



**DESARROLLOS DE NIVELES GUIAS NACIONALES DE CALIDAD  
DE AGUA AMBIENTE CORRESPONDIENTES A  
*ESCHERICHIA COLI/ENTEROCOCOS***

Diciembre 2003

**INDICE**

	<i>pág.</i>
<b>VII.A) Niveles guía de calidad de agua ambiente para recreación humana con contacto directo correspondientes a <i>Escherichia coli/enterococos</i> (interinos)</b>	VII.A.1
VII.A.1) <i>Introducción</i> .....	VII.A.1
VII.A.2) <i>Derivación del nivel guía para <i>Escherichia coli</i> /enterococos para recreación humana con contacto directo en agua dulce</i> .....	VII.A.1
VII.A.2.1) <i>Fundamentación de la elección de <i>Escherichia coli/enterococos</i> como parámetros microbiológicos de calidad de agua dulce en relación a recreación humana con contacto directo</i> .....	VII.A.1
VII.A.2.2) <i>Análisis de criterios de aceptabilidad de densidades de <i>E. coli</i> y enterococos</i> .....	VII.A.2
VII.A.2.3) <i>Especificación del nivel guía de calidad de agua ambiente para recreación humana con contacto directo en agua dulce correspondiente a <i>E. coli/enterococos</i></i> .....	VII.A.3
VII.A.3) <i>Derivación del nivel guía para enterococos para recreación humana con contacto directo en agua de mar</i> .....	VII.A.5
VII.A.3.1) <i>Fundamentación de la elección de enterococos como parámetro microbiológico de calidad de agua de mar en relación a recreación humana con contacto directo</i> .....	VII.A.5
VII.A.3.2) <i>Análisis de criterios de aceptabilidad de densidades de enterococos</i> .....	VII.A.5
VII.A.3.3) <i>Especificación del nivel guía de calidad de agua ambiente para recreación humana con contacto directo en agua de mar correspondiente a enterococos</i> .....	VII.A.5
VII.A.4) <i>Limitaciones de los niveles guía establecidos para agua dulce y agua de mar</i>	VII.A.6
<b>IX) Técnicas analíticas asociadas a la determinación de <i>Escherichia coli/enterococos</i></b> .....	IX.1
<b>X) Referencias</b> .....	X.1
<b>XI) Historial del documento</b> .....	XI.1



## **VII.A) NIVELES GUIA DE CALIDAD DE AGUA AMBIENTE PARA RECREACION HUMANA CON CONTACTO DIRECTO CORRESPONDIENTES A *ESCHERICHIA COLI*/ENTEROCOCOS (INTERINOS)**

### **VII.A.1) *Introducción***

La sobrevivencia de las bacterias coliformes en agua de mar y en agua dulce fue estudiada por Chamberlin y Mitchell (1978), quienes hallaron que el tiempo en que el 90% de las bacterias mueren ( $T_{90}$ ) era igual a 2,2 h para agua de mar, mientras que para agua dulce era igual a 57,6 h (Dufour, 1984).

Otros investigadores comprobaron que, en condiciones de laboratorio, los enterococos presentaban un  $T_{90}$  igual a 47 h en agua de mar y a 71 h en agua dulce, mientras que la *Escherichia coli* presentaba un  $T_{90}$  igual a 18 h en agua de mar y a 110 h en agua dulce (Dufour, 1984).

Las observaciones mencionadas explican, en parte, la diferencia apreciada en las tasas de enfermedades gastrointestinales en bañistas de agua dulce y agua marina, poniendo de manifiesto la necesidad de contar con pautas diferenciadas de calidad microbiológica para recreación humana en ambientes de agua dulce y de agua de mar.

En función de lo expuesto, se desarrollan a continuación niveles guía de calidad para *Escherichia coli* y enterococos, realizándose especificaciones por separado para agua dulce y agua marina.

Debido a que actualmente no se cuenta en nuestro país con información epidemiológica que permita establecer correlaciones entre densidades de microorganismos patógenos y/o microorganismos indicadores y efectos sobre la salud de los individuos que utilizan el agua con fines recreativos, las elaboraciones conducentes a la elección de estos parámetros microbiológicos de calidad y al establecimiento de niveles guía para ellos se basan en información proveniente del exterior.

### **VII.A.2) *Derivación del nivel guía para Escherichia coli /enterococos para recreación humana con contacto directo en agua dulce***

#### **VII.A.2.1) *Fundamentación de la elección de Escherichia coli/enterococos como parámetros microbiológicos de calidad de agua dulce en relación con recreación humana con contacto directo***

Los organismos coliformes totales incluyen cuatro géneros de la familia *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*. De estos organismos, sólo *Escherichia coli* se encuentra exclusivamente en heces (Cabelli, 1983), constituyendo casi el 97% de las especies coliformes en las heces humanas; *Klebsiella* aporta un 1,5%, mientras que *Enterobacter* y *Citrobacter* aportan el 1,7% (Dufour 1977). El género *Klebsiella* no es un buen indicador de contaminación fecal pues podría estar presente en



niveles elevados en residuos industriales, por ejemplo, de plantas de producción de pulpa de papel y plantas procesadoras de alimentos.

Estudios epidemiológicos realizados por la Agencia de Protección Ambiental de los E.E.U.U. (U.S. EPA) con relación a la casuística de gastroenteritis en individuos expuestos recreativamente con contacto directo aportaron información sobre cuáles indicadores de calidad de agua correlacionaban mejor con el efecto sobre la salud citado. En la Tabla VII.A.1 se presentan los coeficientes de correlación resultantes de vincular los datos de densidad de diversos parámetros microbiológicos y las tasas de gastroenteritis.

**TABLA VII.A.1 - COEFICIENTES DE CORRELACION ASOCIADOS A RECREACION HUMANA CON CONTACTO DIRECTO**  
**Relación entre Gastroenteritis y la Densidad Media del Indicador en agua de mar y agua dulce (U.S. EPA, 1986)**

Tipo de agua	Indicador	Coeficientes de correlación	
		Datos por el verano	Datos por grupo de pruebas (1)
Mar (2)	enterococos	0,75	0,96
	<i>E. coli</i>	0,52	0,56
	<i>Klebsiella</i>	0,32	0,61
	<i>Enterobacter/Citrobacter</i>	0,26	0,64
	Bacterias coliformes totales	0,19	0,65
	<i>C. perfringens</i>	0,19	0,01
	<i>P.aeruginosa</i>	0,19	0,59
	Bacterias coliformes fecales	(-0,01)	0,51
	<i>A. hydrophila</i>	(-0,09)	0,60
	<i>V. parahemolyticus</i>	(-0,20)	0,42
	<i>Staphylococcus</i>	(-0,23)	0,60
Dulce (3)	enterococos	0,74	
	<i>E. coli</i>	0,80	
	Bacterias coliformes fecales	(-0,08)	

Notas:

(1): Grupos de pruebas (días) con similar densidad media del indicador durante un mismo verano

(2): Datos de pruebas realizadas en las playas de la ciudad de New York. (Cabelli, V.J. 1976. Indicators of Recreational Water Quality. In: Bacterial Indicators Health Hazards Associated with Water. Eds. A. W: Hoadley and B. J. Durtka. ASTM, Philadelphia, PA.)

(3): Datos de Cabelli, V.J. 1982. Microbial Indicator Systems for Assesing Water Quality. Antonie van Leeuwenhoek. 48:613

Como puede observarse, en agua dulce, *E. coli* resultó el mejor indicador disponible de contaminación fecal por animales de sangre caliente, incluyendo al hombre. Sin embargo, las correlaciones entre enfermedades gastrointestinales y densidad del indicador para *E. coli* y para enterococos no demostraron ser significativamente diferentes.

#### VII.A.2.2) *Análisis de criterios de aceptabilidad de densidades de E. coli y enterococos*

A partir de estudios epidemiológicos realizados en distintas playas de los lagos Erie y Keystone y asumiendo una tasa de gastroenteritis aceptable asociada al baño igual a 8/1000 individuos, la U.S. EPA estimó en 126 colonias/100 ml el valor de la densidad media geométrica de *E. coli* en agua dulce correspondiente a tal condición sanitaria (U.S. EPA, 1986). Este valor está asociado a determinaciones analíticas basadas en el método de filtración por membrana desarrollado por Dufour et al (1981).



Sobre la base de los estudios antedichos, para la misma tasa de gastroenteritis citada como aceptable, la U.S. EPA estimó en 33 colonias/100 ml el valor de la densidad media geométrica de enterococos en agua dulce correspondiente a esa condición sanitaria. Tal valor está asociado a determinaciones analíticas basadas en el método de filtración por membrana desarrollado por Levin et al. (1975).

En adición a los valores correspondientes a las densidades medias geométricas máximas para *E. coli* y enterococos, corresponde efectuar algunas consideraciones relacionadas con la variabilidad de los resultados de determinaciones en muestras aisladas de un área recreativa.

En este sentido, deben ser señaladas, por una parte, la imprecisión de las técnicas de recuento bacteriano y, por otra, las variaciones temporales y espaciales de las densidades bacterianas promovidas por condiciones ambientales como lluvia, viento y temperatura. Esto hace que para decidir la inhabilitación de un área recreativa sobre la base de resultados analíticos pertenecientes a muestras aisladas se requiere evaluar mediante la construcción de un intervalo de confianza la superación de las antes mencionadas densidades medias geométricas máximas por parte de los resultados antedichos. Tales intervalos de confianza se deben construir teniendo en cuenta la frecuencia de uso de las áreas recreativas, aumentando el nivel de confianza de manera inversamente proporcional a la intensidad de uso. La U.S. EPA sugiere a tal efecto la aplicación de los niveles de confianza expuestos en la Tabla VII.A.2 (U.S. EPA, 1986)

**TABLA VII.A.2 - NIVELES DE CONFIANZA PARA LA EVALUACION DE RESULTADOS AISLADOS DE DETERMINACIONES DE *ESCHERICHIA COLI* Y ENTEROCOCOS**

Tipo de Uso	Nivel de Confianza
Areas altamente frecuentadas con contacto directo	75 %
Areas moderadamente frecuentadas con contacto directo	82 %
Areas escasamente frecuentadas con contacto directo	90%
Areas de uso infrecuente con contacto directo	95%

Para la construcción del intervalo de confianza se necesita conocer la desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades bacterianas registradas históricamente en cada área recreativa (sD).

Las determinaciones en los sitios estudiados por la U.S. EPA (1986) indicaron una desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades de *E. coli* (sEc) próxima a 0,4. Este valor resultó ser el mismo para la desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades de enterococos (se).

### **VII.A.2.3) Especificación del nivel guía de calidad de agua ambiente para recreación humana con contacto directo en agua dulce correspondiente a *E. coli*/enterococos**

Asumiendo los criterios expuestos precedentemente, se especifica para *Escherichia coli*/enterococos el nivel guía para recreación humana (NGR) con contacto directo detallado a continuación.



NGR (*E.coli*/enterococos): para un número de muestras estadísticamente suficientes (no menos de cinco muestras igualmente espaciadas durante un período de treinta días) la media geométrica de la densidad bacteriana no deberá exceder uno u otro de los siguientes valores límite alternativos:

*Escherichia coli*: 126 colonias/100 ml  
Enterococos: 33 colonias/100 ml

Dado que este nivel guía se basa en criterios resultantes de estudios efectuados en áreas recreativas de E.E.U.U., por no disponerse de evaluaciones en condiciones locales, se les asigna un carácter interino.

Ninguna muestra individual deberá exceder el límite de confianza superior (LCS) calculado utilizando las siguientes confiabilidades:

75%	(Uso altamente frecuente)
82%	(Uso moderadamente frecuente)
90%	(Uso escasamente frecuente)
95%	(Uso infrecuente)

según la expresión:

$$\text{LCS} = \text{antilog} (\log_{10} \text{MGI} + z * \text{sD})$$

donde:

z: factor determinado a partir del área bajo la curva de probabilidad de Distribución Normal para el nivel de confianza asumido (z = 0,674, para 75% de confiabilidad; z = 0,915, para 82% de confiabilidad; z = 1,282, para 90% de confiabilidad; z = 1,645, para 95% de confiabilidad)

MGI: media geométrica de la densidad del indicador especificada como valor límite (126 colonias/100 ml para *Escherichia coli* o 33 colonias /100 ml para enterococos).

sD: desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades del indicador registradas históricamente en cada área recreativa (sEC, para *Escherichia coli*, o se, para enterococos). En caso de datos insuficientes para establecer la desviación estándar se utilizará provisoriamente el valor 0,4 para ambos indicadores. Para tal situación, resultan los LCS correspondientes a muestras aisladas que se exhiben en la Tabla VII.A.3, los cuales deben ser interpretados estrictamente como de uso provisorio hasta que se disponga de datos locales consistentes para el cálculo de la desviación estándar.



**TABLA VII.A.3 – LÍMITES DE CONFIANZA SUPERIORES PROVISORIOS  
CORRESPONDIENTES A MUESTRAS AISLADAS**

Indicador	Tasa de Gastroenteritis aceptable cada 1000 individuos	Media geométrica de la densidad del indicador (MGI) [colonias /100 ml]	Límite de confianza superior provisorio para una muestra aislada [colonias/100 ml]			
			LCS (75%) Uso altamente frecuente	LCS (82%) Uso moderadamente frecuente	LCS (90%) Uso escasamente frecuente	LCS (95%) Uso infrecuente
Enterococos	8	33	61	77	107	150
<i>Escherichia coli</i>	8	126	235	293	410	573

**VII.A.3) Derivación del nivel guía para enterococos para recreación humana con contacto directo en agua de mar**

**VII.A.3.1) Fundamentación de la elección de enterococos como parámetro microbiológico de calidad de agua de mar en relación con recreación humana con contacto directo**

Los enterococos, que constituyen un subgrupo de estreptococos fecales que incluye a especies tales como *Streptococcus faecium* y *Streptococcus faecalis*, se encuentran significativamente en heces humanas y animales.

Como puede observarse en la Tabla VII.A.1, los estudios epidemiológicos desarrollados por la U.S. EPA en agua de mar arrojaron mayores coeficientes de correlación entre las densidades medias de enterococos y la tasa de gastroenteritis asociada a recreación que los ofrecidos por otros indicadores microbiológicos.

**VII.A.3.2) Análisis de criterios de aceptabilidad de densidades de enterococos**

Sobre la base de estudios epidemiológicos realizados en distintas playas de New York, Lake Pontchartrain y Boston Harbor y asumiendo una tasa de gastroenteritis aceptable asociada al baño igual a 8/1000 individuos, la U.S. EPA estimó en 35 colonias /100 ml el valor de la densidad media geométrica de enterococos en agua de mar correspondiente a dicha condición sanitaria (U.S.EPA, 1986). Este valor está asociado a determinaciones analíticas realizadas según en el método de filtración por membrana desarrollado por Levin et al. (1975).

En adición al valor correspondiente a la densidad media geométrica máxima para enterococos en agua de mar, corresponde tener en cuenta las mismas consideraciones expuestas para *E. coli*/enterococos en agua dulce en relación con la variabilidad de los resultados de determinaciones en muestras aisladas de un área recreativa.



### **VII.A.3.3) Especificación del nivel guía de calidad de agua ambiente para recreación humana con contacto directo en agua de mar correspondiente a enterococos**

En función del criterio expuesto precedentemente, se especifica para enterococos el nivel guía para recreación humana (NGR) con contacto directo detallado a continuación.

NGR (enterococos): para un número de muestras estadísticamente suficientes (no menos de cinco muestras igualmente espaciadas durante un período de treinta días) la media geométrica de la densidad de enterococos no deberá exceder el valor límite igual a 35 colonias /100 ml.

Dado que este nivel guía se basa en criterios resultantes de estudios efectuados en áreas recreativas de E.E.U.U., por no disponerse de evaluaciones en condiciones locales, se le asigna un carácter interino.

Ninguna muestra individual deberá exceder el límite de confianza superior (LCS) calculado utilizando las siguientes confiabilidades:

75%	(Uso altamente frecuente)
82%	(Uso moderadamente frecuente)
90%	(Uso escasamente frecuente)
95%	(Uso infrecuente)

según la expresión:

$$\text{LCS} = \text{antilog} (\log_{10} \text{MGe} + z * \text{se})$$

donde:

z: factor determinado a partir del área bajo la curva de probabilidad de Distribución Normal para el nivel de confianza asumido (z = 0,674, para 75% de confiabilidad; z = 0,915, para 82% de confiabilidad; z = 1,282, para 90% de confiabilidad; z = 1,645, para 95% de confiabilidad)

MGe: media geométrica de la densidad de enterococos especificada como valor límite (35 colonias/100 ml).

se: desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades de enterococos registradas históricamente en cada área recreativa. En caso de datos insuficientes para establecer la desviación estándar se utilizará provisoriamente el valor 0,7, que es el valor de la desviación estándar de los logaritmos decimales de las densidades de enterococos indicadas por las determinaciones en los sitios estudiados por la U.S. EPA (1986). Para tal situación, resultan los LCS correspondientes a muestras aisladas que se exhiben en la Tabla VII.A.4, los cuales deben ser interpretados estrictamente como de uso provisorio hasta que se disponga de datos locales consistentes para el cálculo de la desviación estándar.



**TABLA VII.A.4 – LÍMITES DE CONFIANZA SUPERIORES PROVISORIOS  
CORRESPONDIENTES A MUESTRAS AISLADAS**

Indicador	Tasa de Gastroenteritis aceptable cada 1000 individuos	Media geométrica de la densidad de enterococos (MGe) [colonias /100 ml]	Límite de confianza superior provisorio para una muestra aislada [colonias/100 ml]			
			LCS (75%) Uso altamente frecuente	LCS (82%) Uso moderadamente frecuente	LCS (90%) Uso escasamente frecuente	LCS (95%) Uso infrecuente
Enterococos	8	35	104	153	276	496

#### **VII.A.4) Limitaciones de los niveles guía establecidos para agua dulce y agua de mar**

Los criterios que sirven como base para los niveles guía establecidos asumen la existencia de fuentes de contaminación fecal. Cuando el número de individuos que contribuyen a la fuente de contaminación fecal disminuye, la relación microorganismo indicador/microorganismo patógeno puede variar. Por otro lado, en condiciones de epidemia se produce una alteración inversa de la relación microorganismo indicador/microorganismo patógeno. En ambas situaciones, la media geométrica de la densidad del indicador establecida como valor límite podría no corresponder a una tasa de riesgo para la salud aceptable. Luego, se deberían examinar rutinariamente en el agua densidades de microorganismos patógenos para verificar la relación de éstas con las del indicador.

Los virus entéricos constituyen un factor de riesgo asociado al uso del agua con fines recreacionales. En general, se encontró que la mayoría de los indicadores bacterianos no correlacionan bien con la presencia de estos virus. De tal manera, si bien la ocurrencia elevada de bacterias coliformes puede indicar la presencia de virus entéricos, la situación inversa no puede asegurarse (Berg and Metcalf, 1978).



República Argentina  
Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación

## **IX) TECNICAS ANALITICAS ASOCIADAS A LA DETERMINACION DE *ESCHERICHIA COLI* /*ENTEROCOCOS***

En la Base de Datos “Técnicas Analíticas” pueden ser seleccionados métodos analíticos validados para evaluar la cumplimentación del nivel guía nacional de calidad de agua ambiente derivado para *Escherichia coli* /*Enterococos*.



## X) REFERENCIAS

- Bastein, J.A.P., J. Vanderwint, M. Beauchamp, R. Toxopeus and A.D. Tennant. 1974. Bacteriological Water Quality , Gatineau Park Beaches, National Capital Commision 1974. Environment Canada Surveillance Report EPS-5-OR-74-1. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Berg, G. and T.G. Metcalf. 1978. Indicators of viruses in waters. *In* Indicators of viruses in Water and Food. G.Berg (ed.). Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor Michigan. pp. 267-296. (Cited in Health and Welfare Canada 1990). En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Cabelli, V.J. 1977. Indicators of recreational water quality. Am. Soc. Test. Mater. Spec. Tech. Publ. 635:222-238. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Cabelli, V.J. 1983. Health Effects Criteria for Marine Recreational Waters. U.S. Environmental Protection Agency Report. EPA – 600/1 – 80 – 031.
- Cabelli, V.J. 1983. Indicators of Recreational Water Quality. Am. Soc. Test. Mater. Spec. Tech. Publ. 635:222-228.
- Chamberlin, C.E., and R. Mitchell. 1978. A decay model for Enteric Bacteria in Natural Waters. In: Water Pollution Microbiology. Ed. Ralph Mitchell. John Wiley and Sons, New York. Vol. 2, p. 325.
- Dufour, A.P. 1984. Health Effects Criteria for Fresh Recreational Waters. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA 600/1 – 84/004.
- Dufour, A.P., and L.B. Lupo. 1977. A membrane Filter Method for Enumerating *Klebsiella* Species. Abst. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol. P. 262. En: Cabelli, V.J. 1983. Health Effects Criteria for Marine Recreational Waters. U.S. Environmental Protection Agency Report. EPA-600/1-80-031.
- Dufour, A.P. , E.R. Strickland and V.J. Cabelli. 1981. Membrane Filter method for Enumerating *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbio. 41:1152. En: U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 1986. Ambient Water Quality Criteria for Bacteria. EPA 440-5-84002.
- Geldreich, E.E., C.B. Huff, R.H. Bordner, P.W. Kabler and H.F. Clark. 1962. The faecal coli-aerogenes flora of soils from various geographic areas. J. Appl. Bacteriol. 25:87-93. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Health and Welfare Canada , 1990. Guidelines for Canadian Recreational Water Quality. Federal Provincial Advisory Committee on Environmental and Occupational Health, Ottawa. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Levin ,M.A., J.R. Fischer, and V.J. Cabelli. 1981. Membrane Filter technique for Enumeration of *Enterococci* en Marine Waters. Appl. Microbiol. 30:66. En: Cabelli, V.J. 1983. Health Effects Criteria for Marine Recreational Waters. U.S. Environmental Protection Agency Report. EPA-600/1-80-031.
- OME, 1984. Microorganisms in Recreational Waters. Scientific Criteria Document for Standard Development N° 1-84. Ontario Ministry of the Environment. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- Quewshi, A.A. and B.J. Dutka. 1979. Storm runoff microbiology adds to concern. Water Sewage Works 126:86-88. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.
- U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1986. Ambient Water Quality Criteria for Bacteria – EPA 440-5-84002.
- Van Donsel, D.J., E.E. Geldreich and N.A. Clarke. 1967. Seasonal Variations in survival of indicator bacteria in soil and their contribution to stormwater pollution. Appl. Microbiol. 15: 1362-1370. En: CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). December 1996. Canadian Water Quality Guidelines.



República Argentina  
Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación

## XI) HISTORIAL DEL DOCUMENTO

<b>Fecha de edición original</b>	diciembre 2001
<b>Actualización diciembre 2003</b>	Incorporación de Sección IX