** (2007). "*Helicobacter pylori infection in Ontario: Prevalence and risk factors*", **Can. J. Gastroenteral.** **21**(8):501-506.
 100. **Nizeyi, J.B., Innocent, R.B., Erume, J., Kalema, G.R.N.N., Cranfield, R.M. and Graczyk, T.K.** (2001). "*Campylobacteriosis, salmonellosis, and shigellosis infections in freeranging human-habituated gorillas of Uganda*". **Journal of Wildlife Diseases**, **37**, 239–244.
 101. **Nesky, M.A., McDougal, C.E., Peacock, J.E.** (2014). "*Pseudallescheria bodyii Brain Abcess Successfully Treated with Voriconazole and Surgical Drainage: Case Reportand Literature Review of Central Nervous System Pseudallescheriasis*". **Oxford Journals - Medicine – Clinical Infectious Diseases**, Volume 31, Issue 3, 673-677.
 102. **Okoh, A.I, Sibanda, T., Gusha, S.S.** (2010). " *Inadequately Treated Wastewater as a Source of Human Enteric Viruses in the Environment* ". **Int. J. Environ. Res. Public Health**, **7**(6), 2620-2637.
 103. **Ottoson, J., Hansen, A., Bjorlenius, B., Morder, H., Stenstrom, TA.** (2006). "*Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plan*". **PubMed**, **40**(7):1449-57
 104. **Palmer, C.J., Tsai, Y.L., Paszko-Kolva, C., Mayer, C. and Sangermano, L.R.** (1993). "*Detection of Legionella species in sewage and ocean water by polymerase chain, direct fluorescent-antibody, and plate culture methods*". **Applied and Environmental Microbiology**, **59**(11), 3618–3624.
 105. **Pappa, O., Mandilara, G., Vatopoulos, A., Mavridou, A.** (2013). "*Typing of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from Greek water samples by three typing methods: Serotyping, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)*". **Wat Sci Tech** **67**, 6, 1380-1388.

106. **Park, S.** (2002). "*The physiology of Campylobacter species and its relevance to their role as food borne pathogens*", **International Journal of Food Microbiology**, 74(3), 177–188.
107. **Park, C.E., Sanders, G.W.** (1992). "*Occurrence of thermotolerant campylobacters in fresh vegetables sold at farmers' outdoor markets and supermarkets*", **Canadian Journal of Microbiology**, 38(4):313-316
108. **Papapetropoulou, M. and Vantarakis, A.C.** (1998). "*Detection of adenovirus outbreak at a municipal swimming pool by nested PCR amplification*", **The Journal of Infection**, 36(1), 101–103.
109. **Parija, C.S.**, (2009). "*Textbook of Microbiology and Immunology*", **Elsevier**, India, p: 522.
110. **Payment, P., Berube, A., Perreault, D., Armon, R., Trudel, M.** (1989). "*Concentration of Giardia lamblia cysts, Legionella pneumophila, Clostridium perfringens, human enteric viruses and coliphages from large volumes of drinking water, using a single filtration*". **Canadian Journal of Microbiology**, 35, 932-935.
111. **Payment, P., Plante, R., Cejka, P.** (2001). "*Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, Giardia cysts, and Cryptosporidium oocysts at a large wastewater primary treatment facility*". **PubMed**, 47(3):188-193.
112. **Percival, S.L., Chalmer, R.M., Embrey, M., Hunter, P.R., Sellwood, J. and Wyn-Jones, P.** (2004). "*Microbiology of waterborne diseases*", **Elsevier Academic Press**, Great Britain, p: 480.
113. **Petterson, SA., Ashbolt, NJ.** (2003). *WHO guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture: microbial risk assessment section*. Geneva, World Health Organization.
114. **Reichier, M.R., Valway, S.E. and Onorato I.M.** (2000). "*Acute hepatitis E infection acquired in California*", **Clinical Infectious Diseases**, 30:618–619.
115. **Robertson, L.J., Campbell, AT., Smith, HV.** (1992). "*Survival of Cryptosporidium parvum oocysts under various environmental pressures*". **Applied and Environmental Microbiology**, 58(11):3494-3500.
116. **Rubiano, ME., Aquilo-Barcelo, M., Casas-Manqas, R., Jofre, J., Lucena, F.** (2012). "*Assessing the effects of tertiary treated wastewater reuse on a Mediterranean river (Llobregat, NE Spain): pathogens and indicators [corrected]*". **Environ Sci Pollut Res Int.** 19(4):1026-32.
117. **Scott, T.M., McLaughlin M.R., Harwood V.J., Chivukula, V., Levine, A., Gennaccaro, A., Lukasik, J., Farrah, S.R., Rose, J.B.** (2003). "*Reduction of pathogens, indicator bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes*". **Water Supply**, vol. 3, No 4, pp.247-252.
118. **Salgot, M., Vergès, C., Angelakis, A.N.** (2002). "*Risk assessment for wastewater recycling and reuse*". IWA Regional Symposium on Water Recycling in Mediterranean Region, Iraklio, Greece, 26-29 September.
119. **Shukho, K.** (2010). "*Salmonella Serovars from Foodborne and Waterborne Diseases in Korea, 1998-2007: Total Isolates Decreasing Versus Rare Serovars Emerging*", **J Korean Med Sci.** 25(12):1693-1699.
120. **Sigmundsdottir, G.** (2010). "*D-Arabinitol in the Diagnosis of invasive candidiasis, from the Department of Clinical Sciences and Departement of Laboratory Medicine*", Medical Faculty, Lund University, Sweden, ISBNq1652-8220, ISBN: 987-91-86671-21-1.

121. **Sommese, L., Scarfogliero, P., Vitiello, M., Catalanotti, P. and Galdiero, E.** (1996). "*Presence of Legionella spp. in thermal springs of the Campania region of south Italy*". *The New Microbiologica: Official Journal of the Italian Society for Medical, Odontoiatric, and Clinical Microbiology (SIMMOC)*, **19**(4), 315–320.
122. **Srikanth, R., and Naik, D.** (2004). "*Prevalence of Giardiasis due to wastewater reuse for agriculture in the suburbs of Asmara City, Eritrea*", Volume 14, Issue 1.
123. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater.** Copyright 1999 by American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Foderation. P 363 – 378, 386 -397.
124. **Stipeli, F., Pasparakis, D., Velegraki, A., Lebessi, E., Arsenis, G., Kafetzis, D., Tsolia, M.** (2009). "*Scedosporium apiospermum skeletal infection in an immunocompetent child*", **Med Micol.** 47:441-4.
125. **Strauss, M** (1985). "*Health aspects of nightsoil and sludge use in agriculture and aquaculture- Part II: Survival of excreted pathogens in excreta and faecal sludges*". *IRCWD News*, 23:4-9.
126. **Strom, M.S. and Paranjpye, R.N.** (2000). "*Epidemiology and pathogenesis of Vibrio vulnificus*", **Microbes and Infection**, 2(2), 177–188.
127. **Sullivan, J.B., Krieger, G.R.** (2001). *Clinical environmental health and toxic exposure*, Lippincott Williams & Wilkins, Philaderfia, USA, p:640
128. **Tallis, G. and Gregory, J.** (1997). "*An outbreak of hepatitis A associated with a spa pool*", **Communicable Disease Intelligence**, 21(23), 353–354.
129. **Tarteca, C., Bosch, A., Jofre, J.** (1988). "*Relationship between numbers of enteroviruses and Bacteriophages infecting Bacteroides fragilis in different environmental samples*". **Environmental Technological Letters** 9, 407-410.
130. **Tarteca, C., Bosch, A., Jofre, J.** (1988). "*The inactivation of bacteriophages infecting Bacteriodes fragilis by chlorine treatment and UV irradiation*" **FEMS Microbiology Letters**, 56,313-316.
131. **Tarteca, C., Lucena, F., Jofre, J.** (1989). "*Human origin of Bcteroides fragilis Bacteriophages present in the enviroment*". **Applied and Environmental Microbiology**, 55,2696-2701.
132. **Taylor, M.B., Becker, P.J., Janse van Rensburg, E., Harris, B., Bailey, I.W. and Grabow, W.O.K.** (1995). "*A serosurvey of water-borne pathogens amongst canoeists in South Africa*". **Epidemiology and Infection**, p: 115, 299–307.
133. **Thompson, R.C.A., Hopkins, R.M. and Homan, W.L.** (2000). "*Nomenclature and genetic groupings of Giardia infecting mammals*". *Parasitology*, 210–213.
134. **Thompson, S.S., Jackson, J.L., Suva-Castillo, M., Yanko, W.A., El Jack, Z., Kuo, J.C.C., Williams, F.P. and Schnurr, D.P.** (2003). "*Detection of infectious human adenoviruses in tertiary-treated and ultraviolet-disinfected wastewater, Water Environment Research: a Research Publication of the Water Environment Federation*", **75**(2), 163–170.
135. **Tollestrup, K., Frost, FJ., Kunde, TR., Yates, MV., Jackson, S.** (2014). "*Cryptosporidium infection, onsite wastewater systems and private wells in the arid Southwest*". **PubMed** 12(1):161-72.
136. **Tzipori, S. and Ward, H.** (2002). "*Cryptosporidiosis: Biology, pathogenesis and disease*", **Microbes and Infection**, 4(10), 1047–1058.
137. **Upton, A, Taylor, S.** (2002). "*Vibrio vulnificus necrotising fasciitis and septiccaemia*", 115: 108–109.

138. **Vijay, K. Junela, John, N. Sofos.** (2010). *"Pathogens and Toxins in Foods: challenges and interventions"*, ASM Press American Society for Microbiology.
139. **Warren, J.R. and Marshall, B.J.** (1984). *"Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration"*. **Lancet.** 1(8390), 1311–1315.
140. **Warnes, S., Keevil, CW.** (2003). *"Survival of Cryptosporidium parvum in faecal wastes and salad crops"*. Teagasc Irish Agriculture and Food Development Authority (www.teagasc.ie/publications/2003/conferences/cryptosporidiumparvum).
141. **Widerstrom, M., Schonning, C., Lilja M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., Ferm M., Björkholm, B., Hansen, A., Hiltula, J., Langmark, J., Lofdahl, M., Omberg, M., Reuterwall, C., Samuelsson, E., Widgren, K., Wallensten, A., Lindh, J.** (2014). *"Large outbreak of Cryptosporidium hominis infection transmitted through the public water supply, Sweden."* **PubMed** 20(4):581-9.
142. **WHO, (2006).** Guidelines for the safe use of wastewater, excreta creywater, p:41
143. **World Health Organization (WHO),** (2005). *Water Recreation and Disease. Plausibility of Associated Infections: Acute Effects, Sequelae and Mortality* by Kathy Pond, Published by IWA Publishing, London, UK, ISBN: 1843390663
144. **World Health Organization (WHO),** (2008). volume 1: recommendations, 3rd edition, Geneva, ISBN:9789241547611, p: 248
145. **World Health Organization (WHO),** (1996). *Guidelines for Drinking Water Quality – Second Edition*, Volume 2, Health Criteria and Other Information International Programme of Chemical Safety, pp:46
146. **World Health Organization (WHO).** (2006). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater.* Volume II, Wastewater use in agriculture, pp. 23-30.
147. **World Health Organization (WHO).** (2006). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater.* Volume III, Wastewater and excreta use in aquaculture, pp. 29-34.
148. **World Health Organization (WHO).** (2004a). *Guidelines for drinking-water quality*, 3rd ed. Geneva.
149. **Vugia, DL., Tabnak, F., Newton, AE., Hernandez, M., Griffin, PM.** (2013). *"Impact of 2003 state regulation on raw oyster – associated vibrio vulnificus illnesses and deaths, California USA"* **PubMed** 19(8):1 276-80.
150. **Yabuuchi, E., Wang, L., Arakawa, M. and Yano, I.** (1994). *"Distribution of legionellae in hot spring bath water in Japan"*, **The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases**, 68(4), 549–551.
151. **Yates, MV. and Gerba, CP.** (1998). *Microbial considerations in wastewater reclamation and reuse.* In: Asano T, ed. *Wastewater reclamation and reuse.* Lancaster, PA, Technomic Publishing Company, pp. 437-488.
152. **Yingzhi, L., Redinger, T.E., Avitia R., Galindo, A., Goodman, K.,** (2001). *"Isolation and Genotyping of Helicobacter pylori from Untreated Municipal Wastewater"*. **Applied and Environmental Microbiology.**
153. **Zhang, K., Farahbankhsh, K.** (2007). *"Removal of native coliphages and coliform bacteria from municipal wastewater by various wastewater treatment processes: Implications to water reuse"*. **ScienceDirect**, vol.41, issue 12, pp 2816-2824.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. <http://users.auth.gr/darakas/3Mikroorganismoi.pdf> Προσπέλαση την 10/01/2014
2. http://www.elinyae.gr/el/lib_file_upload/Biol_katharismoι.1110201522560.pdf Προσπέλαση την 10/01/2014
3. <http://wwwnc.cdc.gov> Προσπέλαση την 11/05/2014
4. <http://www.cdc.gov/eid> Προσπέλαση την 1/05/2014
5. http://www.iatrikionline.gr/EL_M_3-2004/5.htm Προσπέλαση την 20/01/2014
6. <http://www.avicultura.com> Προσπέλαση 10/02/2014
7. <http://www.marlerblog.com> Προσπέλαση 10/02/2014
8. <http://www.motherjones.com> Προσπέλαση 10/02/2014
9. <http://www.virology.wisc.edu> Προσπέλαση 10/02/2014
10. <http://www.acceleratingscience.com> Προσπέλαση την 15/02/2014
11. <http://www.dailyrecord.co.uk> Προσπέλαση την 15/02/2014
12. <http://www.bioquell.com> Προσπέλαση την 15/02/2014
13. <http://www.scicraze.com> Προσπέλαση την 18/02/2014
14. <http://www.uochb.cz> Προσπέλαση την 18/02/2014
15. <http://www.sciencepicturecompany.com> Προσπέλαση την 20/02/2014
16. <http://www.gastreterologos.net> Προσπέλαση την 23/02/2014
17. <http://www.microbewiki.kenyon.edu> Προσπέλαση την 26/05/2014
18. <http://www.cdc.gov> Προσπέλαση την 28/03/2014
19. <http://www.doctorfungus.org> Προσπέλαση την 18/05/2014
20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> Προσπέλαση την 18/05/2014
21. <http://www.ypeka.gr> Προσπελάστηκε την 31/05/2014
22. <http://ypeka.plexscape.com> Προσπελάστηκε την 31/05/2014
23. www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/9241546301_chap4.pdf - 246k Προσπέλαση την 1/06/2014
24. www.gr.dreamstime.com Προσπελάστηκε την 28/05/2014
25. **WHO (2003)** <http://www.who.int/vaccines/en/hepatitisa.shtml> Προσπέλαση την 20/1/2014