Indicadores bacterianos de contaminación fecal y colifagos en el agua de la Laguna de Sinamaica, Estado Zulia, Venezuela

Marynés Montiel de Morales*, José Luis Zambrano, Olga Castejón, Cleomary Oliveros y Ligia Botero de Ledesma

Unidad de Investigaciones en Microbiología Ambiental. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Recibido: 12-01-05 Aceptado: 05-05-05

Resumen

La Laguna de Sinamaica se encuentra localizada en la zona Nor-Occidental del Estado Zulia, Venezuela. Está habitada por la población de Paraujanos o etnia Añú, la cual se ha establecido sobre el agua en los "Palafitos" desde la época pre-colonial. La población estimada actualmente es de 2800 habitantes, quienes utilizan este cuerpo de agua para la pesca y otras actividades. De acuerdo con los reportes epidemiológicos, la enteritis se encuentra entre una de las principales causas generales de mortalidad, en los niños entre 1 y 4 años que habitan esta zona. Durante un período de 9 meses muestras de agua fueron recolectadas en 10 sitios diferentes de la Laguna de Sinamaica. Indicadores bacterianos de contaminación fecal tales como coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), estreptococos fecales (EF) y enterococos (E) fueron cuantificados por la técnica del número más probable (NMP). Se cuantificó el número de unidades formadoras de placas (UFP) de colifagos (C) como indicadores de contaminación viral. El aislamiento e identificación de bacterias patógenas tales como Salmonella, Shigella y otros géneros de la Familia Enterobacteriaceae fue realizado según las técnicas descritas en el APHA. Se encontró un amplio rango de distribución de los indicadores fecales: CT <3,0x10° NMP 100 $mL^{-1} - 2.4 \times 10^{3} \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1}, \text{ CF } 2.1 \times 10^{2} \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1} - 1.1 \times 10^{4} \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1}, \text{ EF y E}$ <2,0x10¹ NMP 100 mL⁻¹ - 1,1x10⁴ NMP 100 mL⁻¹ y C 0 - 4,3x10² UFP 100 mL⁻¹. Las enterobacterias mas frecuentemente aisladas fueron Escherichia coli, Klebsiella y Enterobacter, 30,53%, 19,08% y 15,26%, respectivamente. Shigella y Salmonella estuvieron presentes en el 12,97 y el 3,05% del total de las muestras. Basados en la normativa Venezolana, los niveles de CT y CF excedieron el límite máximo permisible para aguas recreacionales en mas del 50% de las muestras. Se concluye que las aguas de la Laguna de Sinamaica están contaminadas y representan un riesgo para la salud pública de sus habitantes.

Palabras clave: Agua; calidad; colifagos; indicadores; laguna.

^{*} Autor para la correspondencia.

Faecal bacterial contamination indicator and coliphages in water from the Sinamaica Lagoon, Zulia State, Venezuela

Abstract

Sinamaica Lagoon is a large extension of water located northwest of Zulia state, Venezuela. The Paraujano population or ethnic Añu that inhabit this area have been lived on the Lagoon, in stilted houses over the water "palafitos", since pre-colonial times. People living there, now estimated at 2800, use this body of water for fishing, transport, and other activities. According to available epidemiological data, enteritis is one of the principal causes of mortality in children from one to four in this zone. Water samples from ten different sites of the lagoon were taken monthly throughout a nine-month period. Microbiological parameters analyzed included: Most Probable Number (MPN) of total and faecal coliforms and faecal streptococci and enterococci (per 100 mL), Plate Forming Unit of coliphage (per 100 mL) and tests for the presence of Salmonella, Shigella and other Enterobacteriaceae. A wide range of distribution of the different faecal indicators was found: $TC < 3.0 \times 10^{0} - > 2.4 \times 10^{3}$, $FC = 2.1 \times 10^{2} - 1.1 \times 10^{4}$, $C = 0 - 4.3 \times 10^{2}$ y FS y E <2.0x10¹-1.1x10⁴. The Enterobacteriaceae most frequently isolated were Escherichia coli, Klebsiella and Enterobacter 30.53%, 19.08% and 15.26%, respectively. Shigella and Salmonella were present in 12.97% and 3.05% of total samples. Total and faecal coliform levels exceeded the Venezuelan guideline for recreational water, in more than 50% of the samples. We concluded that waters of Sinamaica lagoon are microbiologically polluted and represent a health risk for its inhabitants.

Key words: Coliphages; indicator; lagoon; water; quality.

Introducción

En los países en vías de desarrollo, en áreas con altas densidades poblacionales y en regiones con escasez de agua, el saneamiento es a veces insuficiente y costoso. Como consecuencia la contaminación fecal de las aguas de consumo y recreacionales se ha incrementando, creando un problema de salud pública y afectando negativamente el turismo y la economía de dichos países (1). Los cuerpos de agua pueden ser contaminados por aguas de desechos y excretas de personas enfermas, las cuales presentan grandes densidades de organismos patógenos. También se ha reportado que personas aparentemente saludables actúan como portadoras de estos organismos (2).

La calidad de las aguas recreacionales es evaluada utilizando técnicas que permiten detectar la contaminación fecal a través de la detección de los coliformes fecales, *Escherichia coli* y estreptococos fecales (2). Sin embargo, aunque las bacterias coliformes han sido utilizadas exitosamente con este propósito, estas no han demostrado ser indicadores adecuados de contaminación viral. Por esta razón se han investigado otros indicadores potenciales proponiéndose a los colifagos como indicadores virales (3). Algunos autores (4, 5) sugieren complementar la evaluación con la identificación de organismos patógenos.

La Laguna de Sinamaica constituye un reservorio de agua salobre ubicado en la

zona Norte del Estado Zulia, Venezuela. Es uno de los lugares más importantes del turismo regional, tanto por sus atractivos naturales como por estar asentada allí la etnia Añú-Paraujana con cultura, lengua y manifestaciones, que aun persisten en el tiempo (6, 7). Entre los habitantes de la Laguna existen graves problemas de salud, produciéndose un alto índice de mortalidad infantil. La enteritis se encuentra entre una de las principales causas generales de mortalidad, la cual es frecuente en los niños con edades comprendidas entre los 1 y 4 años (6).

Debido a la importancia turística e histórica de esta zona y a la necesidad de conocer la situación real del proceso de contaminación fecal de las aguas de la Laguna, se realizó el presente estudio con la finalidad de evaluar la calidad microbiológica de sus aguas, investigando la incidencia y distribución de los coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos fecales, enterococos y colifagos, así como la presencia de grupos bacterianos patógenos en este cuerpo de agua.

Materiales y Métodos

Área de estudio

La Laguna de Sinamaica, situada en la región Nor-Occidental del Estado Zulia, Venezuela, Parroquia Sinamaica del Municipio Páez, entre las coordenadas geográficas 11°00' y 11° 20' de Latitud Norte y entre los 71°30' y 72° 00' de Longitud Oeste (Figura 1) es considerada zona de atracción turística (6, 7). La población de la Laguna asciende a 2800 habitantes, los cuales viven de la pesca, artesanía, turismo, agricultura y comercio (6). En la Laguna no existe sistema de cloacas siendo los desechos, en la mayoría de los casos, arrojados directamente a sus aguas. Tampoco existe servicio de agua domiciliario, por lo que generalmente se surten de este elemento a través de pipas o lo toman directamente de la Laguna (6).

Muestras

Se establecieron diez estaciones de muestreo a lo largo de la Laguna de Sinamaica (Figura 1) considerando las características particulares de las diferentes zonas (Tabla 1). Noventa (90) muestras de agua fueron recolectadas durante un periodo de 9 meses realizando muestreos mensuales en cada una de las estaciones con el fin de evaluar la variabilidad temporal de los microorganismos.

Las muestras fueron recolectadas a una profundidad aproximada de 30 cm de la superficie, en botellas de vidrio estériles de 500 mL de capacidad, aproximadamente a la misma hora en cada ocasión y transportadas en hielo hasta el laboratorio para su procesamiento en un periodo no mayor de 6 horas después de la recolección (8).

Análisis microbiológico

Los coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), estreptococos fecales (EF) y enterococos (E) se cuantificaron de acuerdo a la técnica del número más probable (NMP), descrita en el APHA (8).

Las enterobacterias fueron aisladas e identificadas por técnicas estándares (8). Como medios de cultivo selectivos se utilizaron agar Mac Conkey, agar Salmonella-Shigella y como medio de enriquecimiento caldo Selenito.

Los colifagos (C) específicos para *Escherichia coli* C (ATCC 15597) fueron enumerados por la técnica Standard propuesta en el APHA (8).

Análisis estadístico

El mínimo, máximo y el promedio fueron calculados utilizando el programa Microsoft Excel. Se realizó un análisis de correlación Pearson o correlación lineal, utilizando el programa Statistics (9), el cual fue aplicado para determinar la posible correlación entre los microorganismos estudiados.

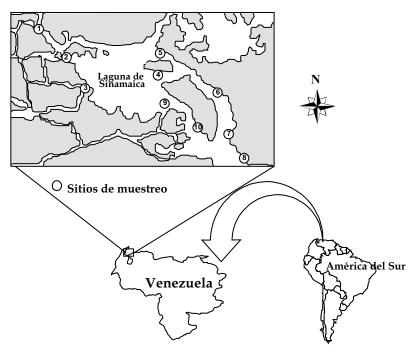


Figura 1. Sitios de muestreos en la Laguna de Sinamaica.

Tabla 1
Descripción de las zonas muestreadas en la Laguna de Sinamaica

Estación	Características
1	Toma en el río, zona poco intervenida, solo río arriba existen pocos palafitos. Gran arrastre de limo y vegetación.
2	Entrada del río a la Laguna, actividades ganaderas en sus alrededores.
3	Sector poblado, muchos palafitos, casas alrededor.
4	Ubicada frente al parador turístico y a la iglesia, presenta gran influencia de la Laguna.
5,6,7	Norte de la isla Japón, aguas más rápidas.
8	Salida del río Limón, hacia el lago. Presenta mayor salinidad. Existe asentamiento poblacional.
9	Final de la Laguna, agua con bastante tiempo de residencia en la Laguna. Casa en los márgenes de la zona.
10	Salida del agua de la Laguna.

Resultados y Discusión

Se midió el nivel y tipo de contaminación microbiológica en el agua de la Laguna de Sinamaica, tomando en cuenta la concentración del índice bacteriano y viral. Los valores máximos, mínimos y promedios de los indicadores se observan la Tabla 2. Los

Tabla 2

Valores máximos, mínimos y promedios de los parámetros microbiológicos evaluados en diez zonas de la Laguna de Sinamaica, Maracaibo, Venezuela.

Estación	CT	CF	SF	E	С
min	4.0×10^{2}	4.0×10^{1}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
1 max	1.1×10^{4}	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	1.0×10^{2}	$1,0 \times 10^{-2}$
med	5.7×10^3	3.7×10^3	1.3×10^{3}	$8,1 \times 10^{1}$	3.9×10^{1}
min	2.4×10^{2}	$<3.0 \text{ x}10^{1}$	$<3.0 \text{ x}10^{1}$	$<3.0 \text{ x}10^{1}$	0
2 max	4.3×10^4	1.5×10^4	9.0×10^{3}	9.0×10^{3}	$2,6 \times 10^{2}$
med	9.4×10^{3}	3.8×10^{3}	2.2×10^3	1.4×10^3	$8,6 \times 10^{1}$
min	4.6×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \text{ x}10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	1.0×10^{1}
3 max	2.4×10^4	9.3×10^{3}	9.3×10^{3}	1.5×10^{3}	$2,2 \times 10^{2}$
med	$8,6 \times 10^3$	1.9×10^3	1.2×10^{2}	2.6×10^{2}	1.2×10^{2}
min	2.1×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	2.0×10^{1}
4 max	$1,1 \times 10^4$	2.4×10^3	9.3×10^{2}	9.0×10^{1}	1.8×10^{2}
med	4.7×10^3	6.6×10^{2}	$2.0 \text{ x} 10^{2}$	8.7×10^{1}	$7.0 \text{ x} 10^{1}$
min	9.3×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<2.0 \text{ x}10^{1}$	$<2.0 \text{ x}10^{1}$	1.0×10^{1}
5 max	2.4×10^4	1.1×10^4	$1,1x10^{4}$	1.1×10^4	1.2×10^{2}
med	8.5×10^{3}	1.9×10^{3}	$1,4x10^{3}$	1.3×10^{3}	6.4×10^{1}
min	9.3×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
6 max	1.5×10^4	2.4×10^3	2.4×10^3	4.3×10^{2}	$1,1x10^{2}$
med	5.9×10^3	$7.2 \text{ x} 10^{2}$	4.8×10^{2}	1.9×10^{2}	$3.3x10^{1}$
min	2.1×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
7 max	4.6×10^4	2.4×10^3	4.6×10^3	4.0×10^{2}	7.0×10^{1}
med	1.0×10^4	5.1×10^{2}	6.4×10^{2}	1.2×10^{2}	2.7×10^{1}
min	4.3×10^{2}	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
8 max	1.4×10^4	2.4×10^{3}	2.4×10^3	4.0×10^{2}	4.0×10^{1}
med	3.0×10^3	6.3×10^{2}	4.2×10^{2}	1.3×10^{2}	$1,6 \times 10^{1}$
min	$2,1 \times 10^{2}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
9 max	4.6×10^4	6.0×10^3	4.6×10^3	$4.0 \text{ x} 10^{2}$	2.4×10^{2}
med	7.2×10^3	9.2×10^{2}	$7.0 \text{ x} 10^2$	1.2×10^{2}	$8,4 \times 10^{1}$
min	2.3×10^{2}	$<3.0 \text{ x}10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	$<3.0 \times 10^{1}$	0
10 max	2.4×10^3	2.4×10^3	2.4×10^3	4.3×10^{2}	2.4×10^{2}
med	6.3×10^3	8.0×10^{2}	5.0×10^{2}	1.4×10^{2}	$9,4 \times 10^{1}$

CT: coliformes totales, CF: coliformes fecales, SF: Estreptococos fecales, E: enterococos, C: colifagos, min: mínimo, max: máximo, med: promedio. Los valores de CT, CF, SF y E están expresados en Número más Probable por 100 mL y los C en Unidades Formadoras de Placa por 100 mL.

CT estuvieron presentes en todas las zonas muestreadas en un rango entre 10^2 y 10^4 NMP 100 mL⁻¹ excepto en la estación 10 en donde el rango estuvo entre 10^2 y 10^3 . Los CF se presentaron en un rango entre $<3.0x10^1$ y $>2.4x10^4$. Wyer y col, 1995, re-

portaron valores de CT entre $0-3 \times 10^6$ y CF entre $0 y 4 \times 10^6$ en áreas recreacionales en Inglaterra. Combarro y col, 1993, en Rias de Ares Betanzos en Brasil, reportaron hasta $4,6\times 10^4$ CT y $4,6\times 10^3$ CF 100 mL 1 . Falcao y col, 1993, reportaron valores de CF entre

25 y 719,67 en lagos artificiales. Griffin y col, 1999 y Montiel, 2004 reportaron valores similares en aguas superficiales en Florida (2, 10-13).

Los valores de SF y E en 100 mL oscilaron entre 10^1 - 10^4 . Valores de SF en 100 mL han sido reportados en otros cuerpos de aguas utilizados para la recreación entre 0 - 2.4×10^5 (10); 0 - 820 (14);13 - 206 (2) y valores de hasta 4.6×10^6 en Brasil (11). En el caso de los enterococos, Budnick y col, 1996, reportaron valores entre 10 - 87 NMP 100 mL⁻¹ en aguas dulces (15).

Los valores de colifagos oscilaron entre $0 y 2,6 x 10^2 UFP 100 mL^1$ en las diez estaciones muestreadas, encontrándose por debajo de los valores reportados por Rose y col. (16). Alta variabilidad en la concentración de colifagos en aguas superficiales ha sido reportada previamente (17, 18).

Espacialmente, la mayor frecuencia de valores microbiológicos altos de los diferentes indicadores, se detectó en las estaciones 3, 4, 5 y 6 (Figura 2). Estas estaciones son las que se encuentran ubicadas en el centro de la Laguna, zona más poblada de la misma. Es importante señalar que la Laguna de

Sinamaica cuenta con el aporte directo, sin tratamiento previo, de las descargas de aguas residuales de los habitantes de la zona. Así mismo en los alrededores de la Laguna se realizan actividades de ganadería y pastoreo, lo cual explica, en parte, la alta contaminación encontrada en la zona. Resultados similares han sido reportados por otros autores (19, 20) quienes sugieren que la contaminación es común en sectores donde se realizan actividades agrícolas, debido a la utilización que se le da a la tierra, la cual va desde usos de rastreo, drenajes, la utilizacion de las aguas con fines de recreación, hasta la construcción de viviendas en los terrenos advacentes al cuerpo de agua, todo esto permite la acumulación de nutrientes orgánicos y la proliferación de las algas, produciéndose condiciones favorables para la supervivencia y mantenimiento de las bacterias entéricas (20).

La estación 10, ubicada en la zona más amplia en el Sur de la Laguna, fue la que presentó, en general, los valores más bajos de microorganismos, lo cual pudiera estar relacionado a que en esta estación la profundidad es baja y la luz penetra hasta el fondo (21), pudiendo causar la reducción de

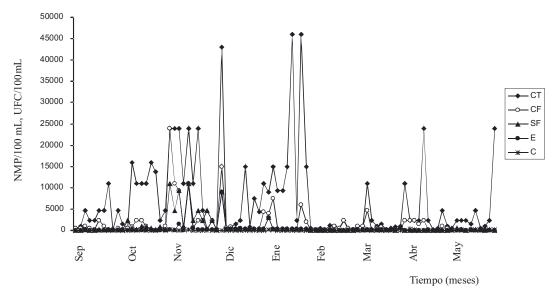


Figura 2. Distribución de la concentración de coliformes totales y coliformes fecales en la Laguna de Sinamaica.

los microorganismos por el efecto de la luz solar (22) ya que se ha demostrado que la luz UV proveniente del sol es el factor principal en la inactivación de las bacterias indicadoras en las aguas superficiales (23).

Temporalmente, durante toda la época muestreada fueron detectados tanto los indicadores fecales como los colifagos. A excepción de la estación 10, los valores más altos de indicadores se encontraron durante los meses de noviembre a enero (Figura 3), los cuales corresponden a la época de seguía en esta zona. La Laguna de Sinamaica se comporta como un cuerpo de agua de mezcla entre el Lago de Maracaibo, el río Limón y el Gran Eneal, a través del Caño Morita. Durante la época de lluvia existe gran afluencia de agua dulce proveniente del río Limón, sin embargo a medida que se inicia la época de sequía comienza la entrada del agua proveniente del Lago de Maracaibo (21), lo cual explica el inicio en el incremento de los valores de los indicadores durante el mes de noviembre, ya que estudios previos han demostrado un alto índice de contaminación en este cuerpo de agua (24). El aumento de los microorganismos durante la época de sequía ha sido reportado por otros autores (25,

26, 27) asociándolo al hecho de que las bacterias llegan a través de las corrientes y también al posible efecto concentrador.

Se encontró correlación positiva (r=0,45 a 0,80; p<0,05) entre los CF-CT, CF-SF y SF-E, esto podría ser indicativo de que la medición del grupo de los CF pudiera representar tanto a los CT, SF y E. Algunos autores han reportado que no existe correlación entre los SF y E. coli (28), otros reportan correlación entre los E y E. coli y los CF y CT (13, 29).

No se encontró correlación entre los indicadores bacterianos y los colifagos. La correlación entre los indicadores bacterianos y los colifagos ha sido objeto de discusión entre los investigadores. Al igual que en este trabajo, otros investigadores (13, 18, 30, 31) reportaron falta de correlación entre los colifagos y los indicadores bacterianos, sin embargo Moriñigo y col. (32) proponen a los colifagos como indicadores adecuados de bacterias patógenas ya que encontraron correlación entre estos dos grupos. Más estudios son necesarios realizar en aguas tropicales, con la finalidad de poder establecer si existe o no relación entre estos grupos microbianos.

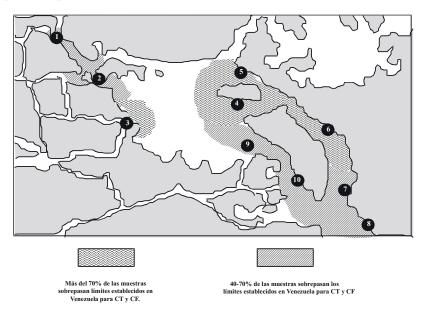


Figura 3. Distribución temporal de los indicadores de contaminación fecal en la Laguna de Sinamaica.

Se aislaron un total de 10 géneros bacterianos entéricos. Los géneros comúnmente aislados fueron Escherichia, Klebsiella y Enterobacter (30,53; 19,08 y 15,26% respectivamente) (Figura 4). Resultados similares han sido reportados por otros autores (26, 33, 34) señalando que en los cuerpos de agua dulce los géneros más abundantes son Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter y Aeromonas. Escherichia coli y Klebsiella fueron detectadas durante todos los meses de muestreo en al menos una estación. En el caso de E. coli, a excepción del mes de mayo, se logró detectar en al menos cuatro de las estaciones muestreadas en cada mes. La alta incidencia de Klebsiella ha sido relacionada con la contaminación microbiológica de las aguas (25). K. pneumoniae ha sido reportado como el coliforme predominante en lagos de agua dulce que presentan altas temperaturas y es considerado como un indicador de contaminación bajo dichas condiciones (8).

Salmonella se detectó en la estación 2 durante el mes de enero y en las estaciones 3, 5 y 6 en el mes de octubre. Salmonella ha sido reportada en aguas recreacionales (2). Algunos autores han demostrado que Salmonella también ha sido aislada de heces de grupos animales como ranas (35). Sería recomendable evaluar los serotipos que se encuentran en la Laguna a fin de determinar si están asociados a grupos humanos.

Shigella se aisló durante todos los meses de muestreo. La mayor incidencia temporal fue durante los meses de diciembre, enero, febrero y mayo, donde se logró detectar en todas las estaciones de muestreo a excepción de la 2 y la 7. La presencia de *Shigella* indica contaminación reciente por lo que en muchos casos no es posible detectarla en aguas recreacionales (2).

Una alta incidencia de colifagos fue detectada en las muestras analizadas (83,5%) comparado con los resultados reportados por otros investigadores (33,8%) en otros cuerpos de agua (16). Variabilidad en la concentración

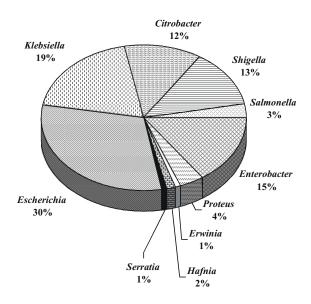


Figura 4. Porcentaje de detección de los géneros bacterianos entéricos identificados en la Laguna de Sinamaica.

de colifagos en aguas ha sido reportado en otros lugares del mundo (13, 18, 36).

En Venezuela, sólo los CT y CF son utilizados como parámetros de evaluación microbiológica de aguas recreacionales, no debiendo exceder en mas de 1000 y 200 en el 90% de las muestras, respectivamente (37). Se pudo encontrar que en todas las estaciones, mas del 40% de las muestras estudiadas se encontraban por encima de los valores establecidos para los CT y en más del 50% para los CF, encontrándose la mayor incidencia durante la época de seguía. Aun cuando en Venezuela no existe normativa para la utilización de enterococos como indicadores, en otros países los enterococos han sido propuestos como indicadores, no debiendo sobrepasar en aguas recreacionales en más de 33 100 mL⁻¹ (8). Si comparamos los valores obtenidos en este trabajo en relación a los enterococos se nota que al menos el 44% de las muestras analizadas en cada una de las estaciones, durante todo el periodo de estudio, sobrepasan los valores permisibles establecidos en otros países, lo cual

podría indicar contaminación fecal proveniente de animales.

Conclusiones

La calidad microbiológica de la Laguna de Sinamaica se ve afectada por las épocas de lluvia y sequía encontrándose los valores más altos durante la época de sequía, siendo el centro de la Laguna la zona más contaminada (estaciones 3, 4, 5 y 6).

De los 10 géneros bacterianos aislados *Escherichia, Klebsiella* y *Enterobacter* se encontraron en mayor proporción.

Se encontró correlación positiva entre los CF-CT, CF-SF y SF-E, lo cual apoya el posible uso de los CF como indicadores de contaminación bacteriana. No se encontró correlación entre los colifagos y los indicadores bacterianos, lo cual sugiere la necesidad de evaluar otros grupos microbianos, aparte de los indicadores bacterianos, como posibles indicadores de contaminación viral.

Agradecimiento

Este estudio fue parcialmente financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de La Universidad del Zulia (CONDES). Se agradece al Instituto para la Conservación de la Cuenca del Lago de Maracaibo (ICLAM) por la ayuda en la recolección de las muestras.

Referencias Bibliográficas

- GARRET L. The Coming Plague: Newly Emerging Diseases in a World out of Balance, Farrar, Straus and Gnoux (ed), New York (USA), pp. 58-78, 1994.
- FALCAO D.P., FUJIMURA C.Q., SILVA M.A., SOARES M.J., VALENTINI S.R. Sci Total Environ 128: 37-49, 1993.
- 3. PEPPER I., GERBA C.P. *Marine Pollution*, CRC Press, New York (USA), pp. 65-78, 1997.
- 4. ROBERTSON W.J. *Can J Microbiol* 29: 1261-1269, 1983.

- 5. FRANCY D.S., HELSEN D.R., NALLY R.A. Wat Env Res 72:152-161, 2000.
- 6. URRIBARRI L. Diagnóstico social. Laguna de Sinamaica. Corpozulia, Maracaibo (Venezuela), pp. 45, 1990.
- 7. INCOSTAS. Proyecto de recuperación de la Laguna de Sinamaica (Estudios Informe Final). Maracaibo (Venezuela), pp. 70, 1990.
- 8. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Washington, D.C. (USA), 1995.
- 9. **Statsoft**. Statistica. StatSoft, Inc., USA, pp. 1140, 1994.
- WYER M.D., KAY D., JACKSON G.F., DAW-SON, H.M., YEO J., TANGUY L. *J Appl Bact* 78: 290-296, 1995.
- COMBARRO M.P., SUEIRO R.A., ARAÚJO M., PARDO F., GARRIDO M.J. *Microb SEM* 9: 14-27, 1993.
- GRIFFIN D.W., GIBSON III C.J., LIPP E.N., RILEY K., PAUL III J.H., ROSE J.B. Appl Environ Microbiol 65: 4118-4125, 1999.
- 13. MONTIEL M. On site sewage disposal system (OSDS) microbiological contamination of groundwater and surface water at selected sites in east central Florida (Doctoral Dissertation), Florida Institute of Technology, Florida (USA), pp. 178, 2004.
- PUBLIC HEALTH LABORATORY SERVICE WATER SURVEILLANCE GROUP (PHÑSWSG). Lett Appl Bact 21: 267-271, 1995.
- 15. BUDNICK G.E., HOWARD R.T., MAYO D.R. *Appl Environ Microbiol* 62: 3881-3884, 1996.
- ROSE J.B., ZHOU X., GRIFFIN D.W., PAUL J.H. *Appl Environ Microbiol* 63: 4564-4566, 1997.
- 17. GRIFFIN D.W., STOKES R., ROSE J.B., PAUL III J.H. *Microb Eco* 39: 55-64, 2000
- 18. JIANG S., NOBLE R., CHU W. *Appl Environ Microbiol* 67:179-184, 2001.
- NIEMI R.M., NIEMI J.S. *J Environ Qual* 20: 620-627, 1991.

- SHERER B., MINER R., MOORE J., BUCK-HOUSE C. *J Environ Qual* 21: 591-595, 1992.
- 21. GODOY G. Comunicación Personal.
- 22. POMMEPUY M., GUILLAUD J.F., DUPRAY E., DERRIEN A., LeGUYADER F., CORMIER M. *Wat Sci Technol* 25: 93-103, 1992.
- 23. GERBA C.P. *Pathogenic Microorganisms*. In: Marine Pollution. Pepper I., Gerba Ch, CRC Press, New York (USA), pp. 82-95, 1997.
- BOTERO L., MONTIEL M., PORTO L. J Environ Sci Health A27: 2213-2226, 1992.
- GELDREICH E. J WPCF 55: 869-877, 1983.
- 26. GUILLEMIN F., PASCALE H., UWECHUE N., MONJOUR L. **Wat Res** 25: 923-927, 1991.
- 27. LIPP E.K., KURZ R., VINCENT R., RODRIGUEZ-PALACIOS C., FARRAH S.R., ROSE J.B. *Estuaries* 24: 266-276, 2001.
- 28. PALMATEER G.A., DUTKA B.J., JANZEN E. M., MEISSNER S.M., SAKELLARIS M.G. **Wat Res** 25: 355-357, 1991.

- GERBA C.P. Phage as Indicators of Faecal Pollution. In: Phage Ecology. Sager, M.G, Gerba C.P., Bitton G. John Wiley & Sons, INC, New York (USA), pp. 197-209, 1987.
- 30. O'KEEFE B., GREEN J. **Wat Res** 23: 2696-2701. 1989.
- 31. RUSSO R.C. *Mar Poll Bull* 45: 84-91, 2002.
- 32. MORIÑINGO M.A., WHEELEER D., BERRY C., JONES C., MUÑOZ M.A., CORNAX R., BORREGO J. *Wat Res* 26: 267-271, 1992.
- 33. ANTAI S.P. Appl Bact 62: 371-375, 1987.
- 34. CLARK J., BURGER C., SABATINOS L. *Can J Microbiol* 28:1002-1013, 1992.
- 35. MONZÓN C., OJEDA M., ECHETTA A., YSERA M. *Ant Van Leeuwen* 68: 191-194, 1995.
- 36. LIPP E.K. The occurrence, distribution transport of human pathogens in coastal waters of Southwest Florida (Doctoral Dissertation), University of South Florida, Florida (USA), pp. 140, 1999.
- 37. GACETA OFICIAL DE LA REPÚBLICA DE VENEZUELA. Nº 5021 Extraordinario, 1995.