

Estudio comparativo de los métodos de cuantificación de *E. coli* en agua de mar

86

Ana Costán-Longares; Miriam Agulló i Barceló; Francisco Lucena.



Departamento de Microbiología. Universitat de Barcelona. Av. Diagonal, 645.
Edificio Anexo planta 0. 08028 Barcelona. miriam_agullo@ub.edu

Microbiologia d'Aigües Relacionada amb la Salut

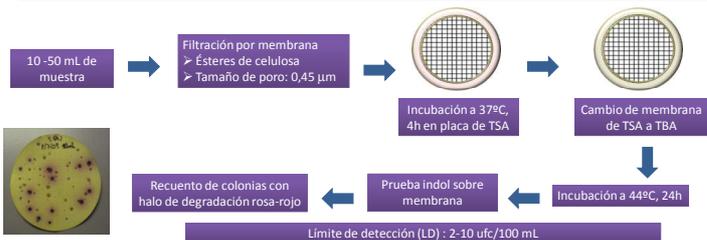
INTRODUCCIÓN y OBJETIVOS

Mediante el Real Decreto (RD) 1341/2007 se incorporó al ordenamiento jurídico interno la Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño. El objeto del RD era establecer los criterios sanitarios necesarios que deben cumplir las aguas de baño para garantizar su calidad; proteger la salud humana; conservar, proteger y mejorar la calidad del medio ambiente y establecer las disposiciones mínimas para el control, la clasificación, la gestión y el suministro de información al público sobre la calidad de las aguas de baño. La determinación de *E. coli* es uno de los parámetros requeridos en el RD para el control de la calidad de las aguas de baño, y en él se establecen los límites máximos permitidos para cada criterio de calidad así como los métodos de análisis que pueden ser aplicados. Estos métodos son: ISO 9308-1:2000 e ISO 9308-3:1998. El objetivo de este trabajo ha sido verificar la equivalencia entre ellos en el análisis concreto de las aguas de baño del litoral catalán y realizar una confirmación de los positivos de *E. coli* con el fin de evaluar el porcentaje de falsos positivos producidos en ambos métodos en el análisis de estas muestras.

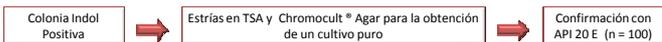
MATERIALES Y MÉTODOS

Número de muestras: 512 muestras de agua de baño.
Puntos de muestreo: 16 playas del litoral catalán.
Frecuencia de muestreo: semanal (durante los meses de verano de dos años consecutivos).

1. UNE en ISO 9308-1:2000: Filtración por membrana (Ensayo rápido)



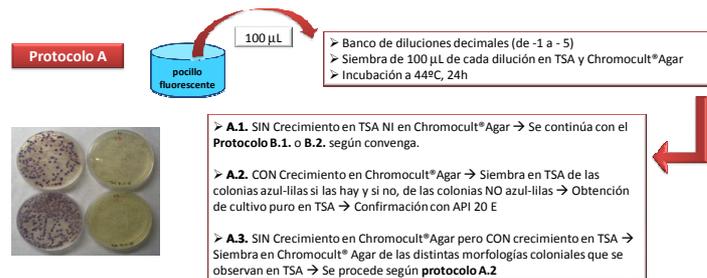
Confirmación de las colonias con resultado positivo para la prueba del indol



2. UNE en ISO 9308-3:1998: Método miniaturizado (NMP)



Confirmación de *E. coli* en los pocillos fluorescentes



Valoración de la equivalencia de métodos según ISO -17994:2004

Diferencia relativa media de los recuentos (X) $X = \ln(a) - \ln(b)$
→ donde a y b son los recuentos obtenidos por los diferentes métodos
Incertidumbre expandida (U) $U = S / (n)^{1/2}$

Hay equivalencia de métodos cuando:
X + U = valor positivo
X - U > -0,10

Evaluación de la calidad de las playas

Cálculo de los percentiles 90 y 95 por playa y año:
Percentil 90 = antilog (media aritmética de los valores $\log_{10} + (1,282 \cdot \text{desviación típica de los valores } \log_{10})$)
Percentil 95 = antilog (media aritmética de los valores $\log_{10} + (1,65 \cdot \text{desviación típica de los valores } \log_{10})$)

AGRADECIMIENTOS

Empresa Metropolitana de Sanejament S.A. (EMSSA); Institut de l'Aigua

RESULTADOS

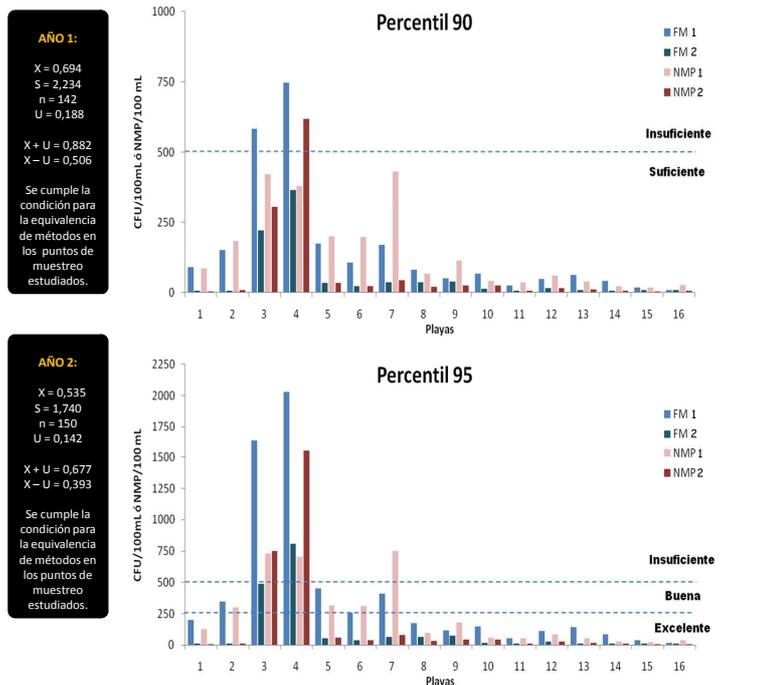


Figura 1. Clasificación de las distintas playas atendiendo únicamente a los valores de percentiles 90 y 95 obtenidos para los valores de *E. coli* al aplicar ambos métodos: ISO 9308-1:2000 e ISO 9308-3:1998, en los dos años de muestreo (1 y 2). Atendiendo al valor del percentil 90, la calidad de las playas se clasifica en: suficiente o insuficiente. Atendiendo al valor del percentil 95, se clasifican en: excelente, buena o insuficiente. FM: Filtración por Membrana; NMP: Número Más Probable.

Se realizaron 100 aislamientos de colonias de *E. coli* por método y se confirmaron mediante el sistema de identificación API 20 E.

| Método | Porcentaje de falsos positivos (colonias confirmadas como NO <i>E. coli</i>) |
|---|---|
| Método UNE en ISO 9308-1:2000 (Filtración por membrana) | 10% (10/100) |
| Método UNE en ISO 9308-3:1998 (NMP) | 6% (6/100) |

Tabla 1. Porcentajes de falsos positivos obtenidos por ambos métodos de detección de *E. coli*.

CONCLUSIONES

- Los métodos recogidos en el Real Decreto 1341/2007 para la enumeración de *E. coli* en aguas de baño presentaron resultados equivalentes en el análisis de las muestras de agua de baño del litoral catalán.
- Los percentiles 90 y 95 calculados para cada método y playa clasifican las playas dentro de la misma categoría en el 91% (3/32) y 94% (2/32) de los casos, respectivamente.
- Cuando se obtienen valores de cero en la enumeración de *E. coli*, los límites de detección del método tienen una gran influencia en el cálculo de los percentiles 90 y 95.
- En las playas influenciadas por vertidos terrestres como son las correspondientes a los números 3, 4 y 7 es donde se dan más discrepancias en los valores de percentiles y por tanto, es dónde se producen discrepancias en la clasificación de la calidad de las playas.
- Aunque los métodos contemplados en la norma no requieren la confirmación de las *E. coli* enumeradas, en nuestro estudio hemos querido realizar este paso para determinar el porcentaje de falsos positivos de cada método. Entre un 6 y un 10% de los aislamientos realizados no se confirmaron como *E. coli*. Estos porcentajes son similares a los descritos previamente por Schets et al. (2001).

REFERENCIAS

ISO 17994 : 2004. Water quality - Criteria for establishing equivalence between microbiological methods.
ISO 9308 - 1:2000. Water quality - Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method.
ISO 9308 - 3:1998. Water quality - Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and waste water.
Schets, FM, PJ Nobel, S Strating, KA Mooijman, GB Engels and A. Brouwer. 2001. EU Drinking Water Directive reference methods for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* compared with alternative methods.