

## Evaluación de la calidad de aguas superficiales en espacios recreacionales, una propuesta integradora de marcadores químicos y microbiológicos

### Evaluation of surface water quality in recreational areas, an integrative proposal of chemical and microbiological markers

### Avaliação da qualidade das águas superficiais em áreas recreativas, uma proposta integradora de marcadores químicos e microbiológicos

Jorge Victorio Pavan<sup>1,2</sup>, Gisella Masachessi<sup>1</sup>, Verónica Emilse Prez<sup>1</sup>, Guadalupe Di Cola<sup>1</sup>, Viviana Elizabeth Re<sup>1</sup>,  
Silvia Viviana Nates<sup>1</sup>

Los líquidos y excretas provenientes de la actividad humana contaminan los recursos acuíferos. El origen de esta contaminación es difícil de establecer cuando también contribuyen las excretas de otros animales. Se presenta una propuesta de análisis de sustancias que den cuenta de la contaminación microbiana de origen humano, en particular determinados virus, así como también de componentes químicos; cuyos aportes hacen que dichas aguas no puedan utilizarse con fines recreativos.

#### Conceptos clave:

**A) Qué se sabe sobre el tema:** El vertido de líquidos y excretas provenientes de la actividad humana contaminan los recursos acuíferos, lo que adquiere particular relieve cuando las aguas son utilizadas con fines recreativos. Esta contaminación es monitoreada por parámetros bacteriológicos y químicos. Los parámetros bacteriológicos utilizados por las normativas corresponden a la cuantificación de bacterias coliformes, las que no caracterizan necesariamente el aporte de origen humano, pues pueden originarse a partir del vertido de las excretas de otros animales de sangre caliente.

**B) Qué aporta este trabajo:** A los fines de la evaluación microbiológica de aguas superficiales se propone, además del monitoreo de las variables bacteriológicas, el estudio de virus genómico e infeccioso de origen humano. Las variables virales estudiadas como la detección del genoma de adenovirus humano y la infectividad de enterovirus humanos, es una propuesta que caracteriza el origen antropogénico de la contaminación. Finalmente se propone un algoritmo que reúne las variables químicas y microbiológicas, que sería de utilidad para el estudio del origen antropogénico de la contaminación fecal.

#### Resumen:

El cambio climático afecta a las interacciones entre los sistemas hídricos, los ecosistemas y la atmósfera. También aumenta el riesgo de la presencia de microorganismos que afectan a los sistemas que utilizan estos recursos. El impacto de la población sobre los recursos hídricos se ha hecho más evidente en los últimos años, destacando la estrecha relación entre los niveles de componentes inorgánicos así como la contaminación microbiológica del agua y la salud de la comunidad. La caracterización de las variables que dan cuenta de la contaminación del agua es un proceso complejo. En este trabajo se propone la cuantificación de nitritos y fósforo como marcadores químicos y la detección de coliformes fecales, adenovirus humanos genómicos y/o picobirnavirus y enterovirus humanos infecciosos como marcadores microbiológicos para la prevención de infecciones de origen hídrico en individuos expuestos a matrices acuosas superficiales por actividades recreativas.

**Palabras claves:** aguas superficiales; monitoreo del agua; microbiología del agua; contaminación química del agua

#### Abstract:

Climate change affects the interactions between water systems, ecosystems, and the atmosphere. It also increases the risk of the presence of microorganisms which affect the systems that use these resources. The impact of the population on the water resources has become more evident in recent years, highlighting the close relationship between the levels of inorganic components and microbiological contamination of water and community health. The characterization of the variables that account for water pollution is a complex process. In this paper, it is proposed to quantify nitrites and phosphorous as chemical markers and fecal coliforms, genomic human adenovirus and/or picobirnavirus and infectious human enterovirus detection as microbiological markers for the prevention of water-borne infections in individuals exposed to superficial aqueous matrices by recreational activities.

**Key words:** surface waters; water monitoring; water microbiology; water pollution, chemical water pollution

#### Resumo

As alterações climáticas afetam as interações entre os sistemas hídricos, os ecossistemas e a atmosfera. Também aumenta o risco da presença de microrganismos que afetam os sistemas que utilizam esses recursos. O impacto da população nos recursos hídricos tem se tornado mais evidente nos últimos anos, salientando a estreita relação entre os níveis de constituintes inorgânicos, bem como a poluição microbiológica da água e a saúde da comunidade. A caracterização das variáveis responsáveis pela poluição da água é um processo complexo. Neste trabalho propomos a quantificação de nitritos e fósforo como marcadores químicos e a detecção de coliformes fecais, adenovírus humanos genômicos e/ou picobirnavirus humanos e enterovirus humanos infecciosos como marcadores microbiológicos para a prevenção de infecções transmitidas pela água em indivíduos expostos a matrizes aquosas de superfície devido a atividades recreativas..

**Palavras chaves:** águas superficiais; monitoramento da água; microbiologia da água; poluição química da água

1Instituto de Virología "Dr JM Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

2 E-mail de contacto: [jpavan@mater.fcmed.unc.edu.ar](mailto:jpavan@mater.fcmed.unc.edu.ar)

Recibido: 2021-06-14 Aceptado: 2021-11-21

DOI: <http://dx.doi.org/10.31053/1853.0605.v79.n2.33403>



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

©Universidad Nacional de Córdoba

El agua es un recurso natural fundamental para sostener la vida en el planeta. De la disponibilidad y calidad de agua dulce que se recupera a partir de aguas superficiales y subterráneas, depende la salud de la población y la posibilidad de desarrollo económico, social y cultural de un país. Las aguas superficiales se encuentran en lagos, ríos, embalses, canales, entre otros, y satisfacen las necesidades de provisión de agua potable para consumo, producción de energía, irrigación con fines agropecuarios, recarga de acuíferos subterráneos, provisión para el hábitat de animales y vegetales, así como usos recreativos.

El agua es un recurso frágil que puede modificarse ante la presencia de cambios climáticos o la actividad humana (1). El cambio climático afecta la cantidad de agua por aumento o disminución de las precipitaciones, acontecimientos climáticos extremos, cambios estacionales de las épocas de precipitaciones y variaciones térmicas (2). Asimismo, aumenta el riesgo de la presencia de microorganismos y algas tóxicas; todo lo cual incide en los sistemas que utilizan el agua como recurso. Por otra parte, la creciente urbanización impermeabiliza los suelos (3), dando lugar a escorrentías así como alteraciones en los cursos de agua y sobrecarga de los sistemas cloacales. Estos conceptos se remontan a muchos siglos atrás, cuando Hipócrates (siglo V a AC) refería "... ahora quiero referirme a las aguas, aquellas que traen la enfermedad o la salud muy buena, a los males o los bienes que es posible se originen en el agua..." Los cursos de agua eran los sitios donde se vertían las aguas servidas de las ciudades. La máxima cloaca de Roma (siglo VI AC) era un sistema de alcantarillado que vertía tanto las aguas "negras" como las de precipitaciones al río Tíber, utilizando la pendiente natural. Al poco tiempo se advirtió que en las crecientes del Tíber estas aguas ingresaban a Roma por el alcantarillado y se constituían en un riesgo para la salud de la población. Tiempo después se observó la contaminación del río aguas abajo (4). Pasaron siglos y John Snow en el año 1854, durante el mayor brote de cólera en Londres, demostró que estaba asociado al consumo de aguas contaminadas con desechos cloacales en el pozo acuífero localizado en la calle Broad Street (5). Estos antecedentes históricos dan cuenta de situaciones que originaron los primeros conceptos de la importancia de la calidad microbiológica del agua, así como la contaminación de cursos de agua por la actividad del hombre.

La contaminación de origen antropogénico de aguas superficiales se relaciona tanto con el vertido de afluentes domésticos, industriales y agropecuarios como con el deterioro o sobrecarga en las plantas depuradoras y sus implicancias río abajo (6). Cuando las aguas superficiales resultan contaminadas, algunos microorganismos (parásitos, bacterias y virus) así como ciertos componentes químicos en las aguas como la presencia de elevadas concentraciones de nutrientes (fósforo, nitritos y nitratos) producen la eutrofización de las matrices acuosas de las que llevaría al desarrollo de floraciones algales y la síntesis de cianotoxinas. De este modo, constituyen potenciales fuentes de enfermedades para la población expuesta (9).

Actualmente, para el control y monitoreo microbiológico de aguas superficiales se utiliza la cuantificación de indicadores bacterianos (7). El nivel guía aceptable de indicadores bacterianos para calidad microbiológica de aguas está regido por legislaciones oficiales (8), que refieren a la concentración de bacterias (coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y/o enterococos). Sin embargo, su presencia a menudo no se correlaciona necesariamente con los contaminantes virales.

Se estima que se producen anualmente en el mundo 1.700 millones de casos de diarrea infantil, constituyéndose la enfermedad diarreica en la segunda causa de muerte de niños menores de cinco años (1,0-1,5 millones de muertes anuales) (10). Del total de casos, aproximadamente el 88,8% son atribuibles al consumo de agua y alimentos microbiológicamente contaminados, a saneamiento inadecuado y/o insuficiente higiene (11). Entre los microorganismos patógenos que tienen un importante impacto en la salud humana, se destacan los virus, en particular los rotavirus que representan una fracción etiológica que se estima en un 40% (12). En este sentido, se hace necesario encontrar parámetros de contaminación en cursos de agua y los virus, por su particular persistencia en matrices acuosas y su alto impacto en salud humana, se constituyen en una propuesta de monitoreo de contaminación antropogénica selectiva.

Diferentes grupos de virus, que se transmiten principalmente por vía fecal oral, y en menor grado por contacto del agua contaminada con las mucosas o a través de aerosoles que se generan en los acuíferos, han sido propuestos como indicadores de contaminación microbiológica de aguas ambientales (13,14). Entre los más citados por diferentes autores se encuentran rotavirus, enterovirus humanos, astrovirus, adenovirus humano y poliomavirus humano, con diferentes prevalencias según el área geográfica y las estaciones del año (15,16).

La detección viral se puede realizar por técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (PCR) y su cuantificación por técnicas de PCR en tiempo real. Los resultados derivados de estas metodologías son de gran utilidad, aún cuando no caracterizan la infectividad del virus o su viabilidad. La detección de virus infectivo en los cursos de agua da cuenta de la presencia de un agente capaz de reproducirse en su hospedero (17), así como de una matriz acuosa en condiciones para mantener la viabilidad viral.

Los resultados que se presentan son producto del desarrollo de proyectos basados en la gestión integrada de investigadores.

#### **Caracterización del agua utilizada con fines recreacionales: en la búsqueda de las variables más representativas.**

El dique San Roque está situado en la Ciudad de Carlos Paz (CCP) un lugar turístico importante en la Provincia de Córdoba, Argentina. La CCP tiene una planta de tratamiento de aguas cloacales que colecta las excretas del 30% de la población y, posterior al tratamiento, las aguas son vertidas al dique. De este modo el mayor porcentaje de la población tiene tanques sépticos o sumideros ubicados cerca de los afluentes y del dique. La CCP es un importante sitio turístico que en la época estival, que coincide con mayores precipitaciones y la población se multiplica, se constituye en un riesgo antropogénico de contaminación de las aguas del dique y sus playas.

Es así que nos propusimos estudiar las aguas de las playas del dique San Roque, pues son puntos de contacto directo con aguas utilizadas con fines recreativos (natación, pesca, náutica, entre otras actividades). El trabajo se realizó con muestras de aguas recolectadas mensualmente durante los años 2013 a 2015, en tres playas, que fueron seleccionadas en base a que presentan diferencias geomórficas del dique y diferentes patrones de urbanización. Dos puntos de muestreo se seleccionaron en la costa oeste del dique. Una de estas playas, que se encuentra integrada al área urbana de la CCP, fue considerada zona urbana. Además recibe el agua de un río tributario, el río San Antonio, después que ha atravesado otras zonas turísticas ubicadas río arriba. El segundo sitio de muestreo, que está ubicado a 4000m de costa de las playas de CCP, fue considerado zona intermedia de urbanización. Finalmente, el tercer punto, ubicado en la otra margen del dique, en la costa este, fue considerado zona no urbana.

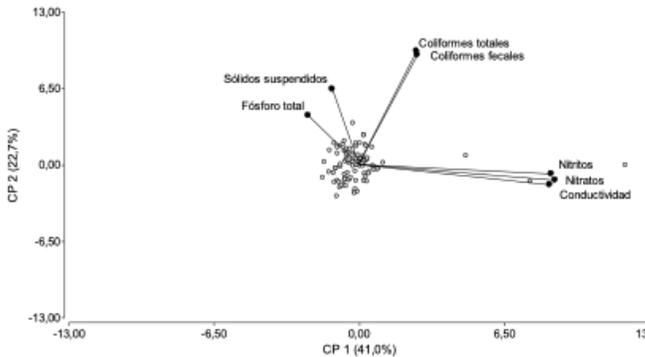
En cada punto de muestreo se estudiaron como variables fisicoquímicas: fósforo reactivo soluble (ug/L), fósforo total(ug/L), pH, sólidos suspendidos (ug/L), oxígeno disuelto (mg/L), amonio (ug/L), nitritos (ug/L), nitratos (mg/L), conductividad (uS/cm) y temperatura del agua (°C). En las variables meteorológicas se consideraron las estaciones húmedas y secas, según datos provistos por el Sistema Meteorológico Nacional. En el análisis bacteriológico se cuantificaron coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF), considerando que Argentina adoptó los criterios de valores de carga bacteriana límites establecidos por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos para aguas recreacionales ( 5000 CFU/100ml para CT y 200 CFU/100 ml para CF) (8).

Para la caracterización de virus se estudió la presencia de enterovirus infeccioso humano (iHEV). Con tal propósito, se realizó una concentración para la detección de virus a partir de las muestras de aguas (centrifugación, elución y precipitación con polietilenglicol 6000) y fueron inoculadas en cultivos celulares (HEp-2). El efecto citopático fue confirmado por inmunofluorescencia directa, utilizando un panel de anticuerpos monoclonales (**Figura 2**).

El límite de detección de iHEV por cultivo e inmunofluorescencia directa fue previamente determinado en 500 partículas virales. Según Schiff la detección entre 10 y 100 partículas infectivas son suficientes para iniciar una infección en el hospedero expuesto (18).

La detección de iHEV fue evaluada cualitativamente como positiva o negativa.

Con las variables más correlacionadas y con valores mayores a  $r=0,5$  se realizaron técnicas de análisis multivariante a fin de describir y analizar las observaciones multidimensionales entre las variables (19). Se utilizó el análisis de los componentes principales (ACP) a fin de reducir el número de variables originales para un análisis posterior. Fue evaluada la adecuación del análisis (test de esfericidad de Barlett's y el test de Kaiser-Meyer-Olkin). Finalmente, se utilizó el análisis multivariado de la varianza (MANOVA) como estadístico inferencial entre las variables consideradas en el ACP y los sitios de muestreo.

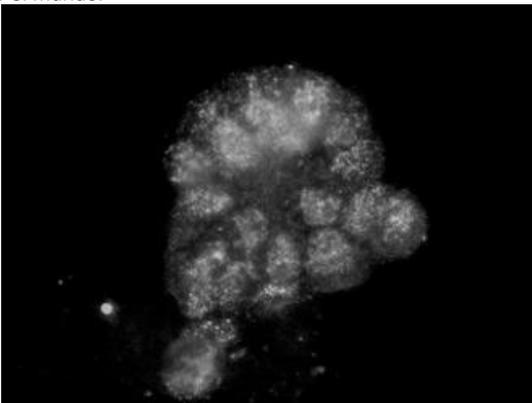


**Figura 1:** El gráfico obtenido del análisis de componentes principales mostró un diagrama de dispersión de las observaciones (puntos) y superponiendo los vectores que representan las variables convenientemente escaladas en el mismo espacio.

#### Integrando resultados de variables químicas y microbiológicas

Las cargas bacterianas de coliformes fecales y totales fueron mayores en los meses húmedos que en los secos (Test  $t$   $p=0,028$  y  $p<0,001$  respectivamente). La mayor concentración de coliformes fecales correspondió a los meses húmedos y, en el sitio de muestreo en el área urbana de la CCP, tuvo el 77% de los valores por encima del límite permitido.

El análisis de los componentes principales (ACP), realizado con la matriz de correlación, redujo el número de variables originales para su análisis y explicó el 63,7% de su variabilidad. En la **Figura 1** se observa el ACP, en donde las variables se muestran como vectores, la cercanía de los mismos indica una importante correlación. Esta correlación permitió luego una selección de variables, como indicadores más representativos de la contaminación en el cuerpo de agua (20), y fueron seleccionadas algunas de acuerdo a su impacto en la sustentabilidad del ecosistema hídrico y la salud humana. Fue así que, de sólidos suspendidos y fósforo total, se seleccionó el fósforo total. El criterio fue que en aguas superficiales, el factor limitante para el desarrollo de floraciones algales y desarrollo de cianobacterias es el fósforo. Por lo tanto, la cantidad de fósforo total en el agua es una variable importante para considerar en relación con la carga económica de las plantas de tratamiento de agua para eliminar los problemas de sabor y olor, así como de la posible producción de toxinas por floraciones algales, motivo de preocupación en todo el mundo.



**Figura 2:** Inmunofluorescencia para la identificación de iHEV en cultivo de células VERO. Se observa fluorescencia localizada en

citoplasmas celulares, indicando la presencia de iHEV en la muestra de agua amplificada en el cultivo celular.

De los vectores correspondientes a las variables nitritos, nitratos y conductividad, cuyos valores se correlacionaron, se seleccionó la variable nitritos, con el criterio que los nitritos son indicadores de contaminación fecal reciente y no varían con las precipitaciones (21). Valores de nitritos mayores a 50  $\mu\text{g/L}$  pueden causar problemas de toxicidad en la población expuesta (metahemoglobinemia), en particular en niños, y representa un impedimento para el uso de la matriz acuosa (22).

Finalmente, del vector que reunió las variables bacteriológicas fue seleccionada la variable coliformes fecales.

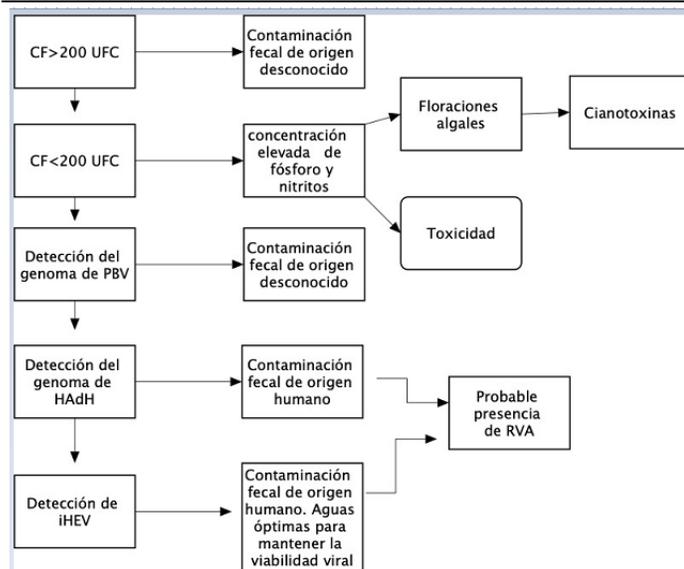
El MANOVA, señaló diferencias entre los puntos de monitoreo (Test de Pillai  $p=0,0012$ ), y destacó el ubicado en la zona urbana de Carlos Paz como el sitio con los mayores valores de las variables seleccionadas para el ACP (Test Hotelling's  $p<0,05$ ).

Las variables bacteriológicas aumentaron en los meses húmedos como resultado de las escorrentías sobre sitios impermeables, el uso intensivo de la tierra, la destrucción de la vegetación (incendios, deforestación, entre otros) y las actividades agropecuarias.

El iHEV no se correlacionó con coliformes fecales o las otras variables físicoquímicas, motivo por el cual no fue seleccionado en el análisis multivariado. Lo que es más, el iHEV fue detectado en un 71% de las muestras con valores de coliformes fecales menores al límite permitido, así como en el 61% de aquellas con valores mayores a dicho límite (la diferencia entre ambos no fue significativa;  $p=0,69$ ; Pearson's  $\chi^2$ Test). Además, fue una variable independiente en las playas estudiadas ( $p = 0,944$ ; Pearson's  $\chi^2$ ); lo que demostró ser un indicador robusto de contaminación fecal de origen humano con capacidad infectiva (23).

Resulta difícil el estudio de la gran diversidad de grupos virales propuestos como indicadores de contaminación en aguas superficiales. Los virus seleccionados como indicadores de polución en aguas deben tener las siguientes características: (i) prevalentes en la población y/o establecer modelos de infección persistente en el humano, características que permitirán la detección de virus durante todo el año; (ii) excretados por humanos, lo que también permitiría caracterizar el origen antropogénico de la contaminación en las superficies de los acuíferos; (iii) capacidad de replicarse en cultivos celulares a fin de evaluar la infectividad y (iv) reflejar la presencia de otros virus patogénicos con niveles a los cuales la enfermedad es un riesgo importante. Entre éstos, debieran reflejar la contaminación de las aguas por rotavirus humanos del grupo A (RVA), principales agentes etiológicos de diarreas (24).

Entre los grupos de virus que reúnen estas propiedades pueden mencionarse los: adenovirus humanos (HAdV), picobirnavirus (PBV) e iHEV. De este modo nos propusimos detectar, en las muestras de las playas del dique San Roque, aquellos que serían indicadores de contaminación fecal y evaluar la fortaleza de la detección de iHEV frente a otros marcadores genómicos virales de contaminación fecal. Seleccionamos CF como parámetro bacteriológico, fósforo total y nitritos como parámetros químicos y como virales a HAdV, PBV, RVA que fueron detectados por PCR e iHEV, caracterizado este último por su infectividad en cultivos celulares e inmunofluorescencia. Los marcadores virales fueron detectados en un 70,4% iHEV, 63% PBV y 64,2% HAdV. En el análisis estadístico no hubo diferencias de frecuencia de detección entre los grupos de virus seleccionados (Pearson's  $\chi^2$  test  $p = 0,450$ ). Los iHEV, PBV y HAdV fueron detectados en proporciones entre el 50 y el 76 % en todas las muestras, cuando los valores de CF se encontraban dentro de los valores límites aceptados. La presencia en las aguas de RVA, como un patógeno entérico de importancia en salud humana, fue reflejada por los grupos virales seleccionados. Considerando todos los resultados, se puede referir que las detecciones de iHEV acoplada a la genómica de PBV y HAdV pueden caracterizar la calidad microbiológica de las aguas y complementar el parámetro legislado de cuantificación de CF (25). De este modo proponemos un algoritmo para caracterización microbiológica y química en aguas (**Figura 3**).



**Figura 3:** Se observa el algoritmo propuesto para la detección de agentes microbiológicos y químicos en aguas superficiales de uso recreacional.

### El futuro que espera

El cambio climático, el aumento de población y de los espacios impermeables urbanos, la agricultura, el pastoreo intensivo, la industrialización y la producción intensiva de bienes de consumo, afectan las interacciones entre los sistemas acuáticos continentales, los ecosistemas y la atmósfera. Sumado a ello, largos períodos de sequía y el aumento de la ocurrencia de incendios disminuye la cubierta de vegetación. En las épocas de precipitaciones se acentúan las escorrentías e incrementan bruscamente los caudales de los ríos tributarios del dique. Esto implica un mayor aporte de fósforo, nitrógeno y de microorganismos coliformes a la matriz acuosa, que contribuyen a la contaminación y eutrofización del dique (26).

Además, el impacto de las actividades antropogénicas sobre los sistemas ecológicos del planeta se ha incrementado en los últimos años, poniendo de manifiesto la estrecha relación entre los niveles de contaminación química y microbiológica y la salud de la población y del ambiente (27). Esto desafía a proponer estrategias para un uso sustentable de los recursos naturales, entre los que se destacan las matrices acuosas para uso recreacionales (28). En este contexto, es importante abordar un nuevo encuadre para una evaluación integrada de calidad de aguas superficiales para uso recreacional. En Córdoba, Argentina, en base a los resultados obtenidos, se propone la evaluación de niveles de nitritos y fósforo así como la carga bacteriana de CF, acoplada a la detección genómica de HAdV y/o PBV y enterovirus viable, que señalan el origen antropogénico de la contaminación fecal así como una matriz capaz de mantener la viabilidad viral. Además reflejaría la presencia de otros virus entéricos como RVA.

### Limitaciones de responsabilidad

La responsabilidad del trabajo es sólo de los autores

### Conflictos de interés

Ninguno

### Fuentes de apoyo

El trabajo fue financiado por Agencia Nacional para la Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2016-2165 y PICT 2014-3221) y la Universidad Nacional de Córdoba (Secretaría de Ciencia y Técnica 411/18).

### Originalidad del trabajo

Este artículo es original y no ha sido enviado para su publicación a otro medio de difusión científica en forma completa ni parcialmente.

### Cesión de derechos:

Quienes participaron en la elaboración de este artículo, ceden los derechos de autor a la Universidad Nacional de Córdoba para publicar en la Revista de la Facultad de Ciencias Médicas y realizar las traducciones necesarias al idioma inglés.

### Participación de los autores

Quienes participaron en la concepción del diseño, recolección de la información y elaboración del manuscrito, son públicamente responsables de su contenido y aprobando su versión final.

## BIBLIOGRAFÍA

1. WHO | Safer water, better health. (2008). WHO; World Health Organization. [http://www.who.int/quantifying\\_ehimpacts/publications/saferwater/en/](http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/publications/saferwater/en/). Accessed May 21, 2021.
2. Tian H, Yu G-A, Tong L, et al. Water Quality of the Mun River in Thailand-Spatiotemporal Variations and Potential Causes. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(20). doi:10.3390/ijerph16203906
3. Federigi I, Verani M, Carducci A. Sources of bathing water pollution in northern Tuscany (Italy): Effects of meteorological variables. *Mar Pollut Bull*. 2017;114(2):843-848. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.11.017
4. WHO Learning from history: Sanitation for prosperity. (2020). <https://www.who.int/news/item/19-11-2020-learning-from-history-sanitation-for-prosperity>. Accessed May 21, 2021.
5. Snow J. Cholera and the Water Supply in the South Districts of London in 1854. *J Public Health Sanit Rev*. 1856;2(7):239-257. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.11.234
6. Wang P, Zhao J, Xiao H, Yang W, Yu X. Bacterial community composition shaped by water chemistry and geographic distance in an anthropogenically disturbed river. *Sci Total Environ*. 2019;655:61-69. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.11.234
7. Partyka ML, Bond RF, Chase JA, Atwill ER. Monitoring bacterial indicators of water quality in a tidally influenced delta: A Sisyphian pursuit. *Sci Total Environ*. 2017;578:346-356. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.10.179
8. US EPA, O. (2012) *Recreational Water Quality Criteria Documents [Reports and Assessments]*. US EPA. <https://www.epa.gov/wqc/2012-recreational-water-quality-criteria-documents>. Accessed May 21, 2021.
9. Goh SG, Saeidi N, Gu X, et al. Occurrence of microbial indicators, pathogenic bacteria and viruses in tropical surface waters subject to contrasting land use. *Water Res*. 2019;150:200-215. doi:10.1016/j.watres.2018.11.058
10. WHO Enfermedades diarreicas. (2021). doi:10.1016/j.scitotenv.2018.11.234
11. WHO. Agua (2019) <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>. Accessed May 21, 2021.
12. Hollowell BD, Parashar UD, Curns A, DeGroot NP, Tate JE. Trends in the Laboratory Detection of Rotavirus Before and After Implementation of Routine Rotavirus Vaccination - United States, 2000-2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2019;68(24):539-543. doi:10.15585/mmwr.mm6824a2
13. Prez VE, Gil PI, Temprana CF, et al. Quantification of human infection risk caused by rotavirus in surface waters from Córdoba, Argentina. *Science of The Total Environment*. 2015;538:220-229. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.08.041
14. Wong K, Fong T-T, Bibby K, Molina M. Application of enteric viruses for fecal pollution source tracking in environmental waters. *Environ Int*. 2012;45:151-164. doi:10.1016/j.envint.2012.02.009
15. Opere WM, John M, Ombori O. Occurrence of Enteric Viruses in Surface Water and the Relationship with Changes in Season and Physical Water Quality Dynamics. *Adv Virol*. 2020;2020:9062041. doi:10.1155/2020/9062041
16. Masachessi G, Pisano MB, Prez VE, et al. Enteric Viruses in Surface Waters from Argentina: Molecular and Viable-Virus Detection. *Appl Environ Microbiol*. 2018;84(5). doi:10.1128/AEM.02327-17
17. Schiff GM, Stefanović GM, Young EC, Sander DS, Pennekamp JK, Ward RL. Studies of echovirus-12 in volunteers: determination of minimal infectious dose and the effect of previous infection on infectious dose. *J Infect Dis*. 1984;150(6):858-866. doi:10.1093/infdis/150.6.858
18. Jolliffe IT (2002) *Principal Component Analysis, Second Edition*. Ed. Springer. New York. USA.
19. Douglas AR, Murgulet D, Montagna PA. Hydroclimatic variability drives submarine groundwater discharge and nutrient fluxes in an anthropogenically disturbed, semi-arid estuary. *Sci Total Environ*. 2021;755(Pt 2):142574. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142574

20. Camargo JA, Alonso A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environ Int.* 2006;32(6):831-849. doi:10.1016/j.envint.2006.05.002
21. Buratti FM, Manganelli M, Vichi S, et al. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Arch Toxicol.* 2017;91(3):1049-1130. doi:10.1007/s00204-016-1913-6
22. Aguirre BP, Masachessi G, Ferreyra LJ, et al. Searching variables to assess recreational water quality: the presence of infectious human enterovirus and its correlation with the main variables of water pollution by multivariate statistical approach in Córdoba, Argentina. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(7):6586-6601. doi:10.1007/s11356-019-04124-2
23. Masachessi G, Prez VE, Michelena JF, et al. Proposal of a pathway for enteric virus groups detection as indicators of faecal contamination to enhance the evaluation of microbiological quality in freshwater in Argentina. *Sci Total Environ.* 2021;760:143400. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143400
24. Prez VE, Gil PI, Temprana CF, et al. Quantification of human infection risk caused by rotavirus in surface waters from Córdoba, Argentina. *Science of The Total Environment.* 2015;538:220-229. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.08.041
25. Guarch-Ribot A, Butturini A. Hydrological conditions regulate dissolved organic matter quality in an intermittent headwater stream. From drought to storm analysis. *Sci Total Environ.* 2016;571:1358-1369. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.07.060
26. Bojarczuk A, Jelonekiewicz Ł, Lenart-Boroń A. The effect of anthropogenic and natural factors on the prevalence of physicochemical parameters of water and bacterial water quality indicators along the river Białka, southern Poland. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(10):10102-10114. doi:10.1007/s11356-018-1212-2
27. Varis O, Taka M, Kummu M. The Planet's Stressed River Basins: Too Much Pressure or Too Little Adaptive Capacity? *Earths Future.* 2019;7(10):1118-1135. doi:10.1029/2019EF001239
28. Inoue K, Asami T, Shibata T, Furumai H, Katayama H. Spatial and temporal profiles of enteric viruses in the coastal waters of Tokyo Bay during and after a series of rainfall events. *Sci Total Environ.* 2020;727:138502. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138502