



**Evaluación de coliformes
termotolerantes y *Enterococcus*
como indicadores de calidad de
agua en la cuenca del Arroyo**

Maldonado

Tesis de grado

Bach. Joaquín González

Licenciatura en Gestión Ambiental

2021

Tutores: Javier García Alonso y Martina Díaz

Contenido

Resumen	4
Abstract	6
Contaminación fecal a nivel cuenca.....	8
Indicadores de contaminación fecal y su aplicabilidad.....	11
Bacterias indicadoras fecales (BIF).....	11
Ventajas y desventajas del uso de indicadores microbiológicos	13
Fuentes de contaminación	15
Variables relacionadas a las BIF	16
Marco normativo nacional e internacional.....	20
¿Por qué analizar BIFs en el Arroyo Maldonado?	25
Objetivos	26
Objetivo General	26
Objetivos Específicos.....	26
Hipótesis.....	27
Materiales y Métodos.....	27
Muestreo y análisis in situ.....	27
Área de estudio.....	28
Construcción de mapas.....	29
Cuantificación de coliformes y <i>Enterococcus</i>	30
Análisis estadísticos	31
Resultados	33
Cobertura del suelo de la cuenca del Arroyo Maldonado	33

Concentraciones de BIFs y parámetros analizados	37
Asociaciones entre las BIFs y variables ambientales.....	45
Discusión.....	48
Indicadores microbiológicos y parámetros fisicoquímicos	48
Modelos estadísticos	49
Comentarios finales.....	50
Bibliografía	52
ANEXO.....	64
Concentraciones de BIFs y parámetros analizados	66
Análisis previo de variables	69
Análisis de residuales	73

Resumen

Los cuerpos de agua de una cuenca son los componentes finales de las "cadenas" de contaminación. Los guías de OMS, UE, y U.S EPA recomiendan como indicadores de contaminación fecal a *E. coli* y *Enterococcus* en contraste con la normativa uruguaya, que se basa en coliformes termotolerantes. En este trabajo se analizó la presencia de coliformes termotolerantes y *Enterococcus* en toda la cuenca del Arroyo Maldonado, incluyendo la marisma. Se estudiaron y compararon las variables fisicoquímicas y los resultados con los estándares nacionales e internacionales. Se analizaron los datos microbiológicos según las partes alta, media y baja de la cuenca, la estación, el uso del suelo y los puntos de contaminación. Se aplicaron modelos GLM para estudiar la sensibilidad de los indicadores microbiológicos. Los valores de coliformes no cumplieron con la normativa en la parte media y baja de la cuenca (aguas abajo de plantas de tratamiento). Se destacan valores altos de coliformes en verano. Las muestras en las que *Enterococcus* superó el límite establecido en la guía canadiense fueron mayores respecto a las veces que coliformes superó el umbral establecido en la guía uruguaya; indicando una posible subestimación de la contaminación fecal de la normativa uruguaya. *Enterococcus* se relacionó significativamente con el pH (explicando 15% de variabilidad) mientras que coliformes se relacionó significativamente con el área de la cuenca de muestreo, las partes de la cuenca y la temperatura, su respectivo modelo explicó una variabilidad de 61%. *Enterococcus* podría ser un indicador más estable respecto a las variables analizadas. Coliformes podría tener conteos malinterpretados ya que puede haber un porcentaje de bacterias desarrolladas en el ambiente acuático, pero contabilizadas como fecales.

Se recomienda un monitoreo ambiental para evaluar la efectividad de las plantas de tratamiento debido a los altos niveles de contaminación fecal hallados aguas debajo de las mismas y determinar el grado de riesgo a la salud en zonas recreativas de la cuenca y playas adyacentes a la desembocadura. Es necesario que se gestione a escala cuenca la calidad del agua para identificar las actividades antrópicas contaminantes y proponer medidas de manejo socio-ecosistémico para un desarrollo sustentable en la zona. Los resultados sugieren que se actualice la normativa uruguaya, incorporándose indicadores alternativos (e.g. *Enterococcus* y *E. coli*) de contaminación fecal.

Palabras clave: calidad del agua, contaminación fecal, indicadores microbiológicos, bacterias indicadoras fecales (BIF), cuenca, uso del suelo, parámetros fisicoquímicos, normativas

Abstract

The basin water bodies are the fate in the "chains" of contamination. The WHO, EU directives, and U.S. EPA recommends *E. coli* and *Enterococcus* as indicators of fecal contamination, differing from the corresponding Uruguayan normative, which is based on thermotolerant coliforms. In this work, the presence of thermotolerant coliforms and *Enterococcus* in the entire Arroyo Maldonado basin, including the salt-marsh, were analyzed. The environmental variables and microbiological results were studied and compared with the water standard limits of national and international regulations. Microbiological data were also analyzed at upper, middle and lower parts of the basin, season and land use. GLM models were applied to study the sensitivity of microbiological indicators. Coliform values did not comply with regulations in the middle and lower part of the basin (downstream of treatment plants). High values of coliforms stand out in summer. The sites in which *Enterococcus* exceeded the limit established in the Canadian guide were greater than coliforms, which exceeded the threshold established in the Uruguayan guide; indicating a possible underestimation of the fecal contamination in Uruguay. *Enterococcus* was only significantly related to pH, while Coliforms were significantly related to the area of the sample basin, main parts of the basin and temperature, (model explained 61% of the variability). Thus, *Enterococcus* could be a more stable indicator (more independent with the variables analyzed). Coliforms could have misinterpreted counts since there may be a percentage of bacteria developed in the aquatic environment, but counted as fecal.

Periodic evaluations are recommended to evaluate the effectiveness of treatment plants due to the high levels of fecal contamination found downstream of them. It is suggested that the frequency of samples from beaches be increased in summer and thus reduce the

risk to health. It is necessary to manage the surface quality of the water at a basin scale in order to identify polluting anthropic activities and propose prevention and mitigation measures. It is suggested that the Uruguayan regulations be discussed and updated, incorporating *Enterococcus* and *E. coli* as indicators of fecal contamination.

Keywords: water quality, faecal contamination, microbiological indicators, faecal indicator bacteria (FIB), watershed, land use, physicochemical parameters, regulations

Contaminación fecal a nivel cuenca.

La cuenca hidrográfica es un sistema integral espacial de la superficie terrestre donde el flujo de agua se dirige hacia abajo de las laderas y los taludes desde los límites definidos o divisoria de cuencas. La cuenca hidrográfica se representa como un sistema multiparamétrico, cuyos elementos son las áreas de ocurrencia de rocas con diferentes propiedades funcionales y características tectónicas, así como unidades de paisaje. La interacción determina variaciones espacio-temporales en los componentes del balance hídrico y en la composición química de aguas naturales de génesis local (Korytny, 2017). Las particularidades de cada zona de una cuenca, determina diferencias en la explotación de recursos naturales y conlleva a determinadas actividades humanas y usos de suelo (e.g. índices CONEAT para Uruguay).

La cuenca debe estudiarse, gestionarse y monitorearse como una unidad integrada. Es fundamental para el cálculo de los balances hídricos, procesos de sedimentación, transporte y acumulación de contaminantes, autodepuración de ambientes naturales (e.g. servicios ecosistémicos) y sistemas estuarinos en las costas oceánicas. Los límites de la cuenca capturan los principales ciclos de materia y energía. Los cuerpos de agua de una cuenca son los componentes finales de las cadenas de contaminación. En este sentido, el papel que juega el concepto de cuenca en la investigación de los procesos geocológicos de la biosfera es incuestionable (Korytny, 2017).

Las bacterias patógenas presentes en el agua que se originan por la contaminación fecal de vertebrados son una amenaza para la salud pública (Rochelle-Newall et al., 2015), y el uso recreativo del agua puede ser una ruta de exposición a patógenos (Charoenca and Fujioka, 1993; Zetola et al., 2005). En esta línea, Fleisher y colaboradores (2010) plantean en su estudio que los bañistas tuvieron seis veces más infecciones en la piel

que quienes no ingresaban al agua. Es necesario identificar las fuentes de contaminación fecal sobre cuencas hidrográficas y los factores que controlan su exportación (Economy et al., 2019).

La contaminación fecal es influenciada por las precipitaciones, la escorrentía y el uso del suelo de la cuenca (US EPA, 2012, 2014). Es útil recopilar información sobre la cuenca (e.g. fuentes de contaminación, parámetros físico-químicos, densidad de población) y relacionarla con niveles de bacterias indicadoras fecales (BIF). El análisis de BIF serviría a los gestores ambientales para monitorear la calidad del agua y a los funcionarios de salud pública para identificar las fuentes de contaminación fecal y los riesgos a la salud humana. Con éste análisis es posible evaluar la magnitud de la contaminación y designar sitios relevantes para las pruebas de calidad de agua (US EPA, 2012).

Las cuencas agrarias y urbanas son las que más aportan a la contaminación fecal (Wang et al., 2017). Las zonas bajas de las cuencas (desembocaduras de cursos en el mar, marismas, bañados o lagunas costeras formando sistemas estuarinos) pueden acumular cantidades significativas de materia orgánica y contaminantes, principalmente en los sedimentos (Cotler et al., 2013, Castiglioni et al., 2018). Específicamente las zonas situadas aguas debajo de las ciudades los niveles suelen ser riesgosos para la salud (Cantor et al., 2017; Sowah et al., 2014).

Las actividades humanas pueden generar contaminación difusa (la escorrentía superficial terrestre de áreas urbanas, residenciales y agrícolas) y/o puntual (animales como el ganado que defecan directo en el agua o por escorrentía, descarga de plantas de tratamiento de aguas residuales y desbordamiento de alcantarillado combinado, US EPA, 2012; Wang et al., 2017). Entre las fuentes no puntuales, las prácticas intensivas

del uso de la tierra (e.g. ganadería intensiva, áreas urbanas) son factores principales que causan contaminación fecal en las aguas superficiales (Wang et al., 2017).

Se han encontrado valores de contaminación fecal en diferentes ríos y arroyos del Uruguay como también en el estuario del Río de la Plata, que superan los estándares establecidos por la normativa uruguaya y otros valores guía (Caffera, 2002; CEUTA et al., 2013; Goyenola et al., 2009; LATU, 2012b, 2012a, 2013a, 2013b; MVOTMA, 2015, 2016a, 2016b, 2017, 2018a, 2018b, 2018c, 2019; PNUMA et al., 2011).

Existe numerosa bibliografía sobre cuantificación y fuentes de contaminación fecal, y su relación con la presencia de patógenos (Korajkic et al., 2018). Se conoce una amplia gama de BIF y las variables ambientales determinan cual indicador utilizar en monitoreo ambiental. En ambientes estuarinos y marinos se recomienda *Enterococcus*₁ y en dulces *E. coli* y *Enterococcus* (US EPA, 2012), aunque se pueden observar niveles altos de *E. coli* en las aguas estuarinas y marinas (Quigg et al., 2009).

Las guías de la organización mundial de la salud y de la unión europea recomiendan como indicadores de contaminación fecal a *E. coli* y *Enterococcus* mientras que en Uruguay la normativa vigente se basa en el Decreto 253/79 y utiliza los coliformes fecales como indicador para las aguas recreativas de todo el país (Ministerio de Ambiente, 2020). Aunque se han realizado documentos técnicos destinados a actualizar los estándares nacionales, no se ha actualizado desde hace más de 40 años (de León, 2019a). De hecho, la resolución N°852-2020 de la Institución Nacional de Derechos Humanos y Defensoría del Pueblo (INDDHH) recomienda adecuar el Decreto 253/79 a la normativa internacional y al conocimiento vigente, como también recuerda a los

¹ En la práctica los términos estreptococos fecales, enterococos, enterococos intestinales y grupo *Enterococcus* pueden considerarse como refiriéndose a la misma bacteria (WHO, 2003). *E. faecalis* y *E. faecium* son comensales del intestino humano y son las especies del género que predominan en ambientes acuáticos contaminados. En este trabajo se ha utilizado el término *Enterococcus* aunque la cita haya mencionado otro término.

organismos competentes el poder que el decreto mencionado les da para modificar los parámetros de la norma. A su vez la INDDHH recomienda la evaluación de los impactos de la contaminación fecal en aguas recreativas sobre la salud de la población, y la publicación de los resultados de monitoreo de calidad de agua con el grado de cumplimiento en base al Decreto 253/79 y a los de la OMS (WHO, 2021).

Indicadores de contaminación fecal y su aplicabilidad.

Los indicadores de contaminación fecal más utilizados como abundancia de coliformes totales y termotolerantes², *Escherichia coli* y el grupo *Enterococcus*; presentan limitaciones, tales como la dificultad de cultivar aquellas provenientes de aguas marinas, la existencia de fuentes no humanas, su potencial habilidad para multiplicarse después de su liberación en la columna de agua y debilidad frente a los procesos de desinfección, entre otras (Sagarduy et al., 2019; WHO, 2021). Por esta razón se ha explorado el uso de indicadores alternativos como las bacterias anaerobias fecales (*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium perfringens*), virus (colifagos) y componentes orgánicos fecales (coprostanol) (Larrea-Murrell et al., 2013; Venturini et al., 2015; WHO, 2021). Recientemente y con el avance de herramientas moleculares, los estudios de metagenómica y detección de genes de patogenicidad (*stx* y *eae*) se presentan como nuevas herramientas de monitoreo ambiental (Soumastre, 2016).

Bacterias indicadoras fecales (BIF)

La abundancia de las BIF es usada para valorar la calidad de aguas destinadas al consumo humano, a la agricultura, la industria y la recreación (Larrea-Murrell et al., 2013). Las BIF indican la presencia de heces y una potencial presencia de patógenos,

² También conocidos como coliformes fecales, algunos autores sugieren sustituirlo por coliformes termotolerantes ya que dentro de los coliformes fecales hay especies de bacterias ambientales (Larrea-Murrell et al., 2013).

relacionándose con riesgos para la salud humana. Las BIF son usadas en los criterios que definen la calidad de aguas para establecer límites según la función y las características del agua. Estas bacterias están presentes en el tracto intestinal de los endotermos (Cantor et al., 2017; Quigg et al., 2009; Wang et al., 2017).

Los indicadores *E. coli* y *Enterococcus* tienen una relación más clara que coliformes con los riesgos para la salud humana (Quigg et al., 2009; Korajkic et al., 2018). El número de *Enterococcus* en las heces humanas es habitualmente de un orden de magnitud menor que *E. coli* (WHO, 2011). Los *Enterococcus* han sido más veces detectados en análisis de agua en distintos contextos, lo que se puede atribuir a una mayor resistencia ambiental (Sowah et al., 2014). Además fueron mejores predictores de la ocurrencia de enfermedades transmitidas por el agua (Korajkic et al., 2018).

Los niveles de BIF generalmente se informan como unidades formadoras de colonias (UFC), o el número más probable (NMP), por volumen de agua (generalmente 100mL). Se miden las concentraciones utilizando filtración por membrana en medios selectivos diferenciales o tecnología de sustrato definida (por ejemplo, Enterolert o Colilert), para *Enterococcus* o coliformes respectivamente (Korajkic et al. 2018).

La relación de coliformes fecales y *Enterococcus* puede ser útil para determinar si la fuente de la contaminación fecal es humana o animal. Según Geldreich & Litsky (1976) cuando el cociente coliformes fecales / *Enterococcus* (FC/E) es mayor de 4 se está en presencia de una contaminación fecal de origen humano, cuando es menor de 0,6 es de animales domésticos y de granja, y menor a 0,1 es de animales salvajes. Sin embargo Howell et al. (1995) emplearon otro rango de la relación FC/E para describir las fuentes, siendo de animales domésticos o de granja de 0,1 a 4, y de origen humano mayor a 4.

Ventajas y desventajas del uso de indicadores microbiológicos

Si bien los indicadores *E. coli* y *Enterococcus* presentan fortalezas para su empleo en monitoreo ambiental, estas bacterias presentan ciertas debilidades como ser: sobrevivir y reproducirse en ambientes naturales (US EPA, 2012), escasa sobrevivencia en el agua bajo ciertas condiciones ambientales de salinidad, temperatura y luz UV (Cabelli, 1983; Henry et al., 2016; Sowah et al., 2014). También los reservorios en sedimento que se pueden reproducir después de eventos de tormenta y bajo ciertas condiciones (Bradshaw et al., 2016) pueden derivar errores en la interpretación de resultados. Mientras que otros indicadores como los *Bacteroides* y los colifagos pueden relacionarse con la fuente (Korajkic et al., 2018; Vadde et al., 2019), adenovirus y *Cryptosporidium spp* pueden resistir distintos tratamientos de aguas residuales (Francy et al., 2012; Murray et al., 2017; Schlindwein et al., 2010), por ende pueden ser usados para evaluar la eficiencia de las plantas.

Los demás indicadores tienen también sus desventajas (Tabla 1), *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.* y *Clostridium perfringens* son ubicuos (Murray et al., 2017), pudiéndose encontrar no solo en el intestino de animales sino en el ambiente natural de casi cualquier parte del mundo. *Bacteroides* y colifagos no se relacionan con ninguna dolencia, adenovirus se transmite por gotas respiratorias, mientras los norovirus, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter spp.* y *Clostridium perfringens* principalmente se relacionan con enfermedades que no son de transmisión hídrica (Murray et al., 2017).

E. coli y *Enterococcus* son usados conjuntamente como parámetros microbiológicos para definir la calidad del agua superficial en países como Canadá, Brasil, Estados Unidos, Nueva Zelanda y la Unión Europea (RESOLUCIÓN CONAMA n° 274 de 2000, 2001; Directiva 2006/7/CE, 2006; Health Canada, 2012; Ministry for the

Environment, 2002; US EPA, 2012). Además *E. coli* se relaciona directamente con brotes de gastroenteritis de transmisión hídrica (Murray et al., 2017) y a su vez ambos son hospederos de animales endotermos (Cantor et al., 2017; Wang et al., 2017).

Tabla 1: Fortalezas y debilidades de indicadores microbiológicos de contaminación fecal en el agua. ECET: *E.coli* entero patógena. ECTS: *E.coli* productora de toxina Shiga.

Indicador	Fortalezas	Debilidades
<i>E. coli</i> (cepas ECET y ECTS)	Relacionado a brotes de gastroenteritis por contacto con el agua ¹ .	No se recomienda como indicador en ambientes marinos ² . Presenta mayor sensibilidad a las variables ambientales comparado con <i>Enterococcus</i> ³ .
<i>Enterococcus</i>	Asociado significativamente con patógenos y enfermedades ⁴ . Recomendado para aguas salobres y marinas ² .	No ha sido relacionado directamente con brotes de enfermedades por contacto con el agua ¹ .
<i>Campylobacter spp.</i>	Correlacionado con BIFs y otros indicadores alternativos en aguas dulces y salinas ⁴ .	No se asocia a dolencias por contacto con el agua, más bien con zoonosis ¹ .
<i>Clostridium perfringens</i>	Es considerado un indicador. Se ha correlacionado con patógenos en muestras de agua ⁴ .	Es ubicua y se relaciona con enfermedades transmitidas por alimentos mal cocidos ¹ .
<i>Salmonella spp.</i>	<i>Salmonella Typhi</i> puede causar infección por el consumo de agua contaminada ¹ . Se ha correlacionado con <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> en aguas dulces y marinas ⁴ .	Infecciones relacionadas con la ingesta de productos contaminados ¹ . Puede colonizar casi todos los animales ¹ .
<i>Shigella spp.</i>	Indican contaminación fecal de origen humano (único hospedero) y causan Shigelosis ¹ .	El agua no es la principal vía de transmisión ¹ .
<i>Cryptosporidium spp.</i>	Transmisible por el agua y son resistentes a tratamientos de agua ¹ . Correlacionado con <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> en aguas dulces ⁴ . Criptosporidiosis enfermedad diarreica importante en personas y animales ⁵ .	Presentan distribución universal ¹ .
<i>Bacteroidales 16s</i>	Permite identificar la fuente de contaminación. Podrían identificar en una muestra ambiental la proporción de las distintas fuentes en la carga fecal ⁶ .	No se relacionan directamente con patógenos ni enfermedades ¹ . Escasamente relacionados con patógenos en muestras de agua ¹ .

Colifagos somáticos	Conocidos como indicadores alternativos de <i>E. coli</i> y de la posible presencia de virus ⁷ .	No se relacionan con enfermedades ¹ .
Colifagos F-específicos	Indicadores alternativos de <i>E. coli</i> y de la posible presencia de virus ⁷ . Asociados con enfermedades en estudios epidemiológicos ⁴ .	No se relacionan con enfermedades ¹ .
<i>Giardia spp.</i>	Correlacionado con <i>E. coli</i> y <i>Enterococcus</i> en aguas dulces ⁴ . Animales salvajes son reservorio ¹ . Puede causar enfermedad por ingerir aguas de lagos o arroyos ¹ .	Es ubicuo ¹ .
Adenovirus	Transmisibles por consumo de agua contaminada ¹ . Resisten a la desecación, a los ácidos del tubo digestivo y a distintos tratamientos de aguas residuales ^{1, 8, 9} . Correlacionados con <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> ⁴ . Recomendado por U.S EPA como indicador de riesgo microbiológico ² .	Se transmite por contacto con gotas respiratorias ¹ .
Norovirus	Virus más relacionado con brotes de gastroenteritis de transmisión hídrica ¹ . Reportado como indicador de riesgo microbiológico ¹⁰ .	Se transmite principalmente por alimentos o superficies contaminadas ¹ . Se reportó una menor resistencia a la desinfección comparado con norovirus ⁸ .
<i>Schistosoma mansoni</i>	Causa enfermedad por contaminación fecal de aguas dulces ¹⁰ . Endémico en algunas regiones ¹⁰ . Intrínsecamente ligada a <i>Biomphalaria spp.</i> de agua dulce ¹⁰ .	Aguas contaminadas o aguas dulces demasiadas salinas pueden ser letales para la especie ¹⁰ .

¹(Murray et al., 2017); ²(US EPA, 2012); ³(Sowah et al., 2014); ⁴(Korajkic et al., 2018); ⁵(Ryan et al., 2016); ⁶(Vadde et al., 2019); ⁷(Paz-Y-Miño et al., 2003), ⁸(Francy et al., 2012); ⁹(Schlindwein et al., 2010); ¹⁰(McBride et al., 2013).

Fuentes de contaminación

En las áreas agrícolas, las aguas receptoras están afectadas por la contaminación difusa debido a la escorrentía que deriva de actividades como actividades pecuarias y la fertilización de cultivos con materia fecal (Wang et al., 2017). Las fuentes puntuales como los residuos domésticos dirigidos al agua con tratamiento previo mínimo plantean

riesgos potenciales para la salud de usuarios del agua potable o aguas recreativas en poblados adyacentes (Cantor et al., 2017; Sowah et al., 2014). En general, los niveles de bacterias fecales en el agua superficial son altos en cuencas urbanas, de pastoreo y agrícolas (Wang et al., 2017). Las partes bajas de las cuencas son zonas de relevancia porque se pueden acumular los impactos de toda la cuenca (Cotler et al., 2013), incluyendo altos niveles de BIF (Wang et al., 2017).

En general los indicadores BIF presentan mayor variabilidad en cuencas con suelos heterogéneos asociado a las diversas fuentes de contaminación (Sowah et al., 2014). De hecho se encontró altas concentraciones de *E. coli* y *Enterococcus* en condiciones cálidas, de suelo ganadero y urbanizado (Wang et al., 2017); aunque también se halló al uso de suelo industrial como una de las principales fuentes de *E. coli* y *Enterococcus* (Kang et al., 2010). Indicadores alternativos como el marcador de fuente humana Bacteroides-HF183 y colifagos somáticos (con *E. coli* hospedero) se han detectado en presencia de grandes poblaciones o urbanizaciones (Wang et al., 2017; Cantor et al., 2017).

Variables relacionadas a las BIF

La calidad del agua superficial puede verse afectada por múltiples variables que interactúan en la cuenca, como el tipo de uso de suelo y la erosión del mismo, las precipitaciones, las mareas, el sedimento, el clima, y la hidrología (Bradshaw et al., 2016; Ribolzi et al., 2016; US EPA, 2012; Wang et al., 2017). En general, la resuspensión de los sedimentos después de grandes precipitaciones puede aumentar los niveles de BIF (Bradshaw et al., 2016). En cuencas montañosas los principales factores que pueden elevar los niveles de BIF en el agua son la erosión del suelo junto con la escorrentía (Ribolzi et al., 2016).

Algunos estudios realizados en cursos de agua dulce a nivel cuenca analizaron las relaciones entre BIF y distintas variables explicativas obteniendo resultados similares. *E. coli* y *Enterococcus* podrían correlacionarse positivamente con la densidad de cámaras sépticas (Cantor et al., 2017; Sowah et al., 2014), el amonio, el caudal, la turbidez (Herrig et al., 2015), las precipitaciones (He & He, 2008; Henry et al., 2016; Korajkic et al., 2018), los sedimentos suspendidos (aumentando la relación en condiciones de escorrentía) y con iones de calcio, cloro y nitrato (aumentando la relación en condiciones de flujo base) (David & Haggard, 2011). Mientras que *E. coli* y *Enterococcus* podrían correlacionarse negativamente con las horas de luz por el aumento de la exposición de las bacterias a luz UV (Henry et al., 2016).

Ha sido demostrado que *E. coli* puede sobrevivir fuera del tracto intestinal y reproducirse en diversas matrices ambientales y climas (Jang et al., 2017). A su vez, existen cepas ambientales de *E. coli* que se diferencian de las cepas intestinales (Jang et al., 2017). En el sedimento de ríos y arroyos pueden presentarse mecanismos que incrementan su sobrevivencia, tales como protección de depredación por protozoarios y de radiación UV, y la mayor disponibilidad de nutrientes y materia orgánica soluble (Bradshaw et al., 2016; Jang et al., 2017).

La temperatura es probablemente el factor más importante para la sobrevivencia y el crecimiento de *E. coli*, ya que puede crecer a temperaturas mayores de 30°C, mientras que su tasa de mortalidad es menor a temperaturas por debajo de los 15°C. La disponibilidad del agua es crítica para su crecimiento pero no para su sobrevivencia (Jang et al., 2017).

Si bien el ambiente exterior provee a *E. coli* menos nutrientes que el intestino esta bacteria ha demostrado que puede degradar los compuestos aromáticos y ha mostrado

flexibilidad catabólica en entornos limitados de glucosa (Jang et al., 2017). Sin embargo la radiación solar es el factor más efectivo causando la muerte en ambientes acuáticos; pero la formación de biofilms por *E. coli* en los sedimentos de ambientes acuáticos es bien conocida como factor contribuyente a la sobrevivencia en el ambiente (Jang et al., 2017). Asimismo la salinidad se ha relacionado negativamente con la abundancia de *E. coli* (Cabelli, 1983; de León, 2019b; Ibargoyen, 2018).

Las bacterias del grupo *Enterococcus* han sido aisladas del suelo y agua, en asociación con plantas y en productos alimenticios fermentados. Asimismo han sido aisladas como agentes causantes de enfermedades humanas en el contexto de infecciones asociadas a la atención médica, debido a la capacidad de sobrevivencia en el ambiente hostil rico en antimicrobianos del hospital (García-Solache & Rice, 2019). El crecimiento ocurre entre 10°C y 45°C, con un crecimiento óptimo para la mayoría de las especies de 35°C a 37°C, y son notablemente resistentes a la desecación (García-Solache & Rice, 2019). La diversidad genética de *Enterococcus* está asociada a una gran plasticidad fenotípica. A diferencia de *E. faecalis*, la estructura de la población de *E. faecium* es más compleja y muestra una separación más clara entre los clados ambientales y comensales (García-Solache & Rice, 2019).

El estudio de (Ibargoyen, 2018) a través de una evaluación en campo y experimental de los indicadores de *Enterococcus* y coliformes, mostró que *Enterococcus* no tuvo relación significativa con la salinidad. No obstante, si fueron afectados los coliformes, es decir que *Enterococcus* se presentó como mejor indicador para playas salinas. Mientras que otros estudios con datos propios y con datos de la Intendencia de Rocha (IR) sobre la cuantificación de coliformes en sus playas, encontraron concentraciones significativamente menores en agua marina respecto a las vertientes (agua dulce y de

menor caudal) (Kruk et al., 2018, 2019; Segura et al., 2018). De León (2019b) también utilizó datos de la IR y el empleo alternativo de modelos de predicción de contaminación fecal tuvo un buen ajuste de acuerdo al marco internacional y ajustó mejor para el caso de agua dulce. En tanto las variables que mejor predijeron los coliformes en las playas fueron la salinidad y las precipitaciones, sin embargo la contaminación de vertientes y playas fueron explicadas por las temporadas alta y media y la identidad de las playas (de León, 2019b).

Otros tipos de indicadores como la relación coliformes fecales/*Enterococcus* (CF/E), los enteroparásitos y virus intestinales fueron evaluados en Uruguay (Bortagaray Galluzo, 2018; CEUTA et al., 2013). En cañadas, cunetas y tajamares de la localidad de Barros Blancos, se detectó contaminación fecal de origen animal en base a la relación CF/E, también se encontraron muestras positivas de Picobirnavirus (indicador de contaminación fecal porcina), Norovirus y Rotavirus; mientras que el parásito detectado fue *Cryptosporidium* spp (CEUTA, UdelaR, 2013). En el Río Uruguay y Río Santa Lucía, se detectaron virus entéricos de mayor a menor frecuencia en el orden siguiente, Rotavirus, Adenovirus Humano, Poliomavirus Bovino y Poliomavirus Humano (Bortagaray Galluzo, 2018). Además se adjudicó a un criadero de cerdos ubicado en la cuenca de muestreo la causa de la contaminación por Picobirnavirus (CEUTA, UdelaR, 2013); mientras que Bortagaray Galluzo (2018) le atribuye a la producción bovina y a las descargas directas de efluentes domésticos de la cuenca, la causa de la contaminación viral.

En Uruguay no existen estudios a nivel cuenca sobre contaminación fecal y las variables que pueden afectar el conteo de indicadores de contaminación fecal en cursos de agua dulce y stuarinas.

Marco normativo nacional e internacional

Se presentan los indicadores de contaminación fecal y sus valores máximos permitidos de diferentes normas y guías nacionales e internacionales (Tabla 2). Teniendo como referencia a *Enterococcus*, los valores guía de contaminación fecal más estrictos los tiene Canadá, Argentina y Estados Unidos (Resolución Ministerial 125/2016, 2017; Health Canada, 2012; US EPA, 2012). En orden decreciente le siguen: México, UE, OMS, Perú, Nueva Zelanda, Brasil (RESOLUÇÃO CONAMA n° 274, 2001; Decreto Supremo 002-2008, 2008; Directiva 2006/7/CE, 2006; Norma Mexicana NMX-AA-120-SCFI-2016., 2016; Ministry for the Environment, 2002; WHO, 2021).

Tabla 2: Indicadores de contaminación fecal en agua recreativa por contacto primario utilizados por distintas organizaciones y países de Latinoamérica, Nueva Zelanda y China. Modificado de (de Leon, 2019a) se incluye solo el valor considerado aceptable. TE: Tasa de transmisión de enfermedades.* Estadísticos de medida. Muestra simple: una muestra. MG5: Media geométrica de 5 muestras consecutivas.

Organismo/ País	Indicador	Valor límite aceptable	Unidad	Consideraciones *	Tipo de Agua
OMS	<i>Enterococcus</i>	200	<i>Enterococcus</i> /100mL	Percentil 95	Dulce y marina
UE	<i>Enterococcus</i>	330	UFC /100mL	Percentil 95	Dulce Marina
	<i>E. coli</i>	900			
US EPA	<i>Enterococcus</i>	35 (TE 3,6%) 30 (TE 3,2%)	UFC /100mL	MG5	Dulce y marina
	<i>E. coli</i>	126(TE 3,6%) 100(TE 3,2%)			
Canadá	<i>Enterococcus</i>	35 70	UFC /100mL	MG5 Muestra simple	Marina
	<i>E. coli</i>	200 400			

Argentina	<i>Enterococcus</i>	33 35	UFC /100mL	MG	Dulce Marina Dulce
	<i>E. coli</i>	126			
Brasil	<i>Enterococcus</i>	400	UFC /100mL	80% de 5 muestras obtenidas	Marina Dulce y marina
	<i>E. coli</i> coliformes fecales	2000 2500			
Chile	coliformes fecales	1000	UFC /100mL	Muestra simple	Dulce y marina
China	coliformes fecales	4000	UFC /100mL	Muestra simple	Dulce y marina
Colombia	coliformes fecales	200	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
	coliformes totales	1000			
Costa Rica	coliformes fecales	20-1000	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
Cuba	coliformes fecales	200	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
	coliformes totales	300			
	Estreptococos fecales	100			
Ecuador	coliformes fecales	200	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
	coliformes totales	2000			
México	<i>Enterococcus</i>	100	NMP/100mL	Percentil 95	Marina
Nueva Zelanda	<i>E. coli</i>	550	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce
	<i>Enterococcus</i>	280	UFC /100mL	Muestra simple (2 consecutivas)	Marina
Perú	<i>Enterococcus</i> <i>E. coli</i> coliformes fecales coliformes totales	200 0 200 1000	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
República Dominicana	coliformes fecales coliformes totales	400 1000	NMP/100mL	Muestra simple	Dulce y marina
Uruguay	coliformes fecales	1000 2000	UFC /100mL	MG5 Muestra simple	Dulce y marina
Venezuela	coliformes fecales coliformes	200 400 1000	NMP /100mL	90% de las muestras 10% restante 90% de las	Dulce y marina

totales	5000	muestras 10% restante
---------	------	--------------------------

Según el indicador *E. coli* los valores guías más estrictos los tiene Perú y en orden decreciente le siguen: Canadá, Estados Unidos, Nueva Zelandia, UE y Brasil (RESOLUÇÃO CONAMA nº 274, 2001; Decreto Supremo 002-2008, 2008; Directiva 2006/7/CE, 2006; Health Canada, 2012; Ministry for the Environment, 2002; US EPA, 2012).

Teniendo en cuenta a coliformes fecales como indicador, los valores más estrictos los tiene Costa Rica y en orden decreciente le siguen: Colombia, Cuba, Ecuador, Perú, Colombia y Venezuela con el mismo valor, República Dominicana, Chile, Uruguay, China y Brasil (RESOLUCIÓN CONAMA nº 274, 2001; NCh1333, 1987; DECRETO 1594, 1984; Decreto Supremo 002-2008, 2008; Norma de Calidad de Efluentes: Recurso Agua, 2015; Norma Ambiental de Calidad de Aguas Superficiales y Zonas-Costeras, 2012; DECRETO 253/79, 1979; Decreto N° 883, 1995; GB 3838, 2002)

Como el Decreto 253/79 no contempla a *Enterococcus* como indicador, se recomienda basarse en los valores guía de Canadá (Health Canada, 2012) que se muestran en la Tabla 1, sus valores están basados en media geométrica de cinco muestras y en muestra simple (como el Decreto 253/79). Como los mencionados valores son para aguas marinas se recomienda multiplicar los valores entre dos y cinco veces para tomarlos como guías en aguas dulces, ya que mismos valores de *Enterococcus* en ambos ambientes, en aguas marinas tienen una patogenicidad entre dos y cinco veces mayor que en aguas dulces (WHO, 2021).

El Decreto 253/79 establece criterios de clasificación según el uso (Tabla 3) y la Resolución del MVOTMA (s/n del 25/02/2005) establece como clase 3 a todos los

cursos no clasificados cuyas cuencas son mayores a 10 kilómetros cuadrados (Tabla 4). La clase 3 es más permisiva en cuanto a los valores de contaminación fecal que la clase 1 la cual refiere al uso recreativo de las aguas.

Sin embargo la Comisión Asesora del Río Uruguay (CARU) mediante el Digesto sobre el Uso y Aprovechamiento del Río Uruguay (2019) establece los siguientes parámetros para las aguas con fines recreativos: la media geométrica de al menos 5 muestras de *E. coli* no debe exceder los 200 UFC/ 100mL y de igual forma el límite de la media de *Enterococcus* es 35 UFC/ 100mL. No obstante, la CARU sólo sugiere no tomar contacto con el agua cuando sus informes indican valores por encima de los establecidos.

La Guía Para Definir la Aptitud y Clasificación de Playas (GAYC) de noviembre del 2020 proporciona criterios para evaluar la aptitud y categorización para baños en las playas (Ministerio de Ambiente, 2020) y fue usada para la evaluación del informe Red de Monitoreo de Playas, Temporada 2020-2021 (Ministerio de Ambiente, 2021b). La aptitud se evalúa mediante los valores propuestos por el GESTA-Agua (2008) teniendo en cuenta la concentración de coliformes termotolerantes y la presencia/ausencia de espuma de cianobacterias en el agua. En cuanto a la concentración de coliformes termotolerantes, la playa se considera no apta si la media geométrica de cinco muestras consecutivas es >1000 UFC/100mL (Ministerio de Ambiente, 2020). Las categorías (No Apta, Aceptable, Buena, Muy Buena y Excelente) se definen según la frecuencia de aptitud que tuvieron durante la temporada (Ministerio de Ambiente, 2020). Según el Protocolo Nacional de Actuación Ante Eventos Ambientales en Playas (PNA) de diciembre de 2021, si un valor individual de coliformes es >2000 UFC/100mL se debe

aumentar la frecuencia de muestreo (recomendado cada 24 horas) (Ministerio de Ambiente, 2021a).

Tabla 3: Clasificación de los cursos de agua por uso según el Decreto 253/79. MG5: Media geométrica de al menos 5 muestras. CF: coliformes fecales.

Clase	Uso	coliformes fecales (UFC/100mL)
1	Abastecimiento de agua Potable	Muestras individuales ≤2000 CF/100mL, MG5 <1000 CF/100mL
2a	Riego de cultivos de alimentos que provocan el mojado del producto.	Muestras individuales ≤2000 CF/100mL, MG5 <1000 CF/100mL
2b	Recreación.	Muestras individuales ≤1000 CF/100mL, MG5 <500 CF/100mL
3	Preservación de los peces en general y de otros integrantes de la flora y la fauna hídrica, y riego de cultivos cuyo producto no se consume en forma natural o que siendo consumidos en forma natural se rieguen sin mojar el producto.	Muestras individuales ≤2000 CF/100mL, MG5 <1000 CF/100mL
4	Cursos que atraviesan zonas urbanas o suburbanas o también aguas destinadas al riego de cultivos cuyos productos no son destinados al consumo humano en ninguna forma.	El 80% de al menos 5 muestras ≤5000 CF/100mL

Aunque formalmente según la Resolución del MVOTMA (s/n del 25/02/2005) el Arroyo Maldonado es clase 3, siguiendo la clasificación del Decreto 253/79 el mencionado arroyo y los ríos más importantes del país pueden pertenecer a varias clases ya que por ejemplo presentan usos recreativos y son fuente de agua potable.

Tabla 4: Clasificación de cursos de agua recreativos del Uruguay. Comparación entre la Resolución del MVOTMA (s/n del 25/02/2005) y el Decreto 253/79. Fuente: (MVOTMA, 2017; MVOTMA, 2020; <https://www.caru.org.uy/web/acerca-de/>). * La Clase 1 del Decreto 253/79 corresponde a cursos usados como fuente para agua potable y a valores equivalentes a la Clase 3 de coliformes fecales.

Curso de agua	Área de la Cuenca (km ²)	Resolución 2005 (Clase)	s/n Decreto 253/79 (Clase)
Océano Atlántico		3	2b
Río de la Plata inferior	3.170.000	3	1* o 2b
Río de la Plata exterior	3.170.000	3	2b
Río Uruguay	339.000	3	1* o 2b
Río Negro	70.714	3	1* o 2b
Río Olimar	5.307	3	1* o 2b
Río Cebollatí	12.117	3	1* o 2b
Río Yí	13.720	3	1* o 2b
Río Rosario	1.849	3	1* o 2b
Río San Salvador	3.118	3	1* o 2b
Río Tacuarembó	16.273	3	1* o 2b
Arroyo Maldonado	1.485	3	1* o 2b

¿Por qué analizar BIFs en el Arroyo Maldonado?

El arroyo Maldonado cuenta con uno de los dos humedales salinos más importantes que tiene el Uruguay (el otro está en Laguna José Ignacio) y del total de 25 km² que ocupan ambos, el Maldonado cuenta con un área de aproximadamente 19 km² (Isacch, et.al, 2006). Además presenta dos áreas declaradas por Decreto N° 3931/2015 como eco parque y presta servicios ecosistémicos fundamentales para la población adyacente por lo cual es importante su conservación. También cuenta con sitios de patrimonio lítico además de ser un lugar icónico por su valor cultural (Intendencia de Maldonado, 2012).

Sobre la cañada Aparicio afluente al arroyo Maldonado, destaca una muestra que incumplió la normativa tomada tiempo antes que se haya mejorado el saneamiento en su

cuenca de drenaje (Estudio Ingeniería Ambiental, 2003). En la temporada 2018-2019 la playa de la desembocadura del Arroyo Maldonado en La Barra fue clasificada como satisfactoria-apta para baños (media geométrica de 614 UFC/100mL) (MVOTMA, 2019).

Se ha estudiado la probabilidad de la presencia de BIF en agua abarcando un gradiente salino a través de Modelos Lineales Generalizados (GLM) con resultados que muestran buen ajuste y predicción del modelo (Soueidan et al., 2021). En Uruguay se han evaluado los modelos anteriormente mencionados conjuntamente con otros tipos de modelos y los GLM no fueron los de mejor ajuste (Bourel et al., 2021; Crisci et al., 2021).

Es importante monitorear la calidad del agua del arroyo Maldonado y proponer medidas de gestión para mitigar el riesgo a la salud de los usuarios y mantener el valor paisajístico cultural del lugar.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar en un intervalo espacio-temporal la sensibilidad de los indicadores coliformes termotolerantes y *Enterococcus* en los cursos de agua de la cuenca del arroyo Maldonado y comparar los resultados con la normativa correspondiente.

Objetivos Específicos

- 1: Delimitar la cuenca con sus subcuencas correspondientes, analizar su cobertura del suelo y las fuentes de contaminación fecal puntual y difusa.
- 2: Cuantificar coliformes termotolerantes (de aquí en adelante coliformes) y *Enterococcus* en muestras de agua y relevar parámetros ambientales in situ.

3: Discutir los resultados de los indicadores evaluados respecto a la normativa correspondiente.

4: Analizar las asociaciones de los indicadores con parámetros socio-ambientales (estación, parte de la cuenca, parámetros fisicoquímicos, cobertura del suelo y vertidos puntuales).

Hipótesis

La concentración de coliformes termotolerantes y *Enterococcus* difiere significativamente entre las estaciones del año y entre las partes (alta, media y baja) de la cuenca del Arroyo Maldonado.

La concentración de coliformes termotolerantes presenta mayores relaciones significativas que la de *Enterococcus* con el uso del suelo y variables ambientales, generando posibles malinterpretaciones en los conteos.

Materiales y Métodos

Muestreo y análisis in situ

El muestreo se realizó en tres etapas (invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020) y se tomó una muestra por punto, abarcando las partes alta, media y baja de la cuenca. Para la colecta de las muestras se utilizaron bolsas (Whirl-pak, Nasco) y se trasladaron en conservadoras a temperatura adecuada para su almacenamiento y posterior análisis. En cada punto (Figura 1) se midieron in situ niveles de temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto. Fueron cedidos los datos de amoníaco relevados y cuantificados por Esteban García correspondientes al mismo muestreo.

Área de estudio

Fueron en total 19 sitios de muestreo (Figura 1), los sitios del 1 al 6 al norte de la cuenca (2 en las nacientes del Arroyo Maldonado, y 4 en las del Arroyo San Carlos el cual es tributario al anterior) son de característica rural. En las cercanías de la ciudad de San Carlos hacia el norte se ubicaron los sitios 12 y 13 (uno en cada arroyo), el sitio 7 sobre la periferia de la ciudad hacia el suroeste en una cañada urbana afluyente al A. Maldonado, y el sitio 14 al sur sobre el A. San Carlos antes de la desembocadura en el A. Maldonado. Los sitios 8-11 hacia el oeste de dicha ciudad pertenecen a cañadas afluentes al A. Maldonado, los sitios 10 y 11 se encuentran respectivamente aguas arriba y abajo de un tambo; el 8 incluye el vertedero municipal en su cuenca y el 9 tiene un criadero de caballos. Se muestrearon 5 en el sur de la cuenca en donde el sitio 15 está situado en la periferia de la ciudad de Maldonado hacia el este, y pertenece a una cañada urbana que desemboca en el A. Maldonado. Otros cercanos al Balneario “La Barra” donde el sitio 17 está en una cañada afluyente al A. Maldonado y al norte de dicho balneario, y el 16 situado al margen del barrio “El Tesoro” sobre una cañada que desemboca en el arroyo aproximadamente hacia el noreste del puente de “La Barra” (Figura 4). Por último los sitios 18 y 19 (Figura 4) son los más cercanos a la desembocadura y se encuentran respectivamente aguas arriba y aguas abajo del mencionado puente.

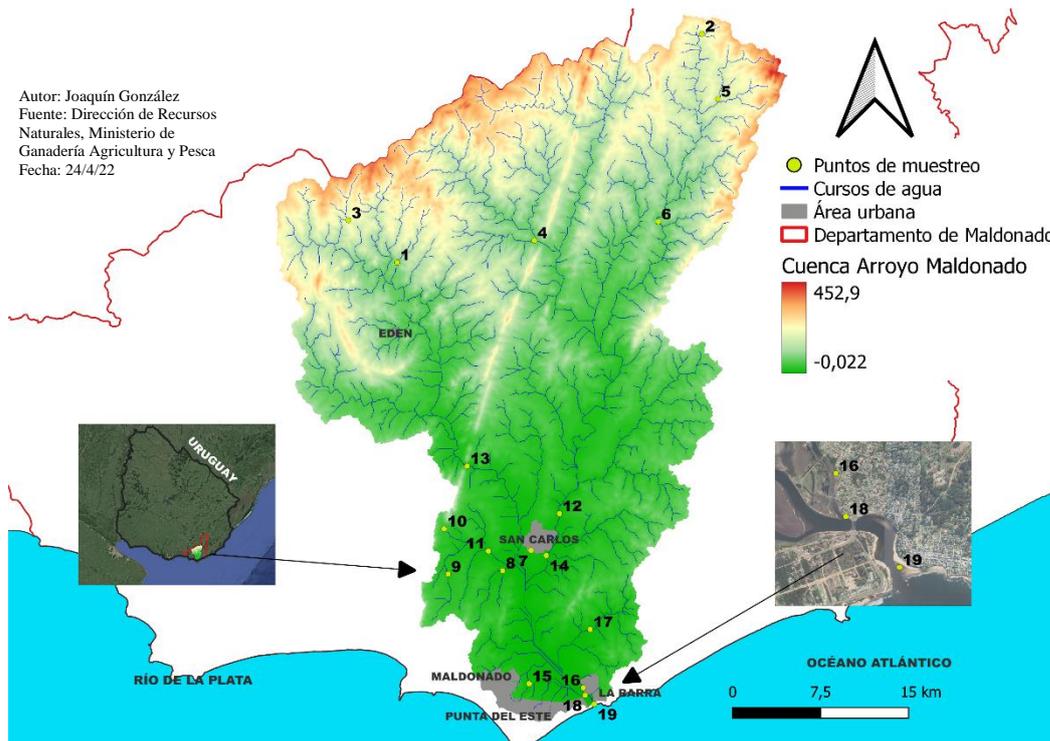


Figura 1: Elevación del terreno de la cuenca del Arroyo Maldonado con los sitios de muestreo.

Construcción de mapas

Se descargó el mapa de modelo de terreno de la Dirección General de Recursos Naturales (RENARE), en la sección Geoservicios del Geoportal del Observatorio Ambiental Nacional (OAN), web³ del Ministerio de Ambiente (MA). Con el mapa y mediante el paquete “r.water.outlet” de GRASS a través del software QGIS 3.22.1 se delimitó la cuenca (territorio que aporta agua al curso que contiene) del Arroyo Maldonado y las subcuencas de muestreo (cuencas de orden inferior contenidas dentro de la cuenca principal, tomándose como desembocadura el sitio de muestreo). Se descargó el mapa raster de cobertura del suelo de 2018 de la web⁴ del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (Petraglia et al., 2019). Se transformó el raster

³<https://www.ambiente.gub.uy/geoportal/> descargado el 19/6/19

⁴<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/mapa-integrado-coberturauso-del-suelo-del-uruguay-ano-2018> descargado el 20/4/22

a polígono y mediante expresiones condicionales de tabla de atributos se generó una variable de uso del suelo para cada tipo de uso según su valor (Petraglia et al., 2019). Los tipos de uso “Pastizal natural” y “Pastizal regenerado” se trataron por igual generándose una sola variable “pastizal”, de igual manera “Bosque natural” y “Bosque plantado”. Mediante el algoritmo “Recortar” del menú “Geoprocesos” de QGIS se recortó con el mapa generado de la cuenca y de las subcuencas, generando el mapa de cobertura del suelo de la cuenca del Arroyo Maldonado (Figura 2) y en un mapa de la cobertura del suelo para cada sitio (e.g. Figura 3).

Para el cálculo de área de cobertura del suelo, se utilizó la calculadora de atributos de QGIS calculando el área de los polígonos categorizados por uso del suelo de los mapas realizados anteriormente. Se exportaron los datos hacia Microsoft Excel y mediante sumatorias condicionales (según uso del suelo) se calcularon las áreas de los usos del suelo de cada cuenca y los porcentajes de cobertura (Tablas 5 y 6). Desde el Geoportal se descargaron (22/05/21) mapas con los puntos donde se ubican plantas de tratamiento y vertidos controlados por el MA se recortó con el mapa de la cuenca generándose el mapa de las plantas y vertidos de la cuenca (Figura 4).

Cuantificación de coliformes y *Enterococcus*

La cuantificación de coliformes y *Enterococcus* se hizo por separado mediante recuento en placa luego de filtración por membrana. Se filtraron las muestras de agua sobre filtros de nitrocelulosa de 47 mm de diámetro cuadrículados estériles de $0,45 \mu\text{m} \pm 0,02 \mu\text{m}$ de diámetro de poro, luego se sembraron las bacterias colocando los filtros en placas de Petri estériles de plástico descartables de 47 mm de diámetro aproximadamente con el medio de cultivo específico (m-FC Agar de Acumedia para coliformes y M-Enterococcus Agar Base de Himedia para *Enterococcus*), incubando *Enterococcus* a

37,5°C por 48hs y coliformes a 41°C por 24hs (incubadoras Daihan Scientific). Posteriormente se contabilizaron las unidades formadoras de colonias, *Enterococcus* forman un haz de color rojo y coliformes azul (véase Anexo Figuras 1A y 2A).

Los niveles obtenidos de coliformes se compararon con los máximos establecidos en las clases 2b y 3 del Decreto 253/79, Resolución del MVOTMA (s/n del 25/02/2005), y en la guía de aptitud y clasificación de playas. Los resultados de *Enterococcus* se compararon con los recomendados por la guía Canadiense (Health Canada, 2012). Se puso atención en las muestras donde hubo incumplimiento de la normativa en los valores de coliformes o *Enterococcus* y parámetros fisicoquímicos.

Para *Enterococcus* se tomó como referencia el valor límite aceptable de ≤ 70 UFC/100mL, es un parámetro para agua de mar ya que la guía canadiense en agua dulce usa *E. coli* (Health Canada, 2012). Se multiplicó el valor de referencia por dos y por cinco (140 y 350 UFC/100mL) para extrapolarlo en aguas dulces, teniendo que ante iguales concentraciones del indicador en agua dulce y de mar, la patogenicidad es de dos a cinco veces más alta en mar (U.S EPA, 2012). Entonces para obtener un estándar en todas las aguas y obtener valores límites de igual patogenicidad debería ser el valor límite del indicador cinco veces menor (más estricto) que en agua dulce. Este valor deducido es más adecuado para este estudio en el que se obtuvo tres muestras por sitio y no es adecuado construir medidas de tendencia las cuales son usadas en otras guías.

Análisis estadísticos

Mediante Excel se registró los datos y con el software RStudio 3.6.1 se desarrollaron modelos lineales generalizados para buscar relaciones estadísticas entre los conteos de BIF, los parámetros físico-químicos y los porcentajes de cobertura del suelo. Con el fin de analizar cuál de los indicadores tenía una mayor variabilidad explicada y más

relaciones con las variables analizadas. Se generaron variables de área de tipo de uso del suelo como resultado de la información obtenida en la construcción de mapas. También se generaron dos variables categóricas de tres factores, “Cuenca” y (Alta, Media y Baja) “Estación” (Invierno, Primavera y Verano) correspondientes a las estaciones y partes de la cuenca en las que se tomaron las muestras. Se estandarizaron las variables numéricas.

Las variables elegidas para los modelos surgieron de la comparación de la concentración de coliformes y *Enterococcus* según estación y cuenca mediante gráficos y estadísticos descriptivos. Además se construyeron matrices de correlaciones de Pearson para analizar las relaciones entre las variables explicativas numéricas y las variables explicadas (indicadores microbiológicos), y las correlaciones entre variables explicativas (Figura A5).

Se analizó inicialmente que distribución se ajusta mejor a la variable explicada (indicador microbiológico) (Figuras A3, A4, A6 y A7). Para los conteos de *Enterococcus* y coliformes se construyeron dos modelos lineales generalizados, uno para cada indicador. Estos modelos emplearon la función de conexión log. Para cada caso se partió de un modelo inicial con todas las variables que podrían tener relación y se fueron generando modelos simplificados, quitando aquellas variables que no presentaban relación significativa.

Se estudió mediante test de razón de verosimilitud el estadístico Chi para evaluar las diferencias significativas entre el modelo de partida y los simplificados. Cuando hubo significancia en el test de verosimilitud pero la variable en cuestión no tuvo significancia en el análisis de varianza, para decidir la inclusión de la variable se analizaron otros estadísticos como el criterio de información de Akaike, la

sobredispersión y la variabilidad explicada. Se quitaron del análisis algunos datos correspondientes a extremos de las variables explicativas cuando el resultado del modelo presentaba zonas de ajuste sin datos.

La calidad de ajuste de los modelos finales a los datos fue evaluada mediante el análisis gráfico de los residuales del modelo frente a los datos ajustados, residuales frente a valores de las variables explicativas, normal Q-Q y distancias de Cook's (Faraway, 2015).

Resultados

Cobertura del suelo de la cuenca del Arroyo Maldonado

La cobertura del suelo en 2018 en el área de la cuenca fue mayormente de pastizal (70,2%), y en orden descendente le siguieron bosque nativo (11,8%), bosque plantado (5,54%), mezcla de campo natural, pasturas y rastrojos (5,50%) y otros (9%, donde el área urbana total fue 3,4%) (Figura 2 y Tabla 5). En la parte alta de la cuenca el área de cobertura que predominó en los sitios fue la pastizal y el bosque nativo, en la parte media es donde se encontraron las áreas más grandes de mezcla de campo natural, pasturas y rastrojos y un sitio con el 100% de área urbana perteneciente a la ciudad de San Carlos, mientras que en la parte baja se hallaron sitios caracterizados por el gran porcentaje de área urbana correspondiente a la ciudad de Maldonado y al balneario La Barra.

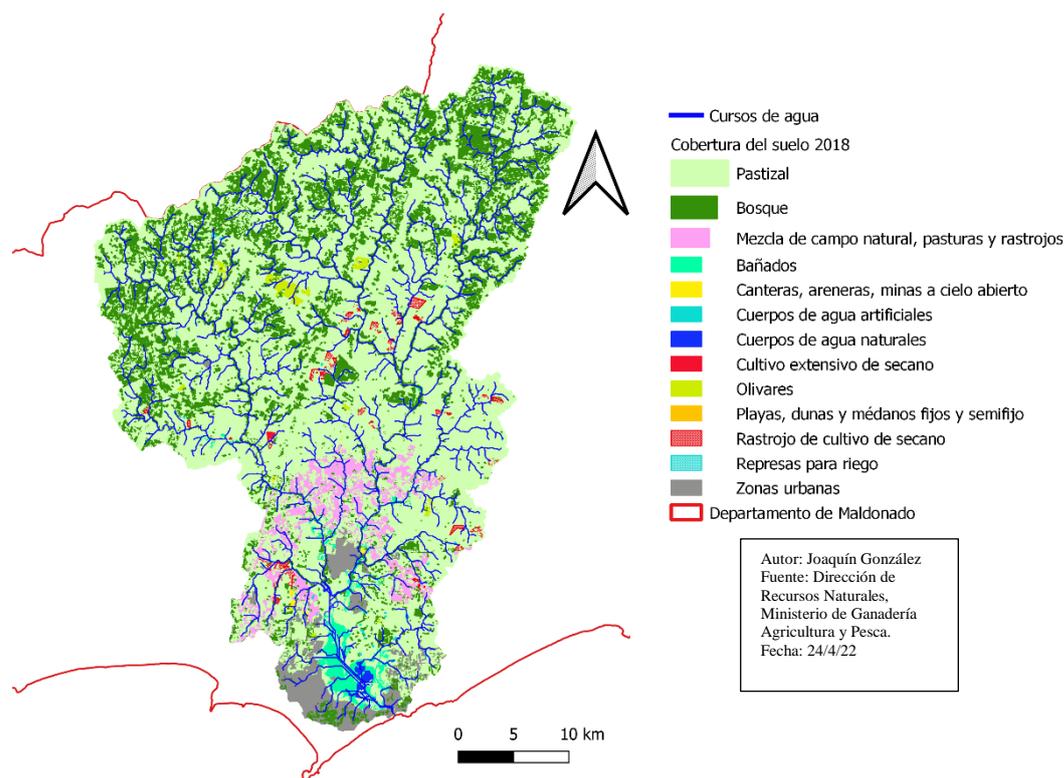


Figura 2: Cobertura del suelo de la cuenca del Arroyo Maldonado.

Tabla 5: Área (%) de la cuenca. Fuente: MGAP, RENARE.

Pastizal	70,219
Bosque	17,369
Mezcla de campo natural, pasturas y rastrojos	5,506
Bañados	1,686
Rastrojo de cultivo de secano	0,721
Cultivo extensivo de secano	0,087
Olivares	0,481
Canteras, areneras, minas a cielo abierto	0,063
Aguas artificiales	0,067
Aguas naturales	0,339
Represas para riego	0,031
Área urbanas y urbanizadas	3,427
Playas, dunas y médanos fijos y semifijos	0,003

El área de cobertura pastizal predominó significativamente en las microcuencas de quince sitios (Tabla 6), como ejemplo se muestra el sitio 17 (Figura 3.) En tres sitios predominó el área urbana, en un solo sitio predominó la mezcla de campo natural,

pasturas y rastrojos (41,3%) mientras que en otro fue el segundo tipo de cobertura con mayor porcentaje (36,4%). En dos sitios el área de monte nativo fue la segunda de mayor porcentaje (46,8% y 37,2%). Gran parte del área urbana se encuentra cubierta por el colector de saneamiento de OSE, aunque todavía existen zonas sin saneamiento⁵.

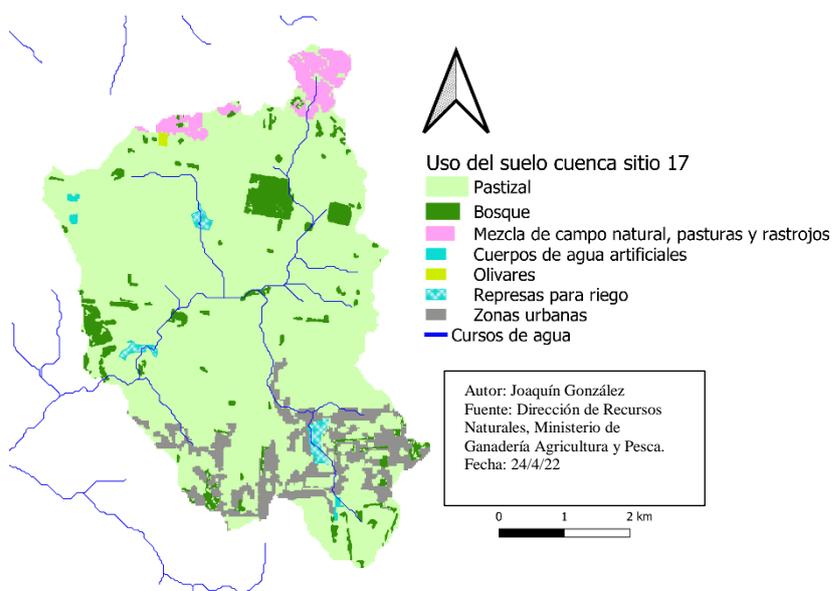


Figura 3: Cobertura del suelo de la cuenca del sitio 17.

Tabla 6: Cobertura del suelo (%) de la cuenca de cada sitio de muestreo. Fuente: MGAP, RENARE.

Sitio	Área (km ²)	Pastizal	Bosque	Campo natural, pasturas y rastrojos	Áreas Urbanas y urbanizadas	Otros
1	9,87	80,27	11,36			8,37
2	4,49	52,97	47,03			
3	9,70	69,63	30,04			0,12
4	28,03	78,75	9,27			11,98
5	16,86	62,41	37,59			
6	141,08	65,8	33,92			0,29
7	0,32				100	
8	9,03	48,48	17,8	14,53	11,91	7,28
9	9,78	39,94	13,67	41,32	5,05	0,01
10	1,18	78,4	17,86	1,83		1,91
11	46,04	47,24	8,19	36,48	2,15	5,95

⁵ <https://gisdev.ose.com.uy/visor>

12	802,89	75,65	19,48	2,99	0,01	1,88
13	345,46	76,28	22,49	0,01	0,09	1,14
14	854,59	74,94	18,85	3,83	0,44	1,93
15	5,65	0,01	15,4		83,82	
16	2,07	14,76			64,98	13,15
17	26,73	82,02	5,14	3,12	8,39	1,32
18	1481,10	70,36	17,38	5,52	3,27	3,47
19	1484,30	70,21	17,37	5,51	3,43	3,48

En la periferia de la ciudad de San Carlos sobre el arroyo homónimo se encuentra la planta de tratamiento de efluentes cloacales de la ciudad, y al oeste de la ciudad un tambo, y al suroeste un criadero de ñandúes y un relleno sanitario (Figura 4). La misma se proyecta ampliar y cambiar de lugar ya que fue construida para sanear aproximadamente 10.000 habitantes cuando la ciudad según el último censo (INE, 2011) tenía aproximadamente 27.000. De igual modo, se seguirá arrojando los líquidos tratados en el Arroyo San Carlos.

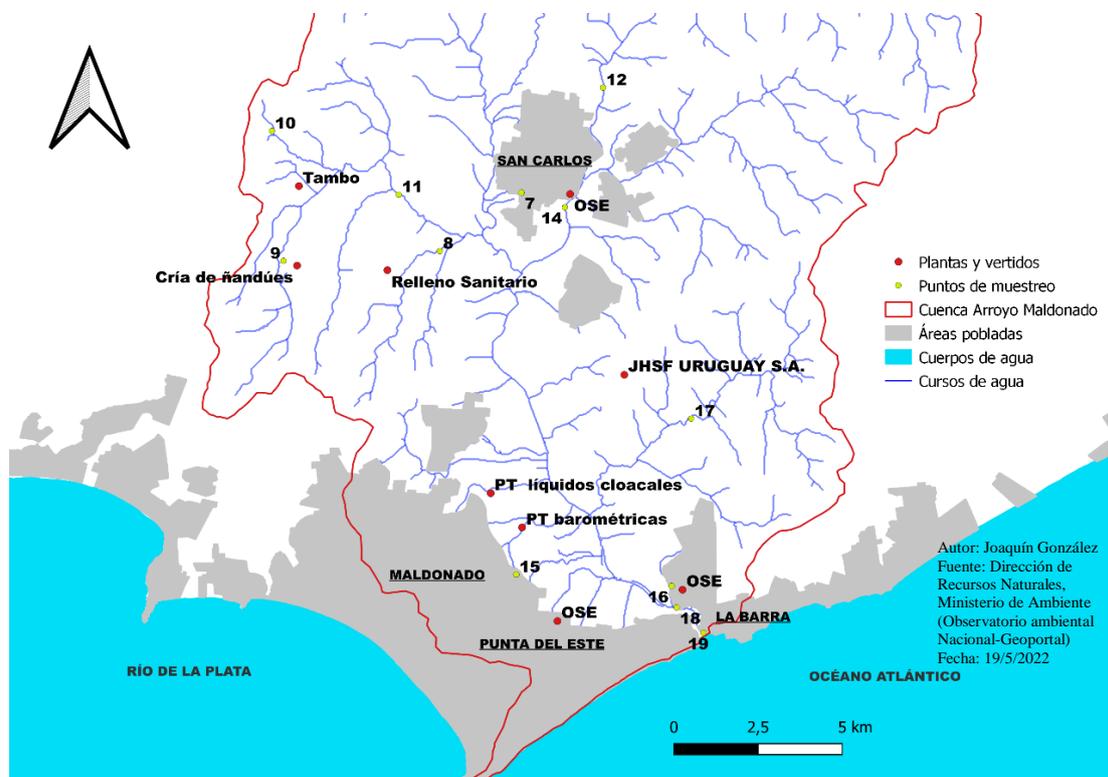


Figura 4: Plantas de tratamiento y sitios de interés en la cuenca baja del Arroyo Maldonado con los sitios de muestreo.

En la parte baja de la cuenca donde se encuentra gran parte de la ciudad de Maldonado y también el humedal del arroyo homónimo, se hallan cinco plantas de tratamiento de aguas residuales. Las plantas se encuentran en el padrón N° 2572 declarado por el Decreto N° 3931/2015 de la Junta Departamental parte del Eco- Parque Metropolitano del Humedal de los Arroyos Maldonado y San Carlos. Aunque la planta ubicada frente al barrio “La Candelaria” está proyectado eliminarla y conectar los colectores al saneamiento actual mediante una estación de bombeo (OSE, 2019). Las otras dos corresponden al tratamiento de efluentes de los balnearios La Barra y Manantiales; y la Maldonado-Punta del Este que arroja el saneamiento con tratamiento primario al humedal estuarino de la cuenca de Maldonado a través de salidas de emergencia (OAS & CIEMSA, 2012).

Concentraciones de BIFs y parámetros analizados

Según los valores de referencia del Decreto 253/79 y de la guía canadiense se encontraron altas concentraciones de BIFs en gran parte de las muestras. *Enterococcus* presentó más valores que excedentes en invierno. La mayoría de los valores de coliformes que incumplieron el decreto fueron en verano. La parte media de la cuenca del arroyo Maldonado presentó una mayor cantidad de valores altos (Figuras 5 y 6, Tabla A1). Se obtuvieron valores altos de ambos BIFs aguas abajo de plantas de tratamiento en los sitios 14, 18 y 19. Se encontraron niveles considerables de contaminación fecal en zonas rurales en los sitios de la parte alta de la cuenca.

Coliformes no cumplió la clase 3 del Decreto 253/79 (≤ 2000 UFC/100mL) en el 46% (25/54) de las muestras. Si se tomara en cuenta la clase 2b para aguas recreativas (≤ 1000 UFC/100mL, que no rige actualmente) el porcentaje aumentaría a 54% (29/54) (Figura 5a).

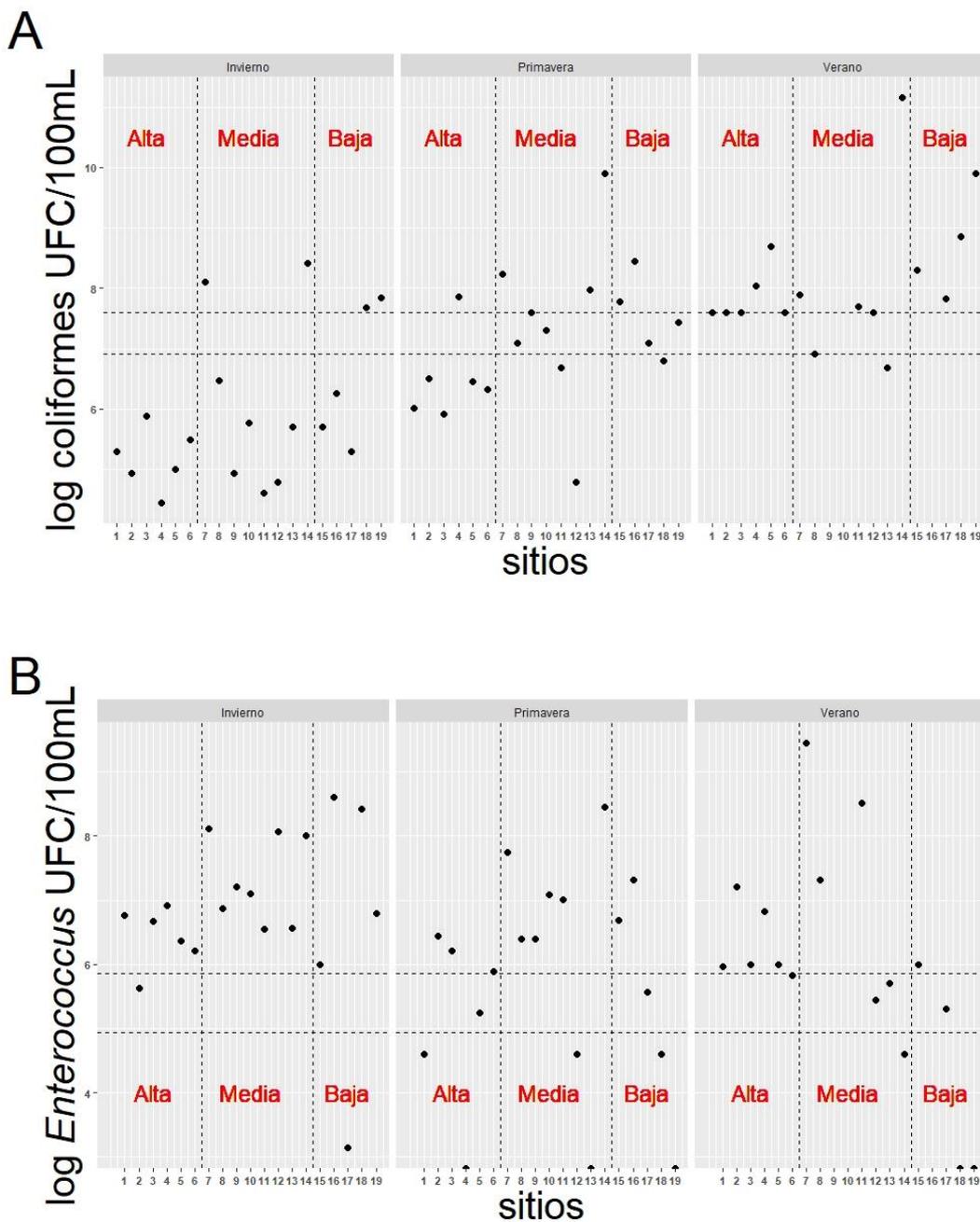


Figura 5: Concentraciones logarítmicas (base e) de indicadores microbiológicos entre las estaciones del año y las partes de la cuenca. a) coliformes UFC/100mL según cuenca y estación. La línea discontinua horizontal es el valor mínimo permitido para muestra única de la clase 3 y de la 2b del Decreto 253/79. b) *Enterococcus* UFC/100mL según cuenca y estación. Las líneas discontinuas horizontales son los valores guía de Canadá.

En general las concentraciones de coliformes crecieron desde la parte alta de la cuenca hacia la parte baja y de invierno a verano. En verano hubo una mayor cantidad de incumplimientos a la norma (14) y en la parte media (9) y baja (11) de la cuenca fue donde se concentraron la mayor parte de las muestras que incumplieron el decreto. En la parte alta más del 25% de los valores de coliformes superaron el valor de la clase 2b mientras que en la media más del 50% y en la baja más del 70%. Si se considera la clase 3 los valores bajan en la parte media y en la baja a más del 25% y más del 50% respectivamente, en la parte alta no cambian. Independientemente de los valores de referencia los porcentajes de muestras que incumplen el parámetro de coliformes no cambian en invierno ni en verano siendo menos del 25% y más del 80%. De lo contrario en primavera fue más del 25% que superaron la clase 3 y más del 50% la clase 2b. El valor máximo (70000 UFC/100mL) fue en la parte media de la cuenca y en verano.

Tabla 7: Coliformes según partes de la cuenca. IQR: rango intercuartílico. Min: mínimo. Max: máximo. N°datos: número de datos. 25%: primer cuartil. 75%: tercer cuartil.

Cuenca	IQR	min	25%	mediana	75%	max	N° datos
Alta	1726,25	85	273,75	600	2000	6000	18
Media	2447,5	100	402,5	1350	2850	70000	22
Baja	2666	200	975.00	2284	3641	20000	14

Tabla 8: Coliformes según estación del año. IQR: rango intercuartílico. Min: mínimo. Max: máximo. N°datos: número de datos. 25%: primer cuartil. 75%: tercer cuartil.

Estación	IQR	min	25%	mediana	75%	max	N° datos
Invierno	440	85	145	300	585	4500	19
Primavera	1845	120	655	1200	2500	20000	19
Verano	2500	800	2000	2350	4500	70000	16

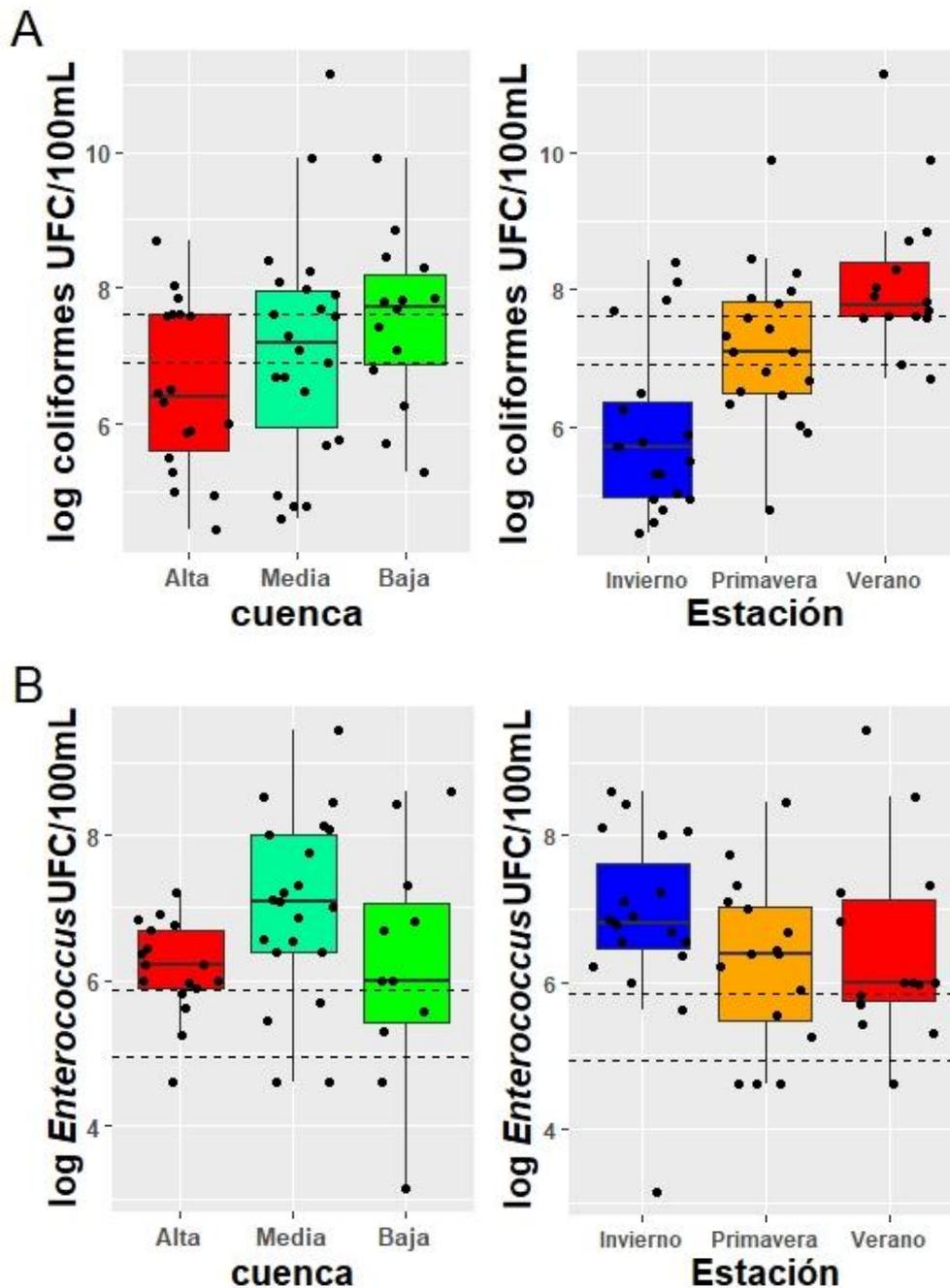


Figura 6: Diferencias del logaritmo (base e) de BIF's entre las partes de la cuenca y las estaciones a) coliformes UFC/100mL. La línea discontinua horizontal es el valor mínimo permitido para muestra única de la clase 3 y de la 2b del Decreto 253/79. b) Enterococcus UFC/100mL. Las líneas discontinuas horizontales son los valores guía de Canadá. La línea negra sobre las cajas indica la mediana, el borde superior e inferior de las cajas indican respectivamente el percentil 75 y 25, la línea transversal a las cajas no se extiende más de 1,5 veces el rango intercuartílico mientras que los puntos negros son los valores.

Según el valor de referencia más exigente para *Enterococcus* (≤ 140 UFC/100mL) el 81,5% de las muestras (44/54) superó el límite establecido en la guía canadiense (Figura 5b). Para el valor guía más permisible (≤ 350 UFC/100mL) el 68,5% (37/54) presentaron valores por encima del límite.

Generalmente no hay grandes diferencias en las concentraciones de *Enterococcus* entre las estaciones y las partes de la cuenca. A diferencia de coliformes la mayor parte de los valores excedentes se encontraron en invierno (18). En la parte media de la cuenca se concentró la mayor parte de las muestras (18) que superaron los valores de referencia. La parte media de la cuenca contiene la ciudad de San Carlos, la planta de tratamiento de aguas residuales de la mencionada ciudad, un tambo, un haras-criadero de ñandúes y el vertedero municipal que recibe lodos tratados de plantas de tratamiento (Figura 4).

Considerando el parámetro guía más exigente para *Enterococcus* las muestras que lo superaron fueron más del 75% en las partes alta y media y más del 50% en la baja, pero según el valor más permisible la parte alta presentó menos del 75% y la baja el 50% (Tablas 9 y 10, Figura 6b). En tanto que las muestras que superaron el parámetro más exigente entre las estaciones se distribuyeron de la siguiente forma: en invierno más del 75%, en primavera casi un 70% y en verano más del 80%. Mientras que teniendo en cuenta el parámetro más permisible las muestras que lo superaron bajaron especialmente en primavera y en verano a más del 50%. Como coliformes, el valor máximo (12700 UFC/100mL) también fue en la parte media de la cuenca y en verano.

Tabla 9: *Enterococcus* según partes de la cuenca. IQR: rango intercuartílico. Min: mínimo. Max: máximo. N°datos: número de datos. 25%: primer cuartil. 75%: tercer cuartil.

Cuenca	IQR	min	25%	mediana	75%	max	N° datos
Alta	406,5	0	345	450	751,5	1360	18
Media	2225	0	600.00	1150	2825	12700	22
Baja	832,75	0	42,25	330	875	5460	14

Tabla 10: *Enterococcus* según estación del año. IQR: rango intercuartílico. Min: mínimo. Max: máximo. N°datos: número de datos. 25%: primer cuartil. 75%: tercer cuartil.

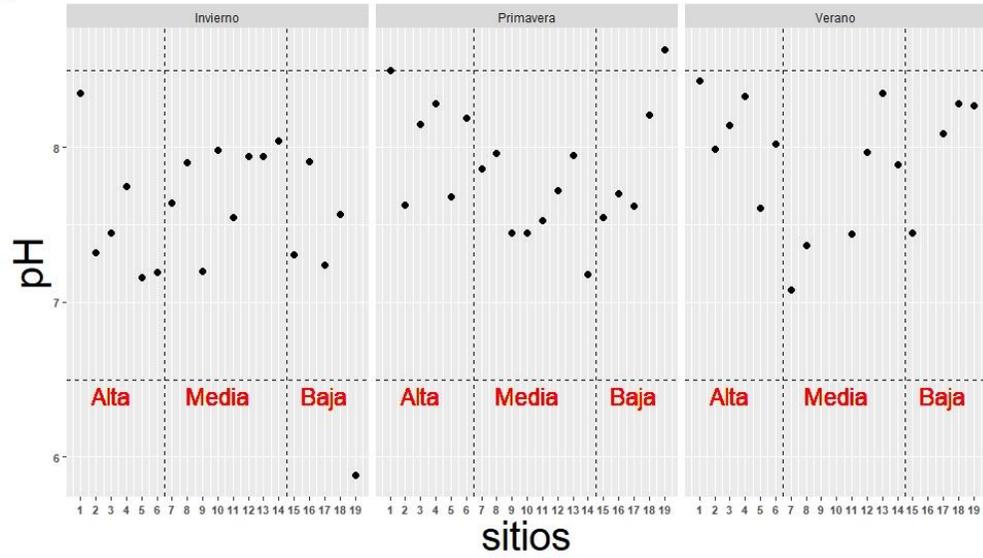
Estación	IQR	min	25%	mediana	75%	max	N° datos
Invierno	1539,5	23	640,5	900	2180	5460	19
Primavera	850	0	100	500	950	4700	19
Verano	807,5	0	222,5	395	1030	12700	16

Se encontraron valores de BIFs que no cumplieron los estándares de referencia en sitios de la parte alta de la cuenca (2, 3, 4, 5 y 6; Figura 5) donde el uso del suelo que dominó fue pastizal seguido de bosque (Tabla 6). *Enterococcus* no cumplió los valores de referencia de la guía canadiense, en invierno en los sitios 3, 4, 5 y 6, en primavera en el 2 y 3, y en verano en los sitios 2, 3, 4 y 5. Mientras que coliformes superó el valor límite de la normativa uruguaya en verano en los sitios 2, 3, 4, 5 y 6; y en primavera el sitio 4. Los sitios 2, 3 y 5 en verano tuvieron la peor calidad del agua según los BIFs. En la parte media de la cuenca se destaca el sitio 14 donde las BIF`s siempre incumplieron los parámetros de referencia excepto *Enterococcus* en primavera, mientras que en los sitios 18 y 19 en invierno incumplieron ambas BIF`s.

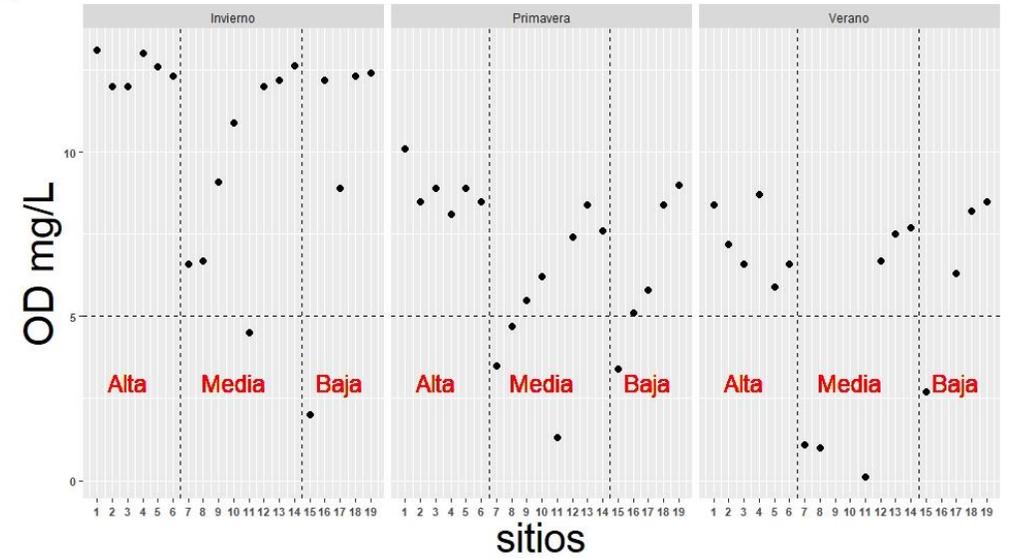
Según la clase 3 del Decreto 253/79 el pH se halló fuera de los límites establecidos (pH entre 6,5 y 8,5) (Figura 7a, Tabla A1) en la parte baja de la cuenca y específicamente en el sitio 19 en invierno y primavera. Mientras que el oxígeno disuelto presentó diez muestras (sitios 7, 8, 11 y 15) que incumplen la clase 3 (5 mg/L) principalmente en la parte media de la cuenca y escasamente en invierno, mientras que en la parte alta de la cuenca todos los valores cumplen el decreto (Figura 7b, Tabla A1). En los sitios 11 y 15 los valores de oxígeno disuelto nunca cumplieron la norma y los sitios 7 y 8 cumplieron solo en invierno. En tanto la conductividad presentó los valores más altos (salinos) en verano en los sitios 18 y 19 ubicados en la desembocadura de la cuenca (Figura 7c, Tabla 7), lo cual es esperable debido al aumento de agua salina proveniente del océano Atlántico. Los sitios 11, 14, 15 y 16 presentaron valores cercanos a 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ considerados salobres (<0,5 g/L) (APHA 1992).

Es interesante remarcar los sitios donde coincidieron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que incumplieron la clase 3 del Decreto 253/79 o el valor de referencia más permisible de la guía canadiense (Figuras 5 y 7). Este es el caso del sitio 19 donde en invierno los valores de pH, coliformes y *Enterococcus* no cumplieron la norma. Mientras que de los cuatro sitios que se hallaron incumpliendo el oxígeno disuelto, dos (7 y 15) se encuentran en cañadas urbanas y los otros dos (8 y 11) se encuentran en zonas suburbanas con vertidos industriales (Figura 4). En verano los sitios 7, 11 y 15 presentaron valores que incumplieron oxígeno disuelto, coliformes y *Enterococcus*, lo mismo sucedió en primavera en los sitios 7 y 15. Ambientes dulceacuícolas presentaron valores considerados salobres y coincidieron con concentraciones de coliformes (11 y 14 en verano) o *Enterococcus* (sitios 15 y 16 en invierno, y 11 en verano) que incumplieron los valores de referencia. Además el sitio 11 en verano no cumplió con el parámetro de oxígeno disuelto.

A



B



C

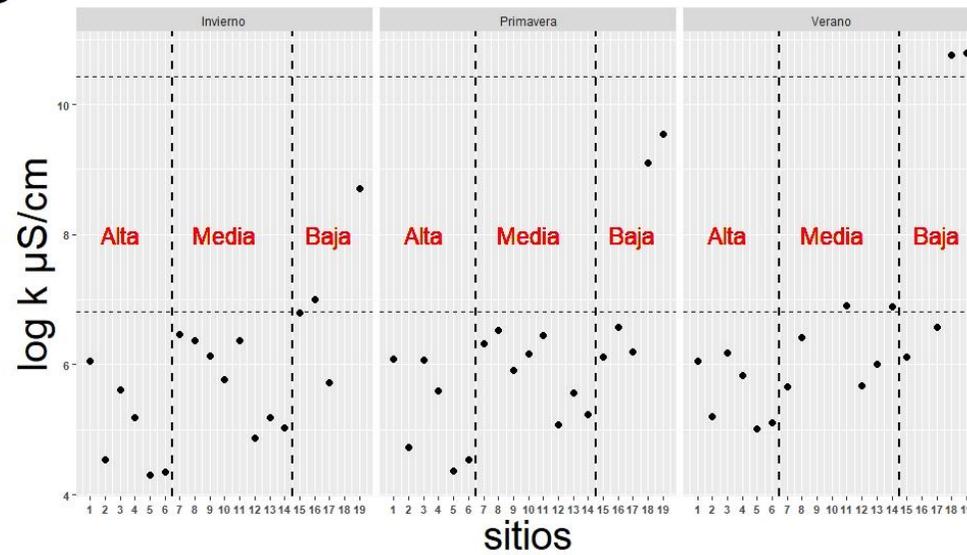


Figura 7: Concentraciones de parámetros fisicoquímicos entre las estaciones del año y las partes de la cuenca. a) pH. b) Oxígeno disuelto (OD). Las líneas discontinuas horizontales son los valores de la clase 3 del Decreto 253/79. c) Conductividad (k) en logaritmos (base e). Las líneas discontinuas horizontales marcan aguas dulces, salobres y salinas

Asociaciones entre las BIFs y variables ambientales.

Los datos analizados de coliformes fueron más sensibles que los de *Enterococcus* a los modelos desarrollados ya que su modelo explicó mayor variabilidad del indicador en cuestión y presentó relaciones significativas con más variables explicativas. Los modelos relacionan los promedios de BIF's con las variables independientes en términos de desviación estándar.

Coliformes se diferenció significativamente ($p < 0,05$) entre la cuenca alta y la media (1017 y 2290 UFC/100mL) aumentando significativamente de manera exponencial (a 4252 y 9577 UFC/100mL) cuando la temperatura ($p < 0,001$) y el área de las subcuencas ($p < 0,001$) incrementan de 19,05 a 24,65°C y de 294 a 496 km² (Figura 8, Tabla 11). Coliformes no presentó relaciones significativas con la estación del año. El modelo explicó respectivamente un 61% la variabilidad de coliformes. Mientras que *Enterococcus* se relacionó negativamente con el aumento del pH ($p < 0,01$) de 7,75 a 7,8 unidades y la relación con la conductividad no fue significativa (Figura 9, Tabla 12). El modelo explicó un 15% la variabilidad de *Enterococcus*. Se analizaron los residuales de los modelos y ambos mostraron un ajuste adecuado de los datos (Figuras A8 y A9). No se encontraron relaciones significativas entre las BIF y las variables de uso del suelo.

La conductividad se incluyó en el modelo que tiene a *Enterococcus* como variable dependiente porque mejora los parámetros del mismo (véase Metodología, Análisis estadísticos). De lo contrario, para el modelo que tiene a coliformes como variable dependiente se decidió no incluir la conductividad ya que no mejora los parámetros a pesar que hubo diferencias estadísticas significativas entre los modelos con y sin conductividad.

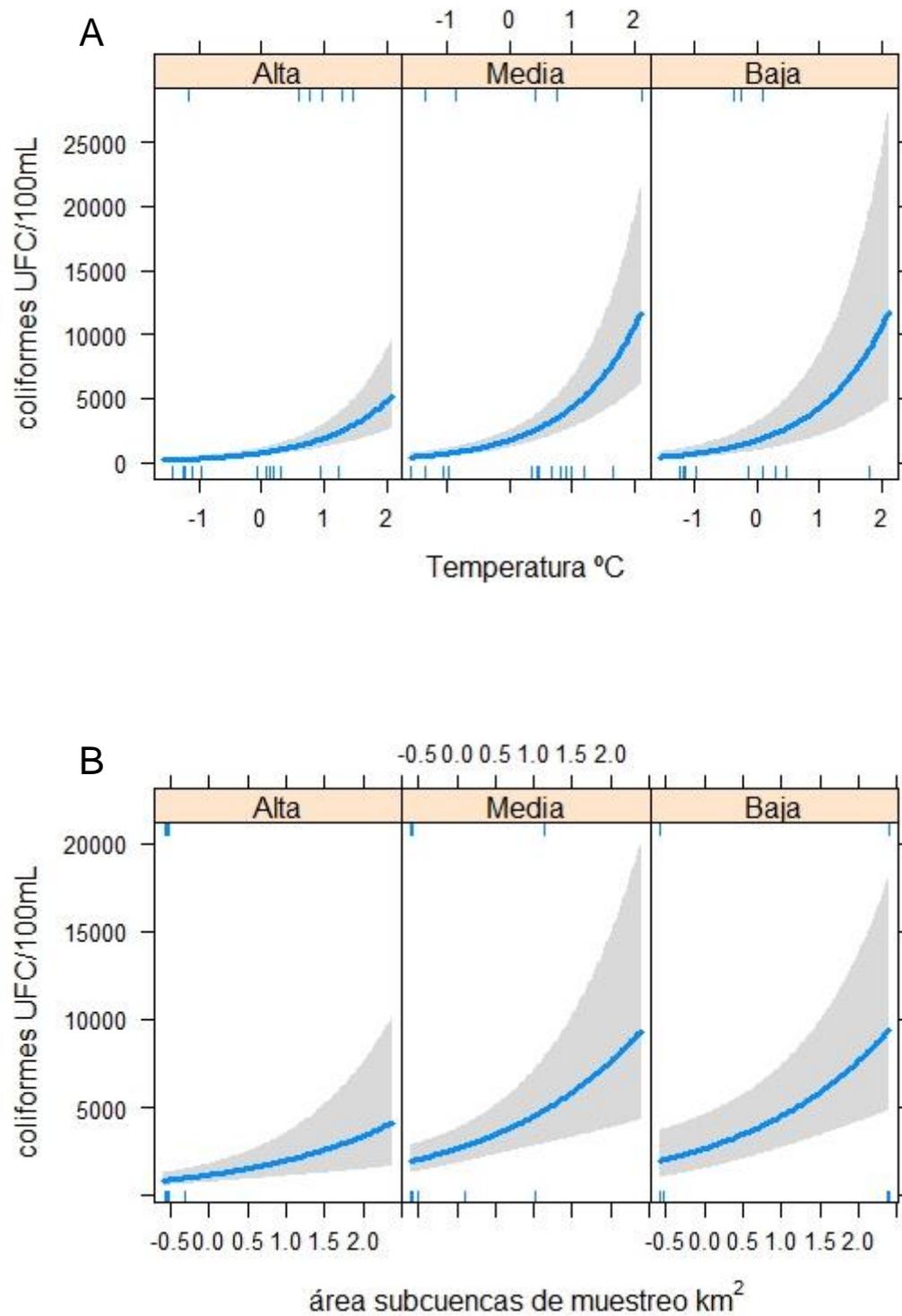


Figura 8: a) Relación entre Coliformes y temperatura según las partes de la cuenca. b) Relación entre coliformes y el área (km²) de las subcuencas según las partes de la cuenca. Valores estimados (línea azul) e intervalo de confianza (sombreado gris). Las marcas en los ejes son los residuales parciales⁶ positivos (arriba) y negativos (abajo), véase Tabla A6 para más detalles.

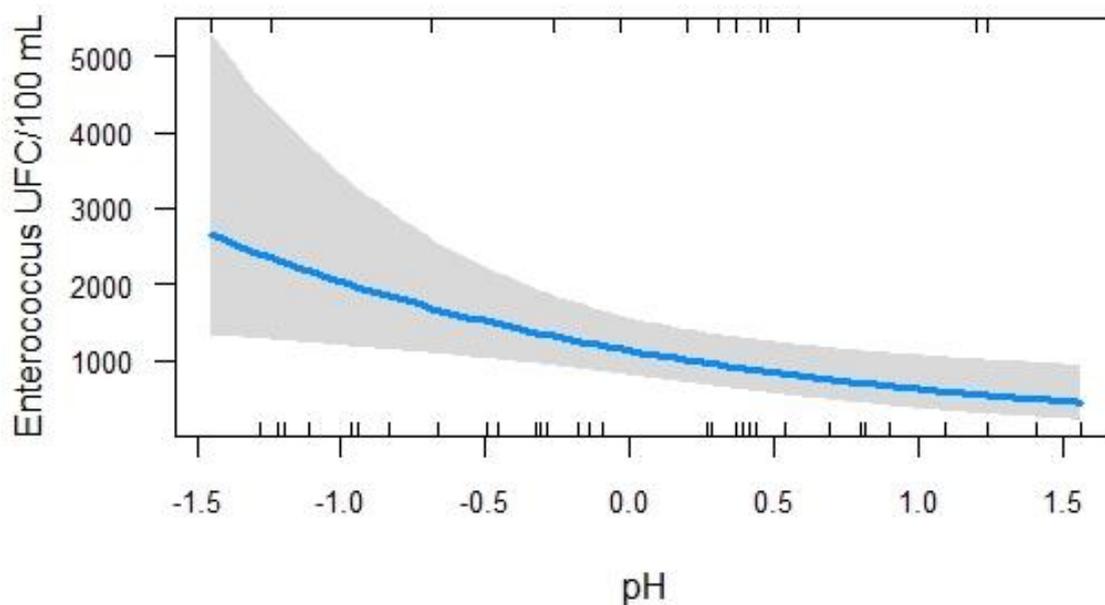


Figura 9: Relación entre *Enterococcus* UFC/100mL y el pH. Valores estimados (línea azul) e intervalo de confianza (sombreado gris). Las marcas en los ejes son los residuales parciales⁶ positivos (arriba) y negativos (abajo), véase Tabla A7 para más detalles.

Tabla 11: Parámetros estimados por el modelo de coliformes.

	T°	Área (km ²)	Cuenca alta	Cuenca media	Cuenca baja	Variabilidad explicada	Sobre dispersión
	0,907	0,523	6,924	7,736	7,739	61%	1,238
Error estándar	0,125	0,142	0,223	0,289	0,379		
p-valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,05		

⁶ Siendo \mathbf{r} el vector de residuos para un ajuste de modelo dado, los **residuos parciales** pertenecientes a la variable \mathbf{j} se definen como

$$r_j = y - X_{-j}\beta_{-j} \quad (2)$$

$$= r + x_j\beta_j, \quad (3)$$

donde el subíndice $-j$ se refiere a la parte de \mathbf{X} o β que queda después de eliminar la \mathbf{j} -ésima columna/elemento (Breheny & Burchett, 2017).

Tabla 12: Parámetros estimados por el modelo de *Enterococcus*.

	Intercepto	Cond μS/cm	pH	Variabilidad explicada	Sobre dispersión
	8,861	7,330	-0,591	15%	1,293
Error estándar	1,530	6,117	0,214		
p-valor	<0,001	n/s	<0,01		

Discusión

Indicadores microbiológicos y parámetros fisicoquímicos

Aguas abajo de plantas de tratamiento en aguas salinas se hallaron bajas concentraciones de *Enterococcus* a la vez que se hallaron altas concentraciones de coliformes. Esto coincide con el hecho de que *E. coli* (especie predominante en el grupo de coliformes) se encuentra en el intestino humano en concentraciones de un orden superior a las de *Enterococcus*, y que aproximadamente igual magnitud de diferencia fue hallada en efluentes de plantas de tratamiento de aguas cloacales (WHO, 2021; Francy et al., 2012).

El valor bajo del pH en el sitio 19 en invierno puede ser por un efecto indirecto de la lluvia y el valor alto en primavera por el aumento de la temperatura y del crecimiento de algas que reducen el dióxido de carbono⁷. Es posible que los valores bajos de oxígeno

⁷ <https://www.epa.gov/caddis-vol2/ph>

disuelto sean por contaminación fecal o por el aumento de la temperatura del agua y el crecimiento de algas que consumen oxígeno⁸.

Modelos estadísticos

Las diferencias significativas halladas en el promedio de coliformes entre las partes de la cuenca (menos entre media y alta) era la esperada ya que antes de la construcción de los modelos se presumió la relación con las gráficas de cajas (Figura 9). Es intuitivo que la parte alta de la cuenca sea la menos impactada ya que es la menos urbanizada. Como se esperaba, coliformes se relacionó positivamente con el aumento de la temperatura del agua (Figuras 8a).

La relación positiva entre coliformes y la temperatura del agua coincide con estudios previos que han confirmado que la temperatura es un factor determinante en el crecimiento y sobrevivencia de *E. coli* (mayor representante de coliformes) (Jang et al., 2017). La mencionada relación podría estar asociada a las estaciones del año aunque no hubo significancia entre coliformes y la estación. Podría haber un efecto de la temperatura que aumente las poblaciones de bacterias y también de virus patógenos.

Coliformes presentó una significativa relación con el área (km²) de las subcuencas. Henry y colaboradores (2016) encontraron relaciones positivas entre *Enterococcus*, el caudal y la lluvia. Las cuencas mayores tienen mayor captación de agua de lluvia y por escorrentía aportarían más materia fecal a los cursos de agua.

La relación negativa entre *Enterococcus* y el pH no fue la esperada ya que Sowah y colaboradores (2014) encontraron una correlación positiva entre los mencionados indicadores. La asociación negativa puede estar relacionada con los valores más altos de

⁸ <https://www.epa.gov/caddis-vol2/dissolved-oxygen>

Enterococcus que se encontraron en la parte media de la cuenca mientras que los valores más elevados de pH en las partes alta y baja.

La abundancia media de coliformes y *Enterococcus* presentaron relaciones con distintas variables lo que sugiere que distintas condiciones ambientales pueden causar diferentes cuantificaciones de los mismos, por lo tanto su uso en conjunto podría indicar mejor la contaminación fecal. Por ser el indicador que presentó mayor variabilidad explicada por el modelo y por relacionarse significativamente con una variable ambiental como la temperatura, los conteos de coliformes bajo el método implementado pueden ser sobre interpretados ya que la contaminación fecal explica una parte de los resultados.

Aquellas cuencas de menor área son estadísticamente menos fiables que las de áreas mayores (Olaya, 2020). No se consideró auto correlación espacial entre los sitios de muestreo; es decir que pueden haber relaciones significativas entre valores obtenidos de distintos sitios explicadas por su ubicación geográfica (Olaya, 2020). Para los modelos no se tuvieron en cuenta otras variables que pueden explicar la variación de las bacterias indicadoras fecales, como los sitios puntuales de contaminación fecal de manera similar al estudio de Sowah y colaboradores (2014).

Comentarios finales

Es el primer estudio donde evalúan dos BIFs mediante GLM realizado a nivel de cuenca para Uruguay, remarcando la necesidad de mayores estudios y monitoreos ambientales en las cuencas del país. Este estudio sugiere que estudiar la relación de bacterias indicadoras fecales con variables ambientales en cursos de agua a nivel cuenca es buen método para probar la utilidad de los mismos. El análisis estacional a nivel cuenca de los indicadores de contaminación fecal permitiría identificar las fuentes polución, como

proponer medidas de manejo socio-ecosistémico. Se recomienda a la Intendencia de Maldonado (IM) monitorear la cuenca del Arroyo Maldonado. Dándole relevancia a las plantas de tratamiento para analizar los altos niveles hallados aguas abajo de las mismas.

Teniendo en cuenta la resolución 852/2020 INDDHH se sugiere a los organismos competentes la adecuación del Decreto 253/79 al conocimiento actual apoyándose en la investigación científica interdisciplinar, la coordinación institucional y la participación ciudadana. Se recuerda que no es necesario la creación de una nueva norma ya que según el Art. 16 del mencionado decreto se pueden agregar nuevos parámetros o hacer más exigentes los establecidos.

Para el análisis y la evaluación de las fuentes de contaminación fecal, se recomienda a los técnicos el uso de *E. coli* o coliformes y *Enterococcus* como bacterias indicadoras fecales a nivel cuenca. Este estudio sugiere que la abundancia de coliformes o *E. coli* es un indicador apropiado para medir la contaminación fecal de plantas de tratamiento.

Bibliografía

- APHA. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Breheeny P and Burchett W (2017). Visualization of Regression Models Using visreg. *The R Journal*, 9: 56-71.
- Bortagaray Galluzo, V. (2018). Análisis de las fuentes de contaminación fecal mediante el uso de indicadores virales especie específicos en las cuencas de los Ríos Santa Lucía y Uruguay [UDELAR, CENUR Litoral Norte, Salto].
- Bourel, M., Segura, A. M., Crisci, C., López, G., Sampognaro, L., Vidal, V., Kruk, C., Piccini, C., & Perera, G. (2021). Machine learning methods for imbalanced data set for prediction of faecal contamination in beach waters. *Water Research*, 202(July). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117450>
- Bradshaw, J. K., Snyder, B. J., Oladeinde, A., Spidle, D., Berrang, M. E., Meinersmann, R. J., Oakley, B., Sidle, R. C., Sullivan, K., & Molina, M. (2016). Characterizing relationships among fecal indicator bacteria, microbial source tracking markers, and associated waterborne pathogen occurrence in stream water and sediments in a mixed land use watershed. *Water Research*, 101, 498-509. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.014>
- Cabelli, V. J. (1983). Health Effects Criteria for Marine Recreational Waters. *Environmental Protection Agency*.
- Caffera, M. (2002). *Análisis Económico de la Política de Control de la Contaminación Hídrica de Origen Industrial en el Departamento de Montevideo*.
- Cantor, J., Krometis, L. A., Sarver, E., Cook, N., & Badgley, B. (2017). Tracking the downstream impacts of inadequate sanitation in central Appalachia. *Journal of Water and Health*, 15(4), 580-590. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.005>

- Castiglioni, D., Rezende, C. E., Muniz, P., Muir, A. I., & García-Alonso, J. (2018). Trace Metals Bioavailability Approach in Intertidal Estuarine Sediments and Bioaccumulation in Associated Nereidid Polychaetes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *100*(4), 472-476. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2301-0>
- Charoena, N., & Fujioka, R. S. (1993). Assessment of staphylococcus bacteria in Hawaii's marine recreational waters. *Water Science and Technology*, *27*(3-4), 283-289. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0361>
- CEUTA, UdelaR, I. (2013). *Diagnóstico socioambiental orientado al estudio de las parasitosis intestinales y zoonosis: una experiencia de investigación participativa en un contexto de alta vulnerabilidad social en Ciudad Barros Blancos, Canelones.*
- Cotler, H., Galindo, A., González, I., Pineda, R. F., Ríos, E., Cotler-Avalos, H., Galindo-Alcántar, A., González-Mora, I. D., Pineda-López, R. F., & Ríos-Patrón, E. (2013). Cuencas hidrográficas: Fundamentos y Perspectivas para su manejo y gestión. Cuaderno de divulgación. *Cuadernos de divulgación Ambiental*, August 2015, 31. <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD001596.pdf>
- Crisci, C., Vidal, V., Eirin, K., Piccini, C., Kruk, C., Perera, G., & Universitario, C. (2021). Monitoreo de calidad de agua y predicción de coliformes fecales en playas de Montevideo mediante algoritmos de aprendizaje automático. *22*(22), 1-27.
- David, M. M., & Haggard, B. E. (2011). Development of regression-based models to predict fecal bacteria numbers at select sites within the Illinois River Watershed, Arkansas and Oklahoma, USA. *Water, Air, and Soil Pollution*, *215*(1-4), 525-547. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0497-7>
- DECRETO 253/79, 253 1 (1979).
- DECRETO 1594 DE 1984, 55 (1984).

Decreto N° 33903-MINAE-S, 16 (2007).

[https://www.aya.go.cr/centroDocumetacion/catalogoGeneral/Reglamento evaluación y clasificación de calidad de cuerpos de agua superficiales.pdf](https://www.aya.go.cr/centroDocumetacion/catalogoGeneral/Reglamento%20evaluaci%C3%B3n%20y%20clasificaci%C3%B3n%20de%20cuerpos%20de%20agua%20superficiales.pdf)

Decreto No 883, 24 (1995).

Decreto Supremo 002-2008, 12 (2008).

Directiva 2006/7/CE, (2006).

de León, F. (2019a). *Contaminación fecal en playas recreativas*. Universidad de la República (UDELAR), Centro Universitario Regional Este (CURE).

de León, F. (2019b). *Modelización de la calidad del agua basada en coliformes fecales en playas de La Paloma , Rocha , Uruguay como insumo para la gestión*. Universidad de la República (UDELAR), Centro Universitario Regional Este (CURE).

Economy, L. M., Wiegner, T. N., Strauch, A. M., Awaya, J. D., & Gerken, T. (2019). Rainfall and Streamflow Effects on Estuarine *Staphylococcus aureus* and Fecal Indicator Bacteria Concentrations. *Journal of Environmental Quality*, 48(6), 1711-1721. <https://doi.org/10.2134/jeq2019.05.0196>

Estudio Ingeniería Ambiental. (2003). Informe Ambiental Resumen. En *Journal of Chemical Information and Modeling*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Faraway, J. J. (2015). *Linear Models with R*. En *Texts in Statistical Science Series* (Vol. 2).

Fleisher, J. M., Fleming, L. E., Solo-Gabriele, H. M., Kish, J. K., Sinigalliano, C. D., Plano, L., Elmir, S. M., Wang, J. D., Withum, K., Shibata, T., Gidley, M. L., Abdelzaher, A., He, G., Ortega, C., Zhu, X., Wright, M., Hollenbeck, J., & Backer, L. C. (2010). The BEACHES study: Health effects and exposures from non-point source microbial contaminants in subtropical recreational marine waters. *International Journal of Epidemiology*, 39(5), 1291-1298. <https://doi.org/10.1093/ije/dyq084>

- Francy, D. S., Stelzer, E. A., Bushon, R. N., Brady, A. M. G., Williston, A. G., Riddell, K. R., Borchardt, M. A., Spencer, S. K., & Gellner, T. M. (2012). Comparative effectiveness of membrane bioreactors, conventional secondary treatment, and chlorine and UV disinfection to remove microorganisms from municipal wastewaters. *Water Research*, 46(13), 4164-4178. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.044>
- García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The enterococcus: A model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), 1-28. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>
- Geldreich, E. E., & Litsky, W. (1976). Fecal Coliform and Fecal Streptococcus Density Relationships in Waste Discharges and Receiving Waters. *C R C Critical Reviews in Environmental Control*, 6(4), 349-369. <https://doi.org/10.1080/10643387609381645>
- GESTA-Agua (2008). Propuesta de modificación del Decreto 253/79. Normas reglamentarias para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas. Versión consolidada setiembre 2008.
- Goyenola, Guillermo; Acevedo, Sandra; Machado, Irene; Mazzeo, N. (2009). Diagnóstico del Estado Ambiental de los Sistemas Acuáticos Superficiales del Departamento de Canelones. *Plan Estratégico Departamental de Calidad de Agua (PEDCA)* . FCIEN-UR, IMC, ACID, 1(1), 33.
- He, L. M. (Lee), & He, Z. L. (2008). Water quality prediction of marine recreational beaches receiving watershed baseflow and stormwater runoff in southern California, USA. *Water Research*, 42(10-11), 2563-2573. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.002>
- Health Canada. (2012). Guidelines for Canadian recreational water quality. En *Canadian Journal of Public Health* (Vol. 3).
- Henry, R., Schang, C., Kolotelo, P., Coleman, R., Rooney, G., Schmidt, J., Deletic, A., &

- McCarthy, D. T. (2016). Effect of environmental parameters on pathogen and faecal indicator organism concentrations within an urban estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 174, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.03.012>
- Herrig, I. M., Böer, S. I., Brennholt, N., & Manz, W. (2015). Development of multiple linear regression models as predictive tools for fecal indicator concentrations in a stretch of the lower Lahn River, Germany. *Water Research*, 85, 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.006>
- Howell, J. M., Coyne, M. S., & Cornelius, P. (1995). Fecal Bacteria in Agricultural Waters of the Bluegrass Region of Kentucky. *Journal of Environmental Quality*, 24(3), 411-419. <https://doi.org/10.2134/jeq1995.00472425002400030003x>
- Ibargoyen, J. J. G. A. M. D. (2018). *Evaluación en campo y experimental de indicadores microbiológicos de contaminación fecal en playas*. Universidad de la República (UDELAR), Centro Universitario Regional Este (CURE).
- Intendencia de Maldonado. (2012). Ordenamiento Territorial Eje Avenida Aparicio Saravia.
- Isacch, J. P., Costa, C. S. B., Rodríguez-Gallego, L., Conde, D., Escapa, M., Gagliardini, D. A., & Iribarne, O. O. (2006). Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast. *Journal of Biogeography*, 33(5), 888-900. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01461.x>
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Kang, J. H., Lee, S. W., Cho, K. H., Ki, S. J., Cha, S. M., & Kim, J. H. (2010). Linking land-use type and stream water quality using spatial data of fecal indicator bacteria and heavy metals in the Yeongsan river basin. *Water Research*, 44(14), 4143-4157.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.05.009>

Korajkic, A., McMinn, B. R., & Harwood, V. J. (2018). Relationships between microbial indicators and pathogens in recreational water settings. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(12), 1-39. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122842>

Korytny, L. M. (2017). The basin concept: From hydrology to nature management. *Geography and Natural Resources*, 38(2), 111-121. <https://doi.org/10.1134/S1875372817020019>

Kruk, C., Dobroyan, M., , Leticia González, Angel M. Segura, I. B., Natalia, Trabal, , Fernanda De León, Gastón Martínez, A. R., Piccini, C., & Verrastro, G. C. y N. (2018). Calidad de agua y salud ecosistémica en playas recreativas de La Paloma, Rocha. En *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Número 9). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Kruk, C., Dobroyan, M., Segura, A. M., & Balado, I. (2019). *Calidad de agua y su percepción en playas : La Paloma , Rocha*. 1-7.

LABORATORIO TECNOLOGICO DEL URUGUAY. (2012a). *INFORME PARCIAL DE ENSAYO N°1306334/2/FINAL Nombre*.

LABORATORIO TECNOLOGICO DEL URUGUAY. (2012b). *INFORME PARCIAL DE ENSAYO N°1313506/2/FINAL*.

LABORATORIO TECNOLOGICO DEL URUGUAY. (2013a). *INFORME PARCIAL DE ENSAYO N°1316418/2/FINAL Nombre*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

LABORATORIO TECNOLOGICO DEL URUGUAY. (2013b). *INFORME PARCIAL DE ENSAYO N°1353813/2/FINAL Nombre*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, N. M., & Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación

de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *CENIC Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.

McBride, G. B., Stott, R., Miller, W., Bambic, D., & Wuertz, S. (2013). Discharge-based QMRA for estimation of public health risks from exposure to stormwater-borne pathogens in recreational waters in the United States. *Water Research*, 47(14), 5282-5297. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.001>

Ministerio de Ambiente. (2020). Guía para definir la aptitud y la categorización de las playas. https://www.ambiente.gub.uy/oan/documentos/DCA_Protocolo_guia-APTITUD-Y-CATEGORIZACION-DE-LAS-PLAYAS_2020.pdf

Ministerio de Ambiente. (2020). RED DE MONITOREO DE PLAYAS Temporada 2019-2020.

Ministerio de Ambiente. (2021). Protocolo nacional de actuación frente a eventos ambientales en playas. <https://www.ambiente.gub.uy/oan/documentos/DCA-PROTOCOLO-NACIONAL-DE-ACTUACION-2021-12-20.pdf>

Ministerio de Ambiente. (2021). RED DE MONITOREO DE PLAYAS Temporada 2020-2021.

Ministry for the Environment. (2002). *Microbiological Water Quality Guidelines for Marine and Freshwater Recreational Areas*.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2017). *Microbiología Médica 8ed*. Elsevier Ltd.

MVOTMA. (2015). *RED DE MONITOREO COSTERO Monitoreo de playas Quinquenio 2010-2015 y temporada 2014 – 2015*.

MVOTMA. (2016a). *Monitoreo calidad del agua del Río Negro*.

MVOTMA. (2016b). *RED DE MONITOREO COSTERO Monitoreo de playas Quinquenio 2011-2016 y temporada 2015 – 2016*.

- MVOTMA. (2017). *RED DE MONITOREO COSTERO Monitoreo de playas, Quinquenio 2012-2017 y temporada 2016 – 2017.*
- MVOTMA. (2018a). *Calidad ambiental de la cuenca del Río Negro 2009 - 2017.*
- MVOTMA. (2018b). *Informe Monitoreo de Calidad del Agua de la Cuenca del Río Santa Lucía Año 2017.*
- MVOTMA. (2018c). *RED DE MONITOREO COSTERO Monitoreo de playas Quinquenio 2014-2018 20Temporada estival 2017 - 2018.*
- MVOTMA. (2019). *RED DE MONITOREO COSTERO Monitoreo de playas, Quinquenio 2013-2018 y temporada 2018 – 2019.*
- Norma Ambiental de Calidad de Aguas Superficiales y Zonas-Costeras, (2012).
- Norma de Calidad de Efluentes: Recurso Agua, Registro Oficial No. 387 24 (2015).
<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155128.pdf>
- OAS, & CIEMSA. (2012). *Sistema de saneamiento Maldonado – punta del este ESTACIONES DE BOMBEO Y PLANTA DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES MANUAL DE OPERACIÓN.*
- Olaya, V. (2020). *Sistemas de Información Geográfica.*
<https://github.com/volaya/librosig/releases/download/v3.0/Sistemas.de.Informacion.Geografica.pdf>
- OSE. (2019). *Sesión Parlamento.*
- Paz-Y-Miño, M., Barzola, C., Lazcano, C., Ponce, M., & León, J. (2003). Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana en la potabilización del agua. *Revista Peruana de Biología*, 10(2), 133–144. <https://doi.org/10.15381/rpb.v10i2.2495>

Petraglia, C., Dell'Acqua, M., Pereira, G., & Yussim, E. (2019). Mapa integrado de cobertura / uso del suelo del Uruguay, año 2018. En Anuario 2019 OPYPA (pp. 523-532). MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA.

[https://descargas.mgap.gub.uy/OPYPA/Anuarios/Anuario 2019/ORIGINAL 2019 OPYPA INTERACTIVO agregado 18-12-2019.pdf](https://descargas.mgap.gub.uy/OPYPA/Anuarios/Anuario%202019/ORIGINAL%202019%20OPYPA%20INTERACTIVO%20agregado%2018-12-2019.pdf)

PNUMA, Intendencia de Colonia, & CIEDUR. (2011). *GEO Carmelo*.

Quigg, A., Broach, L., Denton, W., & Miranda, R. (2009). Water quality in the Dickinson Bayou watershed (Texas, Gulf of Mexico) and health issues. *Marine Pollution Bulletin*, 58(6), 896-904. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.01.012>

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R

Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL

<https://www.R-project.org/>.

RESOLUÇÃO CONAMA nº 274 de 2000, 3 (2001).

Resolución Ministerial 251/2004, (2004).

Resolución Ministerial (2005). Resolución Ministerial S/n. Clasificación de cuerpos y cursos de agua.

Ribolzi, O., Evrard, O., Huon, S., Rochelle-Newall, E., Henri-des-Tureaux, T., Silvera, N., Thammahacksac, C., & Sengtaheuanghong, O. (2016). Use of fallout radionuclides (⁷Be, ²¹⁰Pb) to estimate resuspension of *Escherichia coli* from streambed sediments during floods in a tropical montane catchment. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4), 3427-3435. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5595-z>

Rochelle-Newall, E., Nguyen, T. M. H., Le, T. P. Q., Sengtaheuanghong, O., & Ribolzi, O. (2015). A short review of fecal indicator bacteria in tropical aquatic ecosystems:

- Knowledge gaps and future directions. *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR), 1-15.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00308>
- Ryan, U., Zahedi, A., & Paparini, A. (2016). Cryptosporidium in humans and animals—a one health approach to prophylaxis. *Parasite Immunology*, 38(9), 535-547.
<https://doi.org/10.1111/pim.12350>
- Schindwein, A. D., Rigotto, C., Simões, C. M. O., & Barardi, C. R. M. (2010). Detection of enteric viruses in sewage sludge and treated wastewater effluent. *Water Science and Technology*, 61(2), 537-544. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.845>
- Norma Mexicana NMX-AA-120-SCFI-2016., 86 (2016).
<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/213866/NMX-AA-120-SCFI-2016.pdf>
- Segura, C. A., González, L., Verrastro, N., & Kruk, C. (2018). *Calidad Bacteriológica de Agua en Playas Recreativas del Municipio de La Paloma en base a datos históricos proporcionados por la Intendencia Departamental de Rocha.*
- Sowah, R., Zhang, H., Radcliffe, D., Bauske, E., & Habteselassie, M. Y. (2014). Evaluating the influence of septic systems and watershed characteristics on stream faecal pollution in suburban watersheds in Georgia, USA. *Journal of Applied Microbiology*, 117(5), 1500-1512. <https://doi.org/10.1111/jam.12614>
- Soueidan, J., Warren, A., Pearson, M., & Montie, E. W. (2021). A changing estuary: Understanding historical patterns in salinity and fecal coliform levels in the May River, SC. *Marine Pollution Bulletin*, 168(November 2020), 112384.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112384>
- Soumastre, M. (2016). *Evaluación de la presencia de microorganismos indicadores indicadores de contaminación en agua subterránea del Parque Nacional Cabo Polonio.* Centro Universitario Regional Este, Rocha.

- Staley, Z. R., Rohr, J. R., & Harwood, V. J. (2011). Test of direct and indirect effects of agrochemicals on the survival of fecal indicator bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24), 8765-8774. <https://doi.org/10.1128/AEM.06044-11>
- US EPA. (2012). *Recreational Water Quality Criteria*. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/rwqc2012.pdf>
- US EPA. (2014). *Microbiological Risk Assessment (MRA) Tools, Methods, and Approaches for Water Media*. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-11/documents/microbial-risk-assessment-mra-tools-methods-and-approaches-for-water-media.pdf>
- Vadde, K. K., McCarthy, A. J., Rong, R., & Sekar, R. (2019). Quantification of Microbial Source Tracking and Pathogenic Bacterial Markers in Water and Sediments of Tiaoxi River (Taihu Watershed). *Frontiers in Microbiology*, 10(April), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00699>
- Venturini, N., Bicego, M. C., Taniguchi, S., Sasaki, S. T., García-Rodríguez, F., Brugnoli, E., & Muniz, P. (2015). A multi-molecular marker assessment of organic pollution in shore sediments from the Río de la Plata Estuary, SW Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 91(2), 461-475. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.056>
- Wang, Y., Chen, Y., Zheng, X., Gui, C., & Wei, Y. (2017). Spatio-temporal distribution of fecal indicators in three rivers of the Haihe River Basin, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(10), 9036-9047. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5907-3>
- WHO. (2003). WHO | Guidelines for safe recreational water environments. 1, 118-127. http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/srwe1/en/
- WHO. (2011). *Guidelines for drinking-water quality - 4th ed.* (Cuarta). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4410-6_184
- WHO. (2021). GUIDELINES ON RECREATIONAL WATER QUALITY. Coastal and Fr

Zetola, N., Francis, J. S., Nuermberger, E. L., & Bishai, W. R. (2005). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging threat. *Lancet Infectious Diseases*, 5(5), 275-286. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70112-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70112-2)

ANEXO

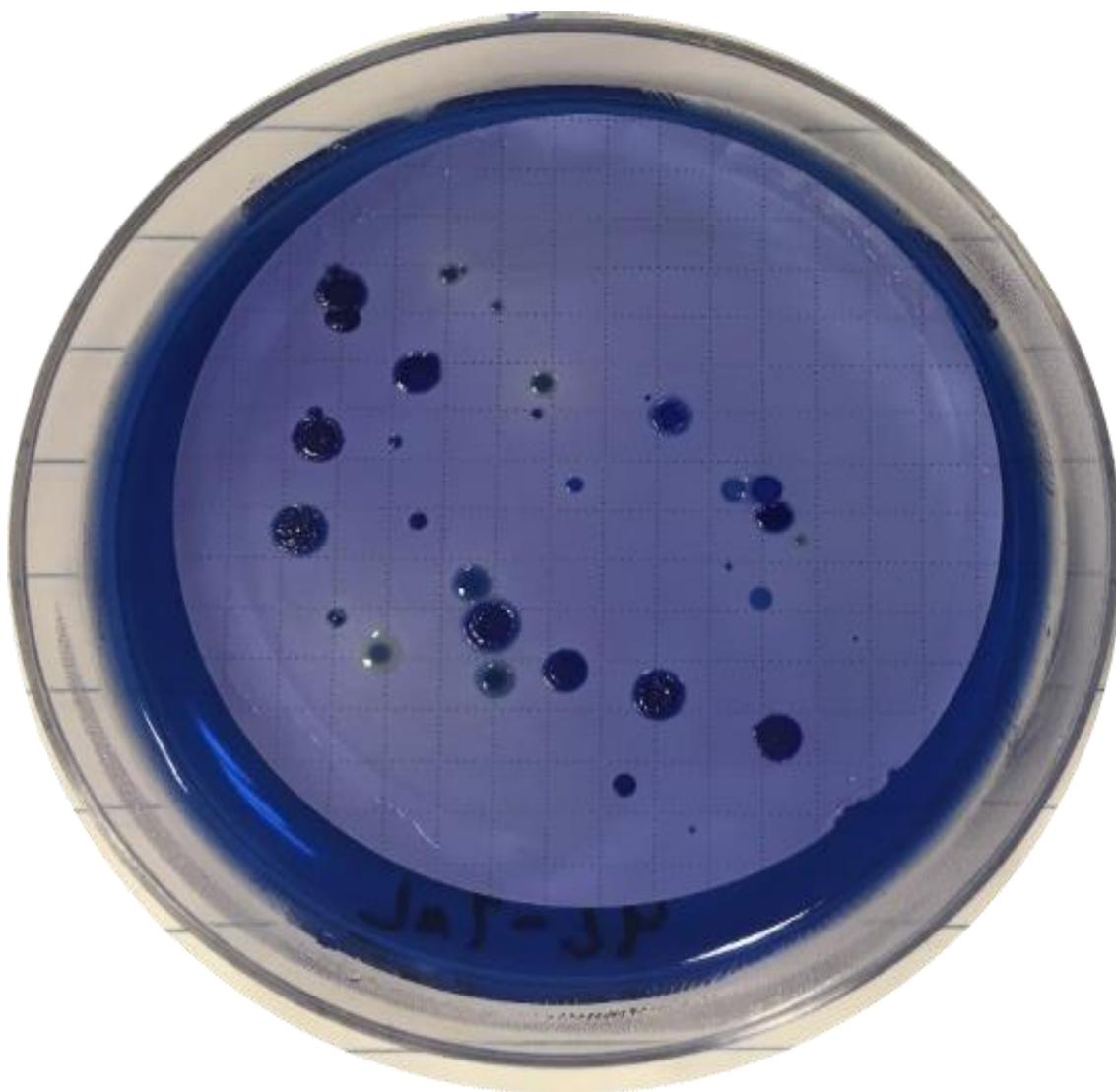


Figura A1: Ejemplo de sitio 19 en primavera con unidades formadoras de colonias de coliformes (azules, no se cuentan las amarillentas) en placa de petri. Volumen filtrado: 1 mL.

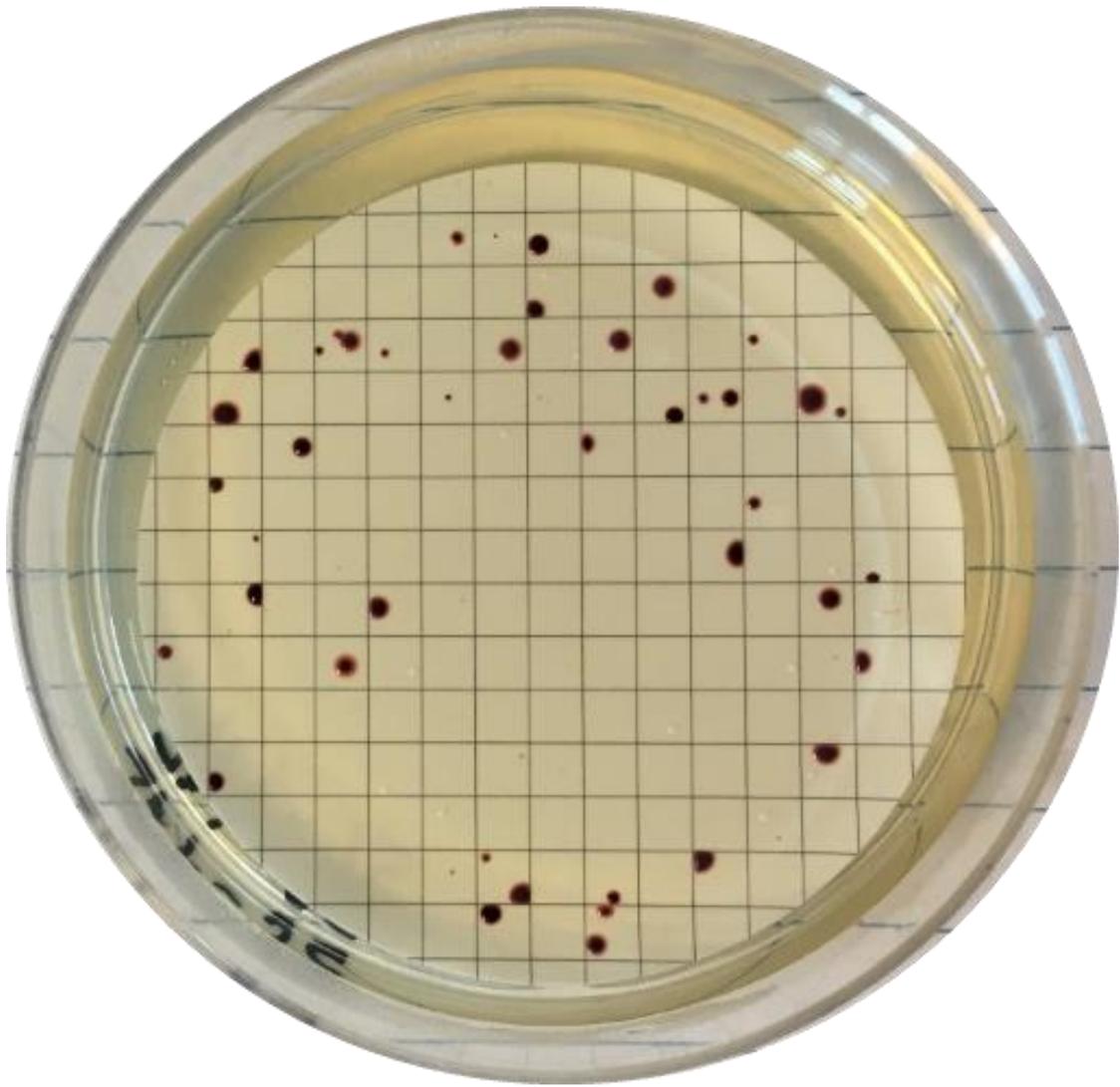


Figura A2: Ejemplo de sitio 14 en primavera con unidades formadoras de colonias de coliformes (rojizas) en placa de Petri. Volumen filtrado: 1 mL.

Concentraciones de BIFs y parámetros analizados

Tabla A1: Resultados microbiológicos y fisicoquímicos en invierno entre las partes principales de la cuenca. k: Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$. OD: oxígeno disuelto mg/L . °C: Temperatura. Coliformes y *Enterococcus* en UFC/100mL

Sitio	Cuenca	pH	k	OD	°C	coliformes	<i>Enterococcus</i>
1	Alta	8,35	425	13,1	14,2	>200	871
2		7,32	93,1	12	11,5	140	277
3		7,45	276	12	10,2	360	792
4		7,75	178	13	12,4	85	1003
5		7,16	73,4	12,6	12,7	150	581
6		7,19	77,43	12,3	12	245	502
7	Media	7,64	644	6,6	13,6	3300	3358
8		7,9	588	6,7	10,9	650	959
9		7,2	463,7	9,1	12,1	140	1360
10		7,98	322	10,9	12	320	1212
11		7,55	585	4,5	12,4	100	700
12		7,94	130	12	13,5	120	3210
13		7,94	178	12,2	12,3	300	713
14		8,04	153,6	12,63	12,5	4500	3000
15	Baja	7,31	892	2	11,5	300	400
16		7,91	1099	12,2	13	520	5460
17		7,24	304,6	8,9	13,5	200	23
18		7,57		12,3	11,4	2168	4580

19	5,88	6075	12,4	13	2564	900
----	-------------	------	------	----	-------------	------------

Tabla A2: Resultados microbiológicos y fisicoquímicos en primavera entre las partes principales de la cuenca. k: Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$. OD: oxígeno disuelto mg/L . °C: Temperatura. Coliformes y *Enterococcus* en UFC/100mL

Sitio	Cuenca	pH	k	OD	°C	coliformes	<i>Enterococcus</i>
1	Alta	8,5	439,2	10,1	17,6	410	100
2		7,63	112,3	8,5	18,2	670	630
3		8,15	429,6	8,9	19,6	370	500
4		8,28	271,3	8,1	16,9	2600	0
5		7,68	79,1	8,9	20,6	640	190
6		8,19	93,85	8,5	21,3	560	360
7	Media	7,86	555,3	3,5	21,7	3800	2300
8		7,96	682	4,7	21	1200	600
9		7,45	370,6	5,5	18,63	>2000	600
10		7,45	479,2	6,2	19,4	1500	1200
11		7,53	636,1	1,3	26,3	800	1100
12		7,72	159	7,4	20,1	120	100
13		7,95	259,4	8,4	20,7	2900	0
14		7,18	188,7	7,6	19,8	>20000	4700
15	Baja	7,55	453	3,4	23,7	2400	800
16		7,7	715	5,1	23,3	4700	1500

17	7,62	493	5,8	21,6	1200	260
18	8,21	8938	8,4	24,2	900	100
19	8,63	13930	9	21,1	1700	0

Tabla A3: Resultados microbiológicos y fisicoquímicos en verano entre las partes principales de la cuenca. k: Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$. OD: oxígeno disuelto mg/L. °C: Temperatura. Coliformes y *Enterococcus* en UFC/100mL

Sitio	Cuenca	pH	k	OD	°C	coliformes	<i>Enterococcus</i>
1	Alta	8,43	423	8,4	22,8	>2000	390
2		7,99	181,3	7,2	24,6	>2000	1360
3		8,14	480	6,6	21,1	>2000	400
4		8,33	342,4	8,7	24,6	3100	920
5		7,61	149,6	5,9	22,4	6000	400
6		8,02	166,4	6,6	24,5	>2000	340
7	Media	7,08	286	1,1	27,2	2700	12700
8		7,37	616,5	1	24,3	1000	1500
11		7,44	1005	0,1	26	2200	5000
12		7,97	289,7	6,7	23,3	>2000	230
13		8,35	404	7,5	28,4	800	300
14		7,89	985,7	7,7	30,9	70000	100
15		7,45	455,4	2,7	25,7	4000	400

17	Baja	8,09	712,1	6,3	29,2	2500	200
18		8,28	46750	8,2	21,6	7000	0
19		8,27	48580	8,5	19,6	>20000	0

Los valores que figuran >200, >2000, >20000, corresponden a muestras donde se filtraron 100mL, 10mL y 1 mL que superan el límite de cuantificación (cuando las colonias superaban el límite de conteo de unidades formadoras de colonias, establecido en 200). Para los análisis estadísticos se fijó el valor límite y se trató como un número entero.

Análisis previo de variables

Estudio de la distribución de coliformes

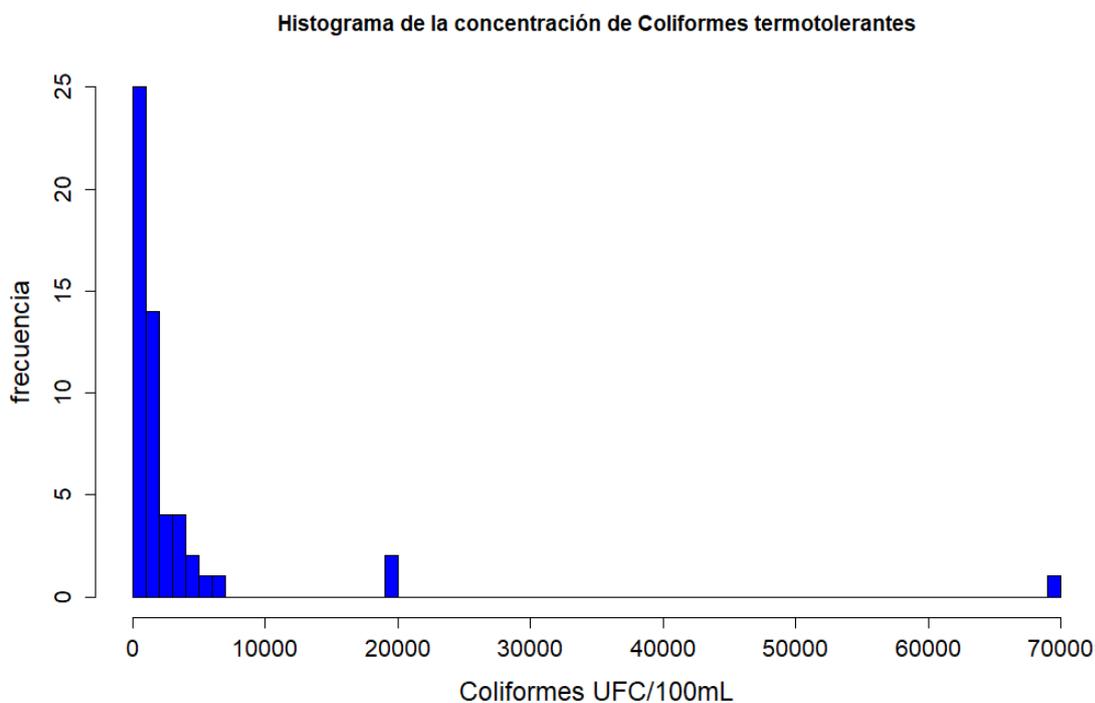


Figura A3: Histograma de frecuencia de Coliformes UFC/100mL.

Evidentemente la variable estudiada no se ajustó bien a una normal, pero un histograma no es el método más recomendado para el caso (Figura A3). Se estudió el ajuste entre una distribución Poisson y una binomial negativa y los coliformes se ajustan mejor a la binomial negativa (Figura A4).

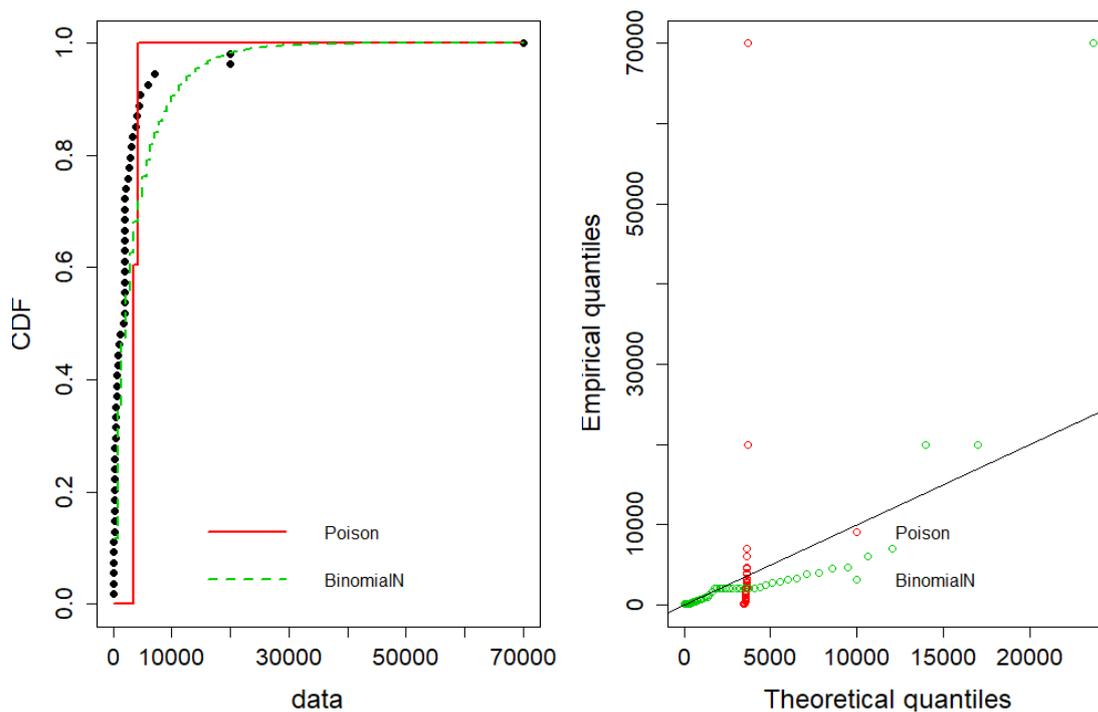


Figura A4: Gráficos de ajuste a distribuciones Poisson y binomial negativa de la variable explicada.

Estudio de correlación entre coliformes y variables explicativas

Las variables que podrían relacionarse con la concentración de coliformes son la temperatura, el área subcuenca (km^2), el área de bosque (km^2), el área de pastizal (km^2) y la conductividad (Figura A5).

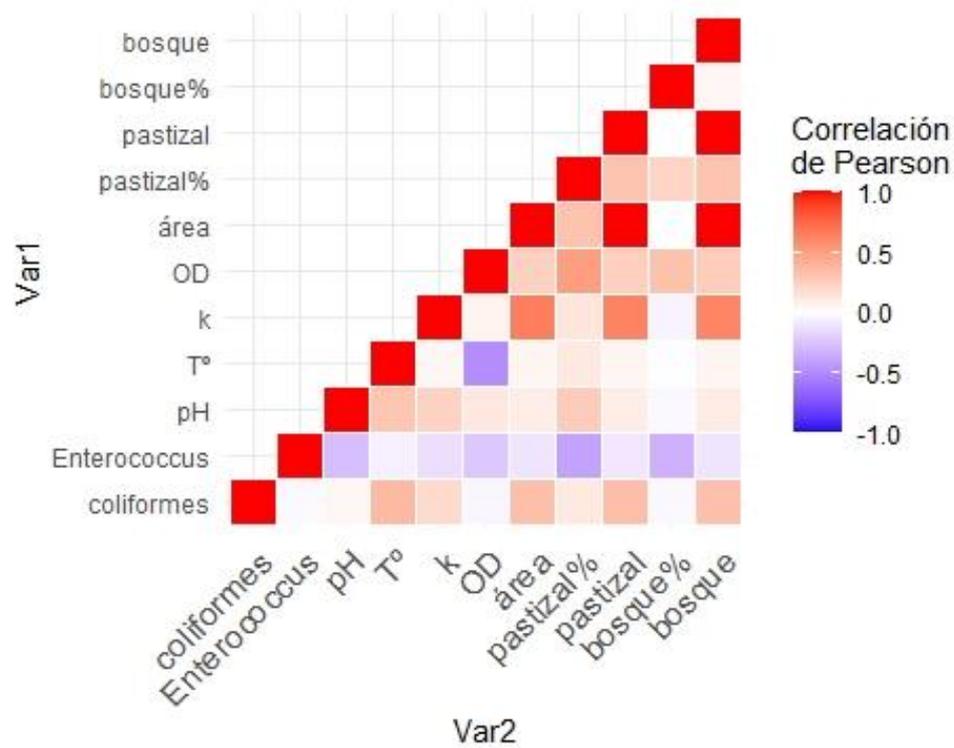


Figura A5: Mapa de correlaciones entre variables.

Estudio de la distribución de *Enterococcus*

Según la figura A6 *Enterococcus* no se ajustó bien a una distribución normal. Pero se estudió mejor en la Figura A7, donde la mejor curva de distribución que se ajustó con la variable explicada *Enterococcus* fue la binomial negativa.

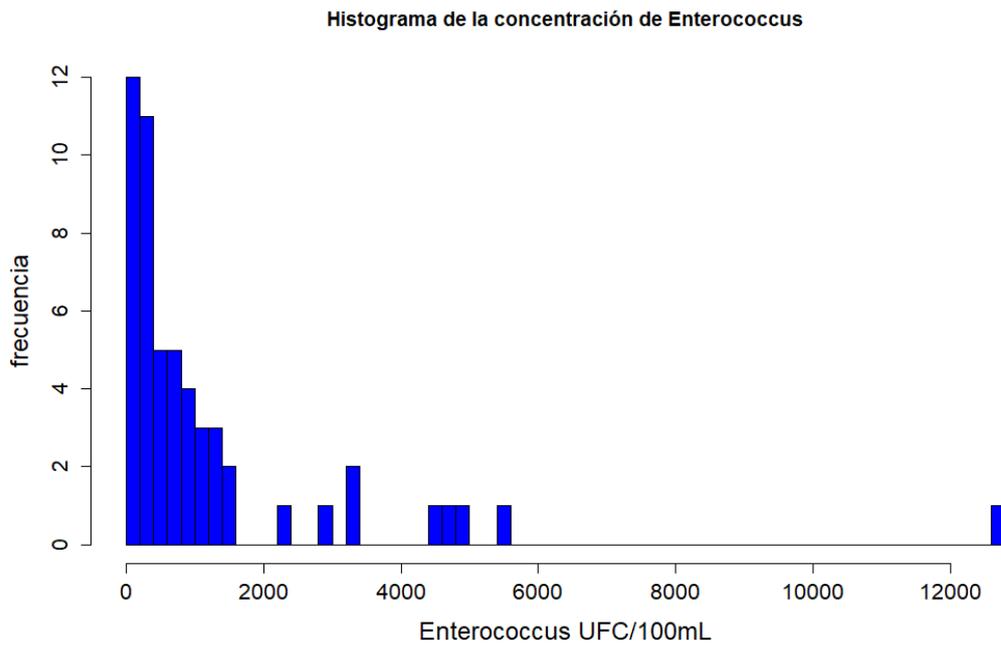


Figura A6: Histograma de la frecuencia de *Enterococcus* UFC/100mL.

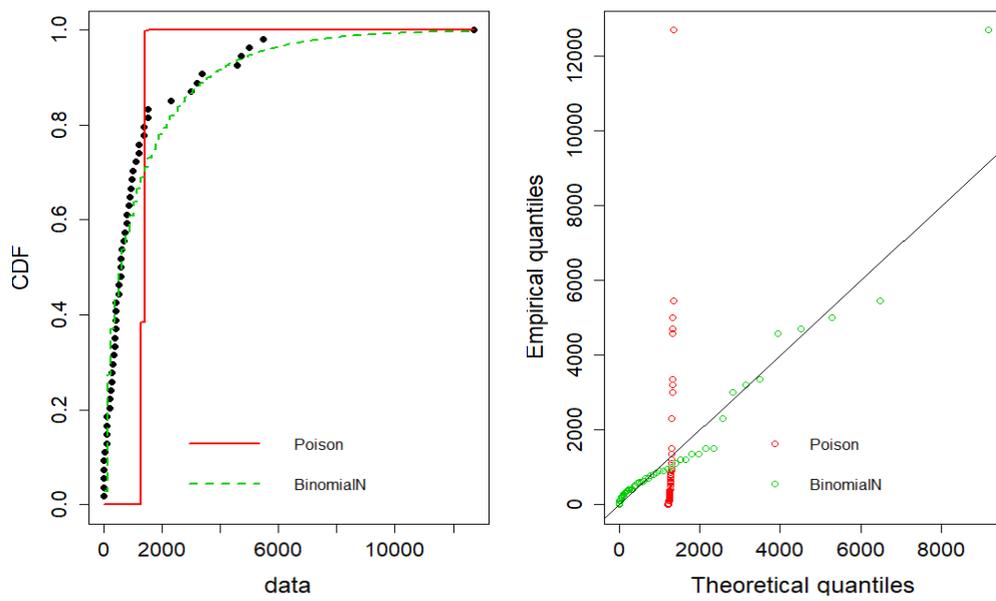


Figura A7: Gráficos de ajuste a distribuciones Poisson y binomial negativa de la variable explicada.

Estudio de correlación entre *Enterococcus* y variables explicativas

Según las correlaciones de Pearson (Tabla 5A) *Enterococcus* podría tener relaciones significativas con el pH, el oxígeno disuelto y la conductividad, el área de bosque (%) y el área de pastizal (%).

Análisis de residuales

El Modelo 1 se ajustó adecuadamente a los datos (Figura A8). El gráfico de residuales según valores ajustados no mostró una distribución particular de los datos. Lo mismo sucedió con los gráficos de residuales ajustados por temperatura y cuenca, es decir los valores predichos no se diferenciaron demasiado de los valores reales (datos) y esta diferencia no tiene una distribución particular. Pero no sucedió lo mismo con el gráfico de residuales según el área de las cuencas de muestreo donde se ve una nube de puntos hacia la izquierda y es causada por la mayoría de cuencas pequeñas. En el gráfico normal Q-Q se ve que los residuales se ajustan bastante bien a una distribución normal a excepción de algunos datos en el extremo de la curva. En el gráfico de distancias de Cook's hubieron tres datos extremos que se diferencian del resto y corresponden a valores altos de coliformes y de las variables explicativas.

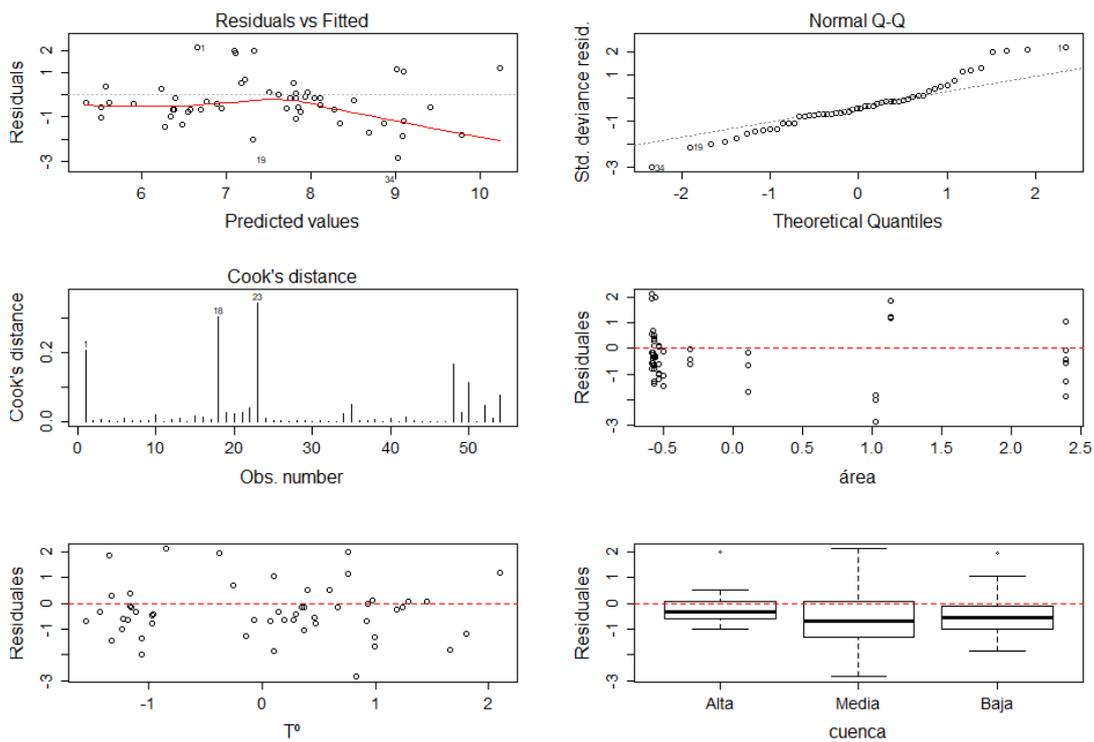


Figura A8: De izquierda a derecha y arriba hacia abajo, residuales del modelo 1 contra valores ajustados, ajuste a distribución normal de los residuales, distancias de Cook's (valores extremos del modelo) y residuales frente a valores de las variables explicativas.

Para el Modelo 2 en general el análisis de residuos fue adecuado (Figura A9), el gráfico de residuales según valores ajustados al igual que los gráficos de residuales según las variables explicativas parecieron tener una distribución al azar. El gráfico normal Q-Q se comportó bien a no ser por algunos datos en los extremos, mostrando un buen ajuste de los residuales a la normal. El gráfico de distancias de Cook's arrojó tres datos que se diferenciaron del resto y reflejan altos valores de *Enterococcus*.

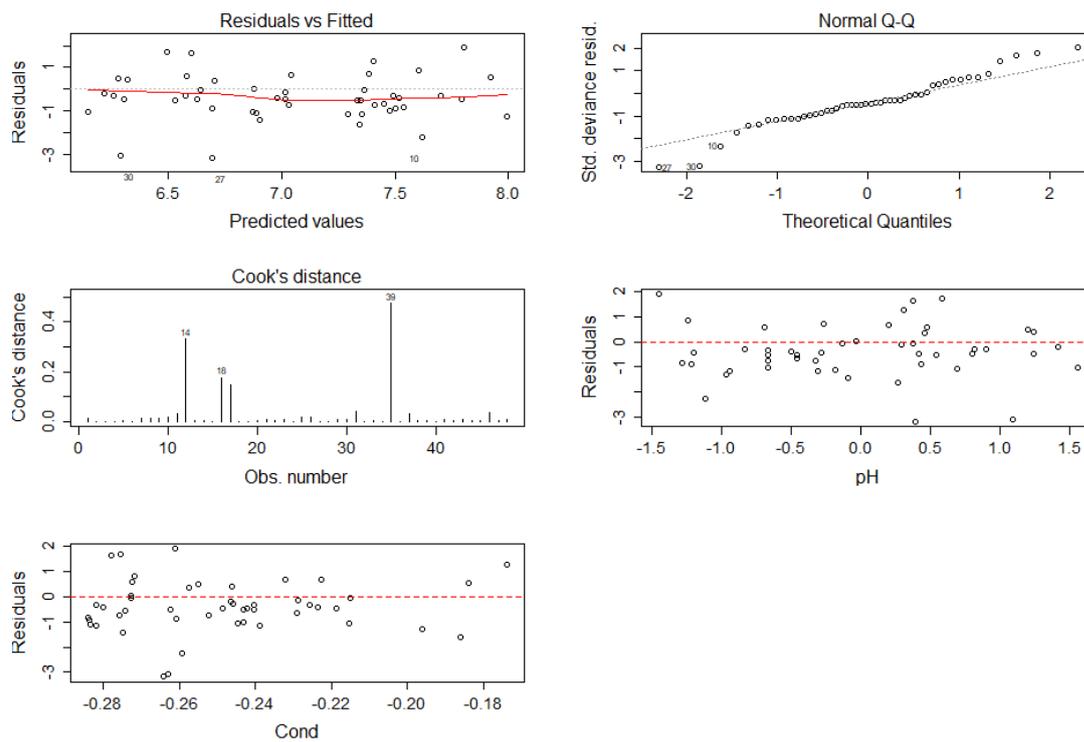


Figura A9: De izquierda a derecha y arriba hacia abajo, residuales del modelo 2 contra valores ajustados, ajuste a distribución normal de los residuales, distancias de Cook's (valores extremos del modelo) y residuales frente a valores de coliformes según las variables explicativas.

Tabla A6: Residuales usados para la construcción del gráfico 7

Muestras	Residuales
1	2,12
2	0,29
3	-0,68
4	0,38
5	-0,33
6	-1,02
7	-0,41

8	-0,34
9	-0,58
10	-0,99
11	-0,09
12	-0,44
13	-0,66
14	-0,15
15	-1,46
16	-1,37
17	-0,77
18	1,86
19	-2,00
20	0,71
21	-1,29
22	-1,86
23	1,96
24	-0,63
25	0,54
26	-0,77
27	-0,15
28	-0,66
29	-0,68
30	0,05
31	-0,62
32	-0,40
33	-0,32

34	-2,85
35	1,16
36	-0,55
37	-0,67
38	-1,06
39	-0,15
40	-1,29
41	-0,13
42	-1,69
43	0,52
44	0,11
45	0,09
46	-0,01
47	-0,16
48	1,99
49	-1,80
50	1,21
51	-0,23
52	-1,18
53	-0,56
54	1,06

Tabla A7: Residuales usados para la construcción del gráfico 8

Muestras	Residuales
1	0,71

2	-0,12
3	-0,06
4	-0,50
5	0,41
6	0,03
7	-0,90
8	-0,83
9	-1,14
10	-2,24
13	-1,28
14	1,27
15	-0,67
16	-0,45
17	0,36
18	1,71
19	1,65
20	-0,51
23	-0,04
24	-1,14
25	0,68
26	-0,48
27	-3,19
28	-0,29
29	-1,04
30	-3,09
31	-0,30

32	-0,42
33	-1,10
34	-1,42
35	0,84
36	-0,32
37	-0,74
38	-0,40
39	1,91
40	-0,31
41	0,56
42	-0,46
43	-0,49
44	-0,21
45	0,51
46	-0,53
47	0,60
48	-0,75
49	-0,88
50	-1,61
51	-1,01
52	-1,06