



**SECRETARIA DE SALUD**

**COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS  
SANITARIOS**

**LINEAMIENTOS PARA DETERMINAR LA  
CALIDAD DE AGUA DE MAR PARA USO  
RECREATIVO CON CONTACTO PRIMARIO**

**MARZO 2004**

## Índice

1.- INTRODUCCIÓN .....	3
2.- OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....	3
3.- ATRIBUCIONES Y COMPETENCIAS.....	3
4.- CRITERIOS DE CALIDAD DE AGUA DE MAR PARA USO RECREATIVO.....	4
5.- CRITERIOS PARA LA TOMA DE MUESTRA.....	4
6.- FRECUENCIA DE MUESTREO.....	5
7.- PROCEDIMIENTO DE MUESTREO.....	5
8.- MATERIAL PARA MUESTREO.....	6
9.- PRESERVACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	6
10.-MÉTODOS ANALÍTICOS.....	6
10.1 Método del sustrato cromogénico definido.....	6
10.2 Método de tubos múltiples.....	9
10.3 Método de filtro por membrana.....	10
11.- BIBLIOGRAFÍA.....	13
12.- ANEXO.....	14

# **LINEAMIENTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE AGUA DE MAR PARA USO RECREATIVO CON CONTACTO PRIMARIO**

## **1. INTRODUCCION**

La calidad de agua para uso recreativo en centros turísticos es un factor primordial para garantizar la protección de la salud de los usuarios y un punto de interés para el sector turístico, dado que las playas adquieren un valor agregado al contar con un nivel aceptable de calidad del agua.

Los estudios en agua marina y playas indican que las enfermedades de las mucosas, de la piel y digestivas asociadas con los bañistas están directamente relacionadas con los niveles de contaminación fecal. Los enterococos fecales son el indicador bacteriológico más eficiente para evaluar la calidad de agua de mar para uso recreativo de contacto primario, dado que resiste a las condiciones del agua de mar y está relacionado directamente con enfermedades como gastroenteritis, enfermedades respiratorias, conjuntivitis y dermatitis, entre otras.

El grupo de enterococos fecales es un subgrupo de los estreptococos fecales y son diferenciados de otros estreptococos por su habilidad para crecer en 6.5 % de cloruro de sodio, pH de 9.6 y entre 10 y 45 °C.

## **2. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

Los presentes lineamientos establecen un método para la detección y cuantificación de enterococos fecales en agua de mar para uso recreativo con contacto primario.

El objetivo es proteger la salud de la población bañista estableciendo criterios de clasificación de playas de acuerdo a los niveles de enterococos presentes en el agua, y el procedimiento de muestreo y el método de prueba para determinar este indicador en agua de mar.

Estos lineamientos son aplicables a zonas recreativas de playa en la República Mexicana que de acuerdo a su afluencia turística requieran vigilancia de la calidad del agua.

## **3. ATRIBUCIONES Y COMPETENCIAS**

Las autoridades estatales de Salud serán responsables de:

- Realizar los muestreos
- Dar a conocer los resultados a la población
- Transmitir la información al Consejo de Cuenca y al Comité Local Playas Limpias
- Enviar los resultados de cada muestreo a la COFEPRIS

La Secretaría de Salud por conducto de la COFEPRIS vigilará la correcta aplicación de los Lineamientos por parte de las autoridades estatales, compilando y avalando los datos generados durante el muestreo; también apoyará a los estados en el caso de que éstos no puedan realizar los muestreos respectivos.

#### 4. CRITERIOS DE CALIDAD DE AGUA DE MAR PARA USO RECREATIVO CON CONTACTO PRIMARIO

El enfoque adoptado para la definición de los criterios de calidad microbiológica de aguas costeras para uso recreativo se obtuvo de estudios evaluados por la Organización Mundial de la Salud en los cuales se definen una serie de valores del indicador asociados con un aumento en la frecuencia de diferentes tipos de enfermedades. La información que contribuye a la definición de los valores proviene de:

- Valores umbrales y niveles de efectos adversos principalmente para gastroenteritis y otros efectos sobre la salud publicados en estudios epidemiológicos individuales.
- Tasas de incidencia de enfermedades derivadas de las curvas típicas de distribución de enfermedades y de funciones de densidad de probabilidad para organismos indicadores.

Estos estudios indican que los síntomas gastrointestinales y las enfermedades respiratorias febriles agudas y los estreptococos/enterococos pueden brindar una base científica lo suficientemente sólida para asociar un efecto sobre la salud humana con la calidad del agua recreativa. La mayoría de estudios han identificado a los estreptococos y enterococos fecales como los indicadores más estrechamente relacionados con los efectos sobre la salud en aguas costeras.

Por lo que los criterios para clasificar las playas que la Secretaría de Salud establece son:

<b>Enterococos NMP/100 ml</b>	<b>Clasificación de la playa</b>
0 - 500	APTA PARA USO RECREATIVO
> 500	NO APTA PARA USO RECREATIVO

Las playas se clasificarán de acuerdo a los niveles del cuadro anterior, considerando muestras puntuales.

#### 5. CRITERIOS PARA LA TOMA DE MUESTRA

Muchos cuerpos de agua usados para actividades recreativas frecuentemente son poco homogéneos con respecto a sus propiedades microbiológicas, en estos casos es necesario un muestreo en puntos múltiples. Los sitios pueden ser seleccionados con base a información obtenida durante una medición ambiental y poblacional, es decir, en sitios con:

- Gran afluencia de bañistas
- Drenajes pluviales
- Descargas de aguas residuales tratadas
- Asentamientos irregulares y que no cuentan con infraestructura de saneamiento y alcantarillado
- Embarcaciones pequeñas o grandes
- Actividades de comercio informal y fileteo

## 6. FRECUENCIA DE MUESTREO

El muestreo deberá realizarse con una frecuencia mensual en tanto la calidad del agua sea apta para uso recreativo, en caso contrario cambiar la periodicidad del muestreo hasta que las condiciones del agua se restablezcan.

Es importante que el muestreo se realice de preferencia en días donde haya mayor afluencia de bañistas y procurar que sea tomada a la misma hora.

## 7. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Las muestras se tomarán de acuerdo a las siguientes consideraciones:

- **En zonas de oleaje tranquilo**, tomar las muestras en áreas donde la profundidad del agua llegue a 1.0 m aproximadamente (cintura del verificador), la muestra deberá tomarse a contracorriente del flujo entrante y a 30 centímetros aproximadamente bajo la superficie del agua.
- **En zonas de playa con rompiente cercana a la orilla**, pasar la rompiente a una profundidad del agua de 1-1.15 metros. El verificador deberá colocarse a contracorriente del flujo entrante y tomar la muestra de agua a 30 centímetros bajo la superficie del agua. Si la pendiente del fondo es pronunciada, tomar la muestra en la orilla, donde la profundidad del agua esté entre el tobillo y la rodilla, llenar el recipiente procurando que contenga un mínimo de arena.
- **Tomar una muestra para determinar la temperatura** del agua de mar.

En la orilla de la playa anotar en la hoja de verificación, bitácora o cadena de custodia la identificación de la muestra, hora y temperatura. Llenar los datos de la etiqueta del envase con fecha y hora del muestreo, identificación de la muestra e iniciales del verificador.

De acuerdo al tipo de recipiente:

**a) Frasco de vidrio.-** Aflojar levemente el tapón del frasco y el papel de protección, manejándolos como unidad y evitando que se contamine el tapón o el cuello del frasco. Introducir el frasco con la boca hacia abajo hasta la profundidad seleccionada al tipo de playa, quitar el tapón e invertir el frasco para llenarlo hasta que quede 1/3 del frasco del volumen libre, poner el tapón y sacar el frasco.

**b) Bolsa de plástico.-** Quitar la tira de seguridad a la bolsa, introducir la bolsa cerrada a la profundidad deseada, la cual deberá quedar en sentido contrario al flujo de corriente (para evitar que el agua toque primero las manos del verificador y después entre en la bolsa), una vez que se llena hasta el 80-90% de su volumen se cierra, se saca la bolsa del agua. Mientras se jalan con fuerza los alambres, girar la bolsa varias veces, unir los extremos del alambre y retorcerlos entre sí. Llenar dos bolsas de muestra para cada sitio.

Tomar una muestra adicional en el primer punto de muestreo con el fin de determinar la temperatura con la que han llegado las muestras al laboratorio.

## 8. MATERIAL PARA EL MUESTREO

Recipientes para toma de muestras bacteriológicas

- **Frascos.** - De color transparente o ámbar, con tapón esmerilado, estéril y bacteriológicamente inerte, con capacidad de 125 ó 250 ml. Se pueden utilizar recipientes de vidrio de borosilicato de boca ancha con tapón de rosca o esmerilado, estériles.

- **Bolsas de plástico.** Bolsas de polietileno, estériles, con sello hermético y de 180 ml a 300 ml de capacidad.

(En ambos casos deberá ser **sin tiosulfato de sodio** en los recipientes)

## 9. PRESERVACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

Las muestras de agua deben preservarse de a 1 a 5°C y en oscuridad durante su transporte al laboratorio, deben ser colocadas en hielo para evitar que se contaminen se debe evitar la inmersión de los recipientes en el agua deshielada. Bajo ningún motivo deben congelarse. De preferencia el análisis debe ser inmediato, en todo caso no debe rebasar las 24 horas desde que fue tomada la primera muestra.

## 10. METODO ANALITICO

### 10.1 Método del sustrato cromogénico definido<sup>1</sup>

#### Introducción

La determinación de organismos enterococos por medio del sustrato cromogénico, se fundamenta en el uso de sustratos cromogénicos hidrolizables para la detección de enzimas del grupo enterococo como *E. faecium* y *E. fecales*. Cuando se utiliza esta técnica, el grupo se define como todas las bacterias que poseen la enzima  $\beta$ -glucosidasa y capaces de romper el sustrato cromogénico, dando como resultado una liberación del cromógeno.

#### Principio

El método Enterolert emplea un indicador nutriente que emite fluorescencia cuando es metabolizado por las bacterias del grupo enterococo. La tecnología del sustrato definido evita la necesidad de utilizar azida de sodio utilizada en los métodos tradicionales. El sustrato cromogénico tal como el orto-nitrofenil- $\beta$ -D galactopiranosido (ONPG) u otro equivalente, es empleado para detectar la enzima  $\beta$ -glucosidasa, la cual es producida por bacterias el grupo Enterococo.

La enzima  $\beta$ -glucosidasa hidroliza al sustrato y provoca un cambio de color, el cual indica y sustenta una prueba positiva después de 24 horas sin procedimientos adicionales.

En lo que se refiere a Enterococos, un sustrato fluorogénico como el 4-metilumbeliferil- $\beta$ -D-glucorónido (MUG) es utilizado para detectar la enzima  $\beta$ -glucosidasa. La enzima  $\beta$ -glucosidasa hidroliza el sustrato, produciendo fluorescencia cuando el líquido es expuesto a la luz ultravioleta de onda larga (365 nm).

#### Aplicaciones

La prueba del sustrato cromogénico no se usa para verificar siembras presuntivas de enterococos o colonias de filtración con membrana porque el sustrato puede ser sobrecargado por el inóculo pesado de  $\beta$ -glucosidasa débil producido por no enterococos, causando resultados falsos positivos ó por lecturas que sobrepasen las 24 horas (por ejemplo 28 horas).

---

<sup>1</sup> Aprobado por la American Society for Testing and Materials # D-6503-99

## Formulación del sustrato

Las formulaciones del sustrato se presentan comercialmente en tubos múltiples o en recipientes para muestras de 100 ml para la determinación de presencia /ausencia. También son aprovechables porciones prepesadas del reactivo para mezclar y dosificar en tubos múltiples para pruebas de 10 ml u otros recipientes para muestras de 100 ml. Se requiere de un proveedor confiable para el aseguramiento de calidad y uniformidad del sustrato comercial. Se debe evitar la exposición prolongada del sustrato a la luz directa del sol.

La formulación en polvo contiene los siguientes compuestos anhidros (por litro de sustrato preparado):

Sulfato de amonio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5.00 gr
Sulfato de manganeso, MnSO <sub>4</sub>	0.0005 gr
Sulfato de zinc, ZnSO <sub>4</sub>	0.0005 gr
Sulfato de magnesio, MgSO <sub>4</sub>	0.10 gr
Cloruro de sodio, NaCl	10.0 gr
Cloruro de calcio, CaCl <sub>2</sub>	0.05 gr
Sulfito de sodio, Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	0.04 gr
Amfotericina B	0.001 gr
O-Nitrofenil-β-D-galactopiranosido	0.50 gr
4-metilumbeliferil-β-D-glucorónico	0.075 gr
Solanio	5.3 gr
Buffer Hepes de ac, orgánicos	6.9 gr

## Procedimiento

Se prepara una dilución 1:10 con agua destilada estéril. Por ejemplo, 10 ml. de muestra con 90 ml. de agua estéril. Separe cuidadosamente un paquete de reactivo en polvo, procurando no abrir el paquete siguiente. Golpee el paquete ligeramente para hacer que todo el polvo Enterolert se acumule en la parte inferior del paquete. Abra el paquete rompiendo la parte superior a nivel de la raya cuidando no tocar la apertura del paquete. Agregue el reactivo a una muestra diluida previamente 1:10. Tape y selle el recipiente de forma aséptica. Agite para disolver el reactivo por completo. Vierta la mezcla de muestra y reactivo en el dispositivo (charolas) del sellador, evitando tocar la lengüeta metálica. Identifique la charola con la muestra correspondiente. Selle con calor la charola con la muestra para distribuirla en las 49 celdas grandes y 48 pequeñas de la charola. Incube durante 24 horas a 41°C ± 0.5°C. Lea los resultados al cabo de 24 horas. Cuento el número de celdas fluorescentes de la charola utilizando una lámpara de luz ultravioleta. Es posible que la intensidad de las celdas positivas varíe. Consulte la tabla de NMP anexa para determinar el número más probable de enterococos en la muestra. La distribución de las celdas en la charola corresponde a las tablas de número más probable con 95% de límite de confianza del Standard Methods.

## Interpretación

Cuando el sustrato es hidrolizado por la enzima de la bacteria produce fluorescencia de color azul cuando las celdas son expuestas a la luz ultravioleta, esta respuesta cromogénica descrita es una reacción positiva para enterococos fecales. Las muestras son negativas para enterococos si no se observa fluorescencia. La respuesta cromogénica es cuestionable si el tiempo de incubación sobrepasa las 24 horas, si

incubó por 28 horas puede haber poco desarrollo de fluorescencia e interpretarse como negativo o puede desarrollarse más celdas fluorescentes e interpretarse con falsos positivos.

#### Reporte

Si se desarrolló el procedimiento del NMP, calcular el valor de NMP del número de celdas positivas, de acuerdo a las tablas de número más probable, correspondiente (aplicar el factor de corrección de acuerdo a la dilución utilizada).

#### Control de calidad

Pruebe cada lote del sustrato comercial desarrollando la prueba por inoculación de tres bacterias de control: ***enterococcus faecium* ATCC 35667**, ***Serratia marcescens* (gram-) ATCC 43862**, ***Aerococcus viridans* (gram +) ATCC 10400**. El primero produce fluorescencia pero el segundo y tercero no la producen.

#### Medidas de seguridad

Asegurar que la fuente de luz UV sea de onda larga (365 nm). En caso de usar una fuente mas poderosa como de 15 watts, usar lentes o goggles protectores de los ojos.

### **10.2 Método de Tubos Múltiples**

#### *Materiales y medio de cultivo*

##### a) Caldo de azida dextrosa

Extracto de carne	4.5 gr
Tristona o polipeptona	15.0 gr
Glucosa	7.5 gr
Cloruro de sodio, NaCl	7.5 gr
Azida de sodio, NaN <sub>3</sub>	0.2 gr
Agua grado reactivo	1 L

Debe estar a un pH de  $7.2 \pm 0.2$  a 25°C después de esterilización.

##### b) Agar de enterococos selectivo PSE

Peptona C (triptona)	17.0 gr
Peptona B (proteosa peptona)	3.0 gr
Extracto de levadura	5.0 gr
Bilis bacteriológica	10.0 gr
Cloruro de sodio, NaCl	5.0 gr
Citrato de sodio	1.0 gr
Esculina	1.0 gr
Citrato férrico de amonio	0.5 gr
Azida de sodio, NaN <sub>3</sub>	0.25 gr
Agar	15.0 gr
Agua grado reactivo	1 L

Debe estar a un pH de  $7.1 \pm 0.2$  después de esterilización. Mantener el medio por no más de 4 horas de 45 a 50° C antes de verterlos en las cajas de cultivo.

#### *Procedimiento de prueba presuntiva*

Inocular una serie de tubos de caldo de azida dextrosa con porciones de muestra de 10 ml o menos. Usar caldo reforzado para inocular 10.0 ml. Las porciones usadas pueden llegar a variar en tamaño y número de acuerdo al tipo de muestras. Usar sólo múltiplos decimales de 1 ml.

Incubar los tubos inoculados a  $35 \pm 0.5$  °C. Examinar cada tubo por turbiedad al final de  $24 \pm 2$  horas, si no se encuentra turbiedad, en caso de no encontrar reincubar y volver a leer al final de  $48 \pm 3$  hr.

#### *Procedimientos de prueba confirmativa*

Tomar todos los tubos con caldo de dextrosa azida que mostraron turbiedad después de 24 a 48 horas de incubación como positivos.

Sembrar una porción de crecimiento de cada uno de los tubos positivos de caldo de dextrosa azida en agar PSE. Incubar en las cajas invertidas a  $35 \pm 0.5$  °C por  $24 \pm 2$  h. Colonias café negruzcas con halos color café confirman la presencia de estreptococos fecales.

Las colonias café negruzcas con halos de color café pueden ser transferidas a tubos con caldo de infusión de cerebro-corazón conteniendo 6.5 % de NaCl. El crecimiento en caldo de NaCl al 6.5% y a 45°C indican que las colonias pertenecen al grupo de enterococos.

Estimar la densidad de estreptococos fecales del número de tubos en cada serie de diluciones que fueron positivos en PSE. Similarmente, estimar la densidad de enterococos del número de tubos en cada serie de dilución conteniendo estreptococos que crecieron en caldo de NaCl al 6.5 %.

### **10.3 Método de filtro de membrana**

#### *Aparatos de laboratorio*

Para un análisis de filtración de membrana se debe usar cristalería y otros aparatos compuestos de material libre de agentes que pueden afectar el crecimiento bacterial.

Botellas de muestreo.

Pipetas graduadas estériles.

Contenedores para medio de cultivo.

Cajas de cultivo.- Puede utilizarse vidrio de borosilicato estéril o desechables, o cajas de Petri plásticas preesterilizadas.

Unidad de filtración.

Filtro de membrana. El cual de preferencia debe estar esterilizado desde su fabricación.

Almohadilla absorbente. Debe ser de un material libre de sulfitos o de otras substancias que pueden inhibir el crecimiento bacterial. Usar almohadillas de aproximadamente 48 mm de diámetro y de un espesor para absorber 1.8 a 2.2 ml de medio.

Incubadoras. Usar incubadoras que tengan una temperatura de  $35 \pm 0.5$ °C y que pueden mantener una humedad ambiental (humedad relativa del 60%).

Microscopio y fuente de luz.- Para determinar el conteo de colonias en filtro de membrana, usar una magnificación de 10 a 15 diámetros y una fuente de luz fluorescente blanca ajustada a dar un máximo discernimiento del brillo. Preferentemente usar un microscopio con campo binocular amplio.

*Materiales y medio de cultivo.*

a) mE Agar para enterococos

Peptona	10 gr
Cloruro de sodio, NaCl	15.0 gr
Extracto de levadura	30.0 gr
Esculina	1.0 gr
Actidiona ciclohexamida	0.05 gr
Azida de sodio, $\text{NaN}_3$	0.15 gr
Agar	15.0 gr
Agua grado reactivo	1 L

Calentar para disolver los ingredientes, esterilizar y mantener en un baño de agua de 44 a 46 °C. Mezclar 0.25 gr de ácido nalidixico en 5 ml. de agua grado reactivo, agregar unas pocas gotas de NaOH 0.1 N para disolver el antibiótico, y adicionar al medio basal. Adicionar 0.15 gr. de 2,35-cloruro tetrazolium trifenilo y mezclar para una buena disolución. Verter el agar en cajas petri de 9 x 50 mm hasta una altura de 4 a 5 mm (aproximadamente 4 a 6 ml), y dejar solidificar. El pH final debe llegar a  $7.1 \pm 0.2$ . Colocar el sobrante en la oscuridad de 2 a 10°C, después de 30 días tirar el sobrante. (NOTA: este medio es recomendado para cultivo de enterococos en aguas recreativas dulces y marinas).

b) EIA substrato

Esculina	1.0 gr
Citrato férrico	0.5 gr
Agar	15.0 gr
Agua grado reactivo	1 L

El pH debe llegar a  $7.1 \pm 0.2$  antes de pasar por la autoclave. Calentar para disolver los ingredientes, esterilizar y mantener en un baño de agua de 44 a 46°C. Verter el medio en cajas Petri de 50 mm y a una altura de 4 a 5 mm (aproximadamente 4 a 6 ml), y dejar solidificar. Preparar el medio fresco por cada grupo de muestras. Mantener el sobrante en la oscuridad de 2 a 10°C, después de 30 días, tirar el sobrante.

c) m. Enterococos agar para estreptococos fecales

Triptosa	20 gr
Extracto de levadura	5 gr
Glucosa	2.0 gr
Fosfato dipotásico, $\text{K}_2\text{HPO}_4$	4.0 gr
Azida de sodio, $\text{NaN}_3$	0.4 gr
2,3,5-cloruro tetrazolium trifenol	0.1 gr
Agar	10 gr
Agua grado reactivo	1 L

Calentar para disolver los ingredientes. No utilizar autoclave. Colocar el cajas petri de 9 x 50 mm a una profundidad de 4 a 5 mm (aproximadamente 4 a 6 ml) y dejar solidificar. Preparar medio fresco por cada grupo de muestras. (NOTA: este medio es recomendado para el Grupo D de estreptococos en agua dulce y marina).

d) Caldo infusión de cerebro-corazón.

Infusión de cerebro de ternero	200 gr
Infusión de corazón de res	250 gr
Peptona proteosa	10.0 gr
Glucosa	2.0 gr
Cloruro de sodio, NaCl	5.0 gr
Fosfato hidrogenado disódico, Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.5 gr
Agua grado reactivo	1 L

El pH debe llegar a 7.4 después de la esterilización.

e) Agar infusión de cerebro-corazón. Adicionar 15.0 gr de agar a los ingredientes de caldos de infusión de cerebro-corazón. El pH debe llegar a 7.4 después de la esterilización. Los tubos deben estar inclinados.

f) Agar bilis esculina

Extracto de res	3.0 gr
Peptona	5.0 gr
Oxgall	40.0 gr
Esculina	1.0 gr
Citrato férrico	0.5 gr
Agar	15.0 gr
Agua grado reactivo	1 L

Calentar para disolver los ingredientes. Colocar 8 a 10 ml en tubos inclinados en volumen apropiado. Llevar la autoclave a 121°C durante 15 minutos. No sobrecalentar debido a que puede causar obscurecimiento del medio. Mantener de 44 a 46°C y colocar en tubos inclinados 15 ml ó colocar 15 ml en cajas petri de 15 x 100 mm. El pH final debe llegar a  $6.6 \pm 0.2$  después de la esterilización. Mantener a una temperatura de 4 a 10°C.

*Procedimiento*

a) mE Método

1. Seleccionar un tamaño de muestra y filtrar. Filtrar un volumen de muestra apropiado a través de una membrana estéril de 0.45 µm, cuadrículada para tener 20 a 60 colonias en la superficie de la membrana. Se transfiere el filtro al agar en la caja petri, cuidando de no tener burbujas de aire en la membrana.
2. Incubación. Invertir las placas de cultivo e incubar a  $41^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$  por 48 horas.
3. Prueba del sustrato. Después de 48 horas por incubación, transferir cuidadosamente el filtro al medio EIA. Incubar a  $41^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$  por 20 minutos.
4. Conteo. Colonias de enterococos rosas a rojas desarrollan un precipitado café rojizo en el fondo del filtro. El conteo de colonia es usando lámpara fluorescente por medio de una lupa.

b) m Método enterococos

1. Selección de tamaño de muestra y filtración. Igual al punto 1 del m-E-Método.
2. Incubación. Colocar las cajas por 30 minutos, posteriormente invertirlos e incubarlos a  $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

## 11. BIBLIOGRAFIA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; Eaton A, Clesceri L, Greenberg A.; 19<sup>th</sup> edition 1995

Norma Oficial Mexicana. NOM-014-SSA1-1993. Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consume humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados. Diario Oficial e la Federación, 12 de agosto de 1994.

Organización Mundial de la Salud, Guías para ambientes seguros en aguas recreativas, Vol. 1: aguas costeras y aguas dulces, versión preliminar, 1998.

U.S. Environmental Protection Agency, National beach guidance and required performance criteria for grants, Office of Water, Washington, DC, June 2002.

World Health Organization, Sustainable Development and Healthy Environments; Bathing Water Quality and Human Health; protection of the human environment water, sanitation and health; Geneva, 2001.

Edberg. S.C. M. J. Allen, D.B. Smith & the National Collaborative Study, 1988. National Field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. *Appl. Environm. Microbiol.* 54: 1595.

Edberg S.C. & M.M. Edberg, 1988. A defined sustrate technology for the enumeration of microbiol indicators of environmental pollution. *Yale J. Biol. Med.* 61:389.

Covert T.C. , L.C. Shadix, E.W. Rice, J.R. Haines & R. W. Frey Berg, 1989. Evaluation of the autoanalysis colilert test for detection and enumeration of the total coliform. *Appl. Environm. Microbiol.* 55: 2443.

Edberg. S.C., & D. B. Smith, 1989, Absence of association between total heterotrophic and total coliform bacteria from a public water supply. *Appl. Environm. Microbiol.* 55: 380.

Edberg. S.C. M. J. Allen, D.B. Smith & the National Collaborative Study, 1989. National Field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous detetion of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with presence-absence techniques. *Appl. Environm. Microbiol.* 55: 1003.

Edberg. S.C. M. J. Allen, D.B. Smith & N,J, Kaiz, 1990 Enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from source water by the defined sustrate technology. *Appl. Environm. Microbiol.* 56: 366.

Edberg. S.C. M. J. Allen, D.B. Smith, 1991. Defined substrate technology method for rapid and simultaneous enumeration of total and *Escherichia coli* from water: collaborative study. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 74:526.

Edberg. S.C., F. Ludwing & D.B. Smith, 1991. The colilert system for total coliforms and *Escherichia coli*. American water works research foundation. Denver, Colo.

## 12. Anexo. IDEXX Quanti-Tray/2000 Tabla Número más probable

# Pocillos Grandes Positivos	# Pocillos pequeños positivos																								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
0	<1	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0	14.0	15.1	16.1	17.1	18.1	19.1	20.2	21.2	22.2	23.2	24.3
1	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.1	9.1	10.1	11.1	12.1	13.2	14.2	15.2	16.2	17.3	18.3	19.3	20.4	21.4	22.4	23.5	24.5	25.6
2	2.0	3.0	4.1	5.1	6.1	7.1	8.1	9.2	10.2	11.2	12.2	13.3	14.3	15.3	16.4	17.4	18.5	19.5	20.6	21.6	22.6	23.7	24.8	25.8	26.9
3	3.1	4.1	5.1	6.1	7.2	8.2	9.2	10.3	11.3	12.4	13.4	14.4	15.5	16.5	17.8	18.8	19.7	20.8	21.8	22.9	23.9	25.0	26.1	27.1	28.2
4	4.1	5.2	6.2	7.2	8.3	9.3	10.4	11.4	12.5	13.5	14.6	15.6	16.7	17.8	18.8	19.9	21.0	22.0	23.1	24.2	25.2	26.3	27.4	28.5	29.6
5	5.2	6.3	7.3	8.4	9.4	10.5	11.5	12.6	13.7	14.7	15.8	16.9	17.9	19.0	20.1	21.2	22.2	23.3	24.4	25.5	26.6	27.7	28.8	29.9	31.0
6	6.3	7.4	8.4	9.5	10.6	11.6	12.7	13.8	14.9	15.9	17.0	18.1	19.2	20.3	21.4	22.5	23.6	24.7	25.8	26.9	28.0	29.1	30.2	31.3	32.4
7	7.4	8.5	9.6	10.7	11.8	12.8	13.9	15.0	16.1	17.2	18.3	19.4	20.5	21.6	22.7	23.8	24.9	26.0	27.1	28.3	29.4	30.5	31.6	32.8	33.9
8	8.8	9.7	10.8	11.9	13.0	14.1	15.2	16.3	17.4	18.5	19.6	20.7	21.8	22.9	24.1	25.2	26.3	27.4	28.6	29.7	30.8	32.0	33.1	34.3	35.4
9	9.8	10.9	12.0	13.1	14.2	15.3	16.4	17.5	18.7	19.8	20.9	22.0	23.2	24.3	25.4	26.6	27.7	28.9	30.0	31.2	32.3	33.5	34.6	35.8	37.0
10	11.0	12.1	13.2	14.3	15.5	16.6	17.7	18.9	20.0	21.1	22.3	23.4	24.6	25.7	26.9	28.0	29.2	30.3	31.5	32.7	33.8	35.0	36.2	37.4	38.6
11	12.2	13.4	14.5	15.6	16.8	17.9	19.1	20.2	21.4	22.5	23.7	24.8	26.0	27.2	28.3	29.5	30.7	31.9	33.0	34.2	35.4	36.6	37.8	39.0	40.2
12	13.5	14.6	15.8	16.9	18.1	19.3	20.4	21.6	22.7	23.9	25.1	26.3	27.5	28.6	29.8	31.0	32.2	33.4	34.6	35.8	37.0	38.2	39.4	40.7	41.9
113	14.8	16.0	17.1	18.3	19.5	20.6	21.8	23.0	24.2	25.4	26.6	27.8	29.0	30.2	31.4	32.6	33.8	35.0	36.2	37.5	38.7	39.9	41.1	42.4	43.6
14	16.1	17.3	18.5	19.7	20.9	22.1	23.3	24.4	25.7	26.9	28.1	29.3	30.5	31.7	33.0	34.2	35.4	36.7	37.9	39.1	40.4	41.6	42.9	44.2	45.4
15	17.5	18.7	19.9	21.1	22.3	23.5	24.7	25.9	27.2	28.4	29.6	30.9	32.1	33.3	34.6	35.8	37.1	38.4	39.6	40.9	42.2	43.4	44.7	46.0	47.3
16	18.9	20.1	21.3	22.6	23.8	25.0	26.2	27.5	28.7	30.0	31.2	32.5	33.7	35.0	36.3	37.5	38.8	40.1	41.4	42.7	44.0	45.3	46.6	47.9	49.2
17	20.3	21.6	22.8	24.0	25.3	26.5	27.8	29.1	30.3	31.6	32.9	34.1	35.4	36.7	38.0	39.3	40.6	41.9	43.2	44.5	45.9	47.2	48.5	49.8	51.2
18	21.8	29.1	24.3	25.6	26.9	28.1	29.4	30.7	32.0	33.3	34.6	35.9	37.2	38.5	39.8	41.1	42.4	43.8	45.1	46.4	47.8	49.1	50.1	51.9	53.2
19	23.3	34.6	25.9	27.2	28.5	29.8	31.1	32.4	33.7	35.0	36.3	37.6	39.0	40.3	41.6	43.1	44.3	45.7	47.1	48.4	49.8	51.2	52.6	54.0	55.4
20	24.9	26.2	27.5	28.8	39.1	31.4	32.8	34.1	35.4	36.8	38.1	39.5	40.8	42.2	43.6	44.9	46.3	47.7	49.1	50.5	51.9	53.3	54.7	56.1	57.5
21	26.5	27.8	29.2	30.5	31.8	33.2	34.5	35.9	37.3	38.6	40.0	41.4	42.8	44.1	45.5	46.9	48.4	49.8	51.2	52.6	54.1	55.5	56.9	58.4	59.9
22	28.2	29.5	30.9	32.3	33.6	35.0	36.4	37.7	39.1	40.5	41.9	43.3	44.7	46.2	47.6	49.0	50.5	51.9	53.4	54.8	56.3	57.8	59.3	60.7	62.2
23	29.9	31.3	32.7	34.1	35.4	36.8	38.2	39.7	41.1	42.5	43.9	45.4	46.8	48.3	49.7	51.2	52.7	54.2	55.6	57.1	58.6	60.2	61.7	64.7	61.7
24	31.7	33.1	34.5	35.9	37.3	38.8	40.2	41.6	43.1	44.8	46.0	47.5	49.0	50.5	51.9	53.4	55.0	56.5	58.0	59.5	61.1	62.6	64.2	65.8	67.3
25	33.5	35.0	36.4	37.9	39.3	40.8	42.2	43.7	45.2	46.7	48.2	49.7	51.2	52.7	54.3	55.8	57.3	58.9	60.5	62.0	67.6	65.2	66.8	68.4	70.0
26	35.5	36.9	38.4	39.9	41.3	42.8	44.3	45.9	47.4	48.9	50.4	52.0	53.5	55.1	56.7	58.2	59.8	61.4	63.0	64.7	66.3	67.9	69.6	71.2	72.9
27	37.4	38.9	40.4	41.9	43.5	45.0	46.5	48.1	49.6	51.2	52.8	54.4	56.0	57.6	59.2	60.8	62.4	64.1	65.7	67.4	69.1	70.8	72.5	74.2	75.9
28	39.5	41.0	42.6	44.1	45.7	47.2	48.8	50.4	52.0	53.6	55.2	56.9	58.5	60.1	61.8	63.5	65.2	66.9	68.6	70.3	72.0	73.7	75.5	77.3	79.0
29	41.6	43.2	44.8	46.4	48.0	49.6	51.2	52.8	54.5	56.1	57.8	59.5	61.2	62.9	64.6	66.3	68.0	69.8	71.5	73.3	75.1	76.9	78.7	80.5	82.3
30	43.9	45.5	47.1	48.7	50.4	52.0	53.7	55.4	57.1	58.8	60.5	62.2	64.0	65.7	67.5	69.3	71.0	72.8	74.7	76.5	78.3	80.2	82.1	84.0	85.9
31	46.2	47.9	49.5	51.2	52.9	54.6	56.3	58.1	59.8	61.6	63.3	65.1	66.9	68.7	70.5	72.4	74.2	76.1	78.0	79.9	81.8	83.7	85.7	87.8	89.6
32	48.7	50.4	52.1	53.8	55.6	57.3	59.1	60.9	62.7	64.5	66.3	68.1	70.0	71.9	73.8	75.7	77.6	79.5	81.5	83.5	85.4	87.5	89.5	91.5	93.6
33	51.2	53.0	54.7	56.5	58.3	60.1	62.0	63.8	65.7	67.6	69.5	71.4	73.3	75.2	77.2	79.2	81.2	83.2	85.2	87.3	89.3	91.4	93.5	95.7	97.8
34	53.9	55.7	57.6	59.4	61.3	63.1	65.0	66.9	68.9	70.8	72.8	74.8	76.8	78.8	80.8	82.9	85.0	87.1	89.2	91.4	93.5	95.7	97.9	100.1	102.4
35	56.8	58.6	60.5	62.4	64.4	66.3	68.3	70.3	72.3	74.3	76.3	78.4	80.5	82.6	84.7	86.9	89.1	91.3	93.5	95.7	98.0	100.3	102.6	105.0	107.3
36	59.8	61.7	63.7	65.7	67.7	69.7	71.7	73.8	75.9	78.0	80.1	82.3	84.5	86.7	88.9	91.2	93.5	95.8	98.1	100.5	102.9	105.3	107.7	110.2	112.7
37	62.9	65.0	67.0	69.1	71.2	73.3	75.4	77.6	79.8	82.0	84.2	86.5	88.8	91.1	93.4	95.8	98.2	100.6	103.1	105.6	108.1	110.7	113.3	115.9	118.6
38	66.3	68.4	70.6	72.7	74.9	77.1	79.4	81.6	83.9	86.2	88.6	91.0	93.4	95.8	98.3	100.8	103.4	105.9	108.6	111.2	113.9	116.6	119.4	122.2	125.0
39	69.9	72.2	74.4	76.6	78.9	81.3	83.6	86.0	88.4	90.9	93.3	95.9	98.4	101.0	103.6	106.3	109.0	111.8	114.5	117.4	120.3	123.2	126.1	129.2	132.2
40	73.8	76.2	78.5	80.9	83.3	85.7	88.2	90.7	93.3	95.9	98.5	101.2	103.9	106.7	109.5	112.4	115.3	118.2	121.2	124.2	127.3	130.5	133.7	137.0	140.3
41	78.0	80.5	83.0	85.5	88.0	90.6	93.3	95.9	98.7	101.4	104.3	107.1	110.0	113.0	116.0	119.1	122.2	125.4	128.7	132.0	135.3	138.8	142.3	145.9	149.5
42	82.6	85.2	87.8	90.5	93.2	96.0	98.8	101.7	104.6	107.6	110.6	113.7	116.9	120.1	123.3	126.7	130.1	133.6	137.1	140.8	144.5	148.3	152.2	156.1	160.2
43	87.6	90.4	93.2	96.0	99.0	101.9	105.0	108.1	111.2	114.5	117.8	121.1	124.6	128.1	131.7	135.4	139.1	143.0	147.0	151.0	155.1	159.4	163.8	168.2	172.8
44	93.1	96.1	99.1	102.2	105.4	108.6	111.9	115.3	118.7	122.3	125.9	129.6	133.4	137.4	141.4	145.5	149.7	154.1	158.5	163.1	167.8	172.7	177.7	182.9	188.2
45	99.3	102.5	105.8	109.2	112.6	116.2	119.8	123.6	127.4	131.3	135.4	139.6	143.9	148.3	152.9	157.6	162.4	167.4	172.6	177.9	183.5	189.2	195.1	201.2	207.5
46	106.3	109.8	113.4	117.2	121.0	125.0	129.1	133.3	137.6	142.1	146.7	151.5	156.5	161.6	166.9	172.5	178.2	184.2	190.4	196.8	203.5	210.5	217.8	225.4	233.3
47	114.3	118.3	122.4	126.6	130.9	135.4	140.1	145.0	150.0	155.3	160.7	166.4	172.3	178.5	185.0	191.8	198.9	206.3	214.2	222.4	231.0	240.0	249.5	259.5	270.0
48	123.9	128.4	133.1	137.9	143.0	148.3	153.9	159.7	165.8	172.2	178.9	186.0	193.5	201.4	209.8	218.7	228.2	238.2	248.9	260.2	272.3	285.1	298.7	313.0	328.2
49	135.5	140.8	146.4	152.3	158.5	165.0	172.0	179.3	187.2	195.6	204.8	214.3	224.7	235.9	248.1	261.3	275.5	290.3	307.6	325.5	344.8	365.4	387.3		

# Large Wells Positive

**IDEXX Quanti-Tray72000 MPN Table**  
# Small Wells Positive

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
0	25.3	26.3	27.4	28.4	29.5	30.5	31.5	32.6	33.6	34.7	35.7	36.8	37.8	38.9	39.9	41.0	42.1	43.1	44.2	45.3	46.3	47.4	48.5	49.5
1	26.6	27.6	28.7	29.7	30.8	31.9	32.9	34.0	35.0	36.1	37.2	38.2	39.3	40.4	41.4	42.5	43.6	44.7	45.7	46.8	47.9	49.0	50.1	51.2
2	27.9	29.0	30.0	31.1	32.2	33.2	34.3	35.4	36.5	37.5	38.6	39.7	40.8	41.9	42.9	44.0	45.1	46.2	47.3	48.4	49.5	50.6	51.7	52.8
3	29.3	30.3	31.4	32.5	33.6	34.7	35.7	36.8	37.9	39.0	40.1	41.2	42.3	43.4	44.5	45.6	46.7	47.8	48.9	50.0	51.2	52.3	53.4	54.5
4	30.7	31.7	32.8	33.9	35.0	36.1	37.2	38.3	39.4	40.5	41.6	42.8	43.9	45.0	46.1	47.2	48.3	49.5	50.6	51.7	52.9	54.0	55.1	56.3
5	32.1	33.2	34.3	35.4	36.5	37.6	38.7	39.8	41.0	42.1	43.2	44.3	45.5	46.6	47.7	48.9	50.0	51.2	52.3	53.5	54.6	55.8	56.9	58.1
6	33.5	34.6	35.8	36.9	38.0	39.1	40.3	41.4	42.6	43.7	44.8	46.0	47.1	48.3	49.4	50.6	51.7	52.9	54.1	55.2	56.4	57.6	58.7	59.9
7	35.0	36.2	37.3	38.4	39.6	40.7	41.9	43.0	44.2	45.3	46.5	47.7	48.8	50.0	51.2	52.3	53.5	54.7	55.9	57.1	58.2	59.4	60.6	61.8
8	36.5	37.7	38.9	40.0	41.2	42.3	43.5	44.7	45.9	47.0	48.2	49.4	50.6	51.8	53.0	54.1	55.3	56.5	57.7	58.9	60.2	61.4	62.6	63.8
9	38.1	39.3	40.5	41.6	42.8	44.0	45.2	46.4	47.6	48.8	50.0	51.2	52.4	53.6	54.8	56.0	57.2	58.4	59.7	60.9	62.1	63.4	64.6	65.8
10	39.7	40.9	42.1	43.3	44.5	45.7	46.9	48.1	49.3	50.6	51.8	53.0	54.2	55.5	56.7	57.9	59.2	60.4	61.6	62.9	64.2	65.4	66.7	67.9
11	41.4	42.6	43.8	45.0	46.3	47.5	48.7	49.9	51.2	52.4	53.6	54.9	56.1	57.4	58.6	59.9	61.2	62.4	63.7	65.0	66.2	67.5	68.8	70.1
12	43.1	44.3	45.6	46.8	48.1	49.3	50.5	51.8	53.1	54.3	55.6	56.8	58.1	59.4	60.7	61.9	63.2	64.5	65.8	67.1	68.4	69.7	71.0	72.3
13	44.9	46.1	47.4	48.6	49.9	51.2	52.4	53.7	55.0	56.3	57.6	58.9	60.2	61.5	62.8	64.1	65.4	66.7	68.0	69.3	70.7	72.0	73.3	74.7
14	46.7	48.0	49.3	50.5	51.8	53.1	54.4	55.7	57.0	58.3	59.6	60.9	62.3	63.6	64.9	66.3	67.6	68.9	70.3	71.6	73.0	74.4	75.7	77.1
15	48.6	49.9	51.2	52.5	53.8	55.1	56.4	57.8	59.1	60.4	61.8	63.1	64.5	65.8	67.2	68.5	69.9	71.3	72.6	74.0	75.4	76.8	78.2	79.6
16	50.5	51.8	53.2	54.5	55.8	57.2	58.5	59.9	61.2	62.6	64.0	65.3	66.7	68.1	69.5	70.9	72.3	73.7	75.1	76.5	77.9	79.3	80.8	82.2
17	52.5	53.9	55.2	56.6	58.0	59.3	60.7	62.1	63.5	64.9	66.3	67.7	69.1	70.5	71.9	73.3	74.8	76.2	77.6	79.1	80.5	82.0	83.5	84.9
18	54.6	56.0	57.4	58.8	60.2	61.6	63.0	64.4	65.8	67.2	68.6	70.1	71.5	73.0	74.4	75.9	77.3	78.8	80.3	81.8	83.3	84.8	86.3	87.8
19	56.8	58.2	59.6	61.0	62.4	63.9	65.3	66.7	68.2	69.7	71.1	72.6	74.1	75.5	77.0	78.5	80.0	81.5	83.1	84.6	86.1	87.6	89.2	90.7
20	59.0	60.4	61.9	63.3	64.8	66.3	67.7	69.2	70.7	72.2	73.7	75.2	76.7	78.2	79.8	81.3	82.8	84.4	85.9	87.5	89.1	90.6	92.2	93.8
21	61.3	62.8	64.3	65.8	67.3	68.8	70.3	71.8	73.3	74.9	76.4	77.9	79.5	81.0	82.6	84.2	85.8	87.4	89.0	90.6	92.2	93.8	95.4	97.1
22	63.7	65.3	66.8	68.3	69.8	71.4	72.9	74.5	76.1	77.6	79.2	80.8	82.4	84.0	85.6	87.2	88.9	90.5	92.1	93.8	95.5	97.1	98.8	100.5
23	66.3	67.8	69.4	71.0	72.5	74.1	75.7	77.3	78.9	80.5	82.1	83.8	85.4	87.1	88.7	90.4	92.1	93.8	95.5	97.2	98.9	100.6	102.3	104.1
24	68.9	70.5	72.1	73.7	75.3	77.0	78.6	80.2	81.9	83.6	85.2	86.9	88.6	90.3	92.0	93.8	95.5	97.2	99.0	100.7	102.5	104.3	106.1	107.9
25	71.7	73.3	75.0	76.6	78.3	80.0	81.6	83.3	85.0	86.8	88.5	90.2	92.0	93.7	95.5	97.3	99.1	100.9	102.7	104.5	106.3	108.2	110.0	111.9
26	74.6	76.3	78.0	79.7	81.4	83.1	84.8	86.6	88.4	90.1	91.9	93.7	95.5	97.3	99.2	101.0	102.9	104.7	106.6	108.5	110.4	112.3	114.2	116.2
27	77.6	79.4	81.1	82.9	84.6	86.4	88.1	90.0	91.9	93.7	95.5	97.4	99.3	101.2	103.1	105.0	106.9	108.8	110.8	112.7	114.7	116.7	118.7	120.7
28	80.8	82.6	84.4	86.2	88.1	89.9	91.8	93.7	95.6	97.5	99.4	101.3	103.3	105.2	107.2	109.2	111.2	113.2	115.2	117.3	119.3	121.4	123.5	125.6
29	84.2	86.1	87.9	89.8	91.7	93.6	95.6	97.5	99.5	101.5	103.5	105.5	107.5	109.5	111.6	113.7	115.7	117.8	120.0	122.1	124.2	126.4	128.6	130.8
30	87.8	89.7	91.7	93.6	95.6	97.6	103.9	101.6	103.7	105.7	107.8	109.9	112.0	114.1	116.3	118.5	120.6	122.8	125.1	127.3	129.5	131.8	134.1	136.4
31	91.6	93.6	95.6	97.7	99.7	97.6	108.5	106.0	108.2	110.3	112.5	114.7	116.9	119.1	121.4	123.6	125.9	128.2	130.5	132.9	135.3	137.7	140.1	142.5
32	95.7	97.7	99.9	102.0	104.2	101.8	113.5	110.7	113.0	115.2	117.5	119.8	122.1	124.5	126.8	129.2	131.6	134.0	136.5	139.0	141.5	144.0	146.6	149.1
33	100.0	102.2	104.4	106.6	108.9	1.6.3	118.9	115.8	118.2	120.5	122.9	125.3	127.8	130.3	132.8	135.3	137.8	140.4	143.0	145.6	148.3	150.9	153.6	156.4
34	104.7	107.0	109.3	111.7	114.0	111.2	124.7	121.3	123.8	126.3	128.8	131.4	134.0	136.6	139.2	141.9	144.6	147.3	150.1	152.9	155.7	158.6	161.5	164.4
35	109.7	112.2	114.6	117.1	119.6	122.1	131.1	127.3	129.9	132.6	135.3	138.0	140.8	143.6	146.4	149.2	152.1	155.0	158.0	161.0	164.0	167.1	170.2	173.3
36	115.2	117.8	120.4	123.0	125.7	128.4	138.2	133.9	136.7	139.5	142.4	145.3	148.3	151.3	154.3	157.3	160.4	163.6	166.8	170.0	173.3	176.6	179.9	183.3
37	121.3	124.0	126.8	129.6	132.4	135.3	146.1	141.2	144.2	147.2	150.3	153.5	156.6	159.9	163.1	166.4	169.8	173.2	176.7	180.2	183.7	187.3	191.0	194.7
38	127.9	130.8	133.8	136.8	139.9	143.0	155.1	149.3	152.6	155.9	159.2	162.6	166.1	169.6	173.2	176.8	180.4	184.2	188.0	191.8	195.7	199.6	203.7	207.7
39	135.3	138.5	141.7	145.0	148.3	151.7	165.3	158.6	162.1	165.7	169.4	173.1	176.9	180.7	184.7	188.6	192.7	196.8	201.0	205.3	209.6	214.0	218.5	223.0
40	143.7	147.1	150.6	154.2	157.8	161.5	177.2	169.1	173.0	177.0	181.1	185.2	189.4	193.7	198.1	202.5	207.0	211.7	216.4	221.1	226.0	231.0	236.0	241.1
41	153.2	157.0	160.9	164.8	168.9	173.0	191.3	181.4	185.8	190.3	194.8	199.5	204.2	209.1	214.0	219.0	224.2	229.4	234.8	240.2	245.8	251.5	257.2	263.1
42	164.3	168.6	172.9	177.3	181.9	186.5	209.4	196.1	201.1	206.2	211.4	216.7	222.1	227.7	233.4	239.2	245.2	251.3	257.5	263.8	270.3	276.9	283.6	290.5
43	177.5	182.3	187.3	192.4	197.6	202.9	230.0	214.0	219.8	225.8	231.8	238.1	244.5	251.0	257.7	264.6	271.7	278.9	286.3	293.8	301.5	309.4	317.4	325.6
44	193.6	199.3	205.0	211.0	217.2	223.5	258.4	236.7	243.6	250.7	258.1	265.6	273.3	281.2	289.4	297.8	306.3	315.1	324.1	333.3	342.8	352.4	362.3	372.4
45	214.1	220.9	227.9	235.1	242.7	250.4	298.1	266.7	275.3	284.1	293.2	302.6	312.3	322.3	332.5	343.0	353.8	364.9	376.2	387.9	399.8	412.0	424.5	437.4
46	241.5	250.0	258.9	268.2	277.8	287.7	357.8	308.8	319.9	331.4	343.3	355.5	368.1	381.1	394.5	408.3	422.5	437.0	452.0	467.4	483.3	499.5	516.3	533.5
47	280.9	292.4	304.4	316.9	330.0	343.6	435.7	372.5	387.7	403.4	419.8	436.6	454.1	472.1	490.7	509.9	629.8	550.4	571.7	593.8	616.7	640.5	665.3	691.0
48	344.1	360.9	378.4	396.8	416.0	436.0	556.9	478.6	501.2	524.7	549.2	574.8	601.5	629.4	658.6	689.3	721.5	755.5	791.5	829.7	870.4	913.9	960.5	1011.1
49	461.1	488.4	517.2	547.5	579.4	613.1	768.8	686.7	727.0	770.1	816.4	866.4	920.8	980.4	1046.2	1119.9	1203.3	1299.7	1413.6	1553.1	1732.9	1986.3	2419.2	>2419.2