

# Análisis de coliformes y bacterias reductoras de sulfato en reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, Atlántico, Colombia

Analysis of coliforms and sulfate-reducing bacteria in reservoirs aquifer of Corrales de San Luis Beltran, Atlantico, Colombia

Ángela M. Sánchez-Salazar PhD<sup>1</sup>, Jorge W. Arboleda-Valencia PhD<sup>2</sup>,  
Héctor F. Rivera-Gutiérrez PhD<sup>3</sup>, Roger H. Valle-Molinares PhD<sup>4</sup>

**Introducción:** La verificación y seguimiento de la presencia de microorganismos indicadores de la calidad del agua es imprescindible debido al riesgo que representan para la población que la utiliza para consumo, recreación o deporte. Los reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, Atlántico, Colombia, son fuente de sustento de las comunidades campesinas adedañas, animales y plantas de la reserva; sin embargo, su calidad microbiológica no ha sido estudiada. **Objetivo:** Evaluar la calidad sanitaria del agua de reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán. **Materiales y métodos:** Se realizaron muestreos de aguas superficiales y sedimento de reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, y se midieron in situ algunos parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH, y oxígeno disuelto), y la calidad microbiológica (coliformes totales, coliformes fecales y bacterias reductoras de sulfato). **Resultados:** Se presentaron concentraciones bajas de oxígeno disuelto (2,71 mg/L), temperatura promedio de 26 °C y pH ligeramente básico (8,1). Los coliformes totales oscilaron entre  $1,0 \times 10^4$  y  $1,3 \times 10^7$  UFC/100 mL y los fecales entre 0 y  $1,3 \times 10^5$  UFC/100 mL. Se encontró una correlación negativa entre el pH y los coliformes totales, y entre el oxígeno disuelto y los coliformes fecales; y una correlación positiva entre los coliformes fecales y la temperatura. Los recuentos de bacterias reductoras de sulfato fueron superiores a  $10^3$  UFC/100 g. **Conclusiones:** La comparación de los resultados obtenidos con la normatividad ambiental mostró un deterioro de la calidad sanitaria del agua del sitio muestreado, lo que hace necesario implementar políticas de manejo ambiental en esta región.

**Palabras claves:** Bacterias reductoras del azufre, coliformes, calidad del agua.

**Introduction:** The verification and monitoring of indicator microorganisms of water quality is essential. A low water quality may represent a risk for human health, because human populations frequently use it for consumption, recreation, or sport. Water reservoirs situated in Corrales de San Luis Beltran, Atlantico, Colombia, are source of sustenance to local peasant communities, animals, and plants around the village. However, the microbiological quality has not been established. **Objective:** To assess the sanitary water quality from Corrales de San Luis Beltran. **Materials and methods:** Surface water and sediment were sampled and some physicochemical parameters (temperature, pH, and dissolved oxygen), and the microbiological quality (total coliforms, fecal coliforms, and sulfate-reducing bacteria) were measured in situ. **Results:** The analysis showed low dissolved oxygen levels (2,71 mg/L), an ave-

<sup>1</sup> Bióloga, estudiante de Doctorado, Grupo de Investigación Genómica Evolutiva, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo, PhD en Ciencias Biológicas. Profesor asociado Grupo de Investigación Biodiversidad del Caribe Colombiano, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Atlántico. Barranquilla, Colombia. e-mail: jorgearboleda@mail.uniatlantico.edu.co

<sup>3</sup> Biólogo, MSc en Ecología, PhD en Biología. Profesor asistente Grupo Ecología y Evolución de Vertebrados, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Licenciado en Biología y Química, MSc en Ciencias Biológicas, estudiante de Doctorado, Profesor Grupo de Investigación Biodiversidad del Caribe Colombiano, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Atlántico. Barranquilla, Colombia.

Conflicto de intereses: los autores declaran que no tienen conflicto de intereses  
Medicina & Laboratorio 2014; 20: 453-466

Módulo 19 (Investigación), número 27. Editora Médica Colombiana S.A. 2014<sup>©</sup>  
Recibido el 09 de octubre de 2014; aceptado el 30 de octubre de 2014

rage temperature of 26 °C and a slightly basic pH (8,1). Total coliform counts ranged from  $1,0 \times 10^4$  and  $1,3 \times 10^7$  CFU/100 mL and fecal coliform between 0 and  $1,3 \times 10^5$  CFU/100 g. A negative correlation occurred between pH and total coliform as well as between dissolved oxygen and fecal coliforms. In addition, a positive correlation occurred between fecal coliform and temperature. The number of sulfate-reducing bacteria was more than  $10^3$  CFU/100 mL. **Conclusion:** The comparison of results of this work with current environmental standards showed a poor water quality at the sampling site. Therefore, it is necessary to develop an environmental management in this region.

**Key words:** Sulfur-reducing bacteria, coliforms, water quality.

**Sánchez-Salazar AM, Arboleda-Valencia JW, Rivera-Gutiérrez HF; Valle-Molinares RH.** Análisis de coliformes y bacterias reductoras de sulfato en reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, Atlántico, Colombia. *Medicina & Laboratorio* 2014; 20: 453-466.

Uno de los grandes desafíos de la humanidad ha sido el establecimiento de medidas de control y seguimiento de los agentes patógenos presentes en las diferentes fuentes de agua, las cuales son comúnmente utilizadas para el suministro de este recurso y constituyen la base del asentamiento humano. Los controles sobre la calidad del agua deben ser incrementados cuando su suministro tiene como destino las plantas de almacenamiento o el consumo directo, de forma que se disminuyan los riesgos para la salud de las poblaciones beneficiadas [1,2]. En los países en desarrollo aproximadamente el 80% de todas las enfermedades son causadas por el uso y consumo de agua contaminada [3], siendo los infantes, los jóvenes, los ancianos y las personas inmunocomprometidas la población más susceptible [1,2].

Las bacterias, protozoos parásitos y virus, entre otros, representan los principales agentes contaminantes del agua causantes de enfermedades infecciosas o de efectos sobre la salud humana [1,2,4,5]. La ingestión, inhalación o contacto directo con estos patógenos puede causar infecciones gastrointestinales, respiratorias y cutáneas, lo que obliga a realizar diferentes tratamientos que los reduzcan o eliminen del agua antes de su uso. Además, se consideran otras fuentes de transmisión de estos microorganismos los alimentos contaminados y las manos, los utensilios y la ropa de las personas infectadas [1].

Las bacterias son quizás el grupo más importante de microorganismos indicadores de la contaminación del agua; algunas de ellas potencialmente patógenas. Los microorganismos indicadores más empleados son los coliformes, cuya presencia en cuerpos de agua indica que la contaminación proviene de desechos de origen animal o humano [6]. Al grupo de coliformes pertenecen las enterobacterias de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, y otros, caracterizados por ser bacilos, Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos y fermentadores de lactosa con producción de gas (37 °C) [1,4,7]. Sin embargo, no todas las especies de coliformes son de origen fecal y, en su lugar, pueden encontrarse como saprófitos en el suelo y algunos medios acuáticos. Los coliformes fecales son un subgrupo de los coliformes termotolerantes (fermentan la lactosa con producción de gas a más de 44 °C), que son de origen intestinal y potencialmente patógenos en el humano [1].

Entre los patógenos de importancia clínica con mayor relevancia en la contaminación del agua se destaca *Escherichia coli*, la principal bacteria del grupo de los coliformes fecales, la cual es actualmente el indicador de contaminación de origen fecal más usado en los estudios de calidad sanitaria del agua. Tras su ingestión, *Escherichia coli* puede causar en el humano a corto plazo enfermedades gastrointestinales con síntomas como diarrea, náuseas y calambres, entre otros [1,4]. Otros microorganismos directamente asociados a la materia orgánica y a su

acumulación en el sedimento de las aguas, como *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp. y las bacterias reductoras de sulfato, desempeñan un papel importante en los procesos de eutrofización de los ecosistemas acuáticos y en algunas ocasiones se asocian a procesos infecciosos en los humanos [8,9].

La contaminación microbiológica de las aguas subterráneas resulta ser poco conocida en comparación con la de las aguas superficiales; sin embargo, evaluar su calidad es importante teniendo en cuenta que representan una fuente valiosa de almacenamiento y reserva de agua para las poblaciones [10-12]. Los reservorios acuíferos del departamento del Atlántico, Colombia, han sido poco estudiados, debido probablemente al desconocimiento de la importancia de los bienes y servicios ambientales que prestan, entre ellos, ser fuentes de agua de uso para la agricultura, la piscicultura y, en muchos casos, para el consumo humano [13]. Bajo este contexto el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad sanitaria de los balnearios «El Chorro» y «Los Mangos» ubicados en el corregimiento de Corrales de San Luis Beltrán, uno de los más importantes del departamento del Atlántico, Colombia, el cual posee en su territorio importantes valores paisajísticos y culturales que lo hacen atractivo para los turistas.

## Materiales y métodos

### Localización

Corrales de San Luis Beltrán es un corregimiento ubicado en el municipio de Tubará, bajo la jurisdicción del departamento del Atlántico, Colombia, a una distancia de 27 kilómetros de la capital, Barranquilla, en las coordenadas  $10^{\circ}53'47,08''\text{N}$  y  $75^{\circ}00'06''\text{O}$ , con un área total de 176 km<sup>2</sup> y una altura de 280 m.s.n.m (ver figura 1).

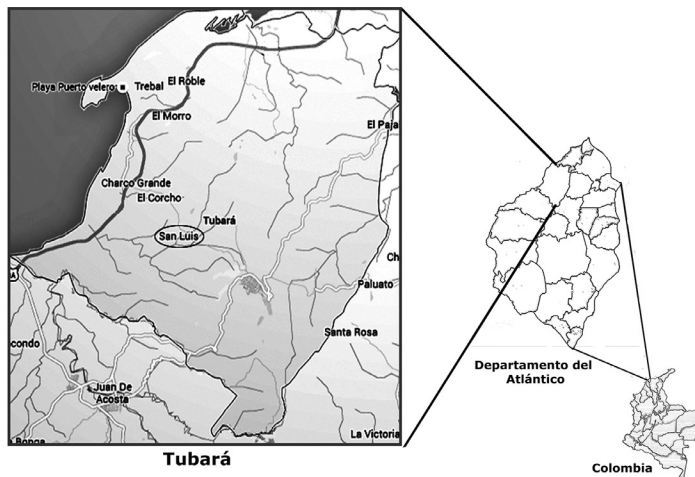


Figura 1. Ubicación geográfica del municipio de Tubará en el departamento del Atlántico, Colombia.

### Estaciones de muestreo

Se seleccionaron como estaciones de muestreo aquellas que representaban los lugares de mayor importancia turística en el corregimiento de Corrales de San Luis Beltrán. En total se establecieron cuatro estaciones de muestreo. Dos estaciones se ubicaron en el sitio conocido

como «Los Mangos», que consta de aproximadamente 1 - 2 m de profundidad, dependiendo de la temporada (lluvia o sequía), con fondo conformado por rocas cubiertas en su mayoría de sedimento arenoso o gravoso. En sus alrededores se observan rocas con un recubrimiento viscoso de color anaranjado (tipo ferroso) del cual sale el agua que llega al reservorio. Las otras dos estaciones se localizaron en el sitio denominado «El Chorro», con una profundidad de aproximadamente 3 – 4 m, el cual representa el principal reservorio de agua del lugar, presenta corriente de aguas fuertes y constantes independientemente de la temporada (lluvia o sequía). Así mismo, constituye el principal balneario visitado por turistas de los corregimientos aledaños y el hábitat de murciélagos que se resguardan por las noches. En ambos sitios se recolectaron muestras de aguas superficiales o sedimentos a las cuales se les realizaron diferentes análisis fisicoquímicos y biológicos como se describe en la [tabla 1](#).

**Tabla 1. Resumen de análisis de las estaciones de muestreo de Corrales de San Luis Beltrán**

Estación de muestreo	Parámetros fisicoquímicos ( <i>in situ</i> )	Parámetros biológicos	Técnica de medición de parámetros biológicos	Tipo de muestra
Estación 1. Los Mangos	Temperatura pH Oxígeno disuelto	Coliformes fecales Coliformes totales	Técnica de filtración por membrana	Agua superficial Sedimento
Estación 2. El Chorro	Temperatura pH Oxígeno disuelto	Coliformes fecales Coliformes totales	Técnica de filtración por membrana	Agua superficial*
Estación 3. Los Mangos	No determinado	Bacterias reductoras de sulfato	Prueba de Sani-Check SRB®	Sedimento
Estación 4. El Chorro	No determinado	Bacterias reductoras de sulfato	Prueba de Sani-Check SRB®	Sedimento

\*En esta estación el acuífero presentaba un lecho rocoso, por tal razón no se tomaron muestras de sedimento

## Épocas de muestreo y técnicas

Se realizaron cinco muestreos de agua superficial y de sedimento en cada estación durante los meses de diciembre de 2013 y enero de 2014, época de mayor afluencia de turistas. En el momento de la toma de las muestras se determinaron *in situ* los parámetros fisicoquímicos de temperatura y pH usando un pHmetro HANNA-HI8314 (Hanna Instruments, Rhode Island, Estados Unidos), y de oxígeno disuelto con un oxímetro HANNA HI9142 (Hanna Instruments, Rhode Island, Estados Unidos). Las muestras de aguas superficiales se tomaron aproximadamente a 20 cm de profundidad, en botellas de vidrio estériles de 100 mL, según la técnica recomendada por la Organización Mundial de la Salud / Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (1996) [14]. Las muestras se transportaron inmediatamente al Laboratorio de Biología Molecular y Bioprospección de la Universidad del Atlántico y se procesaron antes de 12 horas, de acuerdo con lo recomendado en la Norma Técnica Colombiana NTC-ISO 5667-3 [15]. Para el análisis de sedimento se tomaron 100 g en frascos previamente esterilizados, con la ayuda de un nucleador de polivinilo y con una espátula estéril, y se trasladaron al laboratorio para los análisis correspondientes.

## Métodos analíticos para la detección de coliformes totales, coliformes fecales y bacterias reductoras de sulfato

El recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) de los coliformes totales y los coliformes fecales se determinó usando la técnica de filtración por membrana recomendada en los métodos estándares para el análisis de aguas y aguas residuales [16]. Para esto, se realizaron diluciones seriadas de cada muestra tomando 1 g de sedimento o 1 mL de agua superficial, según el caso, el cual se resuspendió en 9 mL de agua peptonada al 0,1% para obtener la primera dilución ( $10^{-1}$ ), y así sucesivamente hasta alcanzar la dilución  $10^{-6}$ . Cada dilución de agua y sedimento se filtró a través de filtros de nitrocelulosa estériles (47 mm de diámetro, poro de  $0,45 \mu\text{m}$ ) de forma independiente y por duplicado.

Los filtros correspondientes a las diluciones  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$  se depositaron en cajas de Petri con agar Endo, un medio selectivo para coliformes, y se incubaron durante 24 horas a  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  para el aislamiento de los totales y a  $44 \text{ }^{\circ}\text{C}$  para los fecales. Posteriormente, las colonias de color rojo o brillo metálico se aislaron en tubos con agar nutritivo y, a partir de éstas, se realizó la coloración de Gram y las pruebas bioquímicas de IMViC (indol, rojo de metilo, Voges Proskauer y citrato) para su confirmación. Los recuentos de los coliformes totales y fecales se compararon con los valores límites establecidos por el Decreto 1594 de 1984 de la República de Colombia, en el que se reglamenta los usos y disposiciones del agua y los residuos líquidos [17].

Para el recuento de las bacterias reductoras de sulfato en los sedimentos se aplicó la prueba Sani-Check SRB® (Biosan Laboratories, Inc., Michigan, Estados Unidos) y se compararon los resultados obtenidos con los referenciados. Esta prueba contiene tubos con medios de cultivo específicos que promueven el crecimiento de las bacterias reductoras de sulfato, las cuales reducen el sulfato presente en el medio a sulfuro, formando un precipitado negro. El grado en que el medio se ennegrece, junto al tiempo que se tarda en cambiar de color, permite estimar el recuento de estas bacterias [18], principalmente de los géneros *Desulfovibrio* y *Desulfotomaculum* [19].

## Análisis estadístico

Se aplicó estadística descriptiva básica para la medición de la media, la desviación estándar y los números máximos y mínimos de las unidades formadoras de colonias (UFC) de coliformes totales y fecales en cada punto de muestreo. Se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogórov-Smirnov y, dado que no se ajustaban a una distribución normal, se analizaron con la prueba Kruskal-Wallis para muestras independientes no paramétricas para comparar las medianas de los recuentos.

Además, se realizó un análisis de correlación no paramétrico para determinar las posibles relaciones entre los parámetros fisicoquímicos medidos y las UFC/100 mL de los coliformes totales y los coliformes fecales. Por último, se realizó un análisis discriminante para evaluar si las localidades «El Chorro» y «Los Mangos» podrían diferenciarse en cuanto a la forma en que las variables ambientales afectaban la concentración de coliformes fecales y totales. Los análisis se realizaron con el programa SPSS Statistics V. 20 para Mac (IBM, Illinois, Estados Unidos), con un nivel de significancia del 5%, y las gráficas con SigmaPlot v. 8.02 para Windows (Systat Software Inc., Illinois, Estados Unidos).

## Resultados

### Muestras y variables ambientales

Los valores de temperatura, pH y oxígeno disuelto encontrados en los sitios de muestreo se especifican en la [tabla 2](#). Las variaciones observadas entre las estaciones de «Los Mangos» y «El Chorro» no fueron significativas para ninguna de estas variables ( $p>0,05$ ).

**Tabla 2. Consolidado de los resultados de las variables ambientales medidas *in situ* en cada estación**

Estación de muestreo	Coordenadas	n	Temperatura (°C)			pH			Oxígeno disuelto (% de saturación)		
			X	Min	Max	X	Min	Max	X	Min	Max
Estación 1. Los Mangos (agua superficial)	10°53'14,01''	5	26,3	25,9	26,9	7,8	7,8	8,0	28	27	30
Estación 1. Los Mangos (sedimento)	10°53'14,01''	5	26,3	25,9	26,9	7,8	7,8	8,0	28	27	30
Estación 2. El Chorro	10°53'51,10''	5	25,4	24,8	25,2	8,1	8,1	8,3	29	28	30
Estación 3. Los Mangos	10°53'18,01''	5	26,3	25,9	26,9	7,8	7,8	8,0	28	27	30
Estación 4. El Chorro	10°53'53,10''	5	25,4	24,8	25,2	8,1	8,1	8,3	29	28	30

### Coliformes totales

En la estación «Los Mangos» el valor más alto de coliformes totales en las muestras de sedimento se obtuvo en el cuarto muestreo con  $1,4 \times 10^6$  UFC/100 g, y el valor mínimo en el segundo muestreo con  $5,0 \times 10^4$  UFC/100 g. Por su parte, en las muestras de agua superficial de esta misma estación se encontraron los recuentos más altos de coliformes totales en el primer muestreo con  $5,6 \times 10^5$  UFC/100 mL y el valor más bajo en el segundo muestreo con  $1,9 \times 10^5$  UFC/100 mL. En la estación de «El Chorro» los recuentos máximo y mínimo se registraron durante el primer y cuarto muestreo de agua superficial con  $1,3 \times 10^7$  UFC/100 mL y  $1,0 \times 10^4$  UFC/100 mL, respectivamente (ver [tabla 3](#)). El valor promedio de unidades formadoras de colonia (UFC) de coliformes totales para cada estación de muestreo estuvo por encima del límite establecido por el Decreto 1594 de 1984 de la República de Colombia ( $1,0 \times 10^3$  UFC/100 mL) [17]. A partir de las pruebas IMViC los aislamientos de coliformes totales se identificaron como *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Edwardsiella tarda* y *Escherichia coli*.

El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en el recuento de coliformes totales entre las estaciones «El Chorro» y «El Mango» (Kruskal-Wallis  $X^2= 4,95$ ;  $p=0,084$ ) (ver [figura 2](#)). Por su parte, la media de los recuentos de los coliformes totales para las cuatro estaciones durante los cinco muestreos no presentó relación con las variables ambientales de temperatura y oxígeno disuelto; sin embargo, está negativamente relacionada con el potencial de hidrógeno (pH) (ver [tabla 4](#)).

### Coliformes fecales

En las muestras de agua superficial de la estación «Los Mangos» no se aislaron coliformes fecales en el primer muestreo; mientras que los recuentos más altos se registraron en el cuarto muestreo con  $1,3 \times 10^5$  UFC/100 mL. Por otro lado, en las muestras de sedimento de esta misma

estación se registró el recuento más alto en el primer muestreo con  $2,0 \times 10^4$  UFC/100 g y en el segundo y cuarto muestreo no se encontraron coliformes fecales. En la estación «El Chorro» la densidad de coliformes fecales más alta se encontró en el quinto muestreo con  $1,0 \times 10^4$  UFC/100 mL; sin embargo, este valor fue menor respecto a las concentraciones más altas registradas en «Los Mangos» en las muestras de agua superficial. Por su parte, en los muestreos uno y tres no se aislaron coliformes fecales (ver [tabla 5](#)). El valor promedio de todos los recuentos de coliformes fecales fue mucho mayor al límite máximo permitido por el Decreto 1594 de 1984 de la República de Colombia ( $2,0 \times 10^2$  UFC/100 mL) [17].

**Tabla 3. Valores promedio de coliformes totales (UFC/100 mL de agua superficial o UFC/100 g de sedimento) en las estaciones de muestreo**

Estación de muestreo	N.º de muestreo	UFC/100 mL o UFC/100 g	Promedio	Mínimo	Máximo
Estación 1. Los Mangos (agua superficial)	1	$5,6 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	$5,6 \times 10^5$
	2	$1,9 \times 10^5$			
	3	$2,4 \times 10^5$			
	4	$4,8 \times 10^5$			
	5	$4,7 \times 10^5$			
Estación 1. Los Mangos (sedimento)	1	$3,6 \times 10^5$	$4,4 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^6$
	2	$6,5 \times 10^4$			
	3	$5,0 \times 10^4$			
	4	$1,4 \times 10^6$			
	5	$3,4 \times 10^5$			
Estación 2. El Chorro	1	$1,3 \times 10^7$	$2,8 \times 10^6$	$1,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^7$
	2	$5,0 \times 10^5$			
	3	$3,0 \times 10^5$			
	4	$1,0 \times 10^4$			
	5	$6,0 \times 10^4$			

La media del recuento de los coliformes fecales para todas las estaciones durante los cinco muestreos mostró una correlación positiva con la temperatura y una correlación negativa con el oxígeno disuelto (ver [tabla 4](#) y [figura 3](#)). El número de unidades formadoras de colonia (UFC) de los coliformes fecales fue significativamente diferente entre las estaciones (Kruskal-Wallis  $X^2=15,82$ ;  $p < 0,001$ ), siendo la localidad de «Los Mangos» significativamente diferente de la de «El Chorro» ( $p=0,0001$ ) y del sedimento de «Los Mangos» ( $p=0,0119$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la localidad «El Chorro» y el sedimento de «Los Mangos» ( $p=0,1808$ ) (ver [figura 2](#)). Por otra parte, el análisis discriminante indicó que las localidades «El Chorro» y «Los Mangos» presentan diferencias en las variables ambientales y el número de UFC de coliformes fecales. La función explica el 100% de la variación, con un coeficiente de correlación  $R=0,99$ ;  $p < 0,001$ .

## Bacterias reductoras de sulfato

Los resultados en las concentraciones de las bacterias reductoras de sulfato en los sedimentos de ambas estaciones revelaron concentraciones máximas mayores o iguales a  $10^4$  UFC/100 g y una concentración mínimo de más de  $10^3$  UFC/100 g.

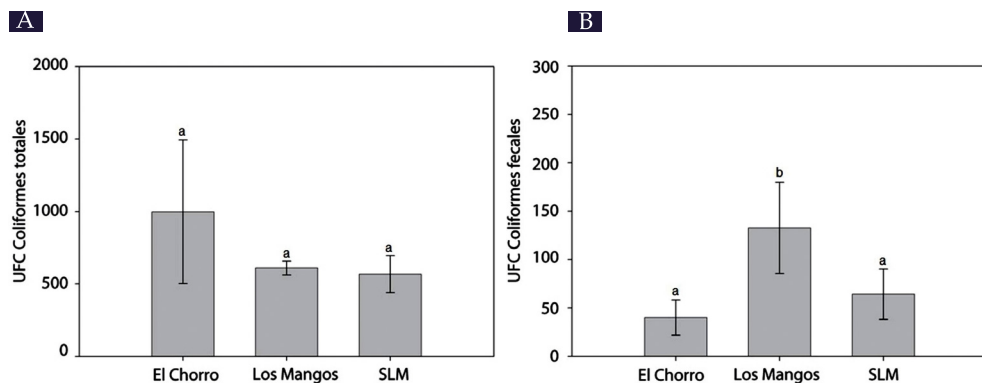


Figura 2. Número promedio de unidades formadoras de colonia (UFC) de coliformes totales (A) y coliformes fecales (B) detectadas en las diferentes localidades estudiadas. SLM: sedimento de «Los Mangos». a y b: significancia. Las localidades con la letra «a» sobre las barras de error no son significativamente diferentes entre sí ( $p>0,05$ ); la localidad con la letra «b» es significativamente diferente de las demás localidades ( $p<0,05$ ).

Tabla 4. Correlación entre las unidades formadoras de colonias (UFC) y las variables ambientales

Variable microbiológica	Variable ambiental	Coefficiente de correlación Spearman	P
Coliformes fecales	Temperatura	0,4915	< 0,0001
	pH	-0,2443	0,06
	Oxígeno disuelto	-0,4253	0,0007
Coliformes totales	Temperatura	0,1485	0,2576
	pH	-0,3188	0,013
	Oxígeno disuelto	0,1046	0,4265
Variables microbiológicas		Coefficiente de correlación Spearman	P
Coliformes totales	Coliformes fecales	-0,1641	0,1222

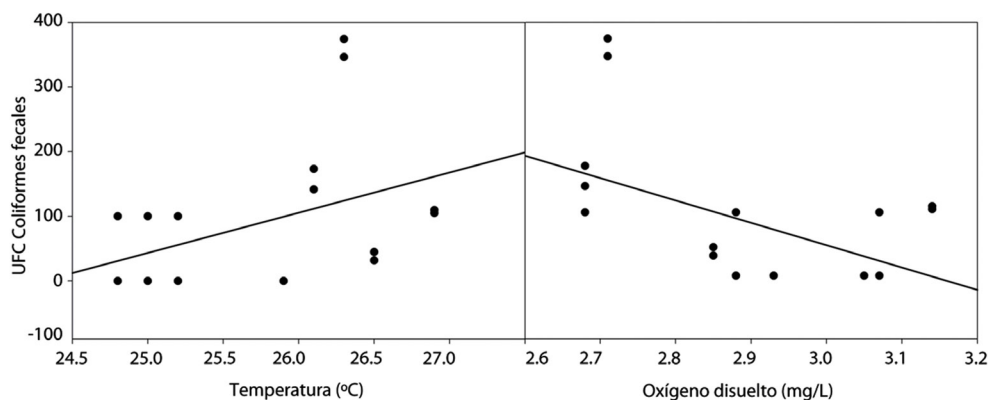


Figura 3. Correlación entre las unidades formadoras de colonia (UFC) de los coliformes fecales con la temperatura (A) y el oxígeno disuelto (B).



**Tabla 5. Valores promedio de coliformes fecales (UFC/100 mL de agua superficial o UFC/ 100 g de sedimento) en las estaciones de muestreo**

Estación de muestreo	N.º de muestreo	UFC/100 mL o UFC/100 g	Promedio	Mínimo	Máximo
Estación 1. Los Mangos (agua superficial)	1	0	3,4 x 10 <sup>4</sup>	0	1,3 x 10 <sup>5</sup>
	2	1,2 x 10 <sup>4</sup>			
	3	1,5 x 10 <sup>3</sup>			
	4	1,3 x 10 <sup>5</sup>			
	5	2,5 x 10 <sup>4</sup>			
Estación 1. Los Mango (sedimento)	1	2,0 x 10 <sup>4</sup>	9,0 x 10 <sup>3</sup>	0	2,0 x 10 <sup>4</sup>
	2	0			
	3	1,0 x 10 <sup>4</sup>			
	4	0			
	5	1,5 x 10 <sup>4</sup>			
Estación 2. El Chorro	1	0	4,0 x 10 <sup>3</sup>	0	1,0 x 10 <sup>4</sup>
	2	5,0 x 10 <sup>3</sup>			
	3	0			
	4	5,0 x 10 <sup>3</sup>			
	5	1,0 x 10 <sup>4</sup>			

## Discusión

En general, la concentración de coliformes totales fue menor en el sedimento que en el agua superficial, de forma similar a lo reportado por López y colaboradores en muestras de agua y sedimento de playas de Nueva Esparta, Venezuela [20], pero contrario a lo encontrado en México por Namihira y colaboradores en el Lago Huayamilpas [21] y por Barrera-Escorcía y colaboradores en la laguna de Pueblo Viejo [22], en los que la densidad de coliformes totales en el sedimento superó notablemente la del agua. Según Shelton y colaboradores los coliformes totales suelen acumularse en el sedimento debido a que su alto contenido orgánico le brinda los nutrientes necesarios para su desarrollo y persistencia por largo tiempo [23], lo que explica la mayor concentración de coliformes totales en el sedimento respecto al agua. Sin embargo, debido a que los reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán son altamente frecuentados por bañistas, es posible que se produzca la remoción del sedimento y consigo de las partículas y los microorganismos que se encuentren en él, lo que conduce a las altas concentraciones de coliformes totales en la interface de agua.

Los resultados de los coliformes totales no mostraron diferencias significativas entre los dos sitios de muestreo, lo que podría atribuirse a que ambas estaciones reciben en iguales proporciones todo el material particulado y escorrentías directas de las superficies, que posiblemente condicionan la permanencia y la resistencia de este grupo de microorganismos en estos lugares. Por su parte, se encontró una correlación negativa entre los coliformes totales y el pH, lo que concuerda con lo reportado por Namihira y colaboradores en el Lago Huayamilpas, México [21]. Este resultado podría estar asociado a los bajos niveles de oxígeno disuelto encontrados, ya que investigaciones previas han reportado que una tasa de respiración elevada puede inducir los procesos de fijación de CO<sub>2</sub>, lo que disminuye el efecto tampón del sistema, haciendo que se torne más alcalino y, en consecuencia, se favorezca el crecimiento bacteriano [20,24].

Los aislamientos de coliformes totales de este estudio fueron compatibles con *Escherichia coli*, la cual se encuentra presente principalmente en las heces del humano y los animales, por lo que se relaciona con la contaminación fecal de las aguas y representa un riesgo sanitario debido a que frecuentemente produce en el humano enfermedades de tipo gastrointestinal y cutáneo, así como síndrome urémico hemolítico, infecciones urinarias, sepsis y meningitis [1,7,25,26]. Además, se identificaron otras enterobacterias, como *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp. y *Edwardsiella tarda*, las cuales son altamente resistentes a las condiciones del medio ambiente y se encuentran de forma natural a altas concentraciones en fuentes de agua fresca, aguas residuales, vegetación y suelos, y en algunas ocasiones pueden producir infecciones cutáneas, urinarias, respiratorias, meningitis y sepsis, principalmente en los infantes, los ancianos, las personas quemadas, con heridas profundas o con tratamiento inmunosupresor, y los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) [1,7]. Lo anterior expone el riesgo de infección en el que se encuentran los habitantes del corregimiento de Corrales de San Luis Beltrán en Atlántico, Colombia, los cuales usualmente utilizan estos balnearios con fines recreativos y domésticos, y en ocasiones para su consumo.

En Colombia, el Decreto 1594 del 26 de junio de 1984, en su artículo 42, establece como criterio de calidad admisible para la destinación de recursos con fines recreativos una concentración de coliformes totales inferior a 1.000 microorganismos/100 mL y una concentración de coliformes fecales menor a 200 microorganismos/100 mL, ambos expresados como número más probable (NMP) [17]. De igual manera, los estándares de calidad de agua en otros países como Chile [27], Perú [28], Venezuela [29] y México [30], entre otros, establecen valores máximos permitidos de coliformes totales y fecales similares a los establecidos en Colombia [17]. Estudios previos han establecido la relación entre la concentración de coliformes obtenidos en número más probable y en unidades formadoras de colonia en muestras de agua, encontrando que las estimaciones en número más probable son más variables y más altas que las realizadas en unidades formadoras de colonia [31,32].

A pesar de que la legislación colombiana (Decreto 1594 de 1984) no establece la concentración de coliformes en unidades formadoras de colonias, razón por la que debe ser actualizada y ajustada a la normativa internacional, es evidente que el valor promedio de coliformes totales encontrado en las cuatro estaciones de muestreo en el período de análisis (1.201.667 UFC/100 mL) exceden los niveles permitidos por la normativa nacional. Por otra parte, el Decreto establece como criterio aceptado para los valores de pH un intervalo entre 5,0-9,0 unidades y para el oxígeno disuelto del 70% de la concentración de saturación, lo que demuestra que las aguas del acuífero de Corrales de San Luis Beltrán cumplen con la norma para los valores de pH (7,8 - 8,1), pero no para los del oxígeno disuelto (28% - 29% de saturación), siendo esto indicativo de la contaminación del agua de este reservorio.

La densidad de coliformes fecales varió entre 0 y  $1,3 \times 10^5$  UFC/100 mL, sin diferencias significativas entre las estaciones muestreadas ( $p=0,16667$ ). El valor promedio encontrado en las cuatro estaciones (15.567 UFC/100 mL) excedió los valores máximos permitidos por la legislación colombiana. Lo anterior probablemente se debe al aporte del material orgánico, las escorrentías de lluvias, los residuos domésticos o los desechos sólidos provenientes de las áreas pobladas adyacentes a los balnearios de Corrales de San Luis Beltrán. Barrera-Escorcia y colaboradores atribuyen las altas concentraciones de coliformes en los ambientes acuáticos al movimiento de masas de agua producida por la velocidad de las corrientes [22]. Por su parte, Namihira y colaboradores consideran que el vertimiento intermitente de agua residual y el arrastre del terreno circulante por el agua lluvia a estos reservorios son la causa de la contaminación fecal [21]. Mientras que Leévesque y colaboradores afirman que el

excremento de las aves que se asientan en la ribera favorece la presencia de coliformes fecales en las aguas [33]; idea que fue apoyada posteriormente por Alderisio y colaboradores [34].

El análisis de correlación entre los coliformes fecales y los parámetros fisicoquímicos evaluados demostró una relación directa con la temperatura del agua, la cual osciló entre 24,8 °C y 25,2 °C, lo que indica que a mayor temperatura mayor concentración de coliformes fecales se encontró en los reservorios acuíferos. Esto se puede deber a que este grupo de microorganismos son termotolerantes, lo que en combinación con otros factores ambientales les permite sobrevivir fuera del tracto intestinal del humano y de algunos animales de sangre caliente, y mantenerse en el agua por largo tiempo [4,35]. Acuña del Pino y colaboradores en aguas de balnearios de las ciudades de Santa Fe y Santo Tomé, Argentina [36], y Fuentes y colaboradores en aguas de la Laguna los Mártires, isla de Margarita, Venezuela [37], demostraron previamente esta correlación.

Así mismo, se encontró una relación inversa entre el oxígeno disuelto y los coliformes fecales, lo que indica que a mayor densidad de estas bacterias se encontró menor porcentaje de oxígeno disuelto en el medio. Esto puede deberse a que estos microorganismos son tanto aerobios como anaerobios facultativos, los cuales pueden utilizar ambos tipos de metabolismo (respiratorio y fermentativo) de acuerdo con las condiciones del medio [4,7,37]. De esta manera, los coliformes fecales que se encuentran contaminando el agua consumen el oxígeno disuelto mediante metabolismo respiratorio, lo que puede provocar la disminución de sus niveles. Una vez empieza a desaparecer el oxígeno disuelto estas bacterias se adaptan y desarrollan un metabolismo fermentativo para multiplicarse y sobrevivir en condiciones menos favorables [7,38]. Por otra parte, la actividad fotosintética del sistema puede influenciar sobre la densidad de los coliformes; de esta manera, una disminución en la producción de oxígeno podría estimular el desarrollo de las comunidades bacterianas en condiciones anaerobias. A su vez, la baja producción de oxígeno puede estar relacionada con el aporte de materia orgánica por las escorrentías directas de los bañistas, las aguas lluvias y la eutrofización, entre otros, la cual favorece la proliferación y multiplicación de este grupo bacteriano en el cuerpo de agua [4].

El recuento de coliformes fecales en las áreas de muestreo fue significativamente diferente, siendo mayor en la estación «Los Mangos», en la que el reservorio acuífero es un poco más somero y de sedimento fino, en comparación con la estación «El Chorro», la cual posee mayor tamaño y profundidad. La permanencia de las bacterias en relación con la profundidad de los reservorios acuíferos se atribuye a que en aquellos de menor profundidad las bacterias encuentran mayor facilidad de migración desde el sedimento a la superficie, mientras que en los que presentan una mayor profundidad es posible que las corrientes y otros factores intrínsecos sean menos favorables para la permanencia de estos coliformes [22,39]. En general, la estación «El Chorro» mostró una mejor calidad sanitaria para uso recreativo respecto a la estación «Los Mangos», puesto que en la mayoría de sus muestreos no se presentaron recuentos de coliformes fecales. Sin embargo, la posibilidad de contaminación microbiológica del sistema acuífero es claro, debido a la cantidad de asentamientos urbanos que se encuentran cercanos a estos balnearios y que no cuentan con un sistema de saneamiento básico, lo que implica un riesgo para la salud de los turistas que con frecuencia visitan el lugar.

Las bacterias reductoras de sulfato son un grupo de microorganismos anaerobios estrictos que durante su proceso de respiración reducen el sulfato a sulfuro, el cual es excretado en el ambiente (reducción desasimilatoria) o es convertido en azufre orgánico en forma de aminoácidos (reducción asimilatoria). El hallazgo de bacterias reductoras de sulfato se ha convertido en un buen indicador de contaminación del agua íntimamente ligada a materia orgánica [4], debido a que estas bacterias

intervienen en los procesos de mineralización de la materia orgánica acumulada en los sedimentos acuáticos mediante la reducción del sulfato [40]. Los datos de este estudio revelan que las muestras de sedimento de la estación próxima a «Los Mangos», de la cual brota parte del agua que llega al reservorio, es la que mayor cantidad de bacterias reductoras de sulfato aportó (más de  $10^4$  UFC/100 g), de forma similar a lo reportado por Vladár y colaboradores en los sedimentos del Lago de Velenec, Hungría, en los que encontraron alrededor de  $5,4 \times 10^3$  bacterias reductoras de sulfato/100 g [41].

Los altos recuentos de bacterias reductoras de sulfato encontrados puede deberse a que este grupo de bacterias pueden crecer naturalmente en ciertas aguas subterráneas con baja mineralización, en los sedimentos de reservorios acuíferos [42] y en los suelos encharcados con materia orgánica abundante y con suficiente cantidad de sulfato; y, en ocasiones pueden provenir de las heces de mamíferos. Así mismo, este grupo de bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en los ambientes acuáticos que se vuelven anóxicos debido a los procesos microbianos de descomposición [4], como es el caso de los reservorios acuíferos evaluados, los cuales presentaron niveles bajos de oxígeno disuelto relacionados con altos recuentos de coliformes. Lo anterior indica una evidente contaminación de los reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán debida, en gran medida, a la materia orgánica presente en estos balnearios.

## Conclusiones

En los reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, Atlántico, Colombia, se detectaron coliformes totales, cuyos recuentos excedieron los límites establecidos por el Decreto 1594 de 1984. Por su parte, los coliformes fecales en algunas estaciones y muestreos estuvieron ausentes, lo que indica una mejor calidad sanitaria en estos sitios. El sedimento determina la presencia de coliformes en el agua, debido a que su tasa de bioacumulación de materia orgánica lo convierte en un lugar favorable para el desarrollo de este grupo de bacterias. Los coliformes totales se correlacionaron significativamente con el pH, mientras que los coliformes fecales con la temperatura y el oxígeno disuelto, lo que indica que estos parámetros fisicoquímicos son condicionantes para el desarrollo y permanencia de estos microorganismos en los reservorios acuíferos.

En este estudio se demostró la presencia de coliformes totales y fecales, al igual que de bacterias reductoras de sulfato, como indicadores de la contaminación de los reservorios acuíferos de Corrales de San Luis Beltrán, lo que da cuenta de la pobre calidad del agua de estos lugares y constituye un factor de riesgo para la población que la frecuenta.

## Agradecimientos

Este proyecto fue financiado con recursos del Semillero de Investigación Biotecnología Microbiana y Bioprospección de la Universidad del Atlántico, Barranquilla-Colombia.

## Bibliografía

1. **Organización Mundial de la Salud.** Guías para la calidad del agua potable. Vol. 1: Recomendaciones (ed 3ra). Ginebra, Suiza; 2006.
2. **American Public Health Association.** Drinking water quality and public health (position paper). Am J Public Health 2001; 91: 499-500.

3. **Organización Mundial de la Salud.** Quantifying selected major risks to health. The world health report 2002 - Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Ginebra, Suiza; 2003.
4. **Madigan MT, Martinko JM, Parker J.** Brock Biología de los Microorganismos (ed 10a). Madrid, España: Pearson-Prentice Hall; 2004.
5. **Rose JB, Dickson LJ, Farrah SR, Carnahan RP.** Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a full-scale water reclamation facility. *Water Res* 1996; 30: 2785-2797.
6. **Sivaraja R, Nagarajan K.** Levels of Indicator Microorganisms (Total and Fecal Coliforms) in Surface waters of rivers Cauvery and Bhavani for Circuitously predicting the Pollution load and Pathogenic risks *Int J PharmTech Res* 2014; 6: 455-461.
7. **Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The Proteobacteria. Part B: The Gammaproteobacteria. (ed 2da). Nueva York, Estados Unidos: Springer Science & Business Media, Inc.; 2005.
8. **Karafistan A, Arik-Colakoglu F.** Physical, Chemical and Microbiological Water Quality of the Manyas Lake, Turkey. *Mitig Adapt Strateg Glob Chang* 2005; 10: 127-143.
9. **Bade K, Manz W, Szewzyk U.** Behavior of sulfate reducing bacteria under oligotrophic conditions and oxygen stress in particle-free systems related to drinking water. *FEMS Microbiol Ecol* 2000; 32: 215-223.
10. **Price M.** Agua subterránea. México D.F., México: Limusa Noriega Editores; 2007.
11. **Tukur A, Amadi A.** Bacteriological Contamination of Groundwater from Zango Local Government Area, Katsina State, Northwestern Nigeria. *J Geosci Geomatics* 2014; 2: 186-195.
12. **Ferguson AS, Layton AC, Mailloux BJ, Culligan PJ, Williams DE, Smartt AE, et al.** Comparison of fecal indicators with pathogenic bacteria and rotavirus in groundwater. *Sci Total Environ* 2012; 431: 314-322.
13. **Arias FA, Garay JA, Pinilla CA, Navas G, Rueda ME, Espinosa LF, et al.** Ordenamiento ambiental de la zona costera del Departamento del Atlántico: Informe final. 2007. Disponible: <http://www.cbd.int/doc/meetings/mar/mcbem-2014-04/other/mcbem-2014-04-co-3-en.pdf>. Consultado: septiembre 2014.
14. **Bartram J, Ballance R.** Monitoreo de la calidad del agua: una guía práctica para diseñar e implementar estudios y programas de monitoreo de la calidad de aguas dulces. Londres, Inglaterra: Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Organización Mundial de la Salud; 1996.
15. **Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC).** Norma Técnica Colombiana NTC-ISO 5667-3 - Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Directrices para la preservación y manejo de las muestras. Bogotá D.C., Colombia; 2004.
16. **Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (ed 19a). Washington D.C., Estados Unidos: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation; 1995.
17. **República de Colombia, Ministerio de Agricultura.** Decreto 1594 de 1984. 1984. Disponible: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=18617>. Consultado: septiembre 2014.
18. **Biosan Laboratories Inc.** Sani-Check SRB®: Sulfate Reducing Bacteria Test Kit. Disponible: [https://www.biosan.com/sites/all/themes/netlink/files/SC\\_srb.pdf](https://www.biosan.com/sites/all/themes/netlink/files/SC_srb.pdf). Consultado: septiembre 2014.
19. **Hao OJ, Chen JM, Huang L, Buglass RL.** Sulfate-reducing bacteria. *Crit Rev Env Sci Tec* 1996; 26: 155-187.
20. **López G PJ, Salazar G S, Figueroa Y, López C J, Fuentes Z JL.** Calidad bacteriológica y fisicoquímica de aguas y sedimentos de cuatro playas de las costas del estado Nueva Esparta. *Ciencia* 2009; 17: 271-280.
21. **Namihira SPE, Barrera EG, Márquez GAZ.** Contaminación por bacterias fecales en el Lago Huayamilpas, México, D.F. *Hidrobiológica* 2002; 12: 129-136.
22. **Barrera-Escorcía G, Wong-Chang I, Sobrino-Figueroa AS, Guzmán-García X, Hernández-Galindo F, Saavedra-Villeda F.** Estudio preliminar de contaminación bacteriológica en la laguna Pueblo Viejo, Veracruz, México. *Rev Int Contam Ambient* 1998; 14: 63-68.
23. **Shelton DR, Pachepsky YA, Kiefer LA, Blaustein RA, McCarty GW, Dao TH.** Response of coliform populations in streambed sediment and water column to changes in nutrient concentrations in water. *Water Res* 2014; 59: 316-324.
24. **Castrillón O, Bedoya O, Montoya DV.** Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost. *Rev P+L* 2006; 1: 87-98.
25. **Organización Mundial de la Salud.** Guidelines for

- safe recreational water environments. Vol. 2: Swimming pools and similar environments. Paris, Francia; 2006.
26. **Cortes-Ortiz IA, Rodriguez-Angeles G, Moreno-Escobar EA, Tenorio-Lara JM, Torres-Mazadiego BP, Montiel-Vazquez E.** [Outbreak caused by *Escherichia coli* in Chalco, Mexico]. *Salud Publica Mex* 2002; 44: 297-302.
  27. **República de Chile, Comisión Nacional del Medio Ambiente.** Guía CONAMA para el Establecimiento de las Normas Secundarias de Calidad Ambiental para Aguas Continentales Superficiales y Marinas. 2004. Disponible: [http://www.sinia.cl/1292/articulos-31476\\_Guia.pdf](http://www.sinia.cl/1292/articulos-31476_Guia.pdf). Consultado: septiembre 2014.
  28. **República del Perú, Ministerio del Ambiente.** Decreto Supremo N.º 002-2008-MINAM. Estándares nacionales de calidad ambiental para agua. 2008. Disponible: [http://www.ana.gob.pe/media/664662/ds\\_002\\_2008\\_minam.pdf](http://www.ana.gob.pe/media/664662/ds_002_2008_minam.pdf). Consultado: septiembre 2014.
  29. **República Bolivariana de Venezuela, Ministerio del Poder Popular para Vivienda y Hábitat.** Decreto N.º 883: Normas para la Clasificación y el Control de la Calidad de los Cuerpos de Agua y Vertidos o Efluentes Líquidos. 1995. Disponible: [http://www.mvh.gob.ve/fabricadeinsumos27f/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&download=31:decreto-n-883-normas-para-la-clasificacion-y-el-control-de-la-calidad-de-los-cuerpos-de-agua-y-vertidos-o-efluentes-liquidos&id=11:leyes&Itemid=654](http://www.mvh.gob.ve/fabricadeinsumos27f/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=31:decreto-n-883-normas-para-la-clasificacion-y-el-control-de-la-calidad-de-los-cuerpos-de-agua-y-vertidos-o-efluentes-liquidos&id=11:leyes&Itemid=654). Consultado: septiembre 2014.
  30. **Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Medio Ambiente-Recursos Naturales y Pesca.** NORMA Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. 1998. Disponible: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4893449&fecha=21/09/1998](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4893449&fecha=21/09/1998). Consultado: septiembre 2014.
  31. **Gronewold AD, Wolpert RL.** Modeling the relationship between most probable number (MPN) and colony-forming unit (CFU) estimates of fecal coliform concentration. *Water Res* 2008; 42: 3327-3334.
  32. **Cho KH, Han D, Park Y, Lee SW, Cha SM, Kang JH, et al.** Evaluation of the relationship between two different methods for enumeration fecal indicator bacteria: colony-forming unit and most probable number. *J Environ Sci (China)* 2010; 22: 846-850.
  33. **Leévesque B, Brousseau P, Simard P, Dewailly E, Meisels M, Ramsay D, et al.** Impact of the ring-billed gull (*Larus delawarensis*) on the microbiological quality of recreational water. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 1228-1230.
  34. **Alderisio KA, DeLuca N.** Seasonal Enumeration of Fecal Coliform Bacteria from the Feces of Ring-Billed Gulls (*Larus delawarensis*) and Canada Geese (*Branta canadensis*). *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 5628-5630.
  35. **Chignu P, Parveen S.** Bacteriological Analysis of Water. In: Nollat LML, De Gelder LSP, eds. *Handbook of Water Analysis*. Florida, Estados Unidos: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2014.
  36. **Acuña del Pino NB, Meyer R, Haye MA, Lerman de Abramovich B.** Contaminación bacteriana en aguas recreacionales: factores intervinientes. *Memorias Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 26 (AIDIS 98). Lima, Perú: 1-5, Noviembre; 1998.
  37. **Fuentes JL, Patiño R, López P, López J.** Densidad de bacterias coliformes y su relación con algunas variables físico-químicas en aguas de la laguna Los Mártires, isla de Margarita, Venezuela. *Saber* 2009; 21: 126-132.
  38. **Bureau Veritas.** Bloque III. Contaminación de las aguas. Unidad 8. Medio acuático y aguas residuales. In: Bureau Veritas, ed. *Manual para la formación en medio ambiente*. Valladolid, España: Editorial Lex Nova S.A.; 2008: 197-216.
  39. **Larrea J, Rojas M, Heydrich M, Romeu B, Rojas N, Lugo D.** Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico "Las Terrazas", Pinar del Río (Cuba). *Hig Sanid Ambient* 2009; 9: 492-504.
  40. **Mudryk ZJ, Podgorska B, Ameryk A, Bolalek J.** The occurrence and activity of sulphate-reducing bacteria in the bottom sediments of the Gulf of Gdańsk. *Oceanologia* 2000; 42: 105-117.
  41. **Vladar P, Rusznyak A, Marialigeti K, Borsodi AK.** Diversity of sulfate-reducing bacteria inhabiting the rhizosphere of *Phragmites australis* in Lake Velencei (Hungary) revealed by a combined cultivation-based and molecular approach. *Microb Ecol* 2008; 56: 64-75.
  42. **Andrade VS.** Evaluación del potencial de generación de sulfuro por la acción de las bacterias sulfato reductoras y sus posibles aplicaciones en el tratamiento de los drenajes ácidos de mina. Tesis para optar al título de Ingeniería Química. Quito, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito; 2010.