

PREVALENCIA DE COLÍFAGOS EN EL AGUA DEL ACUEDUCTO DE LA VEREDA LA CABAÑA DEL MUNICIPIO DE MANIZALES

Hector Jaime Aricapa Giraldo¹
Jorge Enrique Pérez Cárdenas²
Diego Benavides³
Alejandro López⁴

RESUMEN

A finales del año 2001 y comienzos del 2002 se realizó un estudio con el fin de determinar la prevalencia de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña, Manizales, Caldas, Colombia que abastece los sectores de La Pava, El Chuzo, La Cabaña y La Playa, para relacionar el grado de contaminación fecal del agua. Para el desarrollo del trabajo se utilizó como prueba diagnóstica el método de detección de colifagos ARCAT (A Rapid Coliphage Analysis Technique). Los resultados obtenidos en 68 muestras compuestas de agua de 136 viviendas del sector (una muestra de 200 ml por cada dos casas), mostraron una alta prevalencia para colifagos (97%); encontrándose un recuento de colifagos entre 0 - 95 PFU / 100 ml. Las precipitaciones resultaron ser uno de los factores más importantes que influyeron en este estudio.

Palabras claves: Colifagos, agua, acueducto, Manizales, ARCAT, coliformes.

ABSTRACT

At the end of 2001 and beginnings 2002 a study was carried for detection of coliphages prevalency in the aqueduct water of the La Cabaña village, Manizales, Caldas, Colombia that supplies the sectors of La Pava, El Chuzo, La Cabaña and La Playa, for relationship the contamination fecal grade water. For the development of the research the method of coliphage

detection ARCAT (A Rapid Coliphage Analysis Technique) was used as the diagnostic test. The results obtained in 68 samples of water of 136 housings of the sector showed a high prevalency for coliphage (97%); finding a coliphage count in 0 - 95 PFU / 100 ml. the precipitations turned out to be one of the most important factors that influenced in this study.

Keywords: Coliphages, water, aqueduct, Manizales, ARCAT, coliforms.

INTRODUCCIÓN

Los métodos convencionales utilizados para el control de la calidad microbiológica del agua potable (filtración por membrana y sustrato definido) solamente detectan bacterias coliformes totales y fecales sin tener en cuenta otros microorganismos patógenos, lo que constituye un problema de salud pública en lo referente a la evaluación del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas en la población humana y animal.

A principios de la década de 1940 Max Delbruck y sus colaboradores usaron fagos para establecer importantes principios en biología que condujeron a la fundación de la genética molecular en los años cincuenta. Guélin en 1948 fue el primero en reconocer el potencial de los bacteriófagos para actuar como un sistema indicador de la calidad microbiológica del agua y desde entonces numerosos reportes

¹ MVZ – Esp. Microbiología. Profesor asistente. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas. E-mail: hjaricapa@ucaldas.edu.co

² Bacteriólogo MSC. Microbiología. Profesor asociado. Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas.

³ Estudiante. Programa Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas.

Más del 80% de todas las enfermedades y más de una tercera parte de los fallecimientos de los países en vía de desarrollo se deben al consumo de agua contaminada y hasta una décima parte del tiempo productivo de cada persona se sacrifica en enfermedades relacionadas con el agua (Estados Unidos. World Resources, 1987).

Tradicionalmente las enfermedades infecciosas de transmisión hídrica se han asociado a suministros contaminados o no tratados. Los datos disponibles muestran que los virus y ciertos parásitos son los agentes más frecuentemente implicados en estas circunstancias, lo que no es de extrañar, ya que estos difieren de los indicadores de contaminación fecal comúnmente utilizados, en términos de estructura, composición, morfología, resistencia, comportamiento e incidencia en el agua (Duran et al., 1999).

El acueducto de la vereda La Cabaña nace en la vereda la Linda y abastece a 260 familias de los sectores La Pava, El Chuzo, La Cabaña y La Playa. La vereda presenta una temperatura media anual de 21,3°C y una precipitación total anual de 2366 mm (Manizales. Secretaría de Planeación Municipal, 2000 - 2008).

En nuestro medio no se han reportado investigaciones que involucren la detección de organismos indicadores diferentes a los convencionales que además de evaluar la contaminación fecal por bacterias, también infieran la presencia de otros microorganismos patógenos en el agua, tales como los virus, que permitan ampliar el diagnóstico y por ende la seguridad de los sistemas de suministro de agua de las zonas rurales y urbanas del país.

En esta investigación se plantea la utilización del método ARCAT (A Rapid Coliphage Analysis Technique) para el aislamiento de los virus que infectan a la bacteria *Escherichia coli*. (Pedroso, 1995; Clesceri et al., 1992).

El objetivo de este trabajo pretende determinar

la prevalencia de colifagos para el control de la calidad microbiológica en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña; además la implementación del método en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Caldas como un punto de referencia en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la investigación se tomaron 68 muestras compuestas de agua entre los meses de Octubre y Noviembre de 2001. Cada muestra compuesta (200 ml) estuvo integrada por el agua de dos casas diferentes (2 muestras puntuales de 100 ml cada una). Cabe anotar que de las 260 viviendas abastecidas por este acueducto se seleccionaron en forma aleatoria 136 viviendas de la zona para realizar el muestreo, la presencia de colifagos se relacionó con la pluviosidad, pero no se realizaron pruebas de detección de coliformes.

Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó el método para la estimación de proporciones (Daniel, 2000). Debido a la ausencia de estudios sobre el tema en nuestro medio, se asumió que un 50% de las muestras presentarían colifagos, lo que permite obtener un tamaño de muestra máximo cuando se trabaja con proporciones en una población infinita.

Tabla 1 Número de muestras por sector

SECTOR	TAMAÑO DE LA MUESTRA	NÚMERO DE VIVIENDAS
LA PAVA	18	36
EL CHUZO	12	24
LA CABAÑA	26	52
LA PLAYA	12	24
TOTAL	68	136

Para tomar las muestras, se utilizaron frascos de vidrio estériles siguiendo las normas técnicas para la toma y procesamiento de muestras de agua (Clesceri et al., 1992), éstas se conservaron por debajo de 10°C hasta el momento de procesarlas en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Caldas donde se procedió al aislamiento de colifagos, utilizando para ello la cepa de *Escherichia coli* C. ATCC 13706

donada gentilmente por USDA (United States Department of Agriculture) e inoculada en caldo de Agar de Soja Trypticase (Difco).

Cada muestra de agua se repartió en 4 alicuotas de 5 ml cada una, en tubos de plástico estériles a los que se les adicionó 1 ml de la cepa *Escherichia coli* C ATCC 13706 (solución 1). Por otra parte, se preparó la solución 2, agregando a 4 tubos de plástico estériles que contenían cada uno 5,5 ml de Agar de Soja Trypticase modificado (Merck) 0,08 ml de 2.3.5 trifénil Tetrazolio (Merck); posteriormente se virió cada tubo de la solución 1 con un tubo de la solución 2 en una caja de petri estéril, se agitó suavemente, se dejó enfriar y se incubó a una temperatura de 35°C ± 2°C durante 6 horas para observar la formación de calvas o placas. Cada calva se consideró como una unidad formadora de placa (PFU).

En cada caja se contaron las calvas y luego se sumó el total de las calvasformadas en las 4 cajas de Petri y se multiplicó por 5 (Quinta parte de los 100 ml de muestra), para obtener el número de unidades formadoras de placa (PFU) por 100 ml de muestra. En función del recuento de colifagos, se calculó el número de coliformes totales y fecales haciendo uso de las siguientes ecuaciones (Clesceri et al., 1992)

Coliformes totales
 $\text{Log } y = 0,627 (\text{log } x) + 1,864$

Donde,
 $y = \text{coliformes totales} / 100 \text{ ml}$
 $x = \text{colifagos} / 100 \text{ ml}$

Coliformes fecales
 $\text{Log } y = 0,805 (\text{log } x) + 0,895$

Donde,
 $y = \text{coliformes fecales} / 100 \text{ ml}$
 $x = \text{colifagos} / 100 \text{ ml}$

Tabla 2. Porcentaje de positividad para colifagos por sectores en el acueducto de la Vereda La Cabaña

SECTOR	NÚMERO DE MUESTRAS	MUESTRAS POSITIVAS	MUESTRAS NEGATIVAS	PORCENTAJE DE POSITIVIDAD	PORCENTAJE DE MUESTRAS POR SECTOR
LA PAVA	18	18	0	100	26,5
EL CHUZO	12	12	0	100	17,6
LA CABAÑA	26	25	1	96,1	38,2
LA PLAYA	12	11	1	91,6	17,6
TOTAL	68	66	2	97,0	100,0

El estudio realizado fue de tipo descriptivo, inferencial y transversal y se llevó a cabo en los sectores La Pava, El Chuzo, La Cabaña y La Playa que son abastecidos por el acueducto de la vereda La Cabaña, se determinó el porcentaje de positividad y se aplicaron medidas de dispersión y tendencia central así como un ANDEVA.

RESULTADOS

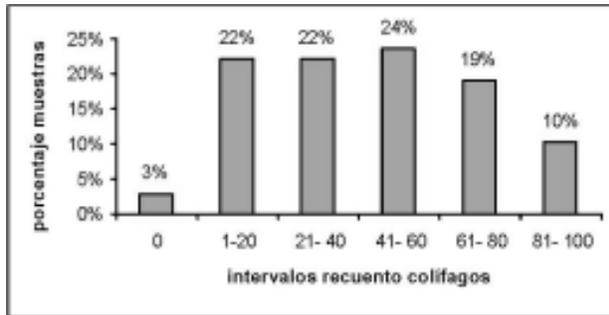
Para el análisis de resultados (Daniel, 2000) se utilizó la siguiente fórmula de prevalencia: $P = (\# \text{ de positivos} / n) * 100$, encontrando un error estándar de 2,06; lo que dio como resultado un intervalo de confianza para la proporción entre 93,62 y 100. Lo anterior indica que la prevalencia de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña no es menor de 93,62%, ni mayor de 100%.

La toma de las muestras en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña se llevó a cabo desde octubre hasta noviembre de 2001, período durante el cual se realizó el procesamiento de las muestras en el laboratorio de microbiología, obteniendo los siguientes resultados. (Tabla 2)

Teniendo en cuenta las muestras positivas por ARCAT, que es el método descrito por Clesceri et al. (1992) para la detección de colifagos en aguas, el 100% de las muestras de los sectores La Pava y El Chuzo (18 y 12 muestras, respectivamente) resultaron positivas a colifagos, mientras que los reactores negativos correspondieron a los sectores La Cabaña y La Playa. La prevalencia total de colifagos fue del 97%. (tabla 2).

Con respecto al recuento de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña, la media para el total de muestras analizadas fue de 44,9 con un rango comprendido entre 0 - 95 PFU/100 ml y un intervalo de confianza comprendido entre 39 - 50 colifagos.

Figura 1. Distribución del recuento de colifagos en el agua del acueducto de la Vereda La Cabaña.



La mayor parte de las muestras (53%) resultaron con recuentos por encima de la media, mientras que tan solo el 3% de las muestras resultaron negativas. (figura 1)

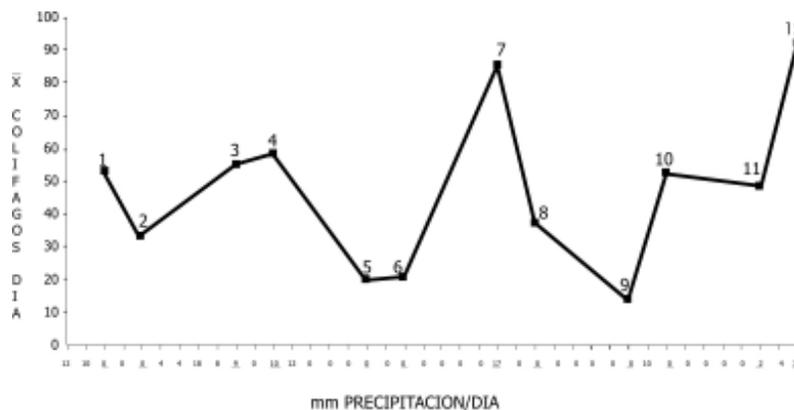
Como hipótesis nula se planteó que la media de los cuatro sectores del estudio son iguales y como hipótesis alterna que alguna media es diferente.

Para observar si existe diferencia entre las medias de los recuentos se aplicó la prueba de Tukey (Daniel, 2000), la cual indicó que la media del sector El Chuzo es estadísticamente igual a la de los sectores La Pava y La Playa, pero

estadísticamente diferente a la del sector La Cabaña. Además se observó que el sector que presenta menor número de colifagos es El Chuzo mientras que el sector La Cabaña presenta los mayores recuentos, encontrándose una diferencia significativa ($P < 0,1$) entre estos sectores, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

Al relacionar la pluviosidad diaria (Santa, 2001) con el recuento de colifagos, se encontró que los días del muestreo donde hubo precipitaciones (día 3, 4, 7, 11 y 12) se presentaron los recuentos más altos con respecto a la media del total de muestras analizadas (44,9). En estos días las precipitaciones representaron el 54,1% de los 131 mm registrados durante el período de estudio. Cabe anotar que los días 1 y 10 del muestreo que también presentaron un recuento alto de colifagos estuvieron precedidos por lluvia mientras que los menores recuentos se produjeron en los días más secos (figura 2). Aplicando las ecuaciones descritas en el método ARCAT para calcular el número de coliformes con base en la detección de colifagos, se encontró una media de 750,5 coliformes totales / 100 ml y de 162,2 para coliformes fecales / 100 ml. El intervalo de confianza para estos está comprendido entre 685 - 816 coliformes totales / 100 ml y entre 145 - 179 coliformes fecales por cada 100 ml de muestra analizada, con rangos comprendidos entre 0 - 1271 y 0 - 307 respectivamente.

Figura 2. Recuento de colifagos con respecto a la pluviosidad



1-12 días de muestreo

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sobre la detección de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña del municipio de Manizales utilizando el método ARCAT, mostraron una prevalencia alta (97%) que no concuerda con lo encontrado en Perú por Ratto et al. (1997), donde se obtuvo una prevalencia del 34% para 50 muestras de agua de bebida analizadas utilizando el mismo método. Los colifagos pueden ser encontrados en cualquier lugar donde ocurre contaminación fecal inclusive en los cuerpos de agua (D'Herelle, citado por International Development Research Centre, 1997); por esta razón ambos estudios demuestran la presencia de contaminación fecal en los suministros, pero la mayor prevalencia en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña se debe a las condiciones topográficas, demográficas, climatológicas, económicas y culturales propias de esta zona, así como el tipo y tiempo de creado del acueducto, el cual no se hallaba en muy buen estado. De igual manera Suan (1997) en un estudio realizado en 1000 muestras de agua en Malasia, Singapur y Tailandia, encontró una prevalencia del 22% en aguas de grifo utilizando el mismo método, lo que también difiere de los hallazgos reportados en este trabajo.

Por otra parte, en el presente estudio se encontró que el rango del recuento de colifagos resultó alto (0-95 PFU/100 ml); Castillo et al. (1997) encontró para 43 muestras analizadas en un suministro de agua rural en Chile, un rango de colifagos de 10-115 PFU/100 ml mediante el método ARCAT. Basados en la incidencia y comportamiento de los colifagos y virus entéricos en fuentes de agua cruda, en varios tratamientos y procesos de desinfección y suministros finales, se propuso un límite permitido de colifagos de 0/100 ml de agua para aguas de bebida (Grabow et al. citado por Dutka, 1997). Este reporte es importante porque

indica que ambos suministros presentan problemas en la calidad del agua puesto que el recuento de colifagos supera en gran medida el límite establecido.

Los altos recuentos de colifagos obtenidos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña podrían estar relacionados con factores como la presencia de asentamientos humanos en el sector y el desarrollo de actividades pecuarias cercanas a las quebradas la Matilde y Portugal que abastecen en parte al acueducto. Los colifagos son habitantes ubicuos del tracto intestinal de humanos y de otros animales de sangre caliente, por lo cual pueden contaminar las fuentes de agua potable al ser vertidos junto con las descargas fecales a las aguas superficiales o al suelo (Rodier, 1990); de igual manera pueden influir otros factores que limitan los procesos de autodepuración de la corriente de agua. Cuando un agua residual es vertida a un curso de agua se provoca una perturbación general en el ecosistema a lo que la naturaleza responde mediante una serie de procesos que procuran recuperar su equilibrio ecológico inicial. (Seoanez, 1999).

Dentro de los factores limitantes se encuentran: abastecimiento insuficiente de oxígeno atmosférico (deforestación, falta de aportes de efluentes no contaminados y de aguas de lluvia), la falta de tiempo y distancia necesarios para completar el proceso y principalmente, de si se descarga o no una contaminación adicional durante el curso de la fuente (Nueva York. Departamento de Sanidad, 1994).

En cuanto a la relación encontrada entre el alto recuento de colifagos con respecto a las variaciones climatológicas de la zona se observó que la media de los recuentos más altos (55; 58,3; 85; 48,3; 92,5 PFU/100 ml) correspondieron a los días 3,4,7,11 y 12 del muestreo donde hubo lluvia (9;10;17;2;33 mm

respectivamente, tabla 3); estas precipitaciones representaron el 54,1% del total de mm de lluvia durante el período de estudio; estos datos sugieren que las precipitaciones podrían afectar la recuperación de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña debido a que estos microorganismos se concentran en las profundidades de los cuerpos de agua asociados mediante puentes de cationes o fuerzas de Van der Waals (Carlson et al,

Schaub et al. citados por Virginia Polytechnic Institute and State University, 1999) a partículas sólidas como barro o material orgánico coloidal, limo, arena y a algunos cationes bivalentes principalmente calcio y magnesio que llevan a su acumulación y sedimentación (Bitton, citado por Suan, 1997 y Oghaki et al, citado por Castillo, 1997); así las lluvias por un lado al aumentar el caudal de las fuentes de agua remueven el fondo

Tabla 3. Recuento de colifagos por sector respecto a la pluviosidad / día

N° orden	Día de muestreo	Pluviosidad día	Recuento de colifagos día	Recuento de colifagos por sector			
				La Pava	El Chuzo	La Cabaña	La Playa
1	m 23 oct.	0	53,3	50	30	55- 80-50-55	
2	j 25 oct.	0	33,3	20	30 - 10 - 25	70 - 45	
3	m 30 oct.	9	55	60	35	65	45 - 75 - 50
4	j 1 nov.	10	58,3	70 - 50	40 - 40	90 - 60	
5	m 6 nov.	0	20	5	15	0	30 - 15 - 55
6	j 8 nov.	0	20,8		10	10 - 50 - 35	0 - 20
7	m 13 nov.	17	85	80 - 85		85 - 95 - 75	90
8	j 15 nov.	0	37,5	15 - 25		45-5 - 70 - 65	
9	m 20 nov.	0	14,1	20 - 30 - 5	15	5 - 10	
10	j 22 nov.	0	52,5	40	25	80 - 75	40 - 55
11	m 27 nov.	2	48,3	45 - 45 - 30	30	75	65
12	j 29 nov.	33	92,5	95		90	
	TOTAL	131 mm	44,9	☒ 43	☒ 25	☒ 55	☒ 45

mediante mezcla vertical lo que incrementa el arrastre de partículas (Suan, 1997); y por otro lado, cuando las precipitaciones inciden sobre la superficie terrestre pueden llevar consigo partículas sólidas y descargas fecales hacia el interior del suelo y hacia los cursos de agua mediante los procesos de percolación y escorrentía (Marin, 1992; Remenieras, 1971). De esta manera las precipitaciones alteran las características físicoquímicas del agua, principalmente la turbidez, lo que podría asociarse al incremento en el recuento de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña.

Con relación a la diferencia en el recuento de colifagos entre los sectores La Cabaña (☒= 55) y El chuzo (☒ = 25), ésta podría estar asociada a la metodología utilizada en este estudio, ya que el muestreo se realizó en forma aleatoria de mayores precipitaciones (día 7 y 12) mientras que en el sector La Cabaña se tomaron muestras todos los días del período de estudio (tabla 3). Esta diferencia de los recuentos entre los sectores podría deberse también a la acción de procesos de infiltración de aguas contaminadas hacia las líneas de distribución en mal estado o con conexiones defectuosas en el sector La Cabaña.

Algunos estudios sobre procesos de infiltración han sido descritos por Seoanez (1999).

En lo referente a la cantidad de bacterias coliformes en el agua, con base en la detección de colifagos mediante el método ARCAT, se determinó la presencia de coliformes totales y fecales en 66 de las 68 muestras analizadas (97%), este dato indica que la contaminación del agua del acueducto de la vereda La Cabaña es alta; por lo tanto no cumple con los parámetros establecidos para estos microorganismos según el artículo 25 del decreto 475 del 10 de marzo de 1998 por el cual se expiden normas técnicas de calidad del agua potable en la República de Colombia que dice "El agua para consumo humano debe cumplir con los siguientes valores admisibles desde el punto de vista microbiológico." (Tabla 4) En vista de que el aislamiento de colifagos indica la presencia de contaminación fecal en el agua, el hallazgo de éstos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña representa un riesgo inminente para la salud de la población humana y animal de esta zona, según lo expresa Puig (1999), el agua puede ser un vector de microorganismos patógenos. Su control con indicadores bacterianos de contaminación fecal se ha mostrado insuficiente para determinar otros parámetros microbiológicos como parásitos y virus. Los colifagos se han sugerido como los mejores indicadores de enterovirus, ya que ellos son eliminados a niveles comparables con estos durante los procesos de tratamiento, además muestran similitud con los enterovirus con respecto a la variación estacional, resistencia al estrés medioambiental y a la cloración (Kott et al, Simkova and Cervenka, Setler, citados por International Development Research Centre,

1997), así el hallazgo de colifagos en aguas de bebida con o sin presencia de coliformes, sugiere que los enterovirus pueden también sobrevivir al tratamiento normal y procesos de desinfección (Havelar, citado por Dutka,1997).

Según ASSBASALUD, la población de la vereda La Cabaña del Municipio de Manizales ha presentado enfermedades infecciosas como Enfermedad Diarreica Aguda y Hepatitis A, entidades que podrían estar asociadas al consumo de agua del acueducto local (COLOMBIA. Sistema Nacional de Salud, 1999).

CONCLUSIONES

1. Por medio del presente trabajo se determinó que la prevalencia de colifagos en el agua del acueducto de la vereda la Cabaña es alta; encontrando reactores positivos en los cuatro sectores que comprendió el estudio.
2. El sector de La Cabaña presentó el recuento de colifagos más alto con respecto a los otros tres sectores.
3. Cabe resaltar que las precipitaciones constituyen uno de los factores que más podría incidir en el recuento de colifagos en el agua del acueducto de la vereda La Cabaña.
4. La mayor parte de las muestras analizadas presentaron recuento de colifagos, coliformes totales y coliformes fecales por encima de los parámetros establecidos para estos microorganismos, lo que significa que el agua de este acueducto no es apta para el consumo

Tabla 4. Valores permitidos para microorganismos indicadores en aguas de consumo humano.

TÉCNICA UTILIZADA MICROORGANISMOS INDICADORES	FILTRACIÓN POR MEMBRANA	SUSTRATO DEFINIDO	TUBOS MÚLTIPLES DE FERMENTACIÓN. "ACEPTABLE HASTA EL AÑO 2000"
COLIFORMES TOTALES	0 UFC/100 CM3	0 MICROORGANISMOS /100 CM3	<2 MICROORGANISMOS /100 CM3
Escherichia coli	0 UFC/100 CM3	0 MICROORGANISMOS /100 CM3	NEGATIVO

humano y animal, representando un riesgo potencial para los usuarios del servicio.

generadas por la población humana y la actividad agropecuaria. El cobro de la tasa retributiva podría resolver en parte esta situación.

RECOMENDACIONES

· De acuerdo con los resultados obtenidos, se sugiere adoptar medidas tendientes a mejorar los programas de monitoreo de la calidad microbiológica del agua mediante la implementación del método de detección de colifagos (ARCAT) como una prueba complementaria a los métodos convencionales utilizados en nuestro medio.

· Con el fin de disminuir la contaminación en las quebradas que surten al acueducto de la vereda La Cabaña, se hace necesario poner en conocimiento y alertar a las autoridades competentes como la Corporación Autónoma Regional de Caldas CORPOCALDAS, acerca de los resultados del presente trabajo con el fin de disminuir las descargas contaminantes sobre los recursos hídricos de esta zona

· Los resultados generados en este trabajo podrán ser adoptados por el Plan de Ordenamiento Territorial P.O.T. 2000-2008 del municipio de Manizales, para mejorar las condiciones de operación de los acueductos rurales.

· Se recomienda a las corporaciones regionales autónomas la utilización del método de detección de colifagos para establecer un esquema de clasificación y priorización de las fuentes de agua en el país, de acuerdo a los niveles de contaminación que éstas presenten.

· Es conveniente realizar estudios complementarios con el fin de determinar si factores tales como la calidad física y química del agua podrían influir en la persistencia de colifagos.

BIBLIOGRAFÍA

1. CASTILLO, G; THIERS, R and CASTILLO, J. Evaluation of the Coliphage Procedure and Presence / Absence Test as Simple Rapid Economical Methods for Screening Potable Water Source and Potable Water Supplies in Chile [online]. [Ottawa, Canadá]: International Development Research Centre (IDRC), 1997. rev. 10 november 1998. Available: reference@idrc.ca
2. CLESCERI, Lenore et al. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales: examen microbiológico de las aguas. España : Díaz de Santos, 1992. p. 1.33-1.47, 9.1-9.53.
3. COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Decreto 475 del 10 de marzo de 1998 : artículo 25. Bogotá: El ministerio, 1998. p. 11.
4. COLOMBIA. SISTEMA NACIONAL DE SALUD. Subsistema de información: enfermedades transmisibles de notificación obligatoria. Manizales: El sistema, 1991.

5. COLOMBIA. CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DE CALDAS (CORPOCALDAS). Tasa retributiva por contaminación del agua: decreto No 901 abril de 1997. Bogotá: La corporación, 1997. p. 5-33.
6. DANIEL, Wayne. Bioestadística: determinación del tamaño de la muestra para la estimación de proporciones. México: Noriega, 2000. p. 205-207.
7. DURAN, Ana et al. Utilidad de diferentes grupos de bacteriófagos como microorganismos modelo en el seguimiento de los procesos de tratamientos y de inactivación natural en el agua [en línea]. [Barcelona, España]: Universidad de Barcelona [citado en 21 de noviembre de 1999]. Disponible en Internet: aduran@porthos.bio.ub.es
8. DUTKA, B. Review of the Idrc Project to Evaluate Four Simple, Inexpensible Microbial Water Quality Testing Procedures [online]. [Ottawa, Canadá]: Internacional Development Research Centre (IDRC), 1997. rev. November 1998. Available: reference@idrc.ca.
9. ESTADOS UNIDOS. WORLD RESOURCES. Políticas de abastecimiento de agua que reflejan los principios del desarrollo sostenible: la importancia económica de los recursos hídricos. Nueva York: Basic Books, 1987. p. 22-24.
10. MANIZALES. SECRETARIA DE PLANEACION MUNICIPAL. Plan de Ordenamiento Territorial (POT): estructura urbano rural e intraurbana. Manizales: La secretaría, 2000-2008. p. 15-38.
11. MARIN, Rodrigo. Estadísticas sobre el recurso agua en Colombia: La escorrentía. Bogotá, Colombia: Intituto Colombiano de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras (HIMAT), 1992. p. 49, 297 – 401. NUEVA YORK. DEPARTAMENTO DE SANIDAD. Manual de tratamiento de aguas negras: autopurificación. México: Limusa, 1994. p. 34-36.
12. PEDROSO, D and MARTINS, M. Ultra – morphology of coliphages isolated from water. En: Elsevier Science. Vol. 29, No 4 (1995); p. 1199-1202.
13. PUIG, Anna et al. Detección de Fagos de *B. fragilis* con la Cepa RYC2056 en comparación con la Cepa HSP40 [en línea] [Barcelona, España]: Universidad de Barcelona, [citado en 21 de noviembre de 1999]. Disponible en Internet: <http://morgat.udg.es/samagua/puig2html>
14. RATTO, María et al. Evaluation of the Coliphage Procedure and the Presence Absence Test as Simple, Rapid Economical Methods for Screening Potable Water Source and Potable Water Supplies in Perú [online]. [Ottawa, Canadá] : Interna-

- tional Development Research Centre (IDRC), 1997. rev. 10 november 1998. Available: reference@idrc.ca.
15. REMENIERAS, G. Tratado de hidrología aplicada: la importancia de la infiltración en el proceso del escurrimiento. Barcelona, España: Técnicos asociados, 1971. p. 392 – 398.
 16. RODIER, J. Análisis de las aguas: Investigación de los bacteriófagos. Barcelona, España: Omega, 1990. p. 728-732.
 17. SANTA, Jorge. Lluvia diaria en milímetros: subestación Manizales. Manizales, Colombia : Central Hidroeléctrica de Caldas (CHEC), 2001. p. 1.
 18. SEOANEZ, Mariano. Aguas residuales urbanas: mecanismos del medio natural para el uso y tratamiento de las aguas residuales urbanas. 2 ed. Barcelona, España : Mundi – Prensa, 1999. p. 30-36, 75-101.
 19. SUAN, Sim. Evaluation of the Coliphage Detection Method for Southeast Asian Water Quality Control [online]. [Ottawa, Canadá]: International Development Research Centre (IDRC), 1997. rev. 10 november 1998. Available: reference@idrc.ca.
 20. VIRGINIA POLYTECHNIC INSTITUTE AND STATE UNIVERSITY. Comparison of Coliphage and Coliforms as Indicators of Fecal Pollution in Potable and Nonpotable Water [online]. [Virginia, United States] [cited 15 november 1999]. rev. 6 september 1998. Available: URL <http://fbox.vt.edu:10021/cals/cses/reneau/projects/comp.html>.