

# **EVALUACIÓN DE MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DOMÉSTICO DEL AGUA:**

---

metas sanitarias y  
especificaciones de eficiencia  
microbiológica



**Organización  
Mundial de la Salud**

# **EVALUACIÓN DE MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DOMÉSTICO DEL AGUA:**

---

metas sanitarias y  
especificaciones de eficiencia  
microbiológica

## Catalogación por la Biblioteca de la OMS

Evaluación de métodos para el tratamiento doméstico del agua : metas sanitarias y especificaciones de eficiencia microbiológica.

1. Agua potable. 2. Tratamiento del agua. 3. Purificación del agua. 4. Calidad del agua. 5. Abastecimiento de agua. I. Organización Mundial de la Salud.

ISBN 978 92 4 354822 7

(Clasificación NLM: WA 675)

© Organización Mundial de la Salud, 2012

Se reservan todos los derechos. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están disponibles en el sitio web de la OMS ([www.who.int](http://www.who.int)) o pueden comprarse a Ediciones de la OMS, Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; correo electrónico: [bookorders@who.int](mailto:bookorders@who.int)). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS - ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales - deben dirigirse a Ediciones de la OMS a través del sitio web de la OMS ([http://www.who.int/about/licensing/copyright\\_form/en/index.html](http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html)).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

# ÍNDICE

<b>Nota de agradecimiento</b> .....	IV
<b>Acrónimos y abreviaturas</b> .....	V
<b>1. Introducción</b> .....	1
<b>2. Metas sanitarias de eficiencia</b> .....	3
2.1 Patógenos objeto de análisis .....	4
2.2 Determinación de las metas.....	4
2.3 Procedimiento escalonado .....	4
<b>3. Establecimiento de las metas sanitarias de eficiencia</b> .....	8
3.1 Enfoque y principios generales .....	8
3.2 Metas sanitarias de eficiencia microbiológica preestablecidas .....	9
3.3 Protocolos de ensayo.....	10
<b>Bibliografía</b> .....	12
<b>Apéndice 1.</b> Cálculo de las metas de eficiencia microbiológica .....	18
<b>Apéndice 2.</b> Protocolos de ensayo para la evaluación de la eficiencia de técnicas específicas de tratamiento doméstico del agua .....	26
<b>Apéndice 3:</b> Factores adicionales que se deben tener en cuenta en los programas nacionales de verificación de técnicas de tratamiento del agua.....	64
<b>Apéndice 4:</b> Fundamento del uso de la ECRM .....	69

## NOTA DE AGRADECIMIENTO

El presente documento es el fruto del intenso trabajo realizado, durante varios años, por diversos expertos técnicos y científicos y otros interesados en la materia. Los autores del documento son el Profesor Mark Sobsey, de la Universidad de Carolina del Norte (EE.UU.), y el Dr. Joe Brown, de la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres (Reino Unido).

El Sr. Bruce Gordon y la Dra. Maggie Montgomery, ambos funcionarios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) coordinaron el desarrollo del trabajo por parte de la OMS. La dirección estratégica fue responsabilidad del Sr. Robert Bos (Coordinador de la Unidad de Agua, Saneamiento, Higiene y Salud) y del Dr. Jamie Bartram (exfuncionario de la OMS, que trabaja actualmente en la Universidad de Carolina del Norte).

Contribuyeron a la elaboración del presente documento más de 30 expertos de diversos países en desarrollo y desarrollados que participaron en talleres y en el análisis colegiado, y aportaron observaciones y fragmentos de texto. En tal sentido, agradecemos la labor de las personas siguientes:

Profesor Feroze Ahmed, Bangladesh University of Engineering and Technology (Bangladesh)  
 Sra. Nikki Beetsch, NSF International (EE.UU.)  
 Sra. Katherine Bliss, Departamento de Estado (EE.UU.)  
 Sr. Thomas Bruursema, NSF International (EE.UU.)  
 Sr. Chee Keong Chew, OMS (Suiza)  
 Dr. Thomas Clasen, London School of Hygiene and Tropical Medicine (Reino Unido)  
 Dr. David Cunliffe, Ministerio de Salud (Australia)  
 Profesora Karina Yew-Hoong Gin, National University (Singapur)  
 Profesor Stephen Gundry, Bristol University (Reino Unido)  
 Sr. Han Heijnen, H&E Associates (Uganda)  
 Sr. Frank Husson Jr., Solar Solutions (EE.UU.)  
 Sr. Masaki Itoh, OMS (Suiza)  
 Profesor He Jianzhong, National University (Singapur)  
 Dr. Richard Johnston, Instituto Federal Suizo de la Ciencia y Tecnología del Agua (EAWAG) (Suiza)  
 Dr. Shoichi Kunikane, Universidad de Shizuoka (Japón)  
 Sra. Daniele Lantagne, Harvard University (EE.UU.)  
 Sr. Pat Lennon, PATH (EE.UU.)  
 Dra. Karen Levy, Emory University (EE.UU.)  
 Sra. Page Martin, University of Illinois (EE.UU.)  
 Dra. Regula Meierhofer, EAWAG (Suiza)  
 Dra. Susan Murcott, Massachusetts Institute of Technology (EE.UU.)  
 Sr. Paul Osborn, 300 in 6 (Países Bajos)  
 Sr. Will Oswald, Emory University (EE.UU.)  
 Dra. Susan Petterson, Water and Health Policy, Ltd. (Australia)  
 Sr. Federico Properzi, OMS (Suiza)  
 Dr. Regu Regunathan, Regunathan & Associates, Inc. (EE.UU.)  
 Dr. Stephen Schaub, exfuncionario de la Environmental Protection Agency (EE.UU.)  
 Sr. Oliver Schmall, Ministerio de Medio Ambiente del Gobierno Federal de Alemania (exfuncionario de la OMS, Suiza)  
 Dr. Nimish Shah, Unilever (India)  
 Profesor Thor-Axel Stenstrom, Instituto Sueco de Lucha contra las Enfermedades Infecciosas (Suecia)  
 Dr. Peter Teunis, Instituto Nacional de Salud Pública y Medio Ambiente (RIVM) (Países Bajos)  
 Sra. Pauli Undesser, Water Quality Association (EE.UU.)  
 Sr. Dano Wilusz, Departamento de Estado (EE.UU.)

Además, manifestamos nuestra sincera gratitud al grupo independiente de expertos del Comité OMS sobre calidad del agua potable que realizó el examen final de este documento.

Fabian Suter (Eawag) y Mariam Otmani del Barrio (OMS) apoyó la revisión técnica del texto traducido. La Sra. Marla Sheffer, de Ottawa (Canadá), se ocupó de la corrección del documento, y la Sra. Penny Ward se ocupó de las labores de secretaría y administrativas durante la elaboración del documento y en reuniones y talleres específicos.

La OMS desea hacer constar, y agradece, el apoyo financiero y técnico fundamental prestado por el Departamento de Estado del Gobierno de los EE.UU. y agradece asimismo el apoyo adicional prestado por el Organismo Australiano de Desarrollo Internacional (AusAID), el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar del Japón y el Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Hídricos de Singapur.

## ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

ADN	ácido desoxirribonucleico
ANSI	American National Standards Institute (Instituto estadounidense de normalización)
APD	años perdidos por discapacidad debida a una enfermedad
APP	años perdidos por muerte prematura
ARN	ácido ribonucleico
AusAID	Australian Government Overseas Aid Program (Organismo Australiano de Desarrollo Internacional)
AVAD	años de vida ajustados en función de la discapacidad
EAWAG	Instituto Federal Suizo de la Ciencia y Tecnología del Agua
ECRM	evaluación cuantitativa de los riesgos microbiológicos
EE.UU.	Estados Unidos de América
g	aceleración de la gravedad
LED	light-emitting diode (diodo luminoso)
NMP	número más probable
NSF	NSF International
OMS	Organización Mundial de la Salud
pI	punto isoeléctrico
TDA	tratamiento doméstico del agua
TSC	triptosa-sulfito-cicloserina
UNT	unidad nefelométrica de turbidez
USEPA	United States Environmental Protection Agency (Agencia de los Estados Unidos para la protección del medio ambiente), también conocida como EPA
UV	ultravioleta
VIH	virus de la inmunodeficiencia humana

## 1. INTRODUCCIÓN

Las intervenciones de tratamiento doméstico del agua (TDA) pueden contribuir en gran medida a la protección de la salud pública en situaciones en las que el agua de consumo —de diversas fuentes, incluso el agua entubada u otras fuentes mejoradas— no se trata, no se trata adecuadamente o se contamina durante su distribución o almacenamiento, (UNICEF y OMS, 2009).

Se conocen como sistemas de TDA diversas técnicas, dispositivos o métodos utilizados para tratar el agua en los hogares o en el lugar de consumo (en otros lugares a los que acude la población, como escuelas y centros de salud, entre otros). El TDA también se conoce como «tratamiento del agua en el lugar de consumo» (en inglés, *point-of-use water treatment*). El almacenamiento correcto del agua en los hogares, así como el uso de recipientes cerrados o de cuello estrecho para evitar el contacto del agua con las manos contaminadas, es un componente esencial de la gestión doméstica del agua, pero no es el tema central de este documento.

Se necesitan especificaciones de eficiencia correctamente formuladas y pertinentes para el lugar específico en el que vayan a aplicarse, con el fin de proteger a los usuarios e informar a los responsables de la adopción de decisiones sobre la selección de tecnologías o enfoques. El presente documento sirve de guía para evaluar la eficiencia microbiológica de las distintas opciones de TDA :

- establece metas sanitarias de eficiencia microbiológica, de protección intermedia y de protección alta, para fomentar la mejora gradual de la seguridad del agua (véanse las secciones 2 y 3 y el apéndice 1), y
- proporciona orientación para guiar el desarrollo de nuevos protocolos de ensayo de los TDA o para complementar los protocolos existentes (apéndice 2).

En el documento se describen también otros aspectos, como:

- los relativos a programas, de ámbito nacional, de evaluación o verificación de técnicas de tratamiento del agua (apéndice 3), y
- la justificación del uso de la evaluación cuantitativa de los riesgos microbiológicos (ECRM) y las metas de eficiencia para tres clases de patógenos (apéndice 4).

La finalidad de estas metas de eficiencia microbiológica y protocolos de ensayo es informar a los organismos responsables de la ejecución, proteger a los consumidores y fomentar el desarrollo tecnológico, por medio de un marco de evaluación de la eficiencia de las intervenciones de TDA basado en el análisis de los riesgos. El documento sirve como referencia para guiar la elaboración —o revisión— de programas nacionales o internacionales de evaluación de la eficiencia de distintas técnicas. Se sustenta en los conceptos establecidos en la *Guías para la calidad del agua potable* de la Organización Mundial de la Salud (OMS), y los métodos de laboratorio descritos están pensados para que puedan aplicarse en entornos con recursos limitados. En este documento no se describen las metas o protocolos relativos a contaminantes químicos, aunque muchos de los conceptos relativos a las metas de eficiencia basadas en el análisis de los riesgos son también aplicables a este tipo de contaminantes. El documento se dirige a los siguientes grupos de lectores: 1) organizaciones de certificación de ámbito nacional, 2) autoridades de reglamentación, 3) entidades y personas que trabajan en el desarrollo y la evaluación de técnicas de tratamiento, como universidades e investigadores, y 4) fabricantes de instrumentos utilizados en esas técnicas de TDA y quienes las aplican (en adelante, «ejecutores»).

Las recomendaciones formuladas en el presente documento son de carácter consultivo y los organismos de reglamentación o las autoridades nacionales pueden adaptarlas a contextos locales cuando sea pertinente; por ejemplo en la certificación de productos, en la evaluación de su eficiencia antes de una intervención o en el desarrollo y la selección de técnicas de tratamiento.



## 2. METAS SANITARIAS DE EFICIENCIA

Las metas de eficiencia que figuran en el presente documento se determinaron aplicando el concepto de «carga de morbilidad tolerable» (riesgo aceptable) descrito en la cuarta edición de las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011) y definido como un límite superior de  $10^{-6}$  años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD) por persona y año (véase el recuadro 1).

### Recuadro 1. Año de vida ajustado en función de la discapacidad (AVAD)

Un parámetro utilizado frecuentemente para comparar resultados sanitarios es el año de vida ajustado en función de la discapacidad (AVAD), que utilizan actualmente con frecuencia la OMS y otras entidades para calcular y comparar las cargas de enfermedades y lesiones (Havelaar y Melse, 2003). Los efectos sobre la salud se ponderan, según su gravedad, en una escala de 0 (buena salud) a 1 (defunción). Este valor se multiplica por la duración de la enfermedad y por el número de personas afectadas para obtener una estimación normalizada de la carga total de morbilidad y muerte prematura. Los AVAD representan, por consiguiente, la suma de los años perdidos por muerte prematura (APP) y los años perdidos por discapacidad (APD) debido a una enfermedad, ponderados en función de la gravedad del resultado (Havelaar y Melse, 2003). Se realiza el cálculo siguiente:  $AVAD = APP + APD$ . En términos matemáticos,  $10^{-6}$  AVAD por persona al año suponen una pérdida tolerable de 365 días con buena salud en una población de un millón de personas en el transcurso de un año. Este valor límite de AVAD equivale a un caso adicional de cáncer por cada 100 000 personas que ingieren agua para consumo tratada en un período de 70 años. El concepto de AVAD se describe más detalladamente en las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011).

Las metas de eficiencia son valores, expresados en términos de reducción logarítmica decimal de las concentraciones de microbios<sup>1</sup>, que definen los requisitos de tratamiento en relación con la calidad del agua sin tratar. Idealmente, se deberán calcular con datos obtenidos a nivel local, pero como estos datos no suelen estar disponibles, las metas se calculan habitualmente basándose en supuestos acerca de tres clases de agentes patógenos presentes en el agua de consumo.

Es complejo establecer una relación causal clara entre las concentraciones de microorganismos patógenos en el agua de consumo y las enfermedades transmitidas por el agua. La ECRM es un mecanismo que permite explicitar este vínculo basándose en datos actuales sobre la calidad del agua, en la exposición y en modelos de la relación entre dosis y respuesta. En las *Guías para la calidad del agua potable* se recomienda la ECRM como opción importante para evaluar los riesgos y fundamentar las decisiones de gestión, sobre todo en situaciones en las que no hay datos epidemiológicos, mientras no se obtengan tales datos, o cuando no sea posible o pertinente realizar estudios epidemiológicos. La ECRM permite estimar los efectos sobre la salud de las medidas

<sup>1</sup> Calculada como  $\log_{10} (C_{\text{agua sin tratar}} / C_{\text{agua tratada}})$ , donde C = concentración de microbios en el agua.

de control de la calidad del agua de consumo en muy diversos entornos (OMS, 2011). En la medida de lo posible, la ECRM tiene en cuenta y utiliza datos epidemiológicos para evaluar la exposición y los efectos sobre la salud (relación dosis-respuesta), con el fin de caracterizar y estimar los riesgos.

El uso de la ECRM es coherente con las tres principales directrices de la OMS relacionadas con el agua (es decir, las relativas al agua potable, a la reutilización de aguas residuales y a las aguas recreativas). Por lo tanto, la aplicación de la ECRM al TDA proporciona un marco armonizado, con un enfoque integrado, para estimar los riesgos microbiológicos en el medio acuático en general (Havelaar et al., 2001).

## 2.1 Patógenos objeto de análisis

No es ni factible ni deseable calcular metas de eficiencia para todos los patógenos potencialmente transmitidos por el agua, dada la complejidad de los análisis requeridos y la falta de datos suficientes. Por lo tanto, se determinan metas para patógenos de referencia representativos de tres clases de patógenos: bacterias, virus y protozoos. Se contemplan estas tres clases de patógenos porque cada una posee propiedades específicas, tanto fisicoquímicas y biológicas como de resistencia a las diversas técnicas de tratamiento. Las tres son importantes, puesto que todas están presentes con frecuencia en el agua de consumo, en países de ingresos bajos y altos, y se asocian con enfermedades intestinales que afectan a la población infantil en los países con carga de morbilidad alta (Levin, 2009).

Los patógenos de referencia correspondientes a bacterias (*Campylobacter jejuni*), virus (rotavirus) y protozoos parásitos (*Cryptosporidium*) se seleccionaron por estar relativamente bien caracterizados, por ser de gran importancia para la salud pública y por su carácter conservador con respecto a la relación dosis-respuesta y la infectividad. En otras palabras, cabría esperar que si un tratamiento disponible controlase estos patógenos de referencia, también pudiera controlar otros patógenos importantes de cada clase.

## 2.2 Determinación de las metas

En el apéndice 1 se describen los métodos para calcular las concentraciones de partida de patógenos y las metas de eficiencia microbiológica. Las metas se calcularon a partir de las concentraciones supuestas de los patógenos de referencia en el agua sin tratar, los modelos de ECRM descritos en las Guías para la calidad del agua potable y las reducciones logarítmicas decimales de las concentraciones microbianas calculadas para cumplir con las metas sanitarias. Dado que es bastante frecuente que no haya suficientes datos disponibles sobre los patógenos de interés en lugares específicos, se formulan supuestos relativos a la calidad microbiológica del agua de partida. El capítulo 7 de las Guías para la calidad del agua potable (OMS, 2011) contiene información adicional sobre los modelos analíticos de ECRM.

## 2.3 Procedimiento escalonado

En la figura 1 se muestran tres niveles de eficiencia recomendados para reducir las concentraciones de bacterias, virus y protozoos, que van de una meta de nivel superior, equivalente al nivel de riesgo de referencia de la OMS para el agua potable

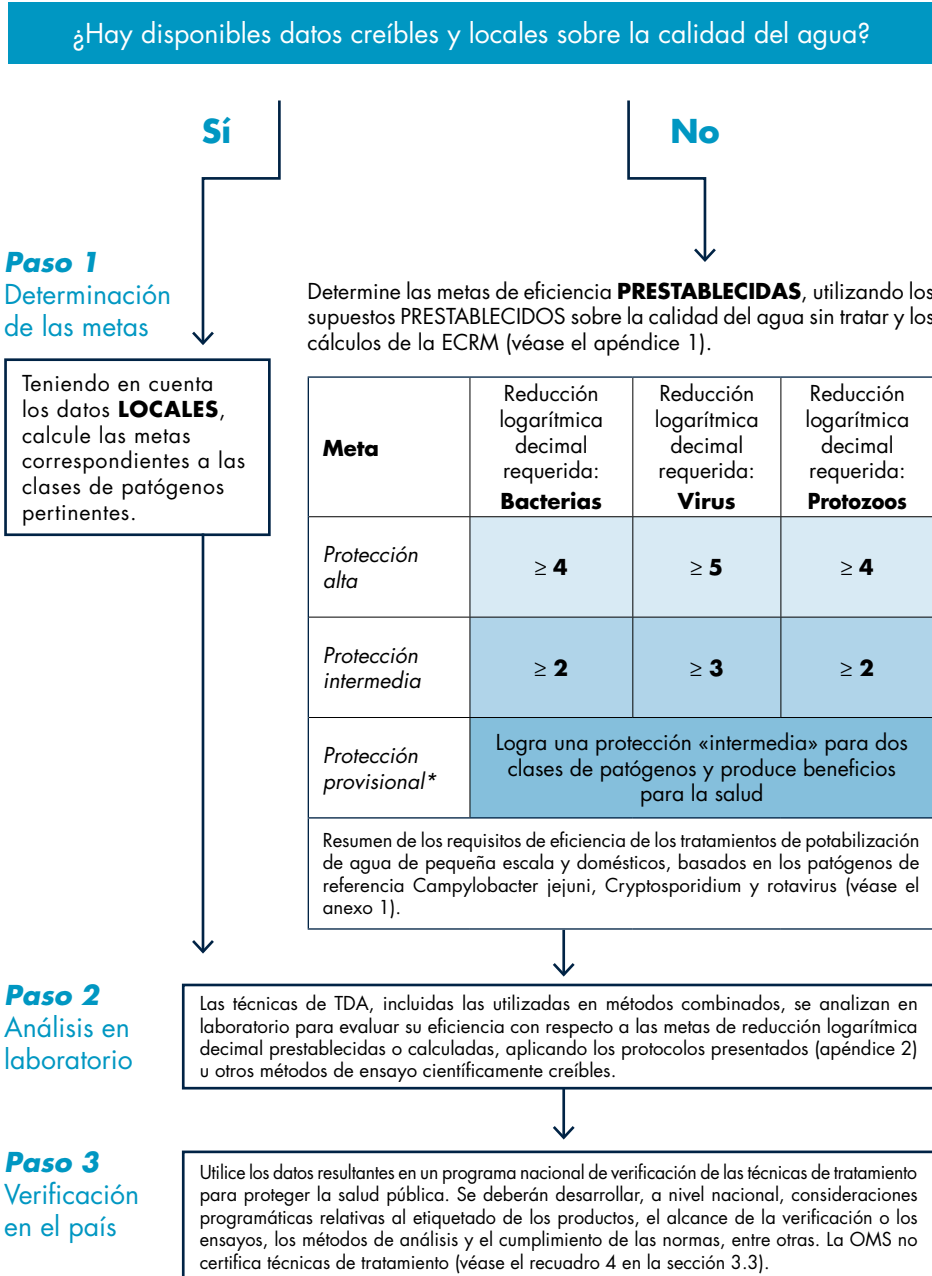
de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año, a una meta de nivel inferior, «provisional», que corresponde a la eficiencia de las tecnologías de bajo costo disponibles actualmente que han demostrado efectos beneficiosos para la salud. Como se describe en el recuadro anterior, los AVAD son una medida común utilizada para cuantificar y comparar la carga de morbilidad asociada a diferentes peligros para la salud.

La meta de nivel superior, denominada de protección «alta», representa a las técnicas que, usadas de forma correcta y sistemática durante todo un año, limitarán la carga de morbilidad del agua de consumo a  $10^{-6}$  AVAD por persona. Esta meta es muy conservadora y, desde una perspectiva sanitaria, se debe recomendar de forma inequívoca el uso de tales técnicas.

El segundo nivel, de protección «intermedia», se ha establecido como un nivel de carga de morbilidad tolerable menos estricto, pero aún así coherente con el objetivo de proporcionar agua de alta calidad y más segura. Este nivel de protección define un grado de eliminación de patógenos que logra una meta sanitaria de  $10^{-4}$  AVAD por persona y año. En zonas en las que se sospecha que la carga de morbilidad por enfermedades de transmisión hídrica es alta, las técnicas de tratamiento que logren alcanzar este segundo nivel de reducción logarítmica generarían beneficios significativos para la salud (véase el recuadro 2). Las metas de protección «alta» e «intermedia» se basan en la eliminación de las tres clases de agentes patógenos, y su justificación se describe en el apéndice 4.

No obstante, reconociendo que la meta de protección «alta» y, en menor medida, la de protección «intermedia» son conservadoras y que alcanzar estas metas puede no ser la opción más costoeficaz o factible en algunas situaciones, se ha establecido también una meta «provisional». Esta meta «provisional» se aplica a las técnicas que alcancen las metas de protección «intermedia» en la eliminación de dos clases de patógenos y que hayan demostrado su capacidad para reducir las infecciones diarreicas y transmitidas por el agua. El logro de esta meta de nivel inferior debe considerarse un primer paso en el proceso de mejora progresiva hacia la meta final de protección «alta».

**Figura 1. Diagrama de flujo del establecimiento de metas sanitarias de eficiencia de los TDA**



\* Las opciones de tratamiento clasificadas como de protección «provisional» sólo deberán recomendarse cuando haya pruebas epidemiológicas creíbles de que el uso de tales dispositivos reduce la carga de morbilidad de enfermedades transmitidas por el agua.

## Recuadro 2. El concepto de riesgo tolerable

El concepto de riesgo tolerable, permisible o aceptable es la base del planteamiento de la OMS para formular directrices sobre calidad del agua y fomentar su mejora gradual. El «nivel de riesgo de referencia» derivado de la exposición al agua de consumo es de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año (véase el capítulo 3 de las Guías para la calidad del agua potable). Las metas de eficiencia basadas en un nivel menos estricto de riesgo aceptable de exposición a enfermedades transmitidas por el agua (por ejemplo,  $10^{-4}$  AVAD por persona y año) pueden ser más fáciles de alcanzar y permitir, sin embargo, mantener el objetivo de proporcionar agua de mejor calidad y más segura. En ausencia de datos locales (véase la sección A1.5 del apéndice 1 para más información), deberá utilizarse, aplicando un criterio de precaución, el nivel más bajo de eficiencia de los resultados de las pruebas para una determinada clase de patógenos. Por ejemplo, las técnicas que proporcionen una reducción logarítmica decimal de 5 unidades en la concentración de bacterias, de 5 unidades en la de virus y de 3 unidades en la de protozoos no cumplirían la meta de protección «alta», que exige alcanzar una reducción logarítmica decimal de 4 unidades de la concentración de protozoos, de modo que alcanzarían tan solo el nivel de protección «intermedio» (figura 1).

## 3. ESTABLECIMIENTO DE LAS METAS SANITARIAS DE EFICIENCIA

### 3.1 Enfoque y principios generales

En el presente documento se especifican metas recomendadas de eficiencia microbiológica de las técnicas de TDA y se ofrece información complementaria que puede ser de utilidad para su aplicación a nivel nacional. La elaboración de estas recomendaciones se ha basado en los principios siguientes:

- *Las técnicas deben tener la mayor eficacia posible contra toda clase de microbios, con el objetivo de lograr mejoras graduales hacia la consecución del nivel de riesgo recomendado por la OMS de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año atribuibles al agua de consumo o de la meta sanitaria nacional pertinente.*
- *Las técnicas que no cumplen la meta recomendada de un nivel de riesgo de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año pueden, no obstante, contribuir a reducir en gran medida el riesgo de enfermedades transmitidas por el agua, sobre todo en situaciones con una carga de morbilidad alta. El nivel de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año constituye la protección más alta, pero el establecimiento de un procedimiento escalonado, con múltiples niveles de eficacia, tiene por objeto estimular la innovación y el logro de mejoras graduales; además, se reconoce el posible efecto beneficioso de las técnicas con niveles de eficiencia inferiores al óptimo. Por consiguiente, se propone una meta sanitaria intermedia de  $10^{-4}$  AVAD por persona y año.*
- *Puede recomendarse el uso de técnicas que son eficaces contra dos de las tres clases de agentes patógenos, pero no contra las tres, si están respaldadas por datos epidemiológicos que atestiguan sus efectos positivos para la salud. En un nivel inferior, «provisional», se sitúan las técnicas que cumplen dos de las metas de eficiencia de protección «intermedia», pero no las tres, y que generan beneficios para la salud respaldados por datos epidemiológicos. Por ejemplo, la desinfección con cloro libre es eficaz contra las bacterias y los virus, pero ineficaz contra *Cryptosporidium*, un importante protozoo parásito transmitido por el agua.*
- *Para lograr mejoras en la salud asociadas con el consumo de agua, es preciso utilizar las técnicas de TDA de forma sistemática y continua. El objetivo del TDA es aumentar de forma sistemática la salubridad del agua consumida por los usuarios. Por consiguiente, quienes consumen agua de fuentes insalubres deben usar las técnicas o métodos de manera continua. Para que el TDA produzca mejoras en la salud, es fundamental su aceptación y uso sistemático y continuado a largo plazo. No está entre las finalidades de este documento enumerar los diversos factores que influyen en el uso sistemático y continuado de las técnicas de TDA y en su eficiencia, pero se pueden considerar al establecer pautas de verificación de las técnicas a los niveles local o nacional (apéndice 3).*

### 3.2 Metas sanitarias de eficiencia microbiológica prestablecidas

Las metas de eficiencia se calcularon mediante modelos de ECRM. La ECRM se describe más detalladamente en el apéndice 4 y en las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011). Los niveles recomendados de reducción de la carga microbiológica calculados mediante los modelos de ECRM se muestran en la figura 1 (arriba) y en el cuadro 1. Los métodos de comprobación de la eficiencia se describen más pormenorizadamente en el recuadro 3.

**Cuadro 1. Requisitos de eficiencia de las técnicas de TDA y criterios asociados de reducción logarítmica decimal correspondientes a los niveles de protección «provisional», «intermedia» y «alta»**

Microorganismo de referencia utilizado en el modelo de relación dosis-respuesta	Número supuesto de microorganismos por litro utilizado en los cálculos del riesgo <sup>a</sup>	Clase d'agents pathogènes	Reducción logarítmica decimal requerida <sup>b</sup>		
			Protección provisional	Protección intermedia <sup>c</sup>	Protección alta <sup>c</sup>
			Para alcanzar los niveles de eficiencia se requiere un uso correcto, sistemático y continuo.		
<b><i>Campylobacter jejuni</i></b>	1	<b>Bacterias</b>	Logra una protección «intermedia» para dos clases de patógenos y produce beneficios para la salud	≥ 2	≥ 4
<b>Rotavirus<sup>d</sup></b>	1	<b>Virus</b>		≥ 3	≥ 5
<b><i>Cryptosporidium</i></b>	0.1	<b>Protozoos</b>		≥ 2	≥ 4

<sup>a</sup> Supuestos acerca de la calidad del agua de partida utilizados para calcular las metas de reducción de la carga microbiana cuando no hay datos locales disponibles. Se basan en el supuesto de que el agua no tratada contiene un 0,01% en volumen de aguas residuales, considerando las concentraciones de partida estimadas de los microorganismos de referencia en las aguas residuales indicadas en el volumen 2 de la publicación de la OMS *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater* (OMS, 2006). Si hay datos locales de calidad del agua en lo que respecta a su contenido de bacterias, virus y protozoos, deberán utilizarse en la ECRM, siempre que sean suficientemente representativos. El uso de datos diferentes de calidad del agua de partida se traducirá en valores diferentes de las reducciones logarítmicas decimales necesarias para alcanzar las metas pertinentes basadas en los riesgos objetivos utilizando los modelos de ECRM, según se describe en las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011).

<sup>b</sup> Calculada como  $\log_{10} (C_{\text{agua sin tratar}} / C_{\text{agua tratada}})$ , donde C = concentración de microorganismos en el agua.

<sup>c</sup> Agua tratada para lograr la reducción logarítmica decimal requerida para alcanzar la meta sanitaria de  $10^{-4}$  (en el caso de la protección «intermedia») y  $10^{-6}$  (protección «alta») AVAD por persona y año, basándose en los supuestos planteados sobre la calidad del agua de partida y usando los modelos de ECRM descritos en las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011).

<sup>d</sup> El dato de la concentración de rotavirus se ha obtenido de regiones de ingresos altos, según se muestra en el cuadro 7.4 de las *Guías para la calidad del agua potable*. En estas *Guías* se ofrece una explicación más detallada y se indica la validez para su aplicación en regiones de ingresos bajos (OMS, 2011).

### **Recuadro 3. Comprobación de la eficiencia**

La finalidad de las metas de eficiencia es fomentar la realización de ensayos de las técnicas de tratamiento aplicando un método normalizado que vincule los datos de eficiencia microbiológica con las metas sanitarias definidas. Para determinar la eficiencia han de usarse datos científicamente creíbles y metodológicamente rigurosos que cumplan los estándares de la investigación científica arbitrada. Han de usarse los protocolos de ensayo internacionales y nacionales existentes para bacterias, virus y protozoos (por ejemplo, los publicados por la USEPA, Agencia de los Estados Unidos para la protección del medio ambiente, o por NSF International/ANSI) o bien las recomendaciones de ensayo que figuran en el apéndice 2. Otras entidades interesadas también pueden desarrollar y aplicar a nivel nacional metas y métodos adaptados a las circunstancias del país. Estos programas de ensayo o certificación de productos podrán establecer requisitos de notificación de la información e incorporar sistemas de análisis colegiado, para alcanzar las metas de eficiencia.

### **3.3 Protocolos de ensayo**

Los procedimientos de ensayo de laboratorio se describen en el apéndice 2. Abarcan diversas técnicas de TDA, permiten el uso de sustitutos microbianos no patógenos en las pruebas de exposición y se pretende que sean ampliamente accesibles y adaptables a las capacidades y condiciones locales. Los protocolos describen los requisitos generales de las instalaciones de laboratorio y de los ensayos; los procedimientos adecuados para la configuración experimental y las condiciones de los ensayos, y la producción y preparación de las bacterias, virus y protozoos de referencia (y de otros microorganismos sustitutos no patógenos) utilizados en los ensayos, y contienen instrucciones relativas al modo correcto de añadir estos microbios al agua utilizada en los ensayos. En los casos pertinentes, se proporciona orientación general sobre la obtención de datos de ensayo científicamente creíbles y se aporta información específica sobre las técnicas y los microorganismos. Además, en el recuadro 4 se aborda la certificación y el etiquetado de los productos, aspectos que se describen en mayor detalle en el apéndice 2. Los protocolos de ensayo han de ser adaptables a los contextos y las condiciones locales, pero también proporcionar una base común para la comparación de técnicas. En el recuadro 5 se citan referencias que aportan información adicional relativa a la creación y la ejecución de protocolos de ensayo.



#### Recuadro 4. Certificación y etiquetado de los productos

Los requisitos de etiquetado de los productos pueden desarrollarse a nivel local y deberán ser aprobados por los organismos de reglamentación a nivel nacional. El etiquetado deberá proporcionar información suficiente para que los consumidores puedan distinguir, con conocimiento, las técnicas más eficaces de las que lo son menos. Las etiquetas deberán ser comprensibles y poderse comparar fácilmente. A nivel local, se podrá requerir la indicación de otras magnitudes de interés, como el caudal o volumen diario tratado, la fecha de caducidad o duración de uso, en su caso, o un indicador de la caducidad, así como otra información complementaria acerca de la eficiencia frente a contaminantes no descritos en este documento (por ejemplo, productos químicos).

La OMS no avala, certifica ni aprueba ninguna técnica específica para el tratamiento del agua de consumo. El cumplimiento por algún producto de las metas de eficiencia recomendadas en este documento no justifica la inclusión en su etiquetado de alusión alguna a la aprobación de la OMS, y el logotipo o el nombre de la OMS no deberán usarse, bajo ninguna circunstancia, en la publicidad o el etiquetado de los productos.

#### Recuadro 5. Enlaces a otros documentos de la OMS

Las metas de eficiencia microbiológica que aquí se presentan se han obtenido utilizando el enfoque basado en los riesgos articulado en las *Guías para la calidad del agua potable* basándose en las hipótesis acerca de las concentraciones de agentes patógenos en aguas no tratadas que figuran en el documento *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater* (Guías para el uso seguro de aguas residuales, excretas y aguas grises). La OMS recomienda basar la calidad del agua de consumo, siempre que sea posible, en un enfoque basado en el desarrollo de planes de seguridad del agua. Los siguientes documentos proporcionan información adicional. Los tres están disponibles en línea en:

[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/es/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/es/index.html).

- OMS (2011). *Guidelines for drinking-water quality* (Guías para la calidad del agua potable), cuarta edición, en inglés. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud.
- OMS (2006). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater* (Guías para el uso seguro de aguas residuales, excretas y aguas grises), en inglés. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud.
- OMS (2009). *Manual para el desarrollo de planes de seguridad del agua: metodología pormenorizada de gestión de riesgos para proveedores de agua de consumo*. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acheson D, Allos D (2001). *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases*, 32(8):1201–1206.
- Acra A, Raffoul Z, Karahagopian Y (1984). *Solar disinfection of drinking-water and oral rehydration solutions—Guidelines for household application in developing countries*. Ammán (Jordania), Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia; Beirut (Líbano), Universidad Americana de Beirut.
- Acra A et al. (1980). Disinfection of oral rehydration solutions by sunlight. *The Lancet*, 2:1257–1258.
- Adams MH (1959). *Bacteriophages*. Nueva York (EE.UU.), Wiley-Interscience.
- Adcock PW, Saint CP (2001). Rapid confirmation of *C. perfringens* by using chromogenic and fluorogenic substrates. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9):4382–4384.
- Aikhomu SE, Brieger WR, Kale OO (2000). Acceptance and use of communal filtration units in guinea worm eradication. *Tropical Medicine and International Health*, 5(1):47–52.
- Araújo M et al. (2001). Evaluation of fluorogenic TSC agar for recovering *Clostridium perfringens* in groundwater samples. *Water Science and Technology*, 43(12):201–204.
- Armon R, Payment P (1988). A modified m-CP medium for enumerating *Clostridium perfringens* from water samples. *Canadian Journal of Microbiology*, 34(1):78–79.
- Arnold B et al. (2009). Evaluation of a pre-existing, 3-year household water treatment and handwashing intervention in rural Guatemala. *International Journal of Epidemiology*, 38(6):1651–1661.
- Arnold BF, Colford JM (2007). Treating water with chlorine at point-of-use to improve water quality and reduce child diarrhea in developing countries: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76:354–364.
- ASTM (2002). *D5916-96(2002): Standard test method for detection and enumeration of Clostridium perfringens from water and extracted sediments by membrane filtration (MF)*. West Conshohocken, PA (EE.UU.), ASTM International.
- ASTM (2006). *D5392-93(2006): Standard test method for isolation and enumeration of Escherichia coli in water by the two-step membrane filter procedure*. West Conshohocken, PA (EE.UU.), ASTM International.
- AWWA (1999). *Waterborne pathogens: AWWA manual M48*. Denver, CO (EE.UU.), American Water Works Association.
- Babu R, Chaudhuri M (2005). Home water treatment by direct filtration with natural coagulant. *Journal of Water and Health*, 3(1):27–30.
- Backer H (2002). Water disinfection for international and wilderness travelers. *Clinical Infectious Diseases*, 34(3):355–364.
- Baker MN (1948). *Quest for pure water: the history of water purification from the earliest records to the twentieth century*. Denver, CO (EE.UU.), American Water Works Association.
- Baumgartner J (2006). *The effect of user behavior on the performance of two household water filtration systems* [Tesis de Maestría]. Boston, MA (EE.UU.), Harvard School of Public Health, Department of Population and International Health.
- Berney M et al. (2006a). Specific growth rate determines the sensitivity of *Escherichia coli* to thermal, UVA, and solar disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*, 72:2586–2593.
- Berney M et al. (2006b). Efficacy of solar disinfection of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium* and *Vibrio cholerae*. *Journal of Applied Microbiology*, 101:828–836.
- Bisson JW, Cabelli VJ (1979). Membrane filter enumeration method for *Clostridium perfringens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(1):55–66.
- Bitton G (2005). *Wastewater microbiology*, tercera edición. Nueva York (EE.UU.), John Wiley & Sons.
- Blatchley IER, Peel MM (2001). Disinfection by ultraviolet irradiation. En: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization, and preservation*, quinta edición. Nueva York (EE.UU.), Lippincott Williams & Wilkins, pp. 823–851.
- Boisson S et al. (2010). Field assessment of a novel household-based water filtration device: a randomized, placebo-controlled trial in the Democratic Republic of Congo. *PLoS One*, 5(9):e12613.
- Brown J, Sobsey M (2010). Microbiological effectiveness of locally produced ceramic filters for drinking water treatment in Cambodia. *Journal of Water and Health*, 8(1):1–10.
- Brown J, Proum S, Sobsey M (2008). *E. coli* in household drinking water and diarrheal disease risk: evidence from Cambodia. *Water Science and Technology*, 58(4):757–763.
- Brown J, Sobsey M, Loomis D (2008). Drinking water filters reduce diarrheal disease in Cambodia: a randomized, controlled trial of locally made ceramic filters. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(3):394–400.

- Brown J, Sobsey M, Proum S (2007). *Improving household drinking water quality: use of ceramic water filters in Cambodia*. Washington, DC (EE.UU.), Programa de Agua y Saneamiento (WSP) del Banco Mundial (WSP Field Note; [http://www.wsp.org/wsp/sites/wsp.org/files/publications/926200724252\\_eap\\_cambodia\\_filter.pdf](http://www.wsp.org/wsp/sites/wsp.org/files/publications/926200724252_eap_cambodia_filter.pdf)).
- Carlson K (2004). Working with bacteriophages: common techniques and methodological approaches. En: Kutter E, Sulakvelidze A, eds. *Bacteriophages: biology and applications*. Boca Raton, FL (EE.UU.), CRC Press, pp. 437–494.
- Chappell CL et al. (2006). *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(5):851–857.
- Charet C et al. (2001). Chlorine dioxide inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and bacterial spore indicators. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7):2993–3001.
- Checkley W et al. (1997). Asymptomatic and symptomatic cryptosporidiosis: their acute effect on weight gain in Peruvian children. *American Journal of Epidemiology*, 145(2):156–163.
- Chiller TM et al. (2006). Estudio aleatorizado controlado sobre la reducción de la diarrea en niños guatemaltecos mediante la adición de un floculante-desinfectante al agua de bebida. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*, 84(1):28–35.
- Clasen T, Brown J, Collin S (2006). Preventing diarrhoea with household ceramic water filters: assessment of a pilot project in Bolivia. *International Journal of Environmental Health Research*, 16(3):221–239.
- Clasen T et al. (2004). Reducing diarrhea through the use of household-based ceramic water filters: a randomized, controlled trial in rural Bolivia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70(6):651–657.
- Clasen T et al. (2007). Interventions to improve water quality for preventing diarrhoea: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 334(7597):755–756.
- Colwell RR et al. (2003). Reduction of cholera in Bangladeshi villages by simple filtration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(3):1051–1055.
- Conroy RM et al. (1996). Solar disinfection of drinking-water and diarrhea in Maasai children: a controlled field trial. *The Lancet*, 348:1695–1697.
- Conroy RM et al. (1999). Solar disinfection of water reduces diarrheal disease: an update. *Archives of Disease in Childhood*, 81:337–338.
- Conroy RM et al. (2001). Solar disinfection of drinking-water protects against cholera in children under 6 years of age. *Archives of Disease in Childhood*, 85(4):293–295.
- Crump JA et al. (2004a). Effect of point-of-use disinfection, flocculation and combined flocculation–disinfection on drinking-water quality in western Kenya. *Journal of Applied Microbiology*, 97:225–231.
- Dey BP et al. (1998). *USDA/FSIS microbiology laboratory guidebook*, tercera edición, Washington, D.C. (EE.UU.), United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service ([http://www.fsis.usda.gov/science/microbiological\\_Lab\\_Guidebook/](http://www.fsis.usda.gov/science/microbiological_Lab_Guidebook/)).
- Duke WF et al. (2006). The use and performance of BioSand filters in the Artibonite Valley of Haiti: a field study of 107 households. *Rural and Remote Health*, 6(3):570.
- Duncan CL, Strong DH (1968). Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Applied Microbiology*, 16(1):82–89.
- Eaton AD et al., eds (2005). Method 9222: Membrane filter technique for members of the coliform group. En: *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21ª edición, Washington, D.C. (EE.UU.), American Public Health Association.
- Esteban JG et al. (1998). High *Cryptosporidium* prevalences in healthy Aymara children from the northern Bolivian Altiplano. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58(1):50–55.
- Feachem RG et al. (1983). *Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management*. Chichester, John Wiley.
- Francis CA et al. (2001). A simple modified membrane filtration medium for the enumeration of aerobic spore-bearing bacilli in water. *Water Research*, 35(15):3758–3761.
- Frankland PF (1885). Water purification: its biological and chemical bases. *Proceedings of the Institute of Chemical Engineers*, 85:197–219.
- Gerba CP et al. (1996). Waterborne rotavirus: a risk assessment. *Water Research*, 30(12):2929–2940.
- Ghimire P, Sapkota D, Manandhar SP (2004). Cryptosporidiosis: opportunistic infection in HIV/AIDS patients in Nepal. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 27:7–10.
- Grabow WOK (2001). Bacteriophages: update on application as models for viruses in water. *Water SA*, 27(2):251–268.

- Havelaar A, Melse JM (2003). *Quantifying public health risk in the WHO GDWQ*. Bilthoven, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM Report 734301022/2003).
- Havelaar A et al. (2001). Guidelines: the current position. En: Fewtrell L, Bartram J, eds. *Water quality—Guidelines, standards and health: assessment of risk and risk management for water-related infectious disease*. Londres (Reino Unido), IWA Publishing.
- Hazen A (1900). The Albany water filtration plant. *Transactions of the American Society of Civil Engineers*, 40:244–352.
- Health Protection Agency (2004). *National Standard Method W 5 Issue 3: Enumeration of Clostridium perfringens by membrane filtration*. Londres (Reino Unido), United Kingdom Health Protection Agency.
- Hörman A et al. (2004). Evaluation of the purification capacity of nine portable, small-scale water purification devices. *Water Science and Technology*, 50(1):179–183.
- Hsieh PY, Labbe R (2007). Influence of peptone source on sporulation of *Clostridium perfringens* type A. *Journal of Food Protection*, 70(7):1730–1734.
- Hunter PR (2009). Household water treatment in developing countries: comparing different intervention types using meta-regression. *Environmental Science & Technology*, 43(23):8991–8997.
- Huo A et al. (1996). A simple filtration method to remove plankton-associated *Vibrio cholerae* in raw water supplies in developing countries. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7):2508–2512.
- Hygiene Improvement Project (2006). *Summary of household water treatment and storage e-conference proceedings*. Washington, D.C. (EE.UU.), Hygiene Improvement Project.
- Iijima Y et al. (2001). Prevention of bacterial diarrhoea by pasteurization of drinking-water in Kenya. *Microbiology and Immunology*, 45:413–416.
- IRC (2005). *Household water treatment FAQs*. Delft (Países Bajos), International Water and Sanitation Centre.
- Islam MF, Johnston RB (2006). Household pasteurization of drinking-water: the Chulli water-treatment system. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 24(3):356–362.
- ISO (2000). *ISO 9308-1:2000: Water quality—Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria—Part 1: Membrane filtration method*. Ginebra (Suiza), Organización Internacional de Normalización.
- Jain S et al. (2010). Sodium dichloroisocyanurate tablets for routine treatment of household drinking water in periurban Ghana: a randomized controlled trial. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(1):16–22.
- Jensen PK et al. (2004). Is there an association between bacteriological drinking-water quality and childhood diarrhoea in developing countries? *Tropical Medicine and International Health*, 9(11):1210–1215.
- Jevons C (1982). Ultraviolet systems in water treatment. *Effluent and Water Treatment*, 22:161–162.
- Jones K, Betaieb M, Telford DR (1990). Seasonal variation of thermophilic campylobacters in sewage sludge. *Journal of Applied Bacteriology*, 69:185–189.
- Joyce TM et al. (1996). Inactivation of faecal bacteria in drinking-water by solar heating. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2):399–402.
- Kaiser N et al. (2002). *2002 BSF evaluation report: Summary of all lab and field studies*. Enviado a Samaritan's Purse, Canadá.
- Kehoe SC et al. (2004). Batch process solar disinfection is an efficient means of disinfecting drinking-water contaminated with *Shigella dysenteriae* Type I. *Letters in Applied Microbiology*, 38(5):410–414.
- Koenraad PMFJ et al. (1994). Survey of *Campylobacter* in sewage plants in the Netherlands. *Food Microbiology*, 11:65–73.
- Labbe R, Somers E, Duncan C (1976). Influence of starch source on sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type A. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(3):455–457.
- Labbe RG, Rey DK (1979). Raffinose increases sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type A. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(6):1196–1200.
- Lantagne D, Quick R, Mintz E (2006). *Household water treatment and safe storage options in developing countries: a review of current implementation practices*. Washington, D.C. (EE.UU.), Woodrow Wilson International Center.
- Levin MM (2009). *Global enteric multi-center study. Diarrheal disease in infants and young children in developing countries*. Ponencia presentada en el Global Vaccine Forum, en Bamako (Mali).
- Lodder WJ, de Roda Husman AM (2005). Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in the Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3):1453–1461.
- Lodder WJ et al. (2010). Presence of enteric viruses in source waters for drinking water production in the Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(17):5965–5971.

- Lonnen J et al. (2005). Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking-water. *Water Research*, 239(5):877–883.
- Love DC, Sobsey MD (2007). Simple and rapid F+ coliphage culture, latex agglutination, and typing assay to detect and source track fecal contamination. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(13):4110–4118.
- Luby S et al. (2001). A low-cost intervention for cleaner drinking-water in Karachi, Pakistan. *International Journal of Infectious Diseases*, 5:144–150.
- MacKenzie WR et al. (1994). A massive outbreak of *Cryptosporidium* in Milwaukee transmitted through public water supply. *New England Journal of Medicine*, 331:161–167.
- Maier RM, Pepper IL, Gerba CP (2000). *Environmental microbiology*. Nueva York (EE.UU.), Academic Press.
- Masini L et al. (2007). Research and characterization of pathogenic vibrios from bathing water along the Conero Riviera (central Italy). *Water Research*, 41(18):4031–4040.
- Mäusezahl D et al. (2009). Solar drinking water disinfection (SODIS) to reduce childhood diarrhoea in rural Bolivia: a cluster-randomized, controlled trial. *PLoS Medicine*, 6(8):e1000125.
- Méndez-Hermida F et al. (2005). Effect of batch process solar disinfection (SODIS) on the survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in drinking-water. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(3):1653–1654.
- Metcalf & Eddy, Inc. (2003) *Wastewater engineering: treatment and reuse*. Nueva York (EE.UU.), McGraw Hill.
- Mintz E, Reiff F, Tauxe R (1995). Safe water treatment and storage in the home: a practical new strategy to prevent waterborne disease. *JAMA: Journal of the American Medical Association*, 273:948–953.
- Moe CL et al. (1991). Bacterial indicators of risk of diarrheal disease from drinking-water in the Philippines. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*, 69(3):305–317.
- Mooijman KA et al. (2001). Optimisation of the ISO-method on enumeration of somatic coliphages. *Water Science and Technology*, 43(12):205–208.
- Mooijman KA et al. (2005). Enumeration of bacteriophages in water by different laboratories of the European Union in two interlaboratory comparison studies. *Journal of Virological Methods*, 127(1):60–68.
- Mor SM, Tzipori S (2008). Cryptosporidiosis in children in sub-Saharan Africa: a lingering challenge. *Clinical Infectious Diseases*, 47:915–921.
- Nieminski EC, Bellamy WD, Moss LR (2000). Using surrogates to improve plant performance. *Journal of the American Water Works Association*, 92(3):67–78.
- NRC (2004). *Indicators for waterborne pathogens*. Prepared by the Committee on Indicators for Waterborne Pathogens, National Research Council. Washington, D.C. (EE.UU.), The National Academies Press.
- NSF (2003). *NSF Protocol P231: Microbiological water purifiers*. Ann Arbor, MI (EE.UU.), NSF International (<http://www.nsf.org>).
- Oates PM et al. (2003). Solar disinfection (SODIS): simulation of solar radiation for global assessment and application for point-of-use water treatment in Haiti. *Water Research*, 37:47–54.
- Olsen A, Magnussen P, Anemana S (1997). The acceptability and effectiveness of a polyester drinking-water filter in a dracunculiasis-endemic village in northern region, Ghana. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*, 75(5):449–452.
- OMS (2004). *Manual de bioseguridad en el laboratorio, tercera edición*. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud ([http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS\\_CSR\\_LYO\\_2004\\_11SP.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf)).
- OMS (2006). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Volume 2. Wastewater use in agriculture*. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud.
- OMS (2009). Nota de aclaración tras la reunión del Comité de Examen de Directrices del 6 de mayo de 2009 y la reunión oficiosa del 4 de junio 2009 con la Secretaría del Comité de Examen de las Guías para la calidad del agua potable.
- OMS (2011). *Guías para la calidad del agua potable*, cuarta edición (en inglés). Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud.
- Parashar UD et al. (2009). Global mortality associated with rotavirus disease among children in 2004. *Journal of Infectious Diseases*, 200(Suppl. 1):S9–S15.
- Parker AA et al. (2006). Sustained high levels of stored drinking-water treatment and retention of hand-washing knowledge in rural Kenyan households following a clinic-based intervention. *Epidemiology and Infection*, 134(5):1029–1036.

- Payment P, Franco E (1993). *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking-water treatment for viruses and protozoan cysts. *Applied and Environmental Microbiology*, 59:2418–2424.
- Payment P et al. (1985). Elimination of viruses and indicator bacteria at each step of treatment during preparation of drinking-water at seven water treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 49:1418–1428.
- PNUMA/SIMUVINA (2008). *Water quality for ecosystem and human health*, segunda edición. Burlington, Ontario (Canadá), Programa de Evaluación de la Calidad del Agua del Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente (SIMUVIMA) del Programa las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). ([http://www.unwater.org/wwd10/downloads/water\\_quality\\_human\\_health.pdf](http://www.unwater.org/wwd10/downloads/water_quality_human_health.pdf)).
- Prüss A et al. (2002). Estimating the burden of disease from water, sanitation, and hygiene at a global level. *Environmental Health Perspectives*, 110(5):537–542.
- Rainey RC, Harding AK (2005). Drinking-water quality and solar disinfection: effectiveness in periurban households in Nepal. *Journal of Water and Health*, 3(3):239–248.
- Ramos F et al. (2005). High prevalence rate of *Entamoeba histolytica* asymptomatic infection in a rural Mexican community. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(1):87–91.
- Rangel JM et al. (2003). A novel technology to improve drinking-water quality: a microbiological evaluation of in-home flocculation and chlorination in rural Guatemala. *Journal of Water and Health*, 1(1):15–22.
- Reller ME et al. (2003). A randomized controlled trial of household-based flocculant–disinfectant drinking-water treatment for diarrhea prevention in rural Guatemala. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 64:411.
- Roberts M (2004). Field test of a silver-impregnated ceramic filter. En: *Proceedings of the 30<sup>th</sup> Water, Engineering and Development Centre (WEDC) International Conference, Vientiane, Lao People's Democratic Republic*. Leicestershire (Reino Unido), Loughborough University, Water, Engineering and Development Centre.
- Rutjes SA et al. (2009). Detection of infectious rotavirus in naturally contaminated source waters for drinking water production. *Journal of Applied Microbiology*, 107(1):97–105.
- Sartory DP et al. (1998). Evaluation of two media for the membrane filtration enumeration of *Clostridium perfringens* from water. *Letters in Applied Microbiology*, 27:323–327.
- Schijven JF, de Roda Husman AM (2006). A survey of diving behaviour and accidental water ingestion among Dutch occupational and sport divers to assess the risk of infection with waterborne pathogenic microorganisms. *Environmental Health Perspectives*, 114:712–717.
- Schijven JF et al. (2003). Bacteriophages and *Clostridium* spores as indicator organisms for removal of pathogens by passage through saturated dune sand. *Water Research*, 37(9):2186–2194.
- Schmidt WP, Cairncross S (2009). Household water treatment in poor populations: is there enough evidence for scaling up now? *Environmental Science & Technology*, 43(4):986–992.
- Sobsey MD (1989). Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection processes. *Water Science and Technology*, 21(3):179–195.
- Sobsey M (2002). *Manejo del agua en la vivienda: beneficios acelerados para la salud derivados del abastecimiento de agua mejorado*. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud (WHO/SDE/WSH/02.07; [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/wsh0207/es/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/wsh0207/es/index.html)).
- Sobsey MD, Leland SE Jr (2001). Antiprotozoan and anthelmintic agents. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization, and preservation*, quinta edición. Nueva York (EE.UU.), Lippincott Williams & Wilkins, pp. 641–657.
- Sobsey MD et al. (1995). *Male-specific coliphages as indicators of viral contamination in drinking-water*. Denver, CO (EE.UU.), AWWA Research Foundation, 150 pp.
- Sobsey MD et al. (2004). Development and evaluation of methods to detect coliphages in large volumes of water. *Water Science and Technology*, 50(1):211–217.
- Souter PF et al. (2003). Evaluation of a new water treatment for point-of-use household applications to remove microorganisms and arsenic from drinking-water. *Journal of Water and Health*, 1(2):73–84.
- Spinks A et al. (2006). Thermal inactivation of water-borne pathogenic and indicator bacteria at subboiling temperatures. *Water Research*, 40:1326–1332.
- Stampi S et al. (1992). Occurrence, removal, and seasonal variation of “thermophilic” campylobacters in a sewage treatment plant in Italy. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 193:199–210.

- Stauber CE et al. (2006). Characterisation of the biosand filter for *E. coli* reductions from household drinking-water under controlled laboratory and field use conditions. *Water Science and Technology*, 54(3):1–7.
- Stauber CE et al. (2009). A randomized controlled trial of the concrete biosand filter and its impact on diarrheal disease in Bonao, Dominican Republic. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(2):286–293.
- Steiner TS et al. (1997). Protozoal agents: what are the dangers for the public water supply? *Annual Review of Medicine*, 48:329–340.
- Stelzer W (1988). [Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in waste water.] *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 143(1):47–54 (en alemán).
- Thompson T et al. (2007). *Chemical safety of drinking-water: assessing priorities for risk management*. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud ([http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241546768\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241546768_eng.pdf)).
- Thurston-Enriquez JA et al. (2003). Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1):577–582.
- Tzipori S, Widmer G (2008). A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. *Trends in Parasitology*, 24(4):184–189.
- UNICEF, WHO (2009). *Diarrhoea: why children are still dying and what can be done*. Nueva York (EE.UU.), Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud ([http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241598415\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241598415_eng.pdf)).
- USEPA (1987). *Guide standard and protocol for testing microbiological water purifiers*. Washington, D.C. (EE.UU.), United States Environmental Protection Agency, Office of Drinking Water.
- USEPA (2001a). *Method 1601: Male-specific (F+) and somatic coliphages in water by two-step enrichment procedure*. Washington, D.C. (EE.UU.), United States Environmental Protection Agency.
- USEPA (2001b). *Method 1602: Male-specific (F+) and somatic coliphages in water by single agar layer (SAL) procedure*. Washington, D.C. (EE.UU.), United States Environmental Protection Agency.
- USEPA (2002a). *Method 1603: Escherichia coli (E. coli) in water by membrane filtration using modified membrane-thermotolerant Escherichia coli agar (modified mTEC)*. Washington, D.C. (EE.UU.), United States Environmental Protection Agency.
- USEPA (2002b). *Method 1604: Total coliforms and Escherichia coli in water by membrane filtration using a simultaneous detection technique (MI medium)*. Washington, D.C. (EE.UU.), United States Environmental Protection Agency.
- Vargas M et al. (2004). Etiology of diarrhea in children less than five years of age of Ifakara, Tanzania. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70(5):536–539.
- Venczel LV et al. (1997). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4):1598–1601.
- Verhille S et al. (2003). Indigenous bacterial spores as indicators of *Cryptosporidium* inactivation using chlorine dioxide. *Journal of Water and Health*, 1(2):91–100.
- Waddington H et al. (2009). *Water, sanitation and hygiene interventions to combat childhood diarrhoea in developing countries*. International Initiative for Impact Evaluation (Synthetic Review 001; <http://www.3ieimpact.org/admin/pdfs2/17.pdf>).
- Ward HM (1893). Further experiments on the action of light on *Bacillus anthracis*. *Proceedings of the Royal Society*, 53:23–45.
- Wilson B (1992). *Coliphage MS-2 as UV water disinfection efficacy test surrogate for bacterial and viral pathogens*. Presentado en la Conferencia sobre tecnología para la calidad del agua (Water Quality Technology Conference) de la American Water Works Association (AWWA), Denver, CO (EE.UU.).
- Wolfe RL (1990). Ultraviolet disinfection of potable water: current technology and research. *Environmental Science & Technology*, 26(6):768–773.
- Wongstitwilairoong B et al. (2007). Intestinal parasitic infections among pre-school children in Sangkhlaburi, Thailand. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(2):345–350.
- Yongsi HBN (2008). Pathogenic microorganisms associated with childhood diarrhea in low-and-middle income countries: case study of Yaoundé-Cameroon. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 5:213–229.

## APÉNDICE 1. CÁLCULO DE LAS METAS DE EFICIENCIA MICROBIOLÓGICA

### A1.1 Evaluación cuantitativa de los riesgos microbiológicos

La evaluación cuantitativa de los riesgos microbiológicos (ECRM) predice los riesgos para la salud asociados con la exposición a microorganismos patógenos basándose en los avances en la evaluación de riesgos químicos, el estudio de las relaciones entre dosis y respuesta correspondientes a microorganismos patógenos, y la epidemiología de las enfermedades infecciosas. En este apéndice se proporciona información básica general sobre los métodos utilizados para determinar y cuantificar los riesgos para la salud derivados de la exposición a agentes patógenos en el agua de consumo y sobre el desarrollo y la identificación de metas sanitarias para las técnicas de tratamiento del agua. Es importante señalar que la ECRM es un método en evolución y que, en ausencia de datos pertinentes, como las concentraciones de partida de microorganismos patógenos en el agua no tratada, se basa en suposiciones. Los datos de la relación entre dosis y respuesta utilizados para determinar las constantes aplicadas en los cálculos de la ECRM se obtienen mediante estudios muy controlados en los que se administra a sujetos sanos una concentración conocida de un patógeno específico y se evalúan cuidadosamente los efectos subsiguientes sobre su salud.

### A1.2 Patógenos de referencia

La bacteria *Campylobacter jejuni*, los rotavirus y el protozoo parásito *Cryptosporidium* son los principales agentes patógenos de referencia transmitidos por el agua citados en las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011) y se utilizan aquí para determinar las metas de eficiencia. Estos microorganismos se eligieron como patógenos de referencia representativos de los tipos principales de patógenos presentes en el agua (bacterias, virus y protozoos) teniendo en cuenta su frecuencia, concentración y efectos sobre la salud. Son microbios con amplia presencia en poblaciones humanas y en aguas contaminadas con heces en todo el mundo y tanto su frecuencia en el agua como sus relaciones dosis-respuesta están relativamente bien caracterizadas, por lo que son sujetos idóneos para estimar los riesgos para la salud asociados con la presencia de bacterias, virus y protozoos en el agua.

Pueden utilizarse en modelos y análisis de ECRM para estimar los efectos que ocasionaría en la salud la ingestión de agua con cierto número de microorganismos de cada clase y su evolución en el tiempo. Las pruebas de exposición de las técnicas de TDA a estos microorganismos o a sus sustitutos permiten calcular valores de reducción logarítmica decimal de las concentraciones de los microorganismos para usarlas en el cálculo de los riesgos de exposición a enfermedades de transmisión hídrica para el modelo de evaluación de riesgos. En las fichas técnicas microbiológicas del capítulo 11 de las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011) se proporciona más información sobre cada uno de los patógenos de referencia.

#### A1.2.1 *Campylobacter jejuni*

Las bacterias del género *Campylobacter* se encuentran entre los agentes más comunes causantes de gastroenteritis aguda en todo el mundo (Acheson y Allos, 2001). Las personas o animales infectados las expulsan en concentraciones altas en las heces, su



dosis infecciosa para el ser humano es relativamente baja y pueden causar, en ocasiones, un grave trastorno neurológico tras la infección intestinal (síndrome de Guillain-Barré). En muchas partes del mundo, hay una incidencia muy alta de *Campylobacter* spp. en el ganado vacuno, porcino y ovino, y en aves de corral. *Campylobacter jejuni* es la especie de *Campylobacter* aislada más frecuentemente en casos de infección en seres humanos, y se ha documentado su transmisión por el agua.

### A1.2.2 Rotavirus

Los rotavirus se consideran una de las causas más comunes de morbimortalidad por gastroenteritis de los lactantes en el mundo, causando hasta 527 000 defunciones al año, el 29% de las muertes debidas a la diarrea (Parashar et al., 2009). Las personas infectadas expulsan concentraciones altas en las heces y la dosis infecciosa para el ser humano es relativamente baja. Además, hay numerosos rotavirus humanos diferentes y pueden producirse infecciones repetidas debido a que la inmunidad generada es de corta duración y a la falta de protección cruzada entre cepas o subtipos. La mayoría de los rotavirus humanos se transmiten de persona a persona o en aerosoles, pero también es posible la transmisión de la infección por aguas contaminadas con materia fecal. Al igual que otros virus, los rotavirus son relativamente resistentes a algunos procesos de tratamiento del agua, o incluso no se ven afectados.

### A1.2.3 *Cryptosporidium*

El microorganismo patógeno *Cryptosporidium* genera preocupación en todo el mundo. Ocasiona enfermedades diarreicas infantiles en África y Asia (Levin, 2009) y fue el agente microbiano responsable del gran brote de enteritis en los Estados Unidos de América (EE.UU.) en 1993 (MacKenzie et al., 1994). Además, se ha comprobado que es una de las causas principales de infección y enfermedad en personas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)/sida (Ghimire, Sapkota y Manandhar, 2004; Mor y Tzipori, 2008) en entornos con carga de morbilidad alta. Además de al ser humano, *Cryptosporidium* spp. infecta a muy diversos animales. De las especies de *Cryptosporidium* que infectan al ser humano, la principal es *C. hominis*. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. expulsados en las heces son relativamente estables y persistentes en el medio ambiente, y su presencia en aguas contaminadas con heces en todo el mundo es común. Los ooquistes de *Cryptosporidium* son también relativamente resistentes a desinfectantes químicos como el cloro, son infecciosos a dosis relativamente bajas y ocasionan infecciones graves y persistentes en personas inmunodeprimidas. *Cryptosporidium parvum* y *C. hominis* están entre los patógenos de transmisión hídrica más importantes (Steiner et al., 1997; Chappell et al., 2006; Tzipori y Widmer, 2008).

## A1.3 Estimación de las concentraciones de patógenos de partida

Las metas de eficiencia microbiológica se basan en la reducción de las concentraciones de microbios en el agua de consumo hasta un nivel de riesgo aceptable y, por lo tanto, se basan en la concentración inicial supuesta de determinados patógenos (por clases) en el agua.

Se puede hacer un cálculo conservador de las posibles concentraciones de patógenos en el agua no tratada basándose en las estimaciones de las concentraciones de patógenos en las aguas residuales, en las que la presencia y distribución de patógenos se han caracterizado mejor que en las fuentes de agua naturales. Esto se debe en parte a que es más difícil detectar, cuantificar e identificar los patógenos en las fuentes de agua habituales, en las que sus concentraciones pueden ser muy bajas. La presencia de patógenos concretos es variable, en el espacio y el tiempo, en poblaciones humanas y animales. En una determinada población y zona geográfica puede haber presencia de ciertos patógenos en raras ocasiones o nunca, mientras que otros pueden estar presentes siempre, pero en concentraciones variables, en función de la proporción de la población que esté infectada. En los cuadros A1.1 y A1.2 se proporcionan estimaciones de las concentraciones de los patógenos de referencia en las heces y en las aguas residuales domésticas o municipales.

### Cuadro A1.1. Estimaciones de la presencia de patógenos de referencia en las aguas residuales

Patógeno de referencia	Número por gramo de heces <sup>a</sup>	Número total excretado diariamente por persona infectada <sup>b</sup>	% de la población que disemina el patógeno <sup>c</sup>	Recuento estimado por litro de agua residual <sup>d</sup>	Otros valores notificados en aguas residuales (número por litro)	Referencias
<i>Campylobacter jejuni</i>	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^8$	10	10 000	32 000–500 000	Stelzer (1988); Jones, Betaieb y Telford (1990); Stampi et al. (1992); Koenraad et al. (1994)
Rotavirus	$1 \times 10^9$	$1 \times 10^{11}$	1–10	100–100 000 <sup>e</sup>	1000–90 700	Gerba et al. (1996); AWWA (1999)
<i>Cryptosporidium</i>	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^9$	1	1000	Hasta 10 000	Feachem et al. (1983); Metcalf & Eddy, Inc. (2003); Bitton (2005)

<sup>a</sup> Datos publicados o estimados basándose en la información más fiable disponible.

<sup>b</sup> Cifras basadas en los supuestos planteados por Feachem et al. (1983); las personas mayores de 15 años generan 150g de heces al día, los menores de 15 años generan 75g de heces al día, y dos tercios de las personas infectadas son menores de 15 años. Se obtiene así un peso medio de las heces de 100g por persona infectada al día.

<sup>c</sup> Estimaciones de Feachem et al. (1983) en su «comunidad hipotética de 50 000 personas en un país en desarrollo tropical». El dato no corresponde a una situación de brote, en la que la proporción de personas de la población que diseminan el microorganismo serían mucho mayores.

<sup>d</sup> Basado en los supuestos siguientes: 100 litros de aguas residuales por persona al día y 90% de inactivación de microbios en un plazo de tiempo corto.

<sup>e</sup> Hay escasos datos disponibles. Las medias aritméticas de las concentraciones notificadas en aguas residuales no tratadas varían de menos de 100 hasta 90 700 (Gerba et al., 1996). El modelo de evaluación de riesgos presupone una cifra de 1000 rotavirus por litro de agua residual.

**Cuadro A1.2. Concentraciones en heces, aguas residuales y aguas brutas (sin tratar) de ejemplos seleccionados de microorganismos indicadores y patógenos.<sup>a</sup>**

Microorganismo	Número por gramo de heces	Número por litro de agua residual no tratada	Número por litro de agua bruta (sin tratar)
Coliformes fecales ( <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella</i> )	10 <sup>7</sup> (la mayoría no patógenos)	10 <sup>6</sup> –10 <sup>10</sup>	100–100 000
<i>Campylobacter</i> spp.	10 <sup>6</sup>	100–10 <sup>6</sup>	100–10 000
<i>Vibrio cholerae</i> <sup>b</sup>	10 <sup>6</sup>	100–10 <sup>6</sup>	100–10 <sup>8</sup>
Enterovirus	10 <sup>6</sup>	1–1000	0,01–10
Rotavirus	10 <sup>9</sup>	50–5000	0,01–100
<i>Cryptosporidium</i>	10 <sup>7</sup>	1–10 000	0–1000
<i>Giardia intestinalis</i>	10 <sup>7</sup>	1–10 000	0–1000

<sup>a</sup> Los datos varían de un lugar a otro.

<sup>b</sup> *Vibrio* puede multiplicarse en el medio acuático.

Fuente: Extraído de OMS (2011), que cita las referencias siguientes: Feachem et al. (1983); Stelzer (1988); Jones, Betaieb y Telford (1990); Stampi et al. (1992); Koenraad et al. (1994); Gerba et al. (1996); AWWA (1999); Maier, Pepper y Gerba (2000); Metcalf & Eddy, Inc. (2003); Bitton (2005); Lodder y de Roda Husman (2005); Schijven y de Roda Husman (2006); Masini et al. (2007); Rutjes et al. (2009); Lodder et al. (2010)

Los valores de las concentraciones estimadas de patógenos de estos cuadros son indicativos, no exactos. La variabilidad de las concentraciones de bacterias indicadoras de contaminación fecal y de patógenos en las heces, aguas residuales y aguas naturales depende de muchos factores. Los valores pueden variar en función del consumo per cápita diario de agua, de la dieta y de otros factores que influyen en la producción de heces por habitante, así como de factores estacionales, como el grado de humedad o sequedad ambiental, que pueden influir en la extensión de la enfermedad (y en la expulsión de microorganismos por los infectados) y en la concentración de materia fecal en las aguas residuales.

Usando los datos del cuadro A1.1 y suponiendo que el agua no tratada, sin caracterizar, contiene un 0,01% de aguas residuales, se han estimado las concentraciones de partida de los agentes patógenos de referencia, a fin de calcular las reducciones logarítmicas decimales.

En el cuadro A1.3 se muestra el cálculo de las reducciones logarítmicas decimales requeridas para alcanzar el nivel de riesgo de referencia de la OMS: 10<sup>-6</sup> AVAD por persona y año (grado de protección «alta»). En el cuadro A1.4 se muestra el cálculo de las reducciones logarítmicas decimales compatibles con el grado «intermedio» de protección, correspondiente a un nivel de riesgo de referencia de 10<sup>-4</sup> AVAD por persona y año.

**Cuadro A1.3. Ejemplo de cálculo de la reducción logarítmica decimal de la concentración de microbios que debe lograr una técnica de tratamiento para alcanzar el nivel de riesgo de referencia de la OMS correspondiente a una protección «alta»:  $1 \times 10^{-6}$  AVAD por persona y año**

	Unidades	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rotavirus
Calidad del agua bruta (sin tratar) ( $C_R$ ), supuesta	Microorganismos por litro	<b>0,1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Eficacia del tratamiento requerida para alcanzar el nivel de riesgo tolerable (PT)	Reducción logarítmica decimal requerida	<b>3,88</b>	<b>3,98</b>	<b>4,96</b>
Calidad del agua de bebida ( $C_D$ )	Microorganismos por litro	$1,32 \times 10^{-5}$	$1,05 \times 10^{-4}$	$1,10 \times 10^{-5}$
Consumo de agua de bebida (V)	Litros por persona al día	1	1	1
Exposición por medio del agua de bebida (E)	Microorganismos ingeridos al día	$1,34 \times 10^{-5}$	$1,04 \times 10^{-4}$	$1,10 \times 10^{-5}$
Relación dosis-respuesta (r)	Probabilidad de infección por microorganismo	0,20	0,019	0,59
Riesgo de infección ( $P_{inf,d}$ )	Diario	$2,67 \times 10^{-6}$	$1,99 \times 10^{-6}$	$6,53 \times 10^{-6}$
Riesgo de infección ( $P_{inf,y}$ )	Anual	$9,74 \times 10^{-4}$	$7,25 \times 10^{-4}$	$2,38 \times 10^{-3}$
Riesgo de enfermedad diarreaica habiéndose producido infección ( $P_{ill inf}$ )		0,7	0,3	0,5
Riesgo de enfermedad diarreaica ( $P_{ill}$ )	Anual	$6,82 \times 10^{-4}$	$2,18 \times 10^{-4}$	$1,19 \times 10^{-3}$
Carga de morbilidad (db)	AVAD por caso	$1,47 \times 10^{-3}$	$4,60 \times 10^{-3}$	$1,40 \times 10^{-2}$
Proporción de la población vulnerable ( $f_s$ )	Porcentaje de la población	100%	100%	6%
Carga de morbilidad (DB)	AVAD al año	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$

Fórmulas

$$C_D = C_R \div 10^{PT}$$

$$E = C_D \times V$$

$$P_{inf,d} = E \times r$$

$$P_{ill} = P_{inf,y} \times P_{ill|inf}$$

$$DB = P_{ill} \times db \times f_s \div 100$$

Fuente: adaptado de OMS (2011). En este cuadro se utiliza el mismo formato y cálculos que se describen en las *Guías para la calidad del agua potable*.

**Cuadro A1.4. Ejemplo de cálculo de la reducción logarítmica decimal de la concentración de microbios que debe lograr una técnica de tratamiento para alcanzar el nivel de riesgo de referencia de la OMS correspondiente a una protección «intermedia»:  $1 \times 10^{-4}$  AVAD por persona y año**

	Unidades	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rotavirus
Calidad del agua bruta (sin tratar) ( $C_R$ ), supuesta	Microorganismos por litro	<b>0,1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Eficacia del tratamiento requerida para alcanzar el nivel de riesgo tolerable (PT)	Reducción logarítmica decimal requerida	<b>1,85</b>	<b>1,97</b>	<b>2,90</b>
Calidad del agua de bebida ( $C_D$ )	Microorganismos por litro	0,00140	0,0108	0,00126
Consumo de agua de bebida (V)	Litros al día	1	1	1
Exposición por medio del agua de bebida (E)	Microorganismos ingeridos al día	$1,40 \times 10^{-3}$	$1,08 \times 10^{-2}$	$1,26 \times 10^{-3}$
Relación dosis-respuesta (r)	Probabilidad de infección por microorganismo	0,20	0,019	0,59
Riesgo de infección ( $P_{inf,d}$ )	Diario	$2,80 \times 10^{-4}$	$2,07 \times 10^{-4}$	$7,49 \times 10^{-4}$
Riesgo de infección ( $P_{inf,y}$ )	Anual	0,097	0,073	0,24
Riesgo de enfermedad diarreaica habiéndose producido infección ( $P_{ill,inf}$ )		0,7	0,3	0,5
Riesgo de enfermedad diarreaica ( $P_{ill}$ )	Anual	0,068	0,022	0,12
Proporción de la población vulnerable ( $f_v$ )	AVAD por caso	$1,47 \times 10^{-3}$	$4,60 \times 10^{-3}$	$1,40 \times 10^{-2}$
Proporción de la población vulnerable ( $f_p$ )	Pourcentage de la población	100%	100%	6%
Carga de morbilidad (DB)	AVAD al año	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$
Fórmulas	$C_D = C_R \div 10^{PT}$ $E = C_D \times V$ $P_{inf,d} = E \times r$	$P_{ill} = P_{inf,y} \times P_{ill,inf}$ $DB = P_{ill} \times db \times f_v \div 100$		

Fuente: adaptado de OMS (2011). En este cuadro se utiliza el mismo formato y cálculos que se describen en las *Guías para la calidad del agua potable*.

## A1.4 Metas de eficiencia provisionales

La meta «provisional» está pensada para países con una carga de morbilidad alta en los que la calidad del agua de consumo es deficiente y cabe esperar que pequeñas mejoras en la reducción de las concentraciones de patógenos generen beneficios significativos para la salud. Tales beneficios se han demostrado históricamente

mediante mejoras modestas de la calidad del agua de consumo, plasmadas en reducciones de las concentraciones de especies de bacterias indicadoras del orden del 90-99% (Frankland, 1885; Hazen, 1900; Baker, 1948). Por ejemplo, se han realizado estudios epidemiológicos de campo que indican que las técnicas de TDA que cumplen con la meta «provisional» de eficiencia pueden estar asociadas con reducciones cuantificables de la incidencia de enfermedades diarreicas en grupos que utilizan tales técnicas con respecto a grupos que no las utilizan (Brown, Sobsey y Loomis, 2008). Además, en ciertos casos, tales como la desinfección con cloro libre (que no es eficaz contra *Cryptosporidium*), los datos de numerosos ensayos de campo indican un efecto protector contra las enfermedades diarreicas (Arnold y Colford, 2007). En estudios de campo de intervenciones epidemiológicas de TDA a corto plazo, se observan a menudo reducciones del riesgo de enfermedades diarreicas del orden del 15 al 50%, tomando todas las técnicas en conjunto (Clasen et al., 2007; Waddington et al., 2009). Las reducciones menores se dan en estudios que utilizan métodos más rigurosos para limitar el sesgo o en estudios que cuentan con agua de consumo de calidad bastante buena. Esto sugiere que estas técnicas pueden reducir las cargas de morbilidad y servir como medidas de prevención de enfermedades de carácter temporal, hasta que puedan aplicarse técnicas de tratamiento de agua domésticas o comunitarias más eficaces.

Las técnicas regidas por la meta «provisional» pueden tener una eficiencia baja para una clase de agentes patógenos, pero lograr, no obstante, reducciones que cumplen la meta sanitaria de al menos  $10^{-4}$  AVAD para dos de las tres clases de patógenos. Además, para lograr el nivel de protección «provisional», se ha de demostrar, por medio de pruebas epidemiológicas, que las técnicas reducen considerablemente la incidencia de enfermedades diarreicas. Queda fuera del alcance del presente documento definir los criterios que determinan qué pruebas epidemiológicas son creíbles. Es importante señalar, no obstante, desde una perspectiva normativa global (es decir, que debe tener en cuenta la variabilidad de las condiciones locales), que se prefieren las técnicas eficaces contra las tres clases de patógenos. Para abordar los casos de eficiencia baja para una clase de patógenos se debe considerar el enfoque multibarrera, analizado más detenidamente en el apéndice 2.

### A1.5 Cálculo de las metas de eficiencia microbiológica con datos del lugar

Pueden utilizarse datos del lugar para establecer, por medio del marco descrito en el capítulo 7 de las *Guías para la calidad del agua potable*, los criterios de reducción logarítmica decimal que permiten alcanzar las metas basadas en la salud. Si se utilizan este tipo de datos para establecer criterios de eficiencia basados en los riesgos para zonas concretas, se deben tener en cuenta la variabilidad estacional y geográfica de las concentraciones de bacterias, virus y protozoos, preferiblemente las de los microbios de referencia (*Campylobacter jejuni*, rotavirus y *Cryptosporidium*). Cuando no hay datos o no son suficientemente detallados, pueden utilizarse los niveles predeterminados especificados en este documento (véase el cuadro A1.1 anterior). Cuando la finalidad de la intervención de TDA sea prevenir la exposición a ciertos patógenos concretos y no a todos los agentes patógenos que pudieran estar presentes (por ejemplo, en brotes de cólera), deben utilizarse, si es posible, datos correspondientes a los patógenos específicos de interés. Los datos de partida deberán ser suficientes para calcular de

forma fiable las concentraciones microbianas medias o medianas, la magnitud de la variabilidad de las concentraciones (expresadas mediante las desviaciones estándar y los intervalos de confianza del 95%) y los valores extremos. Se deben incluir los datos correspondientes a muestras tomadas durante los períodos de mayor vulnerabilidad a la contaminación (por ejemplo, con tiempo húmedo) y con riesgo probablemente más alto (teniendo en cuenta los efectos de fuentes de contaminación fecal conocidas, tales como descargas periódicas de aguas residuales, y otros factores específicos del lugar que aumentan la contaminación fecal). Los programas nacionales de certificación o de ensayo de técnicas pueden establecer requisitos locales basados en los principios de la ECRM articulados aquí y en datos microbiológicos locales. Los programas nacionales de certificación también pueden optar por establecer supuestos preestablecidos relativos a la calidad del agua (recuentos microbianos para las tres clases de patógenos en el agua sin tratar) basados en datos de vigilancia representativos obtenidos en estudios realizados a nivel local, regional o nacional.

## APÉNDICE 2. PROTOCOLOS DE ENSAYO PARA LA EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE TÉCNICAS ESPECÍFICAS DE TRATAMIENTO DOMÉSTICO DEL AGUA

### A2.1 Fundamento del desarrollo y la aplicación de ensayos de técnicas específicas

Antes de comenzar a realizar análisis de laboratorio, debe haber programas claros de evaluación de las técnicas de tratamiento, acompañados de un marco de reglamentación y de vigilancia del cumplimiento de las normas adaptado al entorno institucional local. Ha de contarse con protocolos rigurosos y medidas normalizadas que puedan comunicarse eficazmente a todos los interesados.

Así como las metas de eficiencia de las técnicas basadas en el análisis de los riesgos son medidas estándar que pueden adoptarse a nivel internacional, los programas de ensayo y los requisitos específicos para técnicas concretas pueden variar de acuerdo a las necesidades y los recursos de cada lugar. La finalidad del presente documento es servir de base para la creación de tales directrices y protocolos.

Los programas de verificación deben ubicarse en el marco de una estructura institucional cuidadosamente seleccionada. Los programas nacionales de verificación habrán de tener en cuenta:

- la aceptabilidad y la aplicabilidad de los datos epidemiológicos o de eficiencia microbiológica existentes a efectos de la aprobación local del uso de las técnicas;
- el alcance y el contenido de los protocolos de ensayo;
- la aprobación de protocolos de ensayo específicos para cada técnica;
- la autoridad de reglamentación;
- el cumplimiento de las normas y el etiquetado;
- el etiquetado de los productos;
- el carácter voluntario u obligatorio del programa;
- las normas relativas a la notificación y el control de la calidad de los datos;
- la certificación de los laboratorios de ensayo y criterios para la verificación independiente;
- la renovación de la certificación de los productos;
- la publicación y difusión de los resultados para mantener la transparencia;
- los costos de los ensayos y la entidad responsable de pagarlos;
- las normas de reciprocidad por las que se reconocen otros programas de ensayo.

Si bien estos y otros factores están fuera del alcance de este documento, son fundamentales para la correcta aplicación de una evaluación nacional de la eficiencia de las técnicas de TDA, también conocida en algunos países como programa de verificación de las técnicas. La experiencia del proyecto BETV-SAM (<http://www.betv-sam.org/>) de verificación de técnicas ambientales y apoyo a la mitigación del arsénico de Bangladesh ha puesto de manifiesto que es posible desarrollar un programa nacional de evaluación y verificación de la eficiencia de técnicas de tratamiento del agua mediante la cooperación de diversos interesados a nivel sectorial con apoyo del sector privado. Aunque el programa no está exento de limitaciones, como las derivadas de los costos y el continuo problema de facilitar la actualización de las verificaciones



tras la realización de mejoras de los dispositivos, puede proporcionar enseñanzas a otros programas de verificación a nivel nacional de técnicas medioambientales.

## **A2.2 Principios rectores y factores que se deben tener en cuenta al desarrollar protocolos de ensayo de técnicas de TDA**

El desarrollo y la aplicación de ensayos de técnicas específicas comprende, resumidamente, tres aspectos: la selección de las técnicas objeto de ensayo, las pruebas de laboratorio para determinar su eficiencia contra los contaminantes de interés, y otras pruebas y consideraciones. Estos aspectos se describen en más detalle a continuación:

- 1) *Selección de las técnicas objeto de ensayo.* Hay actualmente disponibles en todo el mundo muy diversos dispositivos y métodos de TDA. Estas técnicas varían en términos de costo, disponibilidad y eficacia, entre muchos otros factores. La selección de las técnicas de interés para los programas de verificación de empresas, gobiernos, asociaciones sectoriales, organizaciones no gubernamentales o multilaterales pueden basarse en información local o internacional, o en la disponibilidad local de las técnicas; o pueden seleccionarse técnicas particulares de interés. Puede ser útil realizar una selección preliminar de las técnicas mediante parámetros sencillos, de interés local, para determinar cuáles habrán de someterse a ensayos adicionales.
- 2) *Pruebas de laboratorio para determinar la eficacia contra contaminantes de interés.* Dado que la finalidad específica del TDA es reducir la concentración de patógenos en el agua, la determinación de su eficacia antimicrobiana es esencial para proteger a los usuarios finales de las técnicas. En el presente documento se describen los niveles recomendados de eliminación de patógenos y un método general de verificación de las técnicas. Los protocolos relativos a los ensayos de laboratorio, el control de calidad de los datos y la rendición de informes se deberán desarrollar en el país y pueden ser específicos para cada técnica.
- 3) *Otras pruebas necesarias, de interés en función de las condiciones nacionales.* En el apéndice 3 se describen algunas de las consideraciones adicionales que pueden ser de utilidad en la verificación local de técnicas de tratamiento. Debido a que la utilidad del TDA para la protección de la salud pública depende de la cobertura, del uso continuo y correcto, y de la eficacia en diversas condiciones a largo plazo, pueden incluirse en los programas locales de verificación de las técnicas otros factores que pueden afectar a la sostenibilidad del TDA. Los parámetros y protocolos deben ser pertinentes para el lugar y los deben desarrollar las partes interesadas.

Al considerar la tarea específica de desarrollar protocolos de ensayo de TDA, deben considerarse varios principios importantes, entre los que cabe destacar los siguientes:

- *Los protocolos deberán generar datos que demuestren la eficacia de las técnicas de TDA contra bacterias, virus y protozoos.* Idealmente, deberá demostrarse que las técnicas de TDA reducen eficazmente todas las clases de microorganismos

patógenos transmitidos por el agua. Si la técnica sólo elimina eficazmente dos clases de patógenos, para cumplir con la meta de protección «provisional» deberá demostrarse que genera beneficios para la salud. En la sección 2.3 del cuerpo principal del texto se proporciona una explicación más detallada.

- *Siempre que sea posible, deberán utilizarse o adaptarse los protocolos de ensayo existentes.* Hay disponibles diversos protocolos para ensayos microbiológicos de técnicas de tratamiento de agua que pueden ser aplicables a nivel local. Los protocolos publicados por la USEPA y por NSF International/ANSI (USEPA, 1987; NSF, 2003) siguen metodologías rigurosas y, aplicados adecuadamente, pueden generar datos de eficiencia microbiológica científicamente creíbles.
- *Para demostrar la eficiencia de técnicas diferentes pueden requerirse enfoques diferentes.* La amplia gama de métodos de TDA en uso actualmente puede limitar la utilidad de un protocolo normalizado único.
- *Los protocolos deben ser rigurosos pero flexibles.* Debe existir la posibilidad de adaptar los protocolos a técnicas nuevas, a otros microorganismos de interés y a contextos diferentes, siempre y cuando generen datos científicamente creíbles.
- *Los ensayos de laboratorio deben simular fielmente el uso real sobre el terreno.* Las pruebas de determinación de la eficiencia realizadas en condiciones que simulan el uso sobre el terreno pueden producir datos que permiten estimar con mayor exactitud la eficacia a largo plazo en el uso doméstico real.
- *Los protocolos se pueden desarrollar o adaptar en el ámbito local.* Las capacidades de los laboratorios y de las personas varían. Los protocolos no son útiles si no es posible aplicarlos con los recursos y las limitaciones locales. Los protocolos sugeridos en el presente documento tienen esto en cuenta y pueden aplicarse en laboratorios microbiológicos dotados de capacidades básicas. Los protocolos para la comprobación de la eficiencia desarrollados a nivel local pueden adaptarse mejor a las condiciones locales. Deberán desarrollarse a nivel local procedimientos normalizados para el trabajo de laboratorio y la elaboración de informes.
- *Los protocolos deberán estar respaldados por un marco institucional apropiado.* Los datos de las pruebas de determinación de la eficiencia de las técnicas de tratamiento han de interpretarse en el ámbito local y ha de actuarse en consecuencia para que los usuarios puedan beneficiarse de la información generada en los programas de ensayo. El proceso de diseño y ejecución de programas de verificación de técnicas de tratamiento es complejo y recibe aportes de un amplio abanico de interesados.

Los procedimientos de ensayo para caracterizar o verificar la eficiencia de las técnicas deben incluir una serie de parámetros operativos clave que se sabe que influyen en la eficacia de la reducción de la carga microbiana. Los ensayos deberán someter a la técnica a un desafío razonable para determinar su eficacia contra los microorganismos patógenos presentes en el agua. En el cuadro A2.1 se muestran algunos de los principales parámetros conocidos que afectan a la eficiencia de las técnicas de TDA y que deberán considerarse en el desarrollo o la ejecución de protocolos de ensayo para técnicas específicas.

## Cuadro A2.1. Parámetros, variables o condiciones que pueden afectar a la eficiencia de técnicas específicas

Técnica	Parámetros, variables o condiciones de ensayo que podrían afectar a la eficiencia
Desinfección química	Concentración y tipo de desinfectante, tipo de reactor de tratamiento, tiempo de reacción (de contacto), pH, temperatura, sólidos disueltos (orgánicos e inorgánicos) y componentes en suspensión (por ejemplo, turbidez o partículas en suspensión) que pueden interferir con la inactivación microbiana por consumir el desinfectante o por proteger físicamente a los microorganismos que han de eliminarse
Filtros de membrana, de cerámica porosa o compuestos	Turbidez o materia suspendida, sólidos disueltos (orgánicos o inorgánicos), temperatura, pH, tiempo de contacto o caudal, composición química de la superficie filtrante, distribución de tamaño de poros del medio filtrante, geometría del filtro; entre los parámetros operativos cabe citar el caudal, la densidad de flujo, el carácter intermitente o continuo del flujo, la duración de la operación de filtración, los factores que influyen en la colmatación u obstrucción, los procedimientos y ciclos de limpieza del medio filtrante, y el riesgo de circunvolución del medio filtrante (componentes de sellado defectuosos u otros desperfectos que afectan a la integridad del filtro)
Filtros de medio granular	Turbidez, temperatura, pH, tiempo de contacto, composición química de la superficie filtrante, constituyentes disueltos y coloidales, geometría del lecho filtrante, tiempo de residencia hidráulico y el perfil de flujo (por ejemplo, predominio de flujo de pistón o «de cortocircuito», es decir, con trayectorias de flujo preferentes), y grado de actividad biológica en las partículas del medio filtrante o sobre la superficie del lecho filtrante; entre los parámetros operativos cabe citar el caudal, la densidad de flujo, el flujo intermitente o continuo, la duración de la operación de filtración, y los procedimientos y ciclos de limpieza del medio filtrante.
Desinfección solar	Radiación solar incidente, medios para aumentar la captación de energía solar (por ejemplo, reflectores solares), temperatura, tiempo de exposición, concentración de oxígeno disuelto en el agua, turbidez o materia en suspensión; constituyentes absorbentes de radiación UV disueltos en el agua y opacidad a la radiación UV de las paredes del envase, constituyentes solubles sujetos a cambios químicos inducidos por la luz solar que modulan la actividad antimicrobiana (por ejemplo, reacciones de fotocatalisis homogénea, o <i>foto-Fenton</i> ) y presencia de óxidos metálicos u otros aditivos o recubrimientos particulados destinados a aumentar la eficacia de la desinfección
Radiación UV (lámpara o LED)	Intensidad de la radiación incidente ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) y fluencia o dosis de radiación UV suministrada ( $\text{mW}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ ), longitudes de onda del intervalo UV germicida, tiempo de exposición, oxígeno disuelto, turbidez o materia en suspensión (medida mediante la transmitancia o absorbancia), componentes disueltos o solutos (que absorben la radiación UV o modifican su reactividad con los microorganismos que se desea eliminar)
Técnicas térmicas	Temperatura, tiempo de exposición, constituyentes disueltos o suspendidos que protegen a los microbios o los estabilizan física o químicamente (por ejemplo, arcillas y proteínas)
Coagulación, precipitación o sedimentación	Tipo (propiedades químicas) de coagulante o precipitante, dosis química, tiempo de contacto, pH, mezcla (condiciones para la coagulación-floculación o precipitación), condiciones de asentamiento para la sedimentación (estática; sin mezcla), turbidez o materia en suspensión, solutos disueltos (orgánicos e inorgánicos), tamaños de partículas y geometría del recipiente
Métodos combinados (multibarrera) u otras técnicas novedosas	Combinaciones de las variables y condiciones anteriores, en función de los métodos químicos y físicos de tratamiento utilizados, de forma simultánea o secuencial

UV: ultravioleta

## A2.3 Técnicas disponibles

Diversos autores han publicado reseñas de los conocimientos actuales sobre los aspectos prácticos y las aplicaciones de las intervenciones relativas a las técnicas de tratamiento doméstico y almacenamiento seguro del agua (Sobsey, 2002; IRC, 2005; Hygiene Improvement Project, 2006; Lantagne, Quick y Mintz, 2006). Entre los métodos físicos de tratamiento del agua a pequeña escala cabe citar la ebullición, el calentamiento (con energía solar o combustibles), la filtración, la sedimentación y la radiación UV (solar o de lámparas de UV). Entre los métodos químicos cabe citar la coagulación-floculación y precipitación, el intercambio iónico, la desinfección química con agentes germicidas (principalmente cloro) y la adsorción. Las combinaciones de estos métodos, usados de forma simultánea o secuencial (por ejemplo, la combinación de coagulación y desinfección) a menudo dan resultados más eficaces, por ser técnicas multibarrera (Souter et al., 2003). Otras combinaciones o métodos multibarrera son la filtración en lecho filtrante seguida de desinfección química, la filtración en lecho filtrante seguida de filtración de membrana, o la filtración compuesta combinada con la desinfección química. En las reseñas mencionadas, y en otras reseñas de técnicas, se ha sugerido que el éxito de las intervenciones depende en gran medida del contexto específico y que ninguna técnica o método constituye una solución universalmente óptima (Clasen et al., 2007). Factores como la disponibilidad de materiales, la calidad del agua bruta (sin tratar) disponible, las costumbres culturales y preferencias de los usuarios o el costo pueden determinar qué técnica es la más adecuada para el TDA en entornos con recursos limitados, como los de los países tecnológicamente menos desarrollados.

## A2.4 Configuración experimental y condiciones de los ensayos

Los protocolos de los ensayos microbiológicos descritos a continuación están concebidos para poder adaptarse al contexto de cada lugar al tiempo que proporcionan una base común para la evaluación de la eficiencia de las técnicas en ausencia de programas de ensayo o verificación de técnicas desarrollados localmente. Estos protocolos, cuyo alcance está limitado a la eficiencia microbiológica, proporcionan una orientación general y recomendaciones para la realización de ensayos científicamente creíbles de técnicas de TDA específicas. Constituyen un método de comprobación de la eficiencia microbiológica, pero no el único.

En la medida en que sea posible, la configuración de los experimentos para el ensayo de estas técnicas de TDA deberá simular las condiciones reales de uso en el contexto en que se utilizarán. Por ejemplo, los ensayos de medios de filtración o filtros de membrana deberán prolongarse, con un flujo intermitente, durante la duración típica de las operaciones de filtración o ciclos de uso, realizándose limpiezas periódicas, y con aguas de calidad semejante o peor que la del agua que se deberá tratar (es decir, agua que simule la situación más desfavorable, como la denominada «agua de ensayo 2» en el cuadro A2.2). Los ensayos de las técnicas de desinfección solar o química deberán realizarse por lotes, si se van a aplicar así en la práctica, y con agua de calidad fisicoquímica similar o peor que la del agua que se va a tratar, en condiciones que producirán una estimación conservadora de la eficiencia de la técnica sobre el terreno. La duración de los ensayos deberá coincidir con la duración prevista

o declarada del uso de la técnica de tratamiento, medida, por ejemplo, por el volumen total de agua que se puede tratar antes de sustituir un componente funcional (como un elemento de filtración, un módulo de suministro de desinfectante o una lámpara de UV), con objeto de documentar la capacidad de lograr una eficiencia óptima durante dicho periodo de uso.

### Cuadro A2.2. Dos tipos de aguas, concebidas como modelo de las diversas posibles fuentes de agua sin tratar, recomendadas para ensayos de verificación en laboratorio de todas las técnicas

	Agua de ensayo 1	Agua de ensayo 2
Descripción	Agua subterránea de alta calidad, agua superficial, agua de lluvia «cosechada» (recién recogida) u otra agua sin residuos de sustancias desinfectantes	Agua subterránea de alta calidad, agua superficial, agua de lluvia u otra agua sin residuos de desinfectantes con un 20% en volumen de efluente primario de aguas residuales o un 1% en volumen de aguas de alcantarilla brutas, sin tratar, esterilizar ni pasteurizar
Turbidez	< 5 UNT	> 30 UNT
pH	7,0–9,0	6,0–10,0
Temperatura	20 °C ± 5 °C	4 °C ± 1 °C

UNT: unidad nefelométrica de turbidez

A continuación se proporcionan, como indicación general, parámetros específicos para uso en la evaluación de la eficiencia y en estudios de validación de técnicas de tratamiento. Sin embargo, la configuración experimental utilizada efectivamente para cada técnica estudiada debería, en la medida de lo posible, *reflejar exactamente o simular* las recomendaciones del fabricante o ejecutor para el uso doméstico diario de la técnica. Puede abarcar aspectos como el volumen de agua tratada en el ensayo, el tiempo de procesamiento (por ejemplo, el tiempo de contacto o exposición o el caudal), la temperatura y otras condiciones físicas pertinentes, así como la representatividad de la calidad del agua bruta (por ejemplo, su turbidez máxima e intervalo de pH). En los ensayos de larga duración (por ejemplo, con medios de filtración granulares, porosos o de membrana), el volumen mínimo adecuado para la verificación en laboratorio ha de ser al menos 20 litros al día. Para las técnicas que tratan volúmenes menores que 20 litros, deberán seguirse las recomendaciones del fabricante. Ahora bien, deberán producirse en todo caso durante el ensayo 20 litros al día, el volumen mínimo de agua potable que se considera que necesita un hogar para el consumo diario. Por consiguiente, en el caso de algunos sistemas de tratamiento por lotes podrá ser preciso, para producir 20 litros al día, tratar varios lotes del volumen más pequeño de agua especificado por el fabricante.

En los ensayos de la eficacia de tratamientos para distintos microorganismos, para evitar toda interacción entre los microorganismos que pudiera influir en su validez, deberán usarse unidades de tratamiento individuales independientes para determinar la eficiencia con respecto a cada microorganismo (por ejemplo, *Escherichia coli*, bacteriófagos, esporas de *Clostridium perfringens*). Por ejemplo, el agua para el ensayo podría contener bacteriófagos indígenas que podrían infectar a las bacterias *E. coli* B, ocasionando un aumento imprevisto de la producción de bacteriófagos en el agua del ensayo, y una disminución del número de bacterias *E. coli* B, debido a la lisis ocasionada por los bacteriófagos. Si se considera el uso simultáneo de múltiples microorganismos en el ensayo, deberán realizarse experimentos preliminares en el

agua que se utilizará en el ensayo para comprobar que las concentraciones de los microorganismos añadidos al agua no cambian apreciablemente durante un período igual a la duración del tratamiento.

#### **A2.4.1 Volumen y características fisicoquímicas del agua que se utilizará en el ensayo**

Para cada aspecto de la calidad del agua, se deberán someter a ensayo al menos 20 litros de cada tipo de agua (cuadro A2.2) a la que se han añadido cantidades especificadas de los microbios estudiados por lote u operación, o por día. Las pruebas de exposición deberán realizarse durante periodos apropiados y representativos especificados o recomendados para el uso de medios de filtración, técnicas de irradiación UV o filtros de membrana o porosos. En el cuadro A2.2 se muestran valores sugeridos de parámetros no microbiológicos de calidad del agua para el ensayo (pH, turbidez y temperatura). Sin embargo, los parámetros de calidad del agua del ensayo también deberán ser representativos de los de las aguas a las que se aplicará la técnica, y puede ser necesario adaptar estas aguas a las condiciones local. Por ejemplo, si se prevé utilizar las técnicas en climas tropicales, los ensayos del agua de ensayo 2 se pueden realizar a una temperatura de 20 °C o a la temperatura del agua más baja previsible en el lugar de uso propuesto. Si las técnicas están ideadas para tratar volúmenes de agua menores de 20 litros (por ejemplo, 1 litro o 10 litros) por lote o por operación, se recomienda realizar varias pruebas de exposición con estos volúmenes de agua más pequeños especificados, con objeto de documentar la capacidad para tratar un total de 20 litros de agua al día.

#### **A2.4.2 Materiales recomendados para ajustar las características del agua del ensayo**

Se recomienda usar los siguientes materiales para ajustar la turbidez y el pH del agua del ensayo:

##### *Turbidez*

- El material pulverulento AC Fine, fabricado por la División AC Spark Plug de General Motors y de uso común en los EE.UU., es el ingrediente especificado para añadir turbidez en el protocolo de ensayo de la USEPA (1987). Este material puede ser difícil de obtener en otros países.
- Arcilla seca finamente molida. Puede utilizarse cualquier arcilla representativa del tipo de arcilla presente en los suelos y, por lo tanto, en las aguas del lugar en el que se usarán las técnicas.
- Turbidez natural del agua del ensayo. Si puede obtenerse agua del lugar donde se va a utilizar la técnica, deberá someterse al ensayo con su turbidez natural. Se pueden obtener aguas con niveles de turbidez diferentes recogiendo muestras en momentos diferentes en los que se hayan generado niveles diferentes de turbidez por darse condiciones diferentes (por ejemplo, después de llover). Las aguas recogidas en momentos diferentes y con niveles diferentes de turbidez se pueden mezclar para crear un agua para el ensayo con la turbidez específica estipulada. En caso necesario, la turbidez de estas aguas recogidas se puede ajustar a los niveles estipulados. La turbidez de las aguas del ensayo se puede reducir mediante sedimentación simple (dejándolas reposar), separando por decantación el agua sobrenadante, con menor turbidez. Si se desea aumentar la turbidez de las

aguas del ensayo, se pueden dejar reposar y sedimentar, para luego separar por decantación el sobrenadante y conservar el agua del fondo, con mayor turbidez.

pH

- Ácidos o bases inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico o hidróxido sódico).

Cuando se utilicen ciertas arcillas se debe prestar atención al orden en que se ajustan la turbidez y el pH, ya que la arcilla añadida para aumentar la turbidez podría modificar el pH, y los cambios del pH también podrían hacer que el material agregado previamente para generar turbidez precipite o se coagule.

## A2.5 Protocolos de ensayo para técnicas específicas

En las secciones siguientes se describen técnicas de TDA comunes y se especifican los procedimientos de ensayo recomendados para cada técnica específica. Pueden adaptarse para usos determinados, en caso pertinente, de conformidad con los principios rectores para la realización de pruebas de determinación de la eficiencia expuestos anteriormente. Estas recomendaciones no pretenden ser exhaustivas, sino una guía para el desarrollo de protocolos de ensayo detallados que, si se ejecutan de manera competente, generarán datos de ensayo científicamente creíbles. Recomendamos examinar los estudios disponibles de la bibliografía científica arbitrada para obtener información adicional que sirva de ayuda para el diseño y la realización de estudios adecuados para determinar la eficiencia microbiológica de técnicas de TDA específicas.

### A2.5.1 Desinfección química

La desinfección química del agua de consumo incluye cualquier técnica a base de cloro o yodo, en particular el dióxido de cloro, así como de bromo, ozono u otros oxidantes, ácidos y bases fuertes, ferratos y algunos metales antimicrobianos (por ejemplo, la plata y el cobre). La mayor parte de las técnicas de desinfección química utilizan cloro libre (ácido hipocloroso) y, en menor medida, diclorocianuratos y tricloroisocianuratos, cloraminas, dióxido de cloro u otros oxidantes clorados. El mecanismo de todas las técnicas a base de cloro, bromo y yodo, así como de las basadas en el ozono y otros oxidantes, es similar. Se ha practicado la desinfección con metales, añadiendo al agua metales en forma soluble o coloidal, o partículas metálicas sólidas más grandes. No obstante, en los países en desarrollo la desinfección del agua de consumo doméstico se realiza principalmente con cloro libre. Esto se debe a que es muy eficaz, está ampliamente disponible, es fácil de dosificar correctamente, en principio, y es barato. Generalmente no se recomienda la desinfección del agua de consumo con yodo, que es también un oxidante fuerte, para el consumo a gran escala, ya que suscitan preocupación sus efectos biológicos adversos (tóxicos) sobre ciertas funciones metabólicas y, en particular, sus efectos en la glándula tiroidea. Además, el yodo elemental es difícil de preparar, manejar e incorporar al agua en forma de solución. El yodo se puede usar en intervenciones de emergencia u otras intervenciones a corto plazo en las no están indicadas otras opciones. Hay varios métodos de incorporación del yodo al agua, como las soluciones acuosas, los comprimidos o las resinas de polímeros sintéticos yodadas que liberan yodo activo lentamente. Los comprimidos de hidroperyoduro de tetraglicina que liberan yodo libre al agua se han utilizado frecuentemente en ámbitos militares y de recreo. No se recomienda el uso de ozono para el tratamiento doméstico del agua, ya que es difícil y caro generarlo en dosis controladas en el

agua de consumo y a que se requiere una fuente fiable de energía para alimentar el generador de ozono. Tampoco se recomienda el uso de ácidos o bases fuertes como desinfectantes químicos del agua de consumo, ya que son sustancias peligrosas que pueden alterar el pH del agua y llevarlo a niveles peligrosamente altos o bajos. Sin embargo, como intervención de emergencia o a corto plazo, puede añadirse al agua jugos de algunos cítricos, como las limas o limones, para inactivar la bacteria *Vibrio cholerae*, si se añade una cantidad suficiente para reducir el pH del agua hasta un nivel suficientemente bajo (probablemente inferior a 4,5) (Sobsey, 2002). No hay todavía certeza acerca de la conveniencia de usar plata y cobre como desinfectantes del agua de consumo, dado que no hay pruebas de su eficacia obtenidas mediante evaluaciones de la eficiencia que se ajusten a las indicaciones del presente documento.

La cloración tuvo un efecto realmente asombroso en la salud pública de los países tecnológicamente más desarrollados en el último siglo. Este método de tratamiento químico se ha probado también con éxito en sistemas de TDA, aunque no en todos los casos. Uno de los modelos de intervención más exitosos es el sistema desarrollado por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos y la OMS en la década de 1990 (Mintz, Reiff y Tauxe, 1995). En un examen sistemático de 21 estudios de cloración en el lugar de consumo se calculó un índice de riesgo combinado de 0,71 (con un intervalo de confianza del 95% de 0,58 a 0,87) para enfermedades diarreicas en niños participantes en la intervención, aunque los autores señalaron que la duración mediana del estudio (30 semanas) fue corta (Arnold y Colford, 2007).

En la verificación en laboratorio de las técnicas de desinfección química deben aplicarse las recomendaciones del fabricante o el ejecutor relativas a la dosis y el tiempo de contacto para el uso diario del TDA, así como sobre la calidad y la cantidad del agua que ha de tratarse. Es importante tener en cuenta el modo de dosificar y mezclar el producto químico en el agua, así como el tiempo necesario para que reaccione. Los parámetros de dosificación y tiempo de contacto de algunos desinfectantes químicos de uso común, como el cloro libre (ácido hipocloroso/hipoclorito) están bien establecidos. No obstante, las adaptaciones al uso doméstico pueden requerir ciertas desviaciones respecto de las prácticas de uso habituales en los sistemas de abastecimiento público de agua. En el TDA, el ácido hipocloroso suele añadirse al agua en forma de solución concentrada (normalmente con una concentración de ácido hipocloroso del 0,5-6%) o en forma de comprimido para proporcionar una dosis de aproximadamente 3 mg/l (de 1 a 5 mg/l). Al igual que cuando se usa en sistemas de abastecimiento público de agua, es deseable mantener una concentración mensurable de cloro libre residual en el agua durante la totalidad del tiempo que vaya a consumirse. Además de determinar la dosis del desinfectante químico, el tiempo de contacto y el mantenimiento de una concentración residual, los procedimientos de ensayo también deben especificar, o al menos medir, la temperatura y otros parámetros claves de calidad del agua que pueden influir en la eficacia de la desinfección, tales como el pH, la turbidez y las concentraciones de solutos consumidores de cloro, como la materia orgánica disuelta y el amoníaco. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2). Para determinar la eficacia de inactivación microbiana, es necesario medir la concentración inicial en el agua de los microorganismos objeto del ensayo, así como la concentración remanente tras uno o más períodos de exposición (tiempo de contacto), según se describe más detalladamente en los párrafos siguientes. Al tomar muestras del agua desinfectada químicamente para su análisis microbiológico tras



un período de exposición (un tiempo de contacto especificado), el producto químico desinfectante presente en el agua deberá neutralizarse inmediatamente (es decir, convertirse a una forma que carezca de actividad antimicrobiana) para impedir que continúe ejerciendo su actividad antimicrobiana en la muestra de agua del ensayo. En el caso del cloro libre, por ejemplo, la neutralización química se realiza añadiendo a la muestra de agua del ensayo, tras la exposición, un agente reductor, como tiosulfato de sodio o bisulfito de sodio.

### **A2.5.1.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Tras añadirse a cada lote (volumen especificado) de agua para el ensayo de calidad definida cierta cantidad de los microorganismos objeto del ensayo, los lotes se tratan o procesan por la técnica de desinfección química de acuerdo con las instrucciones dadas para el uso doméstico. Los parámetros más importantes que han de medirse y controlarse son la calidad del agua, la dosis de desinfectante químico, el mezclado, el tiempo de contacto, la temperatura y las condiciones de almacenamiento del agua desinfectada. Se toman muestras del agua bruta (sin tratar) del ensayo y del agua tratada, para llevar a cabo los análisis microbiológicos indicados a continuación. Según se ha señalado, en el momento en que se toman las muestras que se van a someter a análisis microbiológico, es imprescindible neutralizar químicamente el cloro para detener toda actividad microbicida posterior. En caso contrario, el cloro u otros desinfectantes químicos continuarán ejerciendo actividad antimicrobiana más allá del momento de muestreo y se sobreestimarán la inactivación microbiana. Se recomienda tratar un mínimo de tres lotes en cada prueba de exposición microbiológica.

### **A2.5.1.2 Consideraciones especiales**

La elección de los microorganismos objeto del ensayo es una consideración importante en los estudios de verificación de técnicas de desinfección química del agua de consumo doméstico mediante cloro u otros oxidantes. Es preferible realizar tales estudios con los microorganismos que se sabe que están presentes en el agua sin tratar y que generan la mayor carga de morbilidad por enfermedades de transmisión hídrica. Si no se conocen los patógenos de transmisión hídrica importantes o no es posible utilizar en los estudios los patógenos conocidos de interés, se recomienda añadir a las aguas objeto de ensayo concentraciones suficientes de bacterias, virus y protozoos parásitos que sirvan como indicadores sustitutos para estudiar el grado de inactivación y posiblemente la cinética de la inactivación en el tiempo. Para documentar las reducciones logarítmicas generadas por el cloro u otro tratamiento químico de desinfección en las poblaciones de bacterias, virus y protozoos parásitos, se recomienda el uso de los siguientes microorganismos indicadores sustitutos, respectivamente: *Escherichia coli*, bacteriófagos de *E. coli* (colífagos) y esporas de *Clostridium perfringens* o de *Bacillus* spp. Se debe poner cuidado en preparar los cultivos madre de los microorganismos que se van a añadir de forma que no generen un exceso de demanda de cloro en el agua del ensayo. Puede ser preciso purificar los cultivos microbianos para reducir su demanda de cloro (u otro desinfectante usado en el ensayo) antes de añadirlos a las muestras en los estudios. La realización de estudios preliminares permite garantizar que la demanda de cloro de las aguas del ensayo, tras añadir los microorganismos, no será excesiva. Se recomienda realizar por triplicado (al menos) los estudios de exposición con un agua de ensayo dada y en condiciones especificadas de temperatura, pH y otras variables, y realizar también por triplicado los análisis microbiológicos. Se recomienda tratar al menos 20 litros de

agua, el volumen medio utilizado diariamente en los hogares. No obstante, pueden someterse a ensayo volúmenes mayores o menores si se está estudiando una dosis de desinfectante preestablecida (por ejemplo, un comprimido) diseñada para un volumen especificado distinto de 20 litros. Si el volumen unitario que se debe tratar es inferior a 20 litros, podrán utilizarse en el ensayo múltiples unidades en paralelo, con el fin de determinar el tiempo y otros recursos que deberán emplear los miembros de un hogar en el tratamiento de su agua.

Es especialmente importante medir el pH del agua del ensayo, así como las concentraciones de ciertos solutos, dado que la eficacia microbicida de algunos desinfectantes químicos, como el cloro libre y el dióxido de cloro, es distinta a pH bajo y a pH alto. La eficacia microbicida del cloro libre es mayor si actúa en forma de ácido hipocloroso, predominante a pH bajo ( $\leq 6$ ) que si actúa en forma de ión hipoclorito, predominante a valores de pH más altos ( $\geq 9$ ). Por el contrario, el efecto viricida del dióxido de cloro es mayor a pH alto que a pH bajo. Además, los solutos que reaccionan con el cloro libre, como el amoníaco y los compuestos orgánicos, puede hacer que disminuya la concentración de cloro libre residual y reducir la actividad microbicida. El efecto microbicida de las cloraminas, que se forman por la reacción de cloro libre con amoníaco, es menor que la del cloro libre, y el efecto microbicida de los compuestos orgánicos clorados resultantes de la reacción del cloro con la materia orgánica natural es nulo.

### **A2.5.2 Filtros de membrana o de medios porosos estructurados (filtros cerámicos, bloque poroso de carbón, etc.)**

Entre las técnicas de filtración de agua para uso en el lugar de consumo cabe destacar los filtros de tela o fibra, los filtros de membrana, los filtros de cerámica porosa, los filtros de bloque de carbón, los filtros compuestos y otras técnicas similares. Estos filtros reducen la carga microbiana mediante una combinación de procesos físicos y químicos (y, en algunos casos, biológicos), como la filtración física, la sedimentación y la adsorción. Las técnicas de filtración cada vez se aplican más en países en desarrollo donde la desinfección química o la ebullición en ocasiones no son prácticas o eficaces (Colwell et al., 2003).

Las técnicas tradicionales de filtración con membranas son generalmente caras y, por lo tanto, se conoce menos su eficacia cuando se aplican para el tratamiento a pequeña escala del agua de consumo en países en desarrollo. Sin embargo, la ósmosis inversa, los nanofiltros y otras técnicas de membrana son comunes en los países desarrollados (Horman et al., 2004), pueden utilizarlas quienes viajan a países en desarrollo (Backer, 2002) y actualmente se están evaluando y aplicando sobre el terreno en países en desarrollo (Boisson et al., 2010). Algunos de estos filtros avanzados son filtros compuestos que combinan varios métodos de reducción de la carga microbiana en el agua. Se han desarrollado algunas aplicaciones de bajo costo de este tipo de filtros y su importancia podría ser cada vez mayor en el futuro del TDA en los países en desarrollo.

Se ha recomendado el uso de filtros de tela, como los elaborados con telas para sari, para reducir la concentración de *Vibrio cholerae* en el agua cuando estos microorganismos patógenos están asociados con copépodos u otros eucariotas acuáticos (Huo et al., 1996; Colwell et al., 2003). Estas telas no retienen eficazmente las bacterias dispersas no asociados con copépodos, otros crustáceos, sedimentos en suspensión o eucariotas de gran tamaño, ya que el tamaño de los poros de la tela ( $> 20 \mu\text{m}$ ) no es suficientemente pequeño para impedir el paso de las bacterias.

Sin embargo, en casos pertinentes, estos filtros pueden producir mejoras sanitarias significativas. Colwell et al. (2003) notificaron una reducción del 48% del cólera asociada con el uso de los filtros en un ensayo de 35 meses en el que participaron aproximadamente 133 000 personas de 65 aldeas rurales de Bangladesh. Los filtros de tela también han sido cruciales en programas de erradicación de la filaria de Medina o dracúnculo (Olsen, Magnussen y Anemana, 1997; Aikhomu, Brieger y Kale, 2000).

Otro método de reducción de la carga microbiana del agua es la filtración a través de materiales cerámicos porosos. Hay muy diversas técnicas que utilizan materiales cerámicos; la más común es el llamado filtro cerámico de «vela» (Clasen et al., 2004; Clasen, Brown y Collin, 2006) o los filtros cerámicos de «olla» como los que promueve la organización no gubernamental *Potters for Peace* (por ejemplo, Brown, Sobsey y Proum, 2007), del sector de la alfarería. Los filtros funcionan generalmente por gravedad y el tratamiento suele realizarse mediante un sistema de cubos anidados para almacenar de forma segura el agua tratada. Se ha comprobado, en ensayos de campo, que los dispositivos de filtración cerámicos de vela comerciales sí constituyen una barrera eficaz contra los microorganismos patógenos indicadores presentes en el agua y que en las intervenciones en las que se utilizan estos dispositivos se detectan mejoras significativas de la salud de los usuarios de esta técnica en comparación con quienes no la utilizan. Los resultados de estudios realizados en Camboya sobre filtros cerámicos de olla de producción local y de bajo costo indican que estas intervenciones también son eficaces. En dos ensayos de campo realizados en zonas rurales de Camboya, en los que se usaron filtros que proporcionaban una reducción media, según los análisis en laboratorio, del 99% de la concentración de *E. coli* en el agua de consumo doméstico, y una reducción media del 90-99% de los virus, se registraron reducciones de la incidencia de diarrea asociadas con el uso de los filtros de aproximadamente el 50%.

En los ensayos de los filtros que tienen una barrera porosa estructurada para retener los microbios y otros contaminantes deben seguirse las recomendaciones del ejecutor o el fabricante para su uso en el entorno al que se destinan. En los ensayos, el caudal, el volumen diario promedio tratado (mínimo 20 litros) y otros parámetros operativos deberán simular fielmente las condiciones reales de uso domésticas. Como en el caso de la desinfección química, se debe añadir, a volúmenes de agua del ensayo de calidad definida, concentraciones conocidas de los microorganismos de interés y luego someter el agua al proceso de filtración. Tanto el agua de alimentación inicial (inoculada) como el agua tratada (filtrada) deben analizarse para determinar las concentraciones de microorganismos y el grado de reducción de la carga microbiana. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

### **A2.5.2.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Dado que, según se sabe, la eficacia de las técnicas de filtración varía con el tiempo, en los ensayos de verificación deberá establecerse una duración mínima correspondiente a un ciclo de uso previsto antes de las operaciones rutinarias de mantenimiento, limpieza o reposición. Si los fabricantes o ejecutores no especifican los ciclos de uso típicos de los filtros entre los ciclos de limpieza u otras tareas de mantenimiento, se recomienda que la duración del ensayo sea de 14 días como mínimo. Deberán tomarse muestras, al menos en los días 0, 1, 3, 7 y 14 de la prueba, del agua inoculada para el ensayo y del agua filtrada, para su análisis microbiológico. Si la técnica de filtración tiene una vida útil especificada o si es preciso realizar una limpieza periódica, deberán

realizarse pruebas de exposición microbiológica con agua inoculada a intervalos del 0%, 25%, 50%, 75% y 100% del ciclo de vida útil o del ciclo de limpieza del filtro y deberá realizarse también un ensayo con agua inoculada en el siguiente ciclo de uso tras la limpieza, con objeto de documentar la eficiencia continuada. En cada momento de muestreo, deberán medirse también en el agua para el ensayo y el agua filtrada otros parámetros de calidad del agua de interés, como la turbidez, así como las variables operativas fundamentales, como el caudal. Deberán someterse al ensayo al menos dos unidades de filtración, en paralelo, con la misma agua y los mismos microorganismos, para documentar la reproducibilidad de la eficiencia y determinar su variabilidad. Si la duración de uso del filtro entre ciclos de limpieza o de uso es superior a 14 días, la duración total del ensayo deberá ampliarse de conformidad con las recomendaciones del fabricante o del ejecutor, y deberán realizarse pruebas de exposición microbiológica a intervalos correspondientes al 0%, 25%, 50%, 75% y 100% del tiempo total de uso o ciclo de vida.

### **A2.5.2.2 Consideraciones especiales**

Los filtros de cerámica y algunos otros filtros de medios porosos estructurados se limpian regularmente durante el uso doméstico. En las pruebas de exposición, los filtros se deberán limpiar siguiendo exactamente las recomendaciones del ejecutor o fabricante, en particular las relativas a la frecuencia y el método de limpieza. Ahora bien, en la evaluación de estas técnicas de filtración no deberán aplicarse a los filtros durante su limpieza desinfectantes ni otros agentes antimicrobianos. Si se recomienda el uso regular de estos agentes desinfectantes con el filtro, el ensayo de evaluación de la eficiencia de la técnica deberá incluirlos y enmarcarse en la categoría de ensayos de técnicas «multibarrera».

### **A2.5.3 Filtros de medio granular**

Los filtros de medio granular están formados por lechos de relleno, capas o superficies, que contienen arena, tierra de diatomeas u otro medio constituido por partículas, sobre los que se vierte o por los que se hace pasar el agua. Estos filtros retienen los microorganismos mediante una combinación de procesos físicos y químicos, como la filtración física, la sedimentación y la adsorción. Algunos también pueden emplear superficies químicamente activas, con propiedades antimicrobianas o bacteriostáticas, o con otras modificaciones químicas. Otros filtros de medio granular tienen actividad biológica, porque en la superficie o en el interior de la matriz del medio granular se desarrollan capas formadas por microorganismos y por los exopolímeros que generan. Esta capa biológica, llamada *schmutzdecke* en filtros lentos de arena convencionales, retiene los microbios y a menudo los inactiva y biodegrada. Se ha desarrollado un filtro lento de arena de escala doméstica y operación intermitente, llamado BioSand (bioarena), con una capa superficial biológicamente activa, al que se pueden añadir dosis de agua de forma intermitente (Stauber et al., 2006). El sistema BioSand ha sido objeto de varios estudios (Kaiser et al., 2002; Duke et al., 2006; Stauber et al., 2009) que indican que los filtros pueden reducir eficazmente la carga de microbios transmitidos por el agua y mejorar la salud de los usuarios.

Los filtros que contienen un medio poroso granular para retener los microbios y otros contaminantes deben someterse a ensayo siguiendo las recomendaciones del ejecutor o el fabricante para su uso en el entorno al que se destinan. En los ensayos debe utilizarse un caudal, un volumen diario promedio tratado (mínimo 20 litros) y otros parámetros operativos que representen fielmente las condiciones reales de uso

domésticas. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

### **A2.5.3.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Dado que, según se sabe, la eficacia de estas técnicas varía con el tiempo, en las pruebas de exposición deberá establecerse una duración mínima de operación correspondiente al ciclo de uso del filtro recomendado por el fabricante o ejecutor, que incluya la etapa de limpieza del filtro. Si el fabricante o el ejecutor no especifican ningún tiempo, los ensayos de verificación deberán durar al menos 14 días. Se deberán tomar muestras del agua inoculada para el ensayo y del agua filtrada al menos en los días 0, 1, 3, 5 y 14 del ensayo, para su análisis microbiológico, y deberán efectuarse todas las operaciones de limpieza o mantenimiento pertinentes. Si la duración de uso del filtro entre ciclos de limpieza o de uso es superior a 14 días, la duración total del ensayo deberá ampliarse de conformidad con las recomendaciones del fabricante o del ejecutor, y deberán realizarse pruebas de exposición microbiológica a intervalos correspondientes al 0%, 25%, 50%, 75% y 100% del tiempo total de uso o ciclo de vida. Se recomienda realizar los ensayos al menos por duplicado, con dos unidades de filtración en paralelo, usando la misma agua y los mismos microorganismos, con objeto de documentar la eficiencia.

### **A2.5.3.2 Consideraciones especiales**

La mayoría de los filtros de medio granular han de someterse a retrolavado u otro tipo de limpieza periódica del filtro, aunque la frecuencia puede ser función de las características del agua bruta. El retrolavado o limpieza deberá realizarse durante el periodo del ensayo siguiente exactamente las recomendaciones del fabricante o el ejecutor. Se recomienda que la duración de las pruebas de exposición para la evaluación de la técnica abarque al menos un ciclo de uso del filtro, con una etapa de limpieza, por ejemplo mediante retrolavado o rastrillado y decantación de la superficie de la arena, y el período posterior de operación del filtro hasta el final de la operación o ciclo de uso del filtro antes de la siguiente etapa de limpieza o mantenimiento.

Los filtros de medio granular con actividad biológica, como los filtros lentos de arena de uso intermitente, pueden «madurar» con el tiempo, y la eficiencia de este tratamiento en la reducción de la carga de algunos microbios puede no alcanzar su valor máximo u óptimo hasta que el filtro haya alcanzado su maduración biológica (Stauber et al., 2006). En las pruebas de exposición de estos filtros, la reducción de la carga microbiana puede experimentar un aumento considerable después de un período de ensayo mínimo de 14 días debido a que el filtro aún estaba madurando y no había alcanzado su estado de eficiencia máxima. Para este tipo de filtros, debe recopilarse información sobre la eficiencia de la técnica obtenida en pruebas de exposición periódicas realizadas durante un periodo prolongado de uso para representar mejor la capacidad de reducción de la carga microbiana del filtro en el entorno previsto y cuando se indique o prevea habitualmente el uso durante periodos largos (por ejemplo, varios meses por ciclo de operación del filtro).

### **A2.5.4 Desinfección solar**

Varias técnicas utilizan la irradiación solar para desinfectar el agua, y se han estudiado en profundidad tanto las técnicas como los mecanismos de eliminación de los microorganismos (por ejemplo, Acra et al., 1980; Acra, Raffoul y Karahagopian, 1984; Joyce et al., 1996;

Kehoe et al., 2004; Lonnen et al., 2005; Méndez-Hermida et al., 2005; Berney et al., 2006a, b). Algunas técnicas utilizan la radiación solar para inactivar los microbios en recipientes oscuros u opacos, por el efecto del calor generado por la energía de la luz solar. Otras, como el sistema SODIS, desarrollado en el Instituto Federal Suizo de la Ciencia y Tecnología del Agua (EAWAG), usan recipientes de plástico traslúcido que dejan pasar la radiación UV de la luz solar y se basan en la acción combinada de la radiación UV, la actividad oxidante del oxígeno disuelto y el calor. Otras formas físicas de sistemas de exposición a la radiación solar también emplean combinaciones de estos efectos de la radiación solar en otros tipos de recipientes, como bolsas y paneles que dejan pasar la radiación UV, para mejorar la calidad microbiológica del agua. Se han realizado diversos ensayos de campo para evaluar los efectos sobre la salud y la eficacia sobre el terreno de la técnica (Conroy et al., 1996, 1999, 2001; Rainey y Harding, 2005).

En los ensayos de las técnicas de desinfección solar deberán aplicarse las recomendaciones del ejecutor o del fabricante para su uso en el entorno previsto. La incidencia de radiación solar, de la que dependen la intensidad de radiación UV y la densidad de flujo térmico, es función de la latitud, la altitud, el tiempo atmosférico, la estación, la orientación (que afecta a la exposición) y el diseño específico del recipiente de agua, así como de la calidad del agua. Por lo tanto, tanto la evaluación de la eficiencia de la técnica como su verificación deben realizarse en un lugar representativo de las condiciones y el entorno previstos en términos de radiación solar incidente (medida en  $W/m^2$ ) y otras condiciones pertinentes, o bien estas condiciones pueden simularse en el laboratorio y sobre el terreno; por ejemplo, aplicando los métodos recomendados por Oates et al. (2003) u otros métodos científicamente creíbles.

Únicamente deberán considerarse válidos, a efectos de la eficiencia esperada sobre el terreno, los resultados obtenidos en condiciones de ensayo (por ejemplo, radiación incidente, temperatura, turbidez del agua y tiempo de exposición a la luz del sol) representativas de las que son propias del entorno específico en el que se utilizará la técnica. Si condiciones operativas y ambientales clave varían estacionalmente en las regiones en las que se utilizará la técnica, se recomienda que los ensayos de evaluación de la eficiencia abarquen valores promedio representativos (tendencia central) y extremos (máximo y mínimo) de las condiciones que pudieran influir en la eficiencia. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

#### **A2.5.4.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Se recomienda someter a ensayo un volumen de 20 litros (el volumen mínimo diario que se estima necesario por hogar) de cada una de las muestras de agua de diferentes calidades. Normalmente, si se utiliza el sistema SODIS u otros sistemas de desinfección solar similares que emplean volúmenes pequeños, los 20 litros deberán distribuirse en diversas botellas individuales de politereftalato de etileno. La determinación experimental de la duración de la exposición solar necesaria, teniendo en cuenta la intensidad de la luz solar (día soleado o día nublado), deberá realizarse siguiendo las especificaciones del fabricante, el ejecutor u otro patrocinador del ensayo. El agua tratada en botellas individuales se puede combinar, en condiciones asépticas, en una muestra compuesta de la que se puede tomar una parte alícuota para el análisis microbiológico. Se recomienda realizar un mínimo de tres pruebas de exposición tales, y realizar en cada caso el análisis microbiológico al menos por triplicado.

#### **A2.5.4.2 Consideraciones especiales**

Deberá medirse la concentración de oxígeno disuelto en el agua antes y después del tratamiento, si es posible, ya que se ha comprobado que influye en la eficacia microbiológica de las técnicas de desinfección solar que utilizan botellas de plástico traslúcidas (permeables a la radiación UV). Para estas técnicas, deberá medirse también la radiación solar, sobre todo en el espectro de longitudes de onda del UV, y deberá calcularse la fluencia (dosis) de radiación UV, ya que es factor clave que contribuye a la inactivación microbiana. También deberá medirse la temperatura del agua durante la exposición, ya que una temperatura alta también puede contribuir a la inactivación microbiana. En el caso de las técnicas que utilizan recipientes opacos y se basan principalmente en la inactivación de los microbios por pasteurización, gracias a la temperatura alta, deberá determinarse la evolución de la temperatura con el tiempo. Si el proveedor o ejecutor de la técnica especifica una temperatura objetivo determinada, deberá registrarse el tiempo que se tarda en alcanzar esa temperatura y el tiempo que el agua se mantiene a dicha temperatura objetivo antes de que finalice el tratamiento. También deberá medirse la turbidez del agua que se va a tratar y deberá considerarse la medida en que los materiales que causan dicha turbidez permanecen en suspensión en el agua o sedimentan en la botella durante la exposición a la luz solar, ya que podrían influir en la cinética y la magnitud de la reducción de la carga microbiana lograda mediante estos tratamientos solares.

#### **A2.5.5 Técnicas de irradiación UV (con LED y otros tipos de lámparas)**

La radiación UV se ha utilizado para el tratamiento del agua de consumo desde hace más de 100 años (Ward, 1893; Baker, 1948), y los mecanismos de inactivación de microbios están actualmente bien caracterizados (Sobsey, 1989; Blatchley y Peel, 2001). El creciente uso de la técnica se debe en parte a su eficacia comprobada contra protozoos patógenos resistentes al cloro, como *Cryptosporidium* y *Giardia*. Varias técnicas de tratamiento del agua de consumo emplean la radiación UV de lámparas de UV para inactivar microbios. En la mayoría de los tratamientos del agua de tipo doméstico o de pequeña escala se utilizan lámparas de vapor de mercurio a presión baja que producen radiación UV monocromática a una longitud de onda germicida de 254nm. En estas técnicas, aplicadas en recipientes o en reactores por los que fluye el agua, esta se expone por lo general a una dosis (fluencia) de radiación UV de las lámparas de UV suficiente para inactivar los agentes patógenos de transmisión hídrica.

En los ensayos de las técnicas que utilizan lámparas de UV deben seguirse las recomendaciones de uso del fabricante o del ejecutor, en particular las relativas a las propiedades específicas de las lámparas, la potencia de entrada, el recipiente de tratamiento del agua, el reactor de tratamiento, la orientación de las lámparas con respecto al agua sometida a tratamiento, la intensidad de la radiación UV incidente (en  $\text{mW}/\text{cm}^2$  u otras unidades pertinentes), la dosis estimada de UV administrada (fluencia, basada en la intensidad y el tiempo de exposición), en unidades normalizadas (por ejemplo, en  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ), y el caudal. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

#### **A2.5.5.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Las muestras de agua inoculada para el ensayo deberán tratarse por lotes siguiendo las instrucciones del fabricante o el ejecutor. Deberán tomarse muestras del agua

bruta (sin tratar) y del agua tratada, para someterlas a los análisis microbiológicos indicados a continuación. Se recomienda tratar un mínimo de tres lotes en cada prueba de exposición microbiológica.

### **A2.5.5.2 Consideraciones especiales**

Los adenovirus son más resistentes a la desinfección por radiación UV que cualquier otro virus sustituto no patógeno conocido. Sin embargo, el colifago sustituto MS2 es relativamente resistente a la radiación UV y se puede utilizar para evaluar la eficiencia de las técnicas de TDA por desinfección mediante radiación UV (Thurston-Enríquez et al., 2003). Si el proceso de tratamiento UV se realiza en un reactor de flujo continuo y el caudal puede variar en un intervalo especificado, las pruebas con agua inoculada se deberán realizar por triplicado, a los caudales promedio, máximo y mínimo, para documentar la variación de la eficacia microbicida en todo el intervalo de caudales.

### **A2.5.6 Técnicas térmicas (basadas en el calentamiento)**

En las técnicas térmicas de tratamiento del agua, el mecanismo principal de destrucción de los microorganismos es el calor producido quemando combustible. El agua se hierve o se somete a condiciones de pasteurización (normalmente > 63 °C durante 30 minutos). Por ejemplo, en un ensayo en Kenya se comprobó que la pasteurización mejoraba la calidad del agua de consumo doméstica (Iijima et al., 2001). En otro ensayo de campo, realizado en Bangladesh, se comprobó la inactivación de coliformes termotolerantes mediante un proceso de pasteurización (Islam y Johnston, 2006). El calentamiento hasta una temperatura relativamente baja (55 °C) durante varias horas puede inactivar protozoos patógenos clave presentes en el agua, como *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica* (Feachem et al., 1983; Sobsey y Leland, 2001; Sobsey, 2002; Spinks et al., 2006). La ebullición, que viene utilizándose para tratar el agua de bebida desde la antigüedad, sigue siendo el tratamiento del agua a escala doméstica más común en todo el mundo.

Dado que la ebullición es el tratamiento del agua de consumo más extendido en el mundo y, en teoría, el más eficaz para reducir la carga de patógenos, no se debería disuadir de su uso cuando, al igual que en el caso de otros métodos de tratamiento del agua existentes, las técnicas alternativas no sean tan eficaces o sea menos probable su uso correcto, sistemático y continuo. En la práctica, sin embargo, la ebullición puede ser menos eficaz que otras estrategias, por varias razones. La ebullición tiene las siguientes desventajas: no reduce los sedimentos ni la turbidez; puede afectar negativamente al sabor; el agua caliente no se puede beber de inmediato; no siempre es fácil medir la temperatura alcanzada, y a veces consume grandes cantidades de combustible. En muchos lugares, la ebullición puede no ser una opción barata ni práctica. Además, el agua ha de almacenarse, tras hervirla, de forma segura, para evitar su contaminación en el hogar.

Las técnicas que utilizan la energía térmica como mecanismo principal de inactivación para reducir la carga microbiana del agua deben someterse a ensayos siguiendo las recomendaciones de uso del fabricante o ejecutor. En las condiciones de ensayo deberán incluirse datos específicos acerca de la temperatura que ha de alcanzarse y el tiempo que se debe mantener el agua a esta temperatura para que el tratamiento sea adecuado. Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).



### **A2.5.6.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Las muestras de agua inoculada para el ensayo deberán tratarse por lotes siguiendo las instrucciones del fabricante o el ejecutor. Si el proceso es un reactor de flujo continuo, deberán seguirse en las pruebas de exposición las instrucciones del fabricante relativas a las condiciones de funcionamiento. Deberán tomarse muestras del agua bruta (sin tratar) y del agua tratada, para someterlas a los análisis microbiológicos indicados a continuación. Se deberá realizar un mínimo de tres pruebas de exposición y, para cada prueba, el análisis microbiológico deberá realizarse al menos por triplicado.

### **A2.5.6.2 Consideraciones especiales**

En los procesos de tratamiento térmico, el agua tratada tarda cierto tiempo en alcanzar la temperatura objetivo y cierto tiempo en enfriarse hasta la temperatura de consumo. Por lo tanto, deberá registrarse la evolución de la temperatura del agua sometida a tratamiento, y los cambios de temperatura deberán compararse con los valores aceptables especificadas por el fabricante. La velocidad y el grado de inactivación microbiana dependen de las condiciones de tiempo y temperatura, de modo que es fundamental documentarlas en la evaluación de la eficiencia antimicrobiana. En las pruebas de exposición se deberán utilizar condiciones de tiempo y temperatura consideradas aceptables de acuerdo con las especificaciones del fabricante o ejecutor, y que además sean representativas de las condiciones en que se usará la técnica.

### **A2.5.7 Coagulación-floculación y sedimentación**

El tratamiento por coagulación o precipitación se basa en cualquier dispositivo o método que emplee un coagulante o precipitante natural o artificial para hacer que coagulen o precipiten las partículas en suspensión, entre las que están los microbios, para potenciar su sedimentación. El tratamiento del agua por sedimentación se basa en cualquier método de eliminación de las partículas en suspensión, entre las que están los microbios, tras su sedimentación. Estos métodos pueden combinarse con una etapa de filtración con componentes de tela o de fibra para eliminar las partículas floculadas («flóculos») que se han formado. En esta categoría se incluyen los métodos de sedimentación simple; es decir, lograda sin uso de coagulantes químicos. Se han ensayado en el laboratorio y en el campo diversos productos floculantes-coagulantes (por ejemplo, por Rangel et al., 2003; Reller et al., 2003; Souter et al., 2003; Crump et al., 2004a; Chiller et al., 2006). Se han obtenido resultados prometedores con coagulantes de bajo costo, disponibles a nivel local, para uso en sistemas simples de coagulación y filtración (Babu y Chaudhuri, 2005).

Algunos sistemas combinados se comercializan en forma de gránulos, polvos o comprimidos que contienen un coagulante químico, como una sal de hierro o aluminio, y un desinfectante, como el cloro. Añadidos al agua, estos productos químicos hacen que coagulen y floculen las impurezas, lo que favorece su sedimentación rápida y eficiente, y además proveen un desinfectante químico (por ejemplo, cloro) para inactivar a los microbios. Estos productos que combinan un coagulante-floculante y un desinfectante se añaden a volúmenes especificados de agua, se dejan reaccionar para que se formen flóculos, generalmente tras mezclar brevemente para promover la coagulación-floculación, se deja que el agua repose, sin mezclar, para que el flóculo sedimente, y se decanta el agua sobrenadante clarificada, generalmente filtrándola a través de un paño u otro medio filtrante de malla fina para separar las partículas restantes. A continuación, el agua sobrenadante recuperada se almacena durante

cierto tiempo antes de consumirla para permitir que continúen las reacciones químicas y se produzca la desinfección.

En las pruebas de exposición para la evaluación o verificación de la eficacia antimicrobiana de las técnicas de coagulación-floculación y sedimentación se deberán aplicar las recomendaciones del fabricante o ejecutor para el uso doméstico normal en el contexto para el que se han diseñado. Deberán tenerse en cuenta asimismo condiciones específicas representativas del volumen de agua que ha de tratarse (20 litros como mínimo), la dosis de coagulante (en su caso), las condiciones de mezclado (por ejemplo, el método de agitación) y el método especificado o recomendado para eliminar los flóculos del agua tratada (filtración física, sedimentación, decantación, etc.). Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

#### **A2.5.7.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Las muestras de agua inoculada para el ensayo deberán tratarse por lotes siguiendo las instrucciones del fabricante o el ejecutor. Deberán tomarse muestras de agua bruta (no tratada) y de agua tratada (por ejemplo, del agua sobrenadante obtenida después de la coagulación-floculación y sedimentación) para analizarlas mediante los métodos microbiológicos recomendados. Se deberá realizar un mínimo de tres pruebas de exposición y, para cada prueba, el análisis microbiológico de las muestras deberá realizarse al menos por triplicado.

#### **A2.5.7.2 Consideraciones especiales**

Las pruebas de exposición se deberán realizar con los volúmenes de agua tratada especificados por el fabricante o ejecutor. Estos volúmenes se pueden basar en la unidad del tratamiento químico que se proporciona (por ejemplo, un comprimido o sobre). Si el volumen unitario que se recomienda tratar es menor que la cantidad recomendada de 20 litros diarios por hogar, deberán tratarse múltiples volúmenes de agua en el ensayo de exposición. En este caso, pueden combinarse muestras de agua tomadas antes y después del tratamiento de múltiples unidades o lotes sometidas a ensayo en paralelo para analizar su carga microbiana y otros parámetros.

La calidad del agua bruta es un factor crucial en la coagulación-floculación y precipitación. La eficacia de estos procesos fisicoquímicos a menudo depende en gran medida de parámetros de calidad del agua como el pH, los sólidos disueltos, la alcalinidad, la dureza, la turbidez y las concentraciones y tipos de materia disuelta y coloidal. Por lo tanto, los valores de estos parámetros en las aguas que se utilizarán en el ensayo deberán ser representativos de los propios del agua para la que se utilizará la técnica, y deberán estar dentro de los intervalos aceptables en los que pueden utilizarse eficazmente los productos químicos del tratamiento.

Para el funcionamiento eficaz de los procesos de coagulación-floculación pueden ser fundamentales las condiciones del mezclado (por ejemplo, la velocidad y la duración), así como la duración de la sedimentación posterior. Por consiguiente, las pruebas de exposición se deberán realizar en las condiciones especificadas por el fabricante o ejecutor para estos parámetros.

#### **A2.5.8 Métodos combinados (multibarrera)**

El tratamiento del agua mediante métodos multibarrera consiste en el uso combinado de cualesquiera de las técnicas anteriores, ya sea de forma simultánea o secuencial. Algunos ejemplos de tales combinaciones son la coagulación y desinfección; la

filtración en lecho filtrante y desinfección, y la filtración en lecho filtrante y filtración de membrana. Algunos sistemas combinados se comercializan en forma de gránulos, polvos o comprimidos que contienen un coagulante químico, como una sal de hierro o aluminio, y un desinfectante, como el cloro. Añadidos al agua, estos productos químicos hacen que coagulen y floculen las impurezas, lo que favorece su sedimentación rápida y eficiente, y además proveen el desinfectante químico (por ejemplo, cloro) para inactivar a los microbios. Estos productos que combinan un coagulante-floculante y un desinfectante se añaden a volúmenes especificados de agua, se dejan reaccionar para que se formen flóculos, generalmente tras mezclar brevemente para promover la coagulación-floculación, se deja que el agua repose, sin mezclar, para que el flóculo sedimente, y se decanta el agua sobrenadante clarificada, generalmente filtrándola a través de un paño u otro medio filtrante de malla fina para separar las partículas restantes. A continuación, el agua sobrenadante recuperada se almacena durante cierto tiempo antes de consumirla para permitir que continúen las reacciones químicas y se produzca la desinfección.

Los ensayos de las técnicas de tratamiento multibarrera deberán realizarse aplicando las recomendaciones del fabricante o del ejecutor para el uso doméstico normal en el contexto para el que se han diseñado. Las pruebas de exposición deberán realizarse en condiciones aceptables y representativas respecto del volumen de agua que se ha de tratar (pero al menos el mínimo de 20 litros para uso doméstico diario), la calidad del agua, el caudal (cuando se trate de un proceso de flujo continuo), la dosis (en su caso, medida en las unidades apropiadas) y la duración del tratamiento (duración del ciclo o proceso de tratamiento). Para determinar la eficacia del tratamiento con aguas de características de calidad diversas, deberán utilizarse, como mínimo, las aguas de ensayo 1 y 2 (cuadro A2.2).

#### **A2.5.8.1 Duración del ensayo y calendario de muestreo**

Cuando uno de los componentes del sistema de tratamiento sea una filtración en lecho filtrante o de membrana, la duración mínima del tratamiento deberá ser la recomendada por el fabricante o el ejecutor. Si no se recomienda una duración mínima del tratamiento, deberán utilizarse duraciones que sean realistas para el tipo de proceso y representativas de las condiciones en las que se utilizará la técnica. Para los filtros que se utilizan durante un tiempo prolongado, se recomienda que la duración mínima de cada prueba de exposición sea de 14 días. Si es apropiado para la técnica, podrá utilizarse un ensayo por lotes. Se deberá realizar un mínimo de tres pruebas de exposición y, para cada prueba, el análisis microbiológico de las muestras deberá realizarse al menos por triplicado.

#### **A2.5.8.2 Consideraciones especiales**

Las pruebas de exposición para determinar la eficiencia de la técnica deberán realizarse utilizando agua con parámetros de calidad representativos de los del entorno en el que se usará la técnica y dentro de los intervalos aceptables especificados por el fabricante o el ejecutor. Se deberán realizar ensayos con al menos tres valores de los parámetros de calidad del agua, representativos de las condiciones máxima, mínima y promedio de las aguas de los lugares en los que se utilizará la técnica.

En el caso de los tratamientos combinados que incluyan un desinfectante químico, deberán aplicarse las recomendaciones indicadas en la sección A2.5.1. En particular, deberán medirse la dosis de desinfectante, la concentración residual de desinfectante en el agua tratada y el tiempo de contacto, y el desinfectante residual presente en el

agua en el momento de la toma de muestras deberá neutralizarse químicamente antes de realizar los análisis microbiológicos.

## A2.6 Protocolos para ensayos microbiológicos y requisitos de los laboratorios

### A2.6.1 Protocolos de ensayo internacionales

Se han desarrollado y consensado varios protocolos normalizados para la comprobación en laboratorio de la eficacia de las técnicas de TDA para reducir la carga microbiana del agua. Hay normas y directrices reconocidas internacionalmente para la realización de ensayos sobre la eficiencia o la eficacia, como la Norma orientativa y protocolo de la USEPA para el ensayo de purificadores microbiológicos de agua (USEPA, 1987) o el *Protocolo P231: Purificadores microbiológicos de agua* de NSF International (NSF, 2003). Aunque los protocolos existentes son rigurosos y detallados, a menudo requieren instalaciones especializadas y conocimientos técnicos que pueden no estar disponibles de forma generalizada en algunos entornos o países con recursos limitados. En el presente documento se presentan métodos que pueden aplicarse, en lugar de los protocolos normalizados y directrices existentes, para la realización de pruebas de determinación de la eficiencia de las técnicas de TDA en entornos con recursos limitados.

### A2.6.2 Instalaciones de ensayo y requisitos de laboratorio para la evaluación de la eficiencia de las técnicas de TDA

Las pruebas de exposición microbiológica para comprobar el cumplimiento de las normas pertinentes o directrices sobre la eficiencia basadas en la evaluación de riesgos deberán realizarse en instalaciones adecuadas. Se recomienda que la evaluación de la eficiencia de las técnicas de TDA se realice en laboratorios adecuados —preferiblemente, certificados— y la realice personal cualificado con experiencia en microbiología y calidad del agua y en los métodos analíticos de laboratorio pertinentes. Si en los estudios de verificación de las técnicas se utilizan patógenos para el ser humano, las pruebas deberán realizarse en laboratorios certificados con nivel de bioseguridad 2 (OMS, 2004). Si en los estudios se utilizan microorganismos no patógenos, como cepas apatógenas de *Escherichia coli*, esporas bacterianas apatógenas y virus bacteriófagos (p. ej., colífagos), se recomienda que las pruebas se realicen en laboratorios certificados con nivel de bioseguridad 1 (OMS, 2004). Si este tipo de análisis se realizan en países que no cuentan con laboratorios que dispongan de dicha certificación de bioseguridad, se insta a los laboratorios a que reúnan los requisitos y apliquen las especificaciones que se describen en el *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS (OMS, 2004).

Es preferible que la evaluación de la eficiencia microbiológica de los procesos de TDA la realicen entidades que ya posean experiencia en estudios técnicos de este tipo y que hayan desarrollado o puedan desarrollar protocolos detallados y planes de análisis específicos para su realización. También deberán tener conocimientos sobre garantía de la calidad y haber desarrollado o ser capaces de desarrollar un plan de proyecto de garantía de la calidad en la evaluación de la eficiencia de las técnicas. Para garantizar la fiabilidad y la calidad de la obtención y el análisis de los datos y de la elaboración de informes de los estudios de evaluación o validación de la eficiencia de una técnica de TDA es fundamental disponer de equipos e instalaciones

adecuados, personal cualificado y experimentado, protocolos, planes de análisis, hojas de registro y procedimientos operativos normalizados, sistemas de gestión de datos y planes de proyectos de garantía de la calidad.

## A2.7 Selección y preparación de microorganismos para las pruebas de exposición

### A2.7.1 Concentraciones de microorganismos de interés en las aguas del ensayo

Las aguas utilizadas en el ensayo deben contener de forma natural una concentración suficiente de los microorganismos de interés; en caso contrario, se deberán añadir microorganismos para que la concentración sea suficiente para poder cuantificar las reducciones de la carga microbiana obtenidas mediante el tratamiento y comprobar si cumple la meta sanitaria especificada. Por ejemplo, considérese el caso en el que para alcanzar el nivel de riesgo de referencia de la OMS de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año se requiere una reducción, mediante la técnica de TDA, de la concentración de microorganismos de interés en 4 unidades logarítmicas decimales y el nivel remanente de estos microorganismos tras el tratamiento se analiza en muestras de tan solo 100ml del agua tratada. Al analizarse un volumen de 100ml de agua, el límite inferior de detección será de 1 microorganismo por cada 100ml. En este caso, será necesario que haya al menos 10 000 ( $10^4$ ) microorganismos por cada 100ml del agua inoculada inicialmente, para que el resultado de una reducción de la concentración en 4 unidades logarítmicas decimales o más fuera 1 o 0 microorganismos por cada 100ml de agua tratada. Es decir, la concentración se reduciría de 10 000 microorganismos (4 unidades en la escala logarítmica decimal) por cada 100ml a 1 microorganismo (0 en la escala logarítmica decimal) o menos por cada 100ml de agua tratada, lo cual supone una reducción logarítmica decimal de la concentración de: 4 (inicial) – 0 (final) = 4 unidades logarítmicas.

### A2.7.2 Selección de los microorganismos

La selección de los microorganismos utilizados en el ensayo es crucial. Esta selección deberá basarse preferiblemente en datos locales o regionales fiables acerca de qué agentes patógenos contribuyen en mayor medida a la carga de morbilidad en la población por enfermedades transmitidas por el agua. Deberá seleccionarse como objetivo de los TDA u otras medidas de control el agente patógeno que genere un mayor riesgo de causar una enfermedad de transmisión hídrica o que contribuya en mayor medida a la carga de morbilidad por este tipo de enfermedades. Esta selección permitirá elegir, verificar y poner en práctica la técnica más adecuada para reducir la concentración del agente en cuestión hasta un nivel de riesgo aceptable (p. ej., el nivel de riesgo de referencia de la OMS de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año). Por tanto, la determinación de los principales agentes etiológicos asociados al riesgo de enfermedades de transmisión hídrica ayuda a determinar qué técnicas se seleccionan para tratar eficazmente el agua y reducir de manera eficiente la concentración de dicho agente patógeno y el consiguiente riesgo de enfermedad.

Por ejemplo, si en una comunidad determinada el microorganismo patógeno que acarrea un mayor riesgo de enfermedad transmitida por el agua y una mayor carga de morbilidad es *Vibrio cholerae* (el agente causante del cólera) y se sabe que la concentración de dicho microorganismo puede reducirse en gran medida mediante

el uso de un nuevo filtro cerámico, la desinfección solar o la cloración, cualquiera de estas técnicas puede someterse a ensayo para determinar su eficacia con respecto al objetivo requerido de reducción del riesgo hasta el nivel de referencia recomendado de  $10^{-6}$  AVAD por persona y año. Si no se dispone de instalaciones y recursos adecuados para utilizar la bacteria *V. cholerae* en las pruebas de exposición, puede sustituirse por una cepa de laboratorio de *E. coli*, que puede utilizarse como microorganismo de exposición en la prueba por tratarse de una bacteria con propiedades similares y que puede cultivarse y manejarse con más facilidad en el laboratorio. Esta bacteria se usa como sustituto del agente patógeno de interés con el fin de determinar la eficacia de la técnica contra todas las bacterias de su clase.

En el cuadro A2.3 se indican los patógenos recomendados para las pruebas, y los patógenos o indicadores sugeridos para uso como sustitutos en los estudios de validación o evaluación de la eficiencia de las técnicas. Estos microorganismos no son los únicos que han de tomarse en consideración, ya que en las fuentes de agua de una comunidad o un país determinado puede haber otros agentes patógenos que sean responsables de la mayor carga de morbilidad por enfermedades de transmisión hídrica, y, por tanto, se requieran otros indicadores microbianos más adecuados. En tal caso, será más adecuado seleccionar para la validación o la evaluación de la eficiencia de las técnicas otro agente patógeno de interés o un indicador pertinente. Para determinar la idoneidad de los microorganismos sustitutos de los patógenos para las pruebas de exposición, se deberán realizar ensayos en paralelo del tratamiento o la técnica en cuestión con el agente patógeno y el indicador propuesto, una tarea que se ha realizado para algunos tratamientos y cuyos resultados se han publicado en estudios avalados por expertos. Lo crucial es que el microorganismo sustituto genere una estimación conservadora del grado de eficacia en la reducción de la concentración del patógeno de interés.

### Cuadro A2.3. Principales microorganismos patógenos y microorganismos indicadores alternativos para uso en ensayos de verificación en laboratorio de técnicas de TDA

Microorganismo patógeno de interés	Alternativas recomendadas	Observaciones y consideraciones especiales
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E. coli</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp. (p. ej. <i>E. faecalis</i> y <i>E. faecium</i> ), <i>Salmonella</i> spp., <i>V. cholerae</i>	<i>C. jejuni</i> se asocia con cifras relativamente altas de AVAD; <i>Salmonella</i> spp. y <i>C. jejuni</i> son patógenos intestinales comunes. <i>E. coli</i> es una bacteria parecida (bacilo gramnegativo) de la que existen cepas apatógenas. <i>Enterococcus</i> spp., especialmente <i>E. faecium</i> y <i>E. faecalis</i> , abundantes en las heces, prevalentes y persistentes en aguas con contaminación fecal, se utilizan como indicadores fecales de la calidad de las aguas de uso recreativo.
Rotavirus	Virus ECHO 12, MS2, φX-174, otros bacteriófagos	Los rotavirus son muy infecciosos y causan grandes cargas de morbilidad en los niños; el virus ECHO 12, un picornavirus humano, es similar a otros enterovirus, su patogenicidad es baja y presenta semejanza superficial con los virus de la hepatitis A y E, los norovirus y los astrovirus. El MS2 y el φX-174 son colífagos que presentan semejanza superficial con los virus intestinales humanos y responden de forma similar a ellos en muchos procesos de tratamiento del agua.
<i>Cryptosporidium</i> o <i>Giardia</i>	Esporas de <i>Clostridium perfringens</i> , otras bacterias esporulantes (p. ej., esporas aerobias presentes de forma natural en aguas naturales o bien añadidas en forma de esporas de <i>Bacillus</i> spp.), partículas inertes, <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>Entamoeba</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i> son protozoos de transmisión hídrica prevalentes que causan importantes cargas de morbilidad. Como no se han determinado protozoos apatógenos que se les parezcan, se aconseja utilizar como sustitutos o indicadores esporas de <i>C. perfringens</i> (u otros clostridios sulfitorreductores), esporas de <i>Bacillus</i> spp. o esporas aerobias presentes de forma natural en aguas naturales. Dado que las técnicas basadas en la cloración no son eficaces contra <i>Cryptosporidium</i> , las esporas de <i>C. perfringens</i> (clostridios sulfitorreductores) no serían un microorganismo indicador adecuado para ese tratamiento, ya que el cloro las inactiva. También es aceptable utilizar en las pruebas de exposición <i>E. histolytica</i> u otras especies de <i>Entamoeba</i> que sean parásitos del ser humano (p. ej., <i>E. dispar</i> o <i>Entamoeba coli</i> ). Para las técnicas basadas exclusivamente en la filtración física, pueden utilizarse partículas inertes de 4–6 μm de diámetro. Se han empleado con éxito microesferas fluorescentes artificiales.

La capacidad de los laboratorios locales puede limitar la diversidad de análisis microbiológicos que pueden realizarse, especialmente en la selección inicial de productos. En muchos contextos, la única opción disponible puede ser la determinación de *Escherichia coli* u otras especies bacterianas indicadoras que pueden analizarse mediante equipos específicos (kits) de ensayo u otros métodos sencillos de bajo costo. Los medios de cultivo para bacterias cromógenas facilitan actualmente la detección de bacterias sustitutas o indicadoras específicas. Esos medios contienen un sustrato específico que facilita la detección de la bacteria indicadora en aguas con una concentración alta de otras bacterias, mediante un cambio de color específico (en la colonia bacteriana o en el caldo de cultivo) que indica la presencia de la bacteria de

interés. El análisis sistemático de muestras de agua —tratadas y sin tratar— inoculadas con *E. coli* o alguna otra bacteria indicadora puede proporcionar información útil para indicar si una técnica o método de tratamiento alcanza los niveles de eficacia recomendados únicamente para las bacterias. Se insta a realizar dicho análisis, que puede ser útil para determinar si es preciso someter un método de tratamiento del agua a ensayos adicionales. No obstante, los análisis de la carga bacteriana no sirven para indicar o inferir los niveles de eficacia frente a otros tipos de microorganismos, como los virus o los protozoos parásitos.

### A2.7.3 La preparación y el estado de los microorganismos

Los métodos de preparación y el estado de los microorganismos añadidos al agua para los ensayos en los estudios de exposición para la verificación o la evaluación de la eficiencia de las técnicas son de una importancia fundamental. Se recomienda que los microorganismos añadidos en los ensayos se preparen mediante métodos que proporcionen cultivos microbianos reproducibles, con una calidad física, química y biológica adecuada y uniforme. Para la mayoría de los estudios, se recomienda que los microorganismos añadidos tengan un grado de pureza suficiente y que se dispersen hasta formar partículas discretas (es decir, que no formen agregados ni estén unidos a otras partículas o incluidos en ellas) que se mantengan en suspensión sin concentraciones excesivas de solutos ni de partículas no microbianas que pudieran interferir con los tratamientos de desinfección.

Es importante determinar en qué medida influyen en la eficiencia de una técnica de TDA factores como la agregación de los microorganismos, la asociación de partículas (sólidos) y la presencia en el agua de solutos y partículas que interfieran en el proceso. Estas condiciones relativas al estado físico de los microorganismos y la presencia y concentraciones en el agua de otros componentes, frecuentes en aguas naturales utilizadas para el abastecimiento de agua potable, tienden a alterar la respuesta de los microorganismos al tratamiento y, por tanto, su eficacia. No obstante, para determinar los efectos de estas condiciones que interfieren en la eficiencia antimicrobiana de las técnicas de tratamiento es mejor utilizar microorganismos y aguas en las que dichos factores estén controlados y bien caracterizados.

### A2.7.4 Bacterias

Las normas y directrices para la realización de ensayos de determinación de la eficiencia microbiológica de las técnicas de tratamiento del agua y los consiguientes requisitos de calidad del agua se han basado históricamente en la reducción de la concentración de bacterias del grupo de las coliformes. Actualmente, la OMS recomienda específicamente el uso de *Escherichia coli*, por ser el miembro del grupo más representativo de la contaminación fecal en el agua de consumo. La mayoría de las bacterias *E. coli* y otros coliformes son en gran medida apatógenos, abundantes en el tubo digestivo del ser humano y los animales (aproximadamente mil millones de células por gramo de heces) y de fácil cultivo en el laboratorio. Otros coliformes, distintos de *E. coli*, también son comunes en el medio ambiente. Cuando las pruebas de exposición a bacterias de las técnicas de TDA cuando no puedan realizarse con bacterias patógenas, se recomienda el uso de cepas de laboratorio apatógenas de *E. coli*. La cepa *E. coli* B (ATCC 11303) es fácil de obtener y, por tanto, adecuada para este propósito, aunque pueden usarse también otras cepas. Para evaluar la eficiencia o validar una técnica puede utilizarse *Campylobacter jejuni* u otras especies de *Campylobacter* menos patógenas, como *Campylobacter coli*, así como especies



menos patógenas de *Salmonella*, siempre y cuando el laboratorio reúna los requisitos de bioseguridad de nivel 2. Diversas especies de *Enterococcus*, especialmente *E. faecium* y *E. faecalis*, abundantes en las heces humanas, que son prevalentes y persistentes en las aguas naturales contaminadas con materia fecal, son también sustitutos adecuados de las bacterias patógenas en las evaluaciones de la eficiencia de técnicas de tratamiento. Los laboratorios que realicen pruebas de determinación de la eficiencia microbiológica deberán tener experiencia y capacidad para manejar las bacterias pertinentes. Existen diversos métodos normalizados para el recuento de *E. coli* y de otras bacterias en el agua (véase infra).

#### **A2.7.4.1 Método de producción y procedimientos de manipulación**

Se recomienda cultivar las bacterias para la prueba de un día para otro (o incluso durante más tiempo, si son de crecimiento lento), como cultivos puros en caldos de cultivo no selectivos. No se recomienda, en general, el uso de medios de cultivo selectivos, ya que pueden dañar a las bacterias o alterar su fisiología. Las bacterias dañadas responden de forma diferente a los procesos de desinfección y a otras agresiones ambientales. Además, las bacterias a menudo sufren daños y alteraciones fisiológicas cuando están en el agua o en otros medios naturales. Si se parte de cultivos de bacterias que ya han sufrido daños o alteraciones fisiológicas por la presencia de inhibidores en su medio de cultivo, las células pueden sufrir alteraciones fisiológicas adicionales impredecibles que no son típicas de las bacterias patógenas presentes en el agua procedentes de residuos humanos o animales o de otras fuentes.

En el caso de muchas bacterias de interés presentes en el agua como patógenos o indicadores de patógenos, los caldos de cultivo preparados para realizar las pruebas de las técnicas de tratamiento del agua pueden usarse inmediatamente o bien almacenarse refrigerados para su uso durante la semana laboral, pero deben prepararse cultivos nuevos cada semana. Las células de estos caldos de cultivo pueden usarse directamente en los estudios de exposición de algunas técnicas de tratamiento, siempre que las bacterias estén en una concentración elevada (lo que permite una dilución considerable en el agua usada en el ensayo) y relativamente dispersas, y que el cultivo no contenga cantidades excesivas de sólidos extraños y solutos disueltos que puedan interferir con el mecanismo de acción de la técnica de tratamiento. Sin embargo, para muchas técnicas de TDA se requiere una mayor purificación de los cultivos de bacterias para reducir la presencia de materias inhibitorias que podrían invalidar las condiciones de la prueba. Esta purificación se suele realizar separando las células bacterianas del medio de cultivo mediante centrifugación a varios miles de veces la fuerza de la gravedad (g) durante varias decenas de minutos y resuspendiéndolas en un medio compatible con el agua del ensayo o bien directamente en esta agua.

Para los procesos físicos de tratamiento del agua basados en la exposición a temperaturas altas, como la ebullición y la pasteurización térmica (p. ej., la desinfección solar en recipientes opacos), o la exposición a la luz solar (desinfección solar) o a la radiación de lámparas de UV, las bacterias pueden añadirse directamente del medio de cultivo al agua sometida a ensayo. Los efectos térmicos y de la radiación UV que inactivan las bacterias probablemente serán similares en el caso de que las bacterias se añadan al agua del ensayo directamente del medio de cultivo o después de su purificación adicional mediante procedimientos de lavado, siempre y cuando la dilución del cultivo en el agua del ensayo sea suficiente para evitar que sus componentes interfieran en el proceso (p. ej., absorbiendo o bloqueando la radiación UV en el

tratamiento de desinfección). Sin embargo, para las pruebas de determinación de la eficiencia de la mayoría de las demás técnicas de TDA se recomienda purificar las células bacterianas antes de inocularlas a las aguas del ensayo, ya que las bacterias en estado físico no deseable o las impurezas presentes en el medio de cultivo pueden interferir de forma impredecible en la evaluación de la técnica de TDA.

Por ejemplo, en las pruebas de exposición microbiológica de la cloración u otras técnicas de desinfección por agentes químicos oxidantes es necesario retirar del cultivo bacteriano los solutos que tengan una demanda de cloro alta. Para ello, las bacterias que se utilizarán en el ensayo se separan del medio de cultivo mediante centrifugación y se resuspenden en el agua del ensayo o en otra agua con una demanda de cloro baja. La adición directa de bacterias en su medio de cultivo al agua del ensayo puede introducir concentraciones altas de solutos que elevan la demanda de cloro y lo consumen rápidamente, de modo que no queda cloro residual durante el tiempo de contacto previsto.

Otro ejemplo es el de los estudios de desinfección química, filtración y sedimentación, que es mejor realizar con bacterias dispersas. Algunas bacterias pueden proliferar en medios de cultivo líquidos permaneciendo en su mayor parte dispersas (como células individuales) sin ningún tratamiento adicional. En esos casos no sería necesario realizar ningún tratamiento adicional para dispersar las células. Sin embargo, si las bacterias utilizadas para la prueba tienen tendencia principalmente a formar agregados o grumos, puede ser necesario dispersar las células mediante un tratamiento físico o químico. En las pruebas de técnicas de filtración es importante utilizar células dispersas para poder verificar que la distribución de tamaños de poro del filtro es adecuada para retener células aisladas. Si las células se acumulan en agregados grandes, el tamaño de partículas efectivo es mucho mayor que el de las células bacterianas individuales (aisladas) y, por tanto, es inadecuado para determinar la eficiencia del filtro para eliminar bacterias individuales. Para dispersar las células se pueden utilizar tratamientos físicos, como la sonicación (p. ej., en un baño ultrasónico) o la filtración previa a través de un filtro de membrana que impide el paso de los agregados bacterianos pero permite el de las células no agregadas (individuales o aisladas), o tratamientos químicos, como la adición al cultivo de bacterias de concentraciones bajas de un agente tensioactivo (p. ej., un detergente no iónico).

#### **A2.7.4.2 Métodos de recuento de bacterias en muestras inoculadas**

Para cuantificar el contenido de bacterias suelen utilizarse métodos de presencia o ausencia o bien métodos de recuento (conteo). En las pruebas de presencia o ausencia se realizan diluciones seriadas de una muestra, se cultivan múltiples muestras inoculadas para cada dilución, se valora cada cultivo inoculado como positivo o negativo en función de la presencia o ausencia de signos característicos de la proliferación de las bacterias y, por último, se utilizan estos datos de cultivos positivos y negativos de diluciones clave de la muestra para calcular la densidad bacteriana en forma de número más probable (NMP) por unidad de volumen de la muestra. Los métodos de cuantificación por recuento se basan por lo general en el recuento de colonias bacterianas sobre un medio sólido (normalmente de agar) o sobre un filtro de membrana por el que se ha hecho pasar un volumen unitario de la muestra. Entre los métodos de recuento de colonias que utilizan agar como medio de cultivo cabe citar el de extensión en superficie, el de siembra de gotas en superficie y el de vertido en placa, que consisten, respectivamente, en inocular un volumen unitario de la muestra de agua, sin diluir o

diluida, sobre la superficie de una placa de agar solidificado (extendiéndola por toda la superficie del agar o bien aplicando pequeños volúmenes independientes en forma de gotas o puntos discretos) o bien en mezclar el volumen unitario con agar fundido y verterlo sobre una placa de cultivo donde luego se solidifica. En el método del filtro de membrana se filtra un volumen de la muestra, sin diluir o diluida, a través de un filtro de membrana microporoso que retiene las bacterias. A continuación, se dispone la membrana sobre la superficie de una placa que contiene un medio de cultivo. Tras incubar las placas para que las bacterias proliferen y formen colonias, ya sea en las placas de agar o en los filtros de membrana sobre las placas con medio de cultivo, se cuentan las colonias para determinar la concentración de bacterias medida en unidades formadoras de colonias por unidad de volumen de agua.

Existe una gran diversidad de técnicas y métodos para el recuento de *E. coli* en muestras de agua (NRC, 2004), como los métodos normalizados para el examen de aguas y aguas residuales publicados en *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Eaton et al., 2005) y los métodos de la EPA de los Estados Unidos (p. ej., USEPA, 2002a,b), ASTM International (p. ej., ASTM, 2006) y la Organización Internacional de Normalización (p. ej., ISO, 2000), entre otros. En los métodos 1603 y 1604 de la EPA (USEPA, 2002a,b) y el método normalizado 9222 (Eaton et al., 2005) se describen técnicas básicas de filtración de membrana para el recuento de *E. coli* en muestras de agua. Dichos métodos son los recomendados para la cuantificación de *E. coli* en muestras inoculadas de agua tratada y no tratada.

### A2.7.5 Virus

Los virus son parásitos intracelulares obligados que deben cultivarse y analizarse en células hospedadoras vivas. Para evaluar técnicas de tratamiento del agua pueden utilizarse los virus patógenos para el ser humano que son el objetivo del tratamiento, virus de la bacteria *E. coli* (colifagos) u otros bacteriófagos utilizados como virus indicadores o sustitutos. Algunos grupos taxonómicos de colifagos y otros bacteriófagos se parecen a los virus patógenos humanos en aspectos generales como el tamaño, la forma, la composición, la persistencia ambiental y la respuesta a los procesos de tratamiento del agua. Sin embargo, en comparación con los virus patógenos humanos, son mucho más fáciles y seguros de multiplicar, analizar y manejar en los estudios de evaluación o de verificación de la eficiencia de las técnicas. Entre los virus patógenos humanos que suponen un mayor riesgo en el agua de consumo se encuentran los virus de la hepatitis A y E (causantes de la hepatitis vírica), los rotavirus y los norovirus (el virus de Norwalk y calicivirus o norovirus humanos relacionados). Estos virus deben analizarse en laboratorios certificados con nivel de bioseguridad 2. Por lo tanto, las pruebas de validación de la eficiencia de las técnicas utilizadas en el TDA con respecto a estos virus solo pueden realizarse en los pocos laboratorios de cada región que están certificados con nivel de bioseguridad 2 y además poseen conocimientos y competencias sobre procedimientos de verificación de las técnicas de tratamiento del agua. En estos laboratorios pueden cultivarse virus de la hepatitis A, rotavirus y calicivirus, y se pueden analizar en ensayos con cultivos de células de mamíferos. Los virus se pueden purificar y sembrar en las aguas que se van a analizar en los estudios de verificación de las técnicas de tratamiento. No se ha conseguido multiplicar norovirus humanos en cultivos de células de mamíferos en el laboratorio y, por tanto, no es práctico ni conveniente utilizarlos en los estudios de verificación de las técnicas de tratamiento del agua. Algunos calicivirus o norovirus no humanos, como los calicivirus felinos y los norovirus murinos, pueden utilizarse como sustitutos de los norovirus humanos en

los estudios de evaluación y verificación de las técnicas de TDA. Sin embargo, para utilizar esos virus también se requiere un laboratorio con nivel de bioseguridad 2 y personal con la capacitación y experiencia pertinentes.

#### **A2.7.5.1 Los colifagos como sustitutos de los virus humanos en las pruebas de laboratorio**

En las pruebas de exposición a virus de los estudios de técnicas de TDA se pueden utilizar virus humanos, en caso pertinente. Sin embargo, al ser patógenos para el ser humano, estos virus están clasificados como agentes con un nivel de bioseguridad 2 (o superior) y, por tanto, para utilizarlos se requieren equipos, instalaciones y capacitación especializados. Por tanto, el uso de virus bacteriófagos (que infectan a bacterias) como sustitutos de los virus humanos es una alternativa aceptable, incluso preferible, especialmente en los lugares donde no hay laboratorios con nivel de bioseguridad 2 y personal de laboratorio con capacitación en los procedimientos del nivel de bioseguridad 2. El uso de bacteriófagos para la validación de técnicas de tratamiento del agua, como la radiación UV, la filtración y la desinfección química, es frecuente y está ampliamente aceptado. Diversos virus de *E. coli* (colifagos) y de otras bacterias entéricas (intestinales) son eficaces, prácticos y se utilizan ampliamente en pruebas de técnicas de tratamiento del agua. Cabe citar los colifagos de ARN F<sup>+</sup> de la familia Leviviridae como el MS2 y el Q-beta, los colifagos de ácido desoxirribonucleico (ADN) pequeños de la familia Microviridae, como el φX-174, y los bacteriófagos de ADN de la familia Tectiviridae más grandes, como el PRD-1. Para el uso de estos bacteriófagos es fundamental disponer de cepas adecuadas de *E. coli* o de otras bacterias hospedadoras. Se debe realizar un mantenimiento sistemático de estas bacterias hospedadoras, comprobar su capacidad de multiplicación eficiente y analizar para qué tipos de bacteriófagos son sensibles y específicas como células hospedadoras. Algunas de las células hospedadoras que se prefieren son las cepas F-amp y K12 de *E. coli* para los virus MS2 y Q-Beta; *E. coli* C para φX-174; y *Salmonella typhimurium* LT2 (una bacteria hospedadora patógena) para PRD-1. Se recomienda la utilización de los virus MS2 y φX-174, que se describen más extensamente a continuación.

MS2 es un colifago icosaédrico sin envoltura, específico de bacterias macho (F<sup>+</sup>) y con un punto isoeléctrico (pI) de 3,9. A menudo se utiliza como modelo de los virus intestinales (entéricos) por su parecido con los virus de la poliomielitis y de la hepatitis en tamaño (diámetro de 24–25nm), forma (icosaédrica) y ácido nucleico (ácido ribonucleico [ARN] de cadena sencilla). Pertenece al genotipo I, estable en el medio ambiente, de los colifagos F<sup>+</sup>-ARN y se ha observado que su presencia en el agua, en muestras tomadas en entornos naturales, está estrechamente asociada a los virus intestinales. También tiene aplicaciones útiles en el laboratorio debido a la facilidad de obtención y recuento, su naturaleza apatógena y la facilidad para lograr concentraciones altas. Es probable que el motivo de que no haya una correlación estrecha entre las concentraciones relativas de virus intestinales humanos y de colifagos F<sup>+</sup> en un momento dado en el medio ambiente sea la variabilidad de la presencia de virus intestinales patógenos en poblaciones humanas. Normalmente hay presencia de colifagos en el agua con contaminación fecal, pero la presencia de virus intestinales puede darse tan solo de forma periódica, por ejemplo, durante un brote, cuando las personas infectadas liberan el patógeno (Grabow, 2001). El virus φX-174 es un colifago somático pequeño (25nm de diámetro) y esférico; su pI es 6,6 y tiene ADN como ácido nucleico. También es útil como indicador de virus intestinales en el agua por su facilidad de detección y su correlación con los virus intestinales presentes en

el agua y las aguas residuales (Grabow, 2001). Las propiedades electrostáticas de los bacteriófagos pueden ser diferentes que las de los virus intestinales. Por tanto, es posible que no tengan idénticas propiedades en términos de adsorción o de asociación con otras partículas del agua, y su inactivación puede no ser representativa de todos los demás virus. Sin embargo, Sobsey et al. (1995) concluyeron que los colifagos F-específicos (de bacterias macho) se comportaban de forma comparable al virus de la hepatitis A y al rotavirus de los simios SA-11 en los modelos de laboratorio de procesos de tratamiento del agua como la floculación, coagulación y sedimentación; la filtración rápida en arena, y la desinfección con cloro. También hay datos que indican que el MS2 puede ser un estimador conservador de otros virus, en particular del virus poliomielítico de tipo 1, en la filtración lenta en arena (Schijven et al., 2003). El colifago MS2 es un indicador conservador de los virus patógenos en el agua sometida a tratamiento de irradiación UV, ya la dosis que se requiere para inactivar este virus es más alta que la necesaria para inactivar los rotavirus, los virus poliomielíticos y el virus de la hepatitis A, entre otros patógenos (Jevons, 1982; Wolfe, 1990; Wilson, 1992).

#### **A2.7.5.2 Preparación y purificación de cultivos de bacteriófagos**

Los bacteriófagos se pueden multiplicar en cultivos de células hospedadoras y luego se pueden recuperar y purificar para su uso en los estudios de evaluación o de validación de técnicas de TDA. Los bacteriófagos pueden cultivarse (multiplicarse) dejando que infecten a las células hospedadoras y se repliquen en las células en medios de cultivo de enriquecimiento líquidos, usando métodos similares a los de los análisis de presencia o ausencia en medio de enriquecimiento. Normalmente, se multiplican primero las bacterias hospedadoras en un medio de cultivo líquido, hasta que alcanzan la fase de crecimiento logarítmico. A continuación, se añaden los bacteriófagos al cultivo bacteriano en una proporción de aproximadamente 1 bacteriófago por cada 10–1 000 células. Luego se reincuba el cultivo, mezclándolo constantemente, para dejar que tengan lugar varios ciclos de infección, replicación de los bacteriófagos y lisis de las células hospedadoras (normalmente 2–5 horas). Después se centrifuga el cultivo resultante a 1 000–5 000 veces la fuerza de la gravedad durante 15–30 minutos para que sedimenten los restos de las células hospedadoras lisadas y se recupera el sobrenadante, que constituye la reserva madre de bacteriófagos en bruto. Otra posibilidad para multiplicar los bacteriófagos es recuperarlos del agar de las placas que presenten confluencia completa (del 100%) en el ensayo de formación de calvas citolíticas (producto de la lisis de las células hospedadoras). Para ello se raspa el agar que contiene el virus y los restos de las células hospedadoras lisadas y se transfiere a un pequeño volumen de agua tamponada; se mezcla esta suspensión para liberar los virus del agar recuperado y de las células lisadas; se centrifuga a velocidad moderada (1 000–5 000g durante 10–30 minutos) para sedimentar el agar y los restos de células hospedadoras; y, por último, el sobrenadante obtenido se recupera como reserva madre de bacteriófagos en bruto, que puede utilizarse para la verificación de procesos de tratamiento térmico como la ebullición o la desinfección solar exclusivamente por calor.

Para su utilización en los estudios de evaluación o de validación de la eficiencia de técnicas de tratamiento del agua como la desinfección química, la desinfección por radiación UV y otros tratamientos químicos (p. ej. la coagulación y precipitación), se recomienda una purificación adicional de los virus mediante extracción con cloroformo u otro disolvente orgánico (p. ej., un fluorocarburo). La extracción de los virus del sobrenadante recuperado, ya sea de ensayos de formación de calvas citolíticas o de multiplicación en medios de enriquecimiento, puede realizarse añadiendo disolvente

(p. ej., cloroformo o fluorocarburo) al líquido sobrenadante que contiene el virus en una proporción de 1 parte de disolvente por 2–10 partes del sobrenadante. El conjunto se mezcla vigorosamente a mano o con un agitador vórtex hasta obtener una emulsión. A continuación, la emulsión se centrifuga a 3000–5000g durante 30 minutos para separar el material vírico acuoso del disolvente orgánico. El sobrenadante acuoso resultante que contiene el virus se recupera mediante aspiración o decantación, separándolo así del disolvente orgánico y de los restos sedimentados.

Para usar el virus en la evaluación de ciertas técnicas de tratamiento del agua por filtración puede ser recomendable purificar la suspensión de virus aún más someténdola a una filtración previa para retirar los agregados de gran tamaño de partículas víricas y recuperando el filtrado que contiene virus relativamente dispersos. La filtración previa se realiza normalmente a través de filtros de membrana de baja adsorción proteica, como los de policarbonato o de ésteres de celulosa especialmente tratados. Los virus extraídos mediante cloroformo pueden someterse a filtraciones sucesivas a través de filtros con un tamaño de poro de 1µm (o 0,45µm) y luego de 0,2µm, y el filtrado puede recuperarse como provisión de virus dispersos.

Los diversos métodos de multiplicación y purificación de cultivos de bacteriófagos se resumen en Carlson (2004).

### **A2.7.5.3 Métodos de recuento de bacteriófagos en muestras inoculadas**

Los colifagos son fáciles de cultivar y de analizar en cultivos bacterianos mediante técnicas normalizadas ampliamente utilizadas en la microbiología general, médica, ambiental y de los alimentos. Diversas entidades nacionales e internacionales (Mooijman et al., 2001, 2005; USEPA, 2001a,b; Sobsey et al., 2004) han elaborado, evaluado y certificado procedimientos normalizados de cultivo y análisis de colifagos. Entre ellos se incluyen tanto los ensayos de presencia/ausencia como los de recuento, en los cuales se cuantifica la concentración de colifagos en las muestras de agua según su capacidad para infectar y lisis las bacterias hospedadoras. En los análisis de recuento, los virus forman calvas citolíticas, que son zonas claras en el manto de bacterias hospedadoras cultivadas en agar en placas de Petri. En este método, se combina un volumen de la muestra de agua con las bacterias hospedadoras y, a continuación, con el agar fundido. La mezcla se vierte en una placa de cultivo y, tras endurecerse el medio de cultivo, se incuba para permitir que los virus infecten y lisen las células hospedadoras en el agar. Tras la incubación, se cuentan estas zonas de lisis, llamadas calvas. La concentración de bacteriófagos se expresa en unidades formadoras de calvas por unidad de volumen de la muestra de agua. Este método de análisis de la formación de calvas de lisis en capa de agar para el recuento de bacteriófagos es análogo a los métodos de recuento de colonias en agar para la cuantificación de bacterias.

En los métodos de análisis de presencia/ausencia se inoculan múltiples volúmenes de muestra en caldos de cultivo independientes de bacterias hospedadoras y se incuban para que los bacteriófagos infecten y lisen las células hospedadoras. Para detectar qué cultivos de enriquecimiento son positivos (hay presencia de colifagos), se extrae un volumen pequeño de cada cultivo y se deposita una gota sobre un manto de bacterias hospedadoras cultivadas en agar y se incuba para permitir que los colifagos presentes en las gotas de los cultivos de enriquecimiento infecten y lisen las células hospedadoras; a continuación, se estima la concentración de colifagos, como NMP, basándose en los resultados de presencia o ausencia de lisis en los volúmenes de muestra enriquecidos e inoculados. Este método de determinación del NMP de

bacteriófagos en cultivos de enriquecimiento es parecido a los métodos utilizados para determinar el NMP de bacterias en caldos de cultivo de enriquecimiento. Una modificación más reciente del procedimiento para valorar el número de positivos de presencia de colifagos en cultivos de enriquecimiento es mezclar una gota del cultivo de enriquecimiento con una gota de un reactivo de detección que contiene perlas de plástico recubiertas de anticuerpos que reaccionan específicamente a los colifagos. La reacción de los colifagos del cultivo de enriquecimiento con los anticuerpos hace que las perlas se agrupen y formen agregados visibles. Este procedimiento, llamado aglutinación de partículas, es a la vez sencillo (basta mezclar dos gotas de líquidos — el cultivo de enriquecimiento y el reactivo de detección— sobre una superficie sólida) y rápido (la aglutinación se detecta en menos de 1 minuto) (Love y Sobsey, 2007).

A diferencia de los virus intestinales del ser humano y otros mamíferos, que han de analizarse en laboratorios con bioseguridad de nivel 2, se puede trabajar con estos bacteriófagos en laboratorios con nivel de bioseguridad 1 y con instalaciones y equipos relativamente básicos. En las normas 1601 y 1602 de la EPA para el análisis de colifagos de ARN F+ (específicos de bacterias macho) y somáticos en muestras de agua (USEPA, 2001a,b) se proporcionan métodos detallados para la multiplicación, almacenamiento y recuento de estos bacteriófagos y sus células hospedadoras. Los métodos normalizados pertinentes son el 9224B, C, D, E y F (Eaton et al., 2005), basados en los métodos descritos por Adams (1959). Existen también otros protocolos de laboratorio para el manejo de bacteriófagos (Carlson, 2004).

### A2.7.6 Protozoos parásitos

Los protozoos parásitos que suelen ser objeto de control en el agua son *Cryptosporidium parvum*, un coccidio zoonótico, y *C. hominis*, una especie que habitualmente infecta al ser humano. Ambas especies de *Cryptosporidium* son relativamente pequeñas (3–7 µm de diámetro) en comparación con otros importantes parásitos transmitidos por el agua, relativamente persistentes en el medio ambiente y relativamente resistentes a la desinfección química. Afectan comúnmente a personas y animales de todo el mundo. Causan enfermedades digestivas en personas sanas, y enfermedades más graves y potencialmente mortales en personas inmunodeprimidas. En algunas partes del mundo puede ser más adecuado centrar el control del agua de consumo en otros protozoos parásitos, como *Giardia intestinalis* o *Entamoeba histolytica*, ya que al ser más prevalentes entre la población, contribuyen en mayor medida a la carga de morbilidad por enfermedades de transmisión hídrica. Para los estudios de verificación de una técnica de tratamiento de agua en los que se utilicen ooquistes de *Cryptosporidium* u otros parásitos se necesita una fuente de parásitos fiable, instalaciones de laboratorio con nivel de bioseguridad 2 y personal de laboratorio experimentado. La fuente habitual de los ooquistes de *Cryptosporidium* son animales hospedadores infectados artificialmente; por ejemplo, terneros recién nacidos que excretan altas concentraciones de ooquistes en las heces. La producción de poblaciones de ooquistes de *Cryptosporidium* presenta dificultades técnicas y requiere mucho tiempo debido a la necesidad de tratar de forma ética a los animales de experimentación, de recoger cuidadosamente la materia fecal animal que contiene los ooquistes, y de purificarlos y almacenarlos adecuadamente. En algunos países tecnológicamente más desarrollados, se comercializan ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de otros protozoos parásitos, como *Giardia intestinalis* (o su equivalente murino, *Giardia muris*). El costo de estos protozoos comerciales es relativamente elevado y es preciso aplicar medidas especiales en los envíos, si los protozoos todavía son viables e infecciosos. Sin embargo, también es posible

obtener comercialmente ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* que han sido transformados a formas no viables y teñidos con colorantes fluorescentes. Este tipo de quistes y ooquistes fluorescentes y no viables de protozoos parásitos son útiles para la evaluación de la eficiencia de técnicas de TDA como los filtros que separan los microorganismos del agua por métodos físicos.

En algunos estudios de evaluación o de validación de técnicas de tratamiento del agua en las que la reducción de la carga de microorganismos patógenos se realiza mediante su separación física, como la filtración, la coagulación-floculación y decantación, y la sedimentación, los métodos analíticos para detectar y cuantificar los parásitos del agua pueden basarse en el recuento directo por microscopía. Para este tipo de examen con microscopio suele ser necesario concentrar y teñir los parásitos de las muestras de agua (normalmente mediante métodos inmunoquímicos, como la tinción por inmunofluorescencia) para su posterior recuento con microscopio, normalmente de epifluorescencia con luz UV. Esto es especialmente necesario en muestras de agua tratada, en las que la concentración residual de parásitos, tras su eliminación mediante el proceso de tratamiento, puede ser muy baja. Este tipo de análisis con microscopio de fluorescencia es técnicamente complicado, lleva mucho tiempo y requiere reactivos inmunofluorescentes, un microscopio de epifluorescencia de gran calidad y un analista capacitado.

Las evaluaciones de la eficiencia de las técnicas de tratamiento del agua que no se basan en la separación física de los parásitos, sino en su inactivación mediante un proceso de desinfección física o química, como el tratamiento térmico, la irradiación UV o la cloración, se basan en la determinación de la reducción de la infecciosidad de los parásitos. Las pruebas de determinación de la infecciosidad de los parásitos basadas en infectar a un animal de experimentación o cultivos de células de mamíferos son técnicamente complicadas, requieren instalaciones y equipos especializados y son caras. En algunos países o regiones del mundo no se dispone de capacidad para realizar estas pruebas de determinación de la infecciosidad en animales o en cultivos celulares. La viabilidad de muchos parásitos, así como los cambios de la viabilidad (debidos a un tratamiento), pueden evaluarse mediante pruebas basadas en la penetración o ausencia de penetración de colorantes químicos o en otras propiedades de los colorantes vitales. Sin embargo, está bien documentado actualmente que este tipo de pruebas de viabilidad no predicen de manera fiable la infecciosidad ni los cambios de infecciosidad por efecto de un tratamiento. Por tanto, este tipo de pruebas de viabilidad no se deberán utilizar para determinar las reducciones de la infecciosidad de los protozoos parásitos en los estudios de verificación de las técnicas de tratamiento del agua.

Cuando sea posible y adecuado, en las pruebas de exposición de las técnicas de TDA deberá utilizarse *Cryptosporidium*. Dado que es posible que en algunos países o regiones del mundo no se disponga de los recursos necesarios para producir parásitos y analizarlos por microscopía o mediante pruebas de infecciosidad, se necesitan otros enfoques para evaluar la reducción de la carga infecciosa de los protozoos parásitos lograda por las técnicas de tratamiento del agua. Una alternativa práctica y razonablemente fiable a la utilización de los propios parásitos es el uso de un microorganismo indicador. Las esporas de la bacteria anaerobia *Clostridium perfringens* y las esporas de *Bacillus* spp. (aerobio) son los microorganismos indicadores de la reducción de la carga de protozoos parásitos más utilizados en los tratamientos del agua y mejor documentados. Las esporas de *Clostridium perfringens* son pequeñas (de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  de diámetro), estables y persistentes en el medio ambiente, y



relativamente resistentes a los tratamientos de desinfección físicos y químicos. *Clostridium perfringens* puede obtenerse de colecciones de referencia o se puede aislar a partir de muestras de agua, residuos o suelos mediante el cultivo en medios diferenciales y selectivos, con posterior confirmación bioquímica. El uso de cepas de referencia de *C. perfringens* con eficiencia conocida en la producción de esporas (esporulación) se considera preferibles al aislamiento primario de cepas desconocidas procedentes del medio natural, ya que *C. perfringens* suele ser un esporulador ineficiente y, por tanto, puede ser necesario examinar numerosos aislados independientes para detectar una cepa con esporulación eficiente. Las esporas de *Bacillus* spp. (p. ej., *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*) pueden recolectarse de aguas naturales, son relativamente fáciles de cultivar hasta alcanzar concentraciones altas, son fáciles de contar y presentan muchas de las ventajas de *C. perfringens* para la modelización de los procesos de tratamiento. Sin embargo, las esporas de *Bacillus* pueden germinar bajo determinadas condiciones ambientales y de ensayo, con la consiguiente formación y crecimiento de células vegetativas. Por tanto, deben tomarse precauciones para mantener la integridad de las esporas de *Bacillus* y evitar así su germinación y la proliferación de células vegetativas. Deberá tenerse en cuenta y vigilarse la posibilidad de que las esporas germinen y se produzca proliferación de células vegetativas en el sistema del ensayo, y las muestras obtenidas en las pruebas de exposición deberán analizarse lo antes posible. *C. perfringens* presenta problemas similares de germinación de esporas y de proliferación de células vegetativas, pero son menos probables que en *Bacillus* spp., por el carácter anaerobio de *C. perfringens*.

En técnicas cuyo mecanismo de reducción de la carga de protozoos sea su separación física basada en la exclusión por tamaño, se pueden utilizar partículas sintéticas como sustitutos de los microorganismos. Estas partículas pueden ser perlas fluorescentes del mismo tamaño, densidad y forma que el protozoo (p. ej., que los ooquistes de *Cryptosporidium*) y su recuento se puede realizar mediante diversos métodos, como la microscopía de fluorescencia.

### **A2.7.6.1 Las esporas de *Clostridium perfringens* como indicador de *Clostridium* spp. y otros protozoos**

Las esporas de *Clostridium perfringens* se han propuesto como sustitutos experimentales de los ooquistes de *Cryptosporidium* en modelos de procesos de tratamiento y de transporte debido a su resistencia a la desinfección química y a su estabilidad en el medio ambiente (Venczel et al., 1997; Sartory et al., 1998). En los procesos de filtración física, las esporas de 1  $\mu\text{m}$  pueden servir de indicador conservador del comportamiento de los ooquistes, más grandes (5  $\mu\text{m}$ ) (Schijven et al., 2003). También pueden ser el mejor indicador disponible de la inactivación de *Cryptosporidium* por desinfección química, debido a su relativa resistencia a la inactivación por cloración. Venczel et al. (1997) determinaron que mediante la exposición de *C. perfringens* a cloro libre durante 4 horas se lograba una reducción logarítmica decimal de 1,4 de su concentración, mientras que no se detectaba inactivación cuantificable de los ooquistes de *Cryptosporidium* mediante el mismo tratamiento, si bien la inactivación de ambos microorganismos mediante un desinfectante oxidante mixto era similar. Payment y sus colaboradores (Payment et al., 1985; Payment y Franco, 1993) determinaron que la eliminación de *C. perfringens* y de virus colifagos mediante procesos de tratamiento del agua guarda una correlación estrecha con la eliminación de *Cryptosporidium*, *Giardia* y los virus intestinales humanos. La radiación UV y el calor son tratamientos de inactivación menos eficaces frente a las esporas bacterianas que frente a los protozoos,

las bacterias vegetativas y los virus. Por tanto, las esporas de *C. perfringens* pueden ser un indicador conservador de la eficacia de estas técnicas frente a protozoos transmitidos por el agua como *Cryptosporidium*, *Giardia* y *Entamoeba*.

### Método de producción

Las esporas de *Clostridium perfringens* se producen cultivando las bacterias en medios de esporulación en condiciones que fomentan la formación de esporas. Existen diversos medios de esporulación para la multiplicación de esporas de *C. perfringens*; se recomiendan el medio Duncan-Strong y sus variantes (Duncan y Strong, 1968; Labbe, Somers y Duncan, 1976; Labbe y Rey, 1979; Hsieh y Labbe, 2007), usados ampliamente. Las esporas obtenidas pueden almacenarse refrigeradas durante periodos largos (semanas) o congeladas durante periodos todavía más largos (meses o años).

### Análisis de las esporas de *Clostridium perfringens*

Las esporas normalmente se cuantifican o recuentan mediante métodos de cultivo en medios selectivos y diferenciales. Para analizar únicamente las esporas y no las células vegetativas que también puedan estar presentes en las muestras, estas se someten a un tratamiento térmico, normalmente a 70 °C durante 15–30 minutos, antes de su cultivo. Para el ensayo de presencia o ausencia en caldos de cultivo mediante el método de los tubos múltiples para calcular la concentración aproximada en forma de NMP, se prefiere la incubación en medio de leche y hierro a 41 °C. En este medio, la multiplicación de *C. perfringens* se detecta por la fermentación tumultuosa que se produce cuando el medio se coagula y atrapa las burbujas de gas que producen las bacterias en crecimiento. Otra opción para analizar *C. perfringens* en muestras de agua es mediante métodos de filtración de membrana con incubación en medios selectivos, como el mCp, modificado por Armon & Payment (1988) a partir de la fórmula original de Bisson & Cabelli (1979), y el medio triptosa-sulfito-cicloserina (TSC) (Sartory et al., 1998; Adcock y Saint, 2001). Estudios recientes sugieren que el medio TSC es equivalente o mejor que el mCp para el recuento de *C. perfringens* (p. ej. Araújo et al., 2001).

Para la cuantificación de *C. perfringens* se utiliza con frecuencia el método D5916-96(2002) de ASTM International, titulado *Standard Test Method for Detection and Enumeration of Clostridium perfringens from Water and Extracted Sediments by Membrane Filtration (MF)* (ASTM, 2002), basado en la filtración de membrana y la incubación en medios selectivos. El Organismo de Protección Sanitaria (Health Protection Agency) del Reino Unido (2004) ha elaborado un método estándar para el recuento de *C. perfringens* basado en la incubación en un medio TSC.

### **A2.7.6.2 Las esporas de *Bacillus* spp. como indicador de *Cryptosporidium* y otros protozoos**

Las esporas de *Bacillus* spp. se han propuesto como sustitutos experimentales de los ooquistes de *Cryptosporidium* en modelos de procesos de tratamiento y de transporte. Las poblaciones de *Bacillus* spp. y otras bacterias aerobias esporuladoras son relativamente resistentes a la desinfección, estables en el medio ambiente y, además, se encuentran a menudo en las aguas naturales en concentraciones suficientemente altas para permitir la determinación de reducciones de la concentración de múltiples unidades logarítmicas decimales (Dey et al., 1998; Nieminski, Bellamy y Moss, 2000; Charet et al., 2001; Verhille et al., 2003).

### Método de producción

Las esporas de *Bacillus* spp. se producen cultivando las bacterias en medios de esporulación en condiciones que fomentan la formación de esporas. Existen diversos medios de esporulación para la multiplicación de esporas de *Bacillus*; se recomienda el agar AK n.º 2 (agar para esporulación), ampliamente usado. Las esporas obtenidas pueden conservarse refrigeradas durante periodos largos (semanas) o congeladas durante más tiempo aún (meses o años) si se almacenan a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  en glicerol al 7–10%. En Dey et al. (1998) y Chauret et al. (2001) se describen en detalle métodos de producción de esporas. Cuando se utilizan esporas de *Bacillus* para evaluar la eficiencia de técnicas de tratamiento debe tenerse en cuenta la capacidad de las esporas de germinar, convertirse en células vegetativas y reproducirse (multiplicarse). No se recomienda el uso de estas esporas en estudios de exposición de técnicas de tratamiento cuando las condiciones de la prueba puedan propiciar la germinación de las esporas y su multiplicación. Los procesos de tratamiento físicos que conllevan actividad biológica o con tiempos de contacto largos podrían provocar la germinación de las esporas o la multiplicación de las células vegetativas de *Bacillus*. Deberá evitarse el uso de esporas de *Bacillus* cuando exista riesgo de que se den estas condiciones durante el procedimiento analítico. En general, las esporas de *Bacillus* de las muestras de agua obtenidas en estudios de la eficiencia de las técnicas de tratamiento deberán analizarse lo antes posible para evitar su germinación y la multiplicación de las células vegetativas. Si el análisis tiene que retrasarse, las muestras deben conservarse refrigeradas (preferiblemente a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

### Análisis de las esporas de *Bacillus* spp.

Las esporas normalmente se cuantifican o se recuentan mediante métodos de cultivo en medios no selectivos o en medios selectivos y diferenciales. El medio no selectivo que se utiliza habitualmente es el agar nutriente (en placas), pero deben tomarse precauciones para distinguir las esporas de *Bacillus* de las de otras bacterias que crecerán en este medio. La adición de azul de bromotimol en una concentración del 0,005% (peso/volumen) al agar nutriente facilita el recuento de las colonias (Francis et al., 2001). Para contabilizar únicamente las esporas y no las células vegetativas que también puedan estar presentes en las muestras, estas se someten a tratamiento térmico, normalmente a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 15–30 minutos, antes de incubarlas en los medios de cultivo a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Se ha desarrollado una prueba accesible basada en la filtración de membrana que permite el recuento rápido de esporas de *Bacillus* spp. en distintos tipos de aguas (Francis et al., 2001).

## A2.8 La eficiencia de las técnicas de TDA

En el cuadro A2.4 se indican los valores estimados de las reducciones de la carga de bacterias, virus y protozoos parásitos transmitidos por el agua correspondientes a varias de las técnicas de TDA mencionadas en las secciones anteriores. El cuadro se ha extraído de la cuarta edición de las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011). Los valores de reducción están basados en los resultados de estudios aparecidos en publicaciones científicas. Se proporcionan dos datos de eficacia: la reducción básica y la reducción máxima. La reducción básica es la que cabe prever que se obtendrá normalmente en tratamientos realizados sobre el terreno, por personas con cualificación relativamente escasa, utilizando aguas brutas (sin tratar) de calidad

media y variable, y con las instalaciones o instrumentos de apoyo mínimos para optimizar las condiciones y prácticas de tratamiento. La reducción máxima es la que es posible alcanzar cuando el tratamiento se realiza en condiciones óptimas, por operarios cualificados que cuentan con los equipos e instrumentos necesarios para mantener una eficiencia máxima en aguas de calidad predecible e invariable (p. ej., aguas inoculadas para el ensayo con concentraciones conocidas de microorganismos específicos).

#### Cuadro A2.4. Estimaciones de la eficacia antimicrobiana básica y máxima de técnicas de TDA seleccionadas

Tratamiento	Grupo de microbios patógenos intestinales	Reducción básica (RLD <sup>a</sup> ) <sup>b</sup>	Reducción máxima (RLD <sup>c</sup> )	Notas
<b>Desinfección química</b>				
Desinfección con cloro libre	Bacterias	3	6	La turbidez y los solutos con demanda de cloro alta inhiben este proceso. El producto de la concentración de cloro libre por el tiempo de exposición es un predictor de la eficacia. No es eficaz contra ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> .
	Virus	3	6	
	Protozoos, excepto <i>Cryptosporidium</i>	3	5	
	<i>Cryptosporidium</i>	0	1	
<b>Filtración con filtros de membrana, de cerámica porosa o mixtos</b>				
Filtración con filtros de cerámica porosa y de bloque de carbón	Bacterias	2	6	Varía en función del tamaño de poro, el caudal, el medio de filtración y la potenciación con plata u otros agentes químicos.
	Virus	1	4	
	Protozoos	4	6	
Filtración de membrana (microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa)	Bacterias	2 MF ; 3 UF, NF ou OI	4 MF ; 6 UF, NF ou OI	Varía en función del tamaño de poro de la membrana, la integridad del medio de filtración y los sellos del filtro, y la resistencia a la degradación química y biológica (por microorganismos que crecen en la membrana y la atraviesan).
	Virus	0 MF ; 3 UF, NF ou OI	4 MF ; 6 UF, NF ou OI	
	Protozoos	2 MF ; 3 UF, NF ou OI	6 MF ; 6 UF, NF ou OI	
Filtración a través de fibras y tejidos (p. ej. filtración a través de tela de sari)	Bacterias	1	2	La asociación de los microorganismos con partículas o plancton aumenta su eliminación, en particular la asociación del dracunculo ( <i>Dracunculus medinensis</i> ) con copépodos y la de <i>Vibrio cholerae</i> con el plancton. Puede filtrar los protozoos de mayor tamaño (> 20µm), pero es ineficaz frente a virus, bacterias dispersas y protozoos pequeños (p. ej., <i>Giardia intestinalis</i> , de 8–12µm, y <i>Cryptosporidium</i> , de 4–6µm).
	Virus	0	0	
	Protozoos	0	1	
<b>Filtración en medios granulares</b>				
Filtros rápidos granulares, de tierra de diatomeas, derivados de biomasa y combustibles fósiles (carbón activado granular o en polvo, madera y cenizas de carbón vegetal, cáscaras de arroz quemadas, etc.)	Bacterias	1	4+	Varía considerablemente en función del tamaño y las propiedades del medio, el caudal y las condiciones de operación. Algunas opciones son más prácticas que otras para uso en países en desarrollo.
	Virus	1	4+	
	Protozoos	1	4+	

## ... Cuadro A2.4.

Tratamiento	Grupo de microbios patógenos intestinales	Reducción básica (RLD <sup>a</sup> ) <sup>b</sup>	Reducción máxima (RLD <sup>c</sup> )	Notas
Filtración lenta en arena de operación intermitente en los hogares	Bacterias	1	3	Varía en función de la madurez del filtro, las condiciones de operación, el caudal, el tamaño de los granos de arena y el tiempo de contacto con el lecho de filtración
	Virus	0.5	2	
	Protozoos	2	4	
<b>Desinfección solar</b>				
Desinfección solar (efectos térmicos y de la radiación UV de la luz solar)	Bacterias	3	5+	Varía en función de la oxigenación, la intensidad de la luz solar, el tiempo de exposición, la temperatura, la turbidez y el tamaño del recipiente de agua (profundidad del agua)
	Virus	2	4+	
	Protozoos	2	4+	
<b>Técnicas con lámparas de UV</b>				
Irradiación UV Virus Protozoos	Bacterias	3	5+	Una turbidez excesiva y ciertas sustancias disueltas inhiben el proceso. La eficacia depende de la fluencia (dosis), que varía en función de la intensidad, el tiempo de exposición y la longitud de onda de la radiación UV.
	Virus	2	5+	
	Protozoos	3	5+	
<b>Técnicas térmicas (calentamiento)</b>				
Tratamiento térmico (p. ej., ebullición) <sup>d</sup> Virus Protozoos	Bacterias	6	9+	Los valores corresponden a la inactivación térmica de las células vegetativas, ya que las esporas son más resistentes. Para reducir la concentración de esporas activas, el agua ha de hervirse a una temperatura suficiente y durante un tiempo suficiente.
	Virus	6	9+	
	Protozoos	6	9+	
<b>Sedimentación</b>				
Sedimentación simple Virus Protozoos	Bacterias	0	0.5	La eficacia, fruto de la sedimentación de los microorganismos de gran tamaño (sedimentables) y de los adheridos a partículas, varía en función del tiempo de almacenamiento y de las partículas presentes en el agua.
	Virus	0	0.5	
	Protozoos	0	1	
<b>Tratamientos combinados</b>				
Sistemas de floculación y desinfección (p. ej., los productos comerciales en polvo o en comprimidos) Virus Protozoos	Bacterias	7	9	Es posible cierto grado de eliminación de <i>Cryptosporidium</i> mediante coagulación.
	Virus	4.5	6	
	Protozoos	3	5	

RLD: reducción logarítmica decimal; MF: microfiltración; NF: nanofiltración; OI: ósmosis inversa; UF: ultrafiltración.

<sup>a</sup> Reducción logarítmica decimal, una medida habitual de la reducción de la carga microbiana, calculada como  $\log_{10}$  (concentración antes del tratamiento) –  $\log_{10}$  (concentración después del tratamiento).

<sup>b</sup> La reducción básica es la que cabe prever que se obtendrá normalmente en tratamientos sobre el terreno realizados por personas con cualificación relativamente escasa con aguas brutas (sin tratar) de calidad media y variable y con las instalaciones o instrumentos de apoyo mínimos para optimizar las condiciones y prácticas de tratamiento.

<sup>c</sup> La reducción máxima es la que es posible alcanzar cuando el tratamiento se realiza en condiciones óptimas por operarios cualificados que cuentan con los equipos e instrumentos necesarios para mantener una eficiencia máxima en aguas de calidad predecible e invariable.

<sup>d</sup> La pasteurización por calor es otro ejemplo de técnica térmica. Para una explicación más detallada del proceso y referencias, consulte la sección A2.5.6.

Fuente: OMS (2011)

## APÉNDICE 3: FACTORES ADICIONALES QUE SE DEBEN TENER EN CUENTA EN LOS PROGRAMAS NACIONALES DE VERIFICACIÓN DE TÉCNICAS DE TRATAMIENTO DEL AGUA

Para determinar la utilidad de un proceso de tratamiento del agua para reducir los riesgos de enfermedades transmitidas por el agua y proporcionar agua potable es fundamental determinar en qué medida reduce la carga de microorganismos patógenos. Dada la diversidad de microorganismos patógenos existentes y sus diferentes propiedades, es especialmente importante entender y cuantificar la eficacia de cada técnica de TDA en la reducción de todos los tipos de patógenos en aguas de calidades diversas, según ponen de relieve experiencias recientes. Por ejemplo, en la década de 1990 se comprobó que la cloración, una técnica de desinfección ampliamente utilizada, era ineficaz para reducir la infecciosidad de *Cryptosporidium*, un protozoo parásito transmitido por el agua muy extendido pero al que, hasta entonces, no se había prestado la atención debida. Debido, en parte, a experiencias de ese tipo, en el mundo tecnológicamente más desarrollado actualmente existen directrices, normas de eficiencia y protocolos estrictos para la validación de la capacidad de los procesos de tratamiento del agua para reducir las concentraciones de agentes patógenos (USEPA, 1987; NSF, 2003). Sin embargo, estas no son las únicas consideraciones pertinentes a la hora de evaluar la idoneidad de una técnica para su uso en un lugar determinado. Hay muy diversos factores adicionales, no relacionados con la eficacia antimicrobiana comprobada en el laboratorio, que también pueden ser importantes a nivel local a efectos de la verificación de las técnicas de tratamiento. Se detallan a continuación algunos factores adicionales que podrán considerarse en programas locales de verificación de las técnicas, aunque existen muchos más. En la verificación de las técnicas se deben tener en cuenta las necesidades y los recursos locales para garantizar la protección de la salud pública y el uso responsable de los recursos.

### A3.1 Eficiencia microbiológica sobre el terreno

A menudo se observa que la eficacia antimicrobiana de las técnicas de TDA es menor en las condiciones de uso sobre el terreno que en los estudios de exposición en laboratorio (Baumgartner, 2006; Brown, Sobsey y Loomis, 2008; Brown y Sobsey, 2010). Esta observación pone de manifiesto la necesidad de replicar las condiciones reales de uso lo más fielmente posible cuando se realizan análisis de laboratorio, así como la necesidad de un seguimiento continuo de la eficiencia de las técnicas tras su caracterización en el laboratorio y durante el uso real sobre el terreno. Las diferencias de eficiencia pueden deberse a los modos de actuar de los usuarios o a las características de la propia técnica, o pueden estar asociadas a las condiciones del entorno doméstico (p. ej., las condiciones de higiene). La información sobre el uso en los hogares puede ser de gran utilidad en los programas de verificación de las técnicas, ya que proporciona una medida in situ del potencial de la intervención para mejorar y proteger la calidad del agua. Los indicadores específicos para medir la eficiencia microbiológica sobre el terreno quedan fuera del alcance del presente documento, pero deberán tenerse muy en cuenta, en coordinación con las partes interesadas en el TDA, para proporcionar una evaluación realista de la eficacia de las técnicas.

### A3.2 Repercusiones sobre la salud

Se reconoce la necesidad de tener en cuenta los resultados de estudios epidemiológicos en la evaluación de la eficacia de las intervenciones domésticas de mejora de la calidad del agua. Algunas partes interesadas consideran que esta información es fundamental para poder tomar decisiones acerca de políticas relativas a la selección y la aplicación de técnicas domésticas y otras técnicas de pequeña escala. Aunque se ha establecido una base considerable de información científica acerca de los efectos sobre la salud de las mejoras de la calidad del agua para algunas técnicas de TDA, se necesitan más y mejores estudios. Las técnicas nuevas o no comprobadas, además de someterse a pruebas de laboratorio exhaustivas para comprobar su eficacia en la reducción de agentes patógenos transmitidos por el agua, deberán someterse también a pruebas sobre el terreno para comprobar específicamente su capacidad de reducción de la incidencia de enfermedades infecciosas asociadas al agua de consumo. Es clara la necesidad de realizar estudios controlados adicionales de dispositivos o métodos de tratamiento del agua a pequeña escala. Estos deben ser rigurosos, a largo plazo, aleatorizados y enmascarados.

En situaciones con carga de morbilidad alta por enfermedades diarreicas, puede ser más práctico y barato medir los efectos sobre la salud que obtener datos sobre la presencia de patógenos y la carga de morbilidad en el lugar específico para realizar una ECRM detallada, como la que se sugiere en las *Guías para la calidad del agua potable*. Además, es probable que dicha medición de los efectos proporcione mejores estimaciones de los riesgos de enfermedades de transmisión hídrica que la utilización exclusiva de microorganismos fecales indicadores como sustitutos de los agentes patógenos transmitidos por el agua en los ECRM, ya que los estudios de las relaciones entre las medidas de las concentraciones de indicadores microbianos en el agua y los resultados sanitarios en ocasiones revelan asociaciones de escasa fuerza o no sistemáticas (Moe et al., 1991; Brown, Proum y Sobsey, 2008), o la ausencia de una asociación evidente (Jensen et al., 2004). Lo idóneo sería complementar los datos sobre calidad del agua de los estudios de laboratorio y sobre el terreno en los que se cuantifica la reducción de la carga microbiana lograda mediante el uso de una técnica o método específicos de tratamiento del agua con datos sobre las repercusiones sanitarias. La información epidemiológica recopilada cuidadosamente puede ser de gran interés en la elección de técnicas y en su verificación a nivel local. Deberá darse prioridad a los estudios con un diseño riguroso, en particular a los estudios enmascarados y aleatorizados.

### A3.3 Uso correcto, sistemático y continuado

En varios estudios sobre el tratamiento doméstico del agua se ha medido la aplicación a largo plazo de intervenciones de mejora de la calidad del agua (Luby et al., 2001; Parker et al., 2006; Brown, Sobsey y Proum, 2007; Arnold et al., 2009; Mäusezhal et al., 2009; Jain et al., 2010). La información disponible indica que una vez que terminan los estudios piloto o los programas de ejecución, puede disminuir el uso de los dispositivos o las prácticas de tratamiento del agua y que en dicha disminución influyen muy diversos factores. Las técnicas que suponen una gran carga para el usuario, con costos recurrentes o que implican un cambio de comportamiento sustancial, pueden ser especialmente propensas a una disminución considerable de su uso tras su

introducción. Para saber si una técnica puede ser una opción de TDA viable a largo plazo puede ser necesario realizar estudios prolongados sobre el terreno y obtener datos sobre aspectos económicos y relativos a las preferencias de los consumidores. Las evaluaciones posteriores a la ejecución son un mecanismo de información fundamental para detectar y abordar los problemas que puede plantear el uso sobre el terreno de dispositivos de tratamiento del agua de pequeña escala.

### **A3.4 Almacenamiento seguro**

Idóneamente, los métodos o técnicas de TDA pueden también proteger el agua almacenada en el hogar de la contaminación causada por prácticas de empleo del agua insalubres, una importante y reconocida causa del deterioro de la calidad del agua de consumo. Por esta razón, el almacenamiento seguro es un aspecto importante de algunas técnicas utilizadas para el tratamiento del agua de consumo; o bien los recipientes para el almacenamiento seguro pueden considerarse una técnica independiente para proteger la calidad del agua de consumo cuando la principal fuente de contaminación sea su empleo inadecuado. Los dispositivos que almacenan agua de forma segura impiden que los usuarios realicen actos que puedan introducir microorganismos patógenos en el recipiente de agua, como introducir las manos u otros objetos potencialmente contaminados. Por tanto, los recipientes para el almacenamiento seguro del agua suelen tener una boca estrecha (que obligue a obtener el agua vertiéndola, sin introducir objetos) o un grifo que dispensa el agua almacenada a un vaso para beberla. Las técnicas basadas en la desinfección pueden diseñarse para que se mantenga una concentración residual del desinfectante que proteja el agua de su recontaminación. En los programas de verificación se puede optar por incluir el elemento de almacenamiento seguro en las pruebas de laboratorio de las técnicas de tratamiento.

### **A3.5 Los contaminantes químicos y su toxicidad**

Los mayores riesgos de enfermedades de transmisión hídrica en todo el mundo provienen de los microorganismos patógenos (Prüss et al., 2002), aunque a nivel local o regional los contaminantes químicos pueden suponer riesgos significativos para la salud pública. En estas directrices no se aborda el problema potencial de los contaminantes radiológicos o químicos, antropógenos o de origen natural, que pueden estar presentes en el agua de consumo, como los plaguicidas, el arsénico, los fluoruros, los metales pesados, los nitratos, el exceso de sales, los subproductos de la desinfección o los productos farmacéuticos, entre otros (Thompson et al., 2007). No obstante, en los programas nacionales de verificación de las técnicas de tratamiento se puede optar por desarrollar y aplicar protocolos de ensayo de verificación cuando el TDA se propone como solución a la contaminación química del agua.

Por otro lado, ha suscitado preocupación el vertido de contaminantes químicos durante el uso de técnicas de tratamiento, en particular en el caso de los filtros que utilizan materias primas con concentraciones potencialmente altas de arsénico, las técnicas que utilizan compuestos de plástico fotodegradables, las técnicas que incorporan plata o yodo como desinfectante, y las que utilizan materiales reciclados tras haber sido utilizados por los consumidores. Si se sospecha que se pueden haber producido tales vertidos, se recomienda analizar el agua tratada para garantizar que no conlleva



riesgos adicionales para los usuarios. En las *Guías para la calidad del agua potable* (OMS, 2011) se indican los límites recomendados de contaminantes químicos en el agua potable. En las técnicas en las que se utilicen desinfectantes a base de metales u otras sustancias químicas novedosas potencialmente tóxicas (p. ej., cobre, plata, yodo, bromo), cuando su concentración en el agua supere los valores de referencia de la OMS deberán analizarse las concentraciones de estas sustancias en el agua tratada según métodos normalizados para garantizar que su calidad química está dentro de los límites aceptables.

### **A3.6 Aceptabilidad de los datos de eficiencia publicados o inéditos y de otros datos disponibles**

Hay actualmente muchas técnicas de TDA avaladas por estudios, publicados o inéditos, que demuestran su eficiencia microbiológica o que aportan datos relativos a las repercusiones sobre la salud, la costoeficacia, la sostenibilidad en el uso a largo plazo u otros factores. En algunos casos, la eficiencia aceptable de las técnicas puede haberse comprobado en otros programas de evaluación. En los programas de evaluación o verificación de técnicas de tratamiento será necesario determinar en qué casos y bajo qué condiciones los datos existentes pueden utilizarse para cumplir los requisitos nacionales de eficiencia a efectos de verificación, certificación o etiquetado de productos.

### **A3.7 Otros factores que pueden considerarse importantes en los programas de verificación de técnicas de tratamiento del agua**

Otros factores pueden contribuir a la selección de técnicas o a su aprobación a nivel local o nacional. Cabe citar los siguientes, algunos de los cuales se han propuesto o utilizado en marcos de selección de técnicas de tratamiento o en programas nacionales de evaluación de la eficiencia de las técnicas:

#### **Factores probablemente útiles en los programas de verificación:**

- caudal o volumen diario tratado (BETV-SAM<sup>2</sup>)
- verificación de las afirmaciones del fabricante (BETV-SAM)
- establecimiento de directrices de operación o de eficiencia sobre el terreno específicas para cada técnica (BETV-SAM)
- tiempo transcurrido o volumen de agua tratado antes de la sustitución del medio o de los elementos (BETV-SAM) o vida útil del dispositivo
- capacidad del usuario para evaluar la eficiencia o la caducidad de la técnica
- reducción de la turbidez u otros parámetros indicadores de que el agua ha sido tratada (específica de algunas técnicas)
- presencia de un residuo químico medible como prueba de que se añadió la dosis adecuada y
- protección del agua tratada (específico de algunas técnicas, como la desinfección por cloro)

<sup>2</sup> The Bangladesh Environmental Technology Verification – Support to Arsenic Mitigation Project (BETV-SAM): programa aplicado en Bangladesh de verificación de las técnicas de reducción de la concentración de arsénico (<http://www.betv-sam.org/>).

Otros factores que puede ser útil tener en cuenta:

- posibilidad de errores del operario y riesgos derivados
- dependencia de la técnica del suministro eléctrico o de la presión del agua
- aceptabilidad entre la población objetivo
- necesidad de apoyo en materia de formación o capacitación para la ejecución
- costo, costoeficacia y asequibilidad
- costo y disponibilidad local de productos de recambio, piezas, medios u otros consumibles
- factores medioambientales como la producción de residuos (durante la fabricación o el uso del producto), la eliminación de los residuos, la reciclabilidad de los residuos, la huella de carbono o el uso de materiales locales
- durabilidad en condiciones de uso normales (materiales, partes móviles, consumibles)
- calidad organoléptica del agua tratada (reducción del hierro y mejoras del sabor, color y olor)
- factores específicos de la población, como la vulnerabilidad a patógenos específicos cuya presencia en la zona se conoce
- uso y demanda locales comprobados anteriormente
- para situaciones de emergencia o de socorro: velocidad de respuesta en la puesta en ejecución de la técnica

## APÉNDICE 4: FUNDAMENTO DEL USO DE LA ECRM

Es difícil y, en muchos casos, imposible obtener datos fiables de los países sobre la prevalencia de enfermedades diarreicas y atribuir un porcentaje de la carga de morbilidad a la ingestión de agua de consumo insalubre. Las razones (descritas en otros documentos) son numerosas, pero cabe mencionar, resumidamente, las múltiples vías de transmisión de los patógenos intestinales, la falta de un registro y notificación de las enfermedades adecuados por las autoridades sanitarias, la heterogeneidad de la prevalencia de enfermedades entre diferentes distritos o provincias, y las personas enfermas que no acuden a los centros de salud (OMS, 2009). Además, pocos de los estudios de investigación epidemiológica existentes se han diseñado para estimar la incidencia real de las enfermedades diarreicas agudas (que ocasionan la mayor parte de la carga de morbilidad por ingestión de agua insalubre) en una población (OMS, 2009).

Los estudios epidemiológicos acerca de los efectos sobre la salud de los TDA aportan información fundamental para las evaluaciones de la eficiencia de las técnicas de TDA. No obstante, basar la evaluación de la eficacia de las técnicas de TDA exclusivamente en los estudios existentes es problemático. En los estudios epidemiológicos sobre el TDA normalmente se evalúa la calidad del agua mediante el uso de indicadores fecales. Lamentablemente, tal y como se describe en el apéndice 3, los datos científicos actuales no demuestran la existencia de una relación fija entre los indicadores de la calidad microbiológica del agua y los agentes patógenos. El objetivo funcional de los métodos de TDA es reducir la concentración de patógenos y, por tanto, la determinación de la eliminación de patógenos es una medida fundamental y directa de su eficiencia. En los estudios epidemiológicos no suelen medirse las concentraciones de agentes patógenos antes y después del tratamiento, por lo que es difícil atribuir los efectos sobre la salud a la reducción de los niveles de patógenos y, por consiguiente, también lo es establecer metas de eficiencia basadas en la reducción de las concentraciones de patógenos.

Hay cada vez más consenso en que es prematuro extraer conclusiones de la información epidemiológica actual sobre el TDA, especialmente en el caso de los países en desarrollo. La gran heterogeneidad de los estudios hace difícil extraer conclusiones válidas para múltiples regiones, y el efecto de los beneficios para la salud asociados al TDA puede exagerarse debido a la falta de ensayos enmascarados y a la disminución de las repercusiones sobre la salud (p. ej., el grado de reducción de la incidencia de enfermedades diarreicas) a lo largo del tiempo (Hunter, 2009; Schmidt & Cairncross, 2009). Muchos estudios de intervenciones de TDA han demostrado reducciones significativas (p. ej., del 20–40%) de la incidencia de enfermedades diarreicas, a pesar de que las distintas capacidades de las técnicas de TDA para reducir las concentraciones de patógenos comunes transmitidos por el agua y de que su práctica o aplicación es desigual (p. ej., no se detecta cloro residual o se observa que los miembros de ciertos hogares beben regularmente agua no tratada). Por tanto, sería imprudente realizar estimaciones cuantitativas de la repercusión de las técnicas de TDA y concluir que su eficiencia es aceptable basándose exclusivamente en los estudios epidemiológicos. Además, los estudios epidemiológicos a más largo plazo sobre el TDA no han demostrado de forma convincente la disminución de la incidencia de enfermedades diarreicas, lo que indica que en los resultados influyen múltiples factores además de si una técnica «funciona» o no. Cabe citar la aceptabilidad, el uso sistemático y la existencia de diversas fuentes y vías de contaminación fecal–oral (Arnold et al., 2009; Mäusezhal et al., 2009; Boissone et al., 2010).

La ECRM, que utiliza información sobre la relación entre dosis y respuesta para patógenos específicos, constituye un método directo para relacionar las reducciones de las concentraciones de patógenos de transmisión hídrica, como resultado del tratamiento del agua, con las repercusiones sanitarias. Este método de evaluación de la inocuidad microbiológica del agua de consumo cada vez se utiliza más. El marco se está aplicando en el desarrollo de normas sobre el agua de consumo basadas en la evaluación de riesgos en Australia, la Unión Europea (MICRORISK) y los Países Bajos, entre otros lugares.

La ECRM no está exenta de limitaciones y los modelos matemáticos sobre los que se fundamenta se basan en diversos supuestos. En primer lugar, los valores de la relación dosis–respuesta se obtienen de estudios realizados con voluntarios cuyo estado inmunitario y de salud general puede ser diferente que el de las poblaciones a las que se aplica el método. En segundo lugar, los supuestos sobre la calidad del agua de partida pueden cuestionarse. En tercer lugar, la ECRM es, en esencia, un modelo matemático y está sujeto al alto nivel de incertidumbre inherente a los modelos predictivos.

La ECRM es complementaria a los enfoques epidemiológicos. Si existen datos epidemiológicos robustos que indican que un dispositivo de TDA aporta beneficios para la salud y ese dispositivo cumple la meta de protección «intermedia» para dos tipos de patógenos, el dispositivo se puede recomendar. A medida que vaya aumentando la cantidad de datos epidemiológicos robustos sobre técnicas de TDA, especialmente los obtenidos durante períodos de intervención más largos en ensayos aleatorizados, controlados y enmascarados, estos datos tendrán mayor peso en la evaluación de la eficacia y la efectividad de las técnicas de TDA. La validez de este planteamiento gana peso si se tiene en cuenta que las recomendaciones acerca de la eficiencia de los TDA no son preceptivas, sino que están pensadas para proporcionar un marco a partir del cual se puedan desarrollar directrices y normas nacionales teniendo en cuenta los datos y las condiciones existentes en el país.

Los requisitos de eficiencia sanitaria de los TDA conciernen a tres tipos de agentes patógenos: los virus, las bacterias y los protozoos. Los datos epidemiológicos y las tendencias demográficas y ambientales indican que la presencia de distintos tipos de patógenos transmitidos por el agua es diversa y, en muchos casos, difícil de predecir o de medir de manera fiable. Entre los patógenos relacionados con el agua que han aparecido o reaparecido recientemente en todo el mundo hay bacterias (p. ej., *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Legionella* spp. y cepas patógenas de *Escherichia coli*), protozoos (p. ej., *Cryptosporidium parvum*, *C. hominis*, *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica*), helmintos (p. ej., *Ascaris lumbricoides*), virus (norovirus, rotavirus, virus de la hepatitis A y E y adenovirus) y hongos (PNUMA/SIMUVIMA, 2008). Las variaciones en el tiempo y el espacio de las concentraciones de patógenos indican que es necesario reducir las concentraciones de las tres clases principales que, según los datos científicos, son causa evidente de enfermedades de transmisión hídrica: las bacterias, los parásitos y los virus. Diversos estudios sobre el terreno ilustran la importancia de la protección frente a estos tres tipos de patógenos, sobre todo teniendo en cuenta la ausencia de datos puntuales de tipo estacional y local. Por ejemplo, en el estudio multicéntrico sobre enfermedades intestinales que se está realizando en siete países en desarrollo de diferentes regiones del mundo se han aislado los tres tipos de patógenos en niños menores de cinco años (Levin, 2009). En otro estudio reciente sobre la diarrea infantil en Yaoundé (Camerún) se determinó que el 59,2% de los casos de enfermedades diarreicas infecciosas estaban causados

por parásitos patógenos, el 36,9% por bacterias patógenas y el 3,8% por virus patógenos (Yongsi, 2008). Sin embargo, en un estudio etiológico de las enfermedades diarreicas en la República Unida de Tanzania se observó que en la estación seca predominaban las bacterias patógenas (el 37,4%), seguidas de los virus patógenos (el 23,6%), como causas de enfermedad en los niños, mientras que en la estación de lluvias aumentaba la prevalencia de los protozoos y disminuía la importancia de los virus (Vargas et al., 2004). Otros estudios, realizados en países en desarrollo, señalan la liberación asintomática en las heces de protozoos intestinales patógenos, lo cual complica y a veces pone en peligro el enfoque puramente epidemiológico basado en la evaluación exclusivamente de casos de enfermedades diarreicas (Checkley et al., 1997; Esteban et al., 1998; Ramos et al., 2005; Wongstitwilairoong et al., 2007). La importancia relativa de cada tipo de patógeno puede variar de unos lugares a otros. Sin embargo, en ausencia de pruebas científicas sólidas que invaliden el uso de los tres tipos de patógenos, y dada la naturaleza mundial del presente documento, el enfoque más prudente es basar las metas de eficiencia en la eliminación de bacterias, virus y protozoos.

## *Evaluación de métodos para el tratamiento doméstico del agua: metas sanitarias y especificaciones de eficiencia microbiológica*

Cada vez se fomenta más el tratamiento doméstico del agua (TDA) como sistema provisional para mejorar la calidad del agua que se puede aplicar rápidamente y con un costo bajo. Es un componente preventivo clave de la estrategia integral OMS/UNICEF de control de la diarrea.

El presente documento establece, por vez primera, criterios globales que permiten a los usuarios evaluar si un método de TDA reduce la carga de microorganismos patógenos del agua lo suficiente para proteger la salud. Por medio de un marco basado en los riesgos y haciendo hincapié en la filosofía de la mejora gradual, se pretende proporcionar a los ejecutores y planificadores de políticas un enfoque científico y pragmático para seleccionar métodos adecuados adaptados a las condiciones de cada lugar.

En el documento se formulan diversas recomendaciones técnicas, entre las que cabe destacar las siguientes:

- una descripción pormenorizada del modo de evaluar la eficiencia microbiológica de los TDA;
- el establecimiento de metas sanitarias de calidad del agua, con varios grados de protección, de provisional a alta, así como el establecimiento de metas predeterminadas para uso en situaciones con información insuficiente;
- la descripción de los protocolos y principios rectores de los ensayos en laboratorio de técnicas específicas;
- consideraciones relativas al desarrollo de programas nacionales de evaluación de las técnicas.

El presente documento está concebido especialmente para entornos con escasos recursos donde la capacidad de los laboratorios de calidad del agua puede ser limitada y la salud pública podría mejorarse sustancialmente mediante pequeñas mejoras graduales de la eficiencia de los TDA.