

IV-137 - COLIFAGOS SÃO BONS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO?

Rosane Cristina de Andrade

Engenheira Ambiental, Mestre e Doutoranda em Engenharia Civil (UFV).

Rafael Kopshitz Xavier Bastos⁽¹⁾

Engenheiro Civil (UFJF), Especialização em Engenharia de Saúde Pública (ENSP/FIOCRUZ), PhD em Engenharia Sanitária (University of Leeds), Professor Associado, Departamento de Engenharia Civil (UFV).

Paula Dias Bevilacqua

Médica Veterinária (UFV), Especialização, Mestre e Doutora em Epidemiologia (UFMG), Professora Associada, Departamento de Veterinária, UFV.

Ana Beatriz Vilela Felix

Graduanda em Engenharia Ambiental (UFV).

Janielly Mantovani Cravo

Graduanda em Engenharia Ambiental (UFV).

Endereço⁽¹⁾: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Engenharia Civil. Viçosa-MG. 36570-000. (Tel) 31 3891 3753 – e-mail: rkxb@ufv.br

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o uso de colifagos como indicadores de contaminação fecal em mananciais superficiais de abastecimento de água para consumo humano. Durante o período de junho de 2012 a maio de 2014 foram coletadas amostras de água em diversas sub-bacias (com uso e ocupação diferenciados do solo) da bacia hidrográfica do ribeirão São Bartolomeu, no município de Viçosa, MG. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre as contagens de colifagos nos diversos pontos de amostragem. Estudos de correlação foram realizados para verificar associações entre a ocorrência de colifagos, de organismos indicadores de contaminação tradicionalmente utilizados para monitorar o grau de contaminação em corpos d'água (coliformes totais, *E. coli* e enterococos) e de outras variáveis de qualidade da água indicadoras de impactos ambientais (DQO, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH e turbidez). Em geral, não foram observadas correlações fortes e, ou estatisticamente significativas entre colifagos e quaisquer das variáveis testadas.

PALAVRAS-CHAVE: Colifagos; mananciais superficiais; qualidade da água.

INTRODUÇÃO

A pesquisa de organismos indicadores de contaminação fecal tem sido usada há décadas em programas de monitoramento e controle de qualidade ambiental, pois, por limitações de ordem técnica e econômica, é praticamente impossível investigar, de forma rotineira, todos os organismos patogênicos potencialmente presentes. Na avaliação da qualidade da água *in natura*, a interpretação básica do emprego de organismos indicadores é de que a sua presença atesta o contato da água com material fecal e, portanto, indica a presença potencial de organismos patogênicos de transmissão fecal-oral; além disso, no pressuposto que exista uma relação proporcional entre a presença de organismos indicadores e patogênicos, entende-se que a concentração de organismos indicadores forneça também informações sobre o grau de contaminação da água (Bastos *et al.*, 2000).

Os organismos indicadores de contaminação fecal mais usualmente empregados na avaliação da qualidade da água (inclusive em instrumentos normativos ou regulatórios) são as bactérias do grupo coliforme (coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*) e os enterococos. Entretanto, o papel desses organismos como indicadores de contaminação tem sido questionado em virtude de aspectos como: (i) baixa sobrevivência fora do trato intestinal; (ii) definição incerta desses organismos como grupo; e (iii) relação frágil com a presença de patógenos, em especial de organismos mais resistentes, como os vírus e os protozoários (WHO, 2004).

Alternativamente, diversos autores, e já há algum tempo, sugere o uso dos bacteriófagos - vírus capazes de infectar bactérias - como organismos indicadores de contaminação fecal, por apresentarem características tais

como: (i) elevada resistência no meio ambiente; (ii) simplicidade e baixo custo nas análises de detecção e enumeração; (iii) não serem patogênicos aos humanos e (iv) possuírem estrutura, morfologia, tamanho, composição semelhante aos vírus entéricos (JOFRE *et al.*, 1986; IAWPRC, 1991; HAVELAAR *et al.*, 1993; GRABOW, 2001; DURÁN *et al.*, 2002; PAZ-Y-MIÑO, 2003; PEDROSO *et al.*, 2003; REYNOLDS, 2006; LECHEVALLIER *et al.*, 2006.). Bacteriófagos são facilmente encontrados em fezes e em ambientes aquáticos, estando geralmente presentes em densidades de 10^4 a 10^8 UFP/mL (WITHEY *et al.*, 2005). Constituem um grupo bastante heterogêneo, mas apresentam elevada especificidade no reconhecimento das bactérias hospedeiras (GOODRIDGE, ABEDON, 2003). Isto os torna também candidatos a indicadores possíveis de serem utilizados na distinção de fontes de contaminação humana e animal (PAYAN *et al.*, 2005).

Dentre os fagos utilizados como indicadores na avaliação da qualidade de água, três tipos são mais usuais: (i) colifagos (fagos que infectam bactérias do grupo coliforme e certos membros da família *Enterobacteriaceae*) somáticos, que se adsorvem a receptores situados na parede celular (receptores somáticos) das bactérias hospedeiras; (ii) colifagos F-RNA específicos, que se adsorvem especificamente ao pili F bacteriano ou pili sexual e; (iii) fagos que infectam *Bacteroides fragilis* (TARTERA *et al.*, 1989; GRABOW, 2001; SCOTT *et al.*, 2002; MOCE-LLIVINA *et al.*, 2005; EBDON *et al.*, 2007). Os colifagos somáticos constituem também um grupo heterogêneo de vírus, com morfologia muito variada, sendo os mais estudados de todos os fagos (TORANZOS *et al.*, 2002). São usualmente detectados em maior abundância em fezes de animais do que em fezes de humanos (FURUSE, 1983; GRABOW, 2001). Sua detecção, por meio de plaqueamento, é considerada mais simples e barata do que de vírus entéricos (GRABOW, 2001; LECLERC *et al.*, 2000).

Já os colifagos F-RNA específico são considerados por alguns o grupo mais promissor como indicador de contaminação fecal, e mais especificamente da presença de vírus entéricos, porque possuem resistência no meio ambiente semelhante a dos vírus entéricos, por serem um grupo relativamente homogêneo, com estrutura similar a de certos vírus patogênicos, e pela especificidade do hospedeiro (HAVELAAR, 2011). São classificados em quatro grupos sorológicos (I, II, III e IV) (GRABOW, 2001; HAVELAAR, 2011). Sua detecção é considerada mais complicada, em virtude da técnica de pesquisa ter que ser realizada na fase logarítmica de crescimento (GRABOW, 2001). Adicionalmente, esses fagos estão presentes em quantidades bem menores que os hospedeiros, o que, inclusive, levanta questionamentos sobre a validade seu emprego no monitoramento da qualidade da água (LECLERC *et al.*, 2000).

Dessa breve contextualização do problema, se nota que o tema - uso dos colifagos como organismos indicadores de contaminação fecal de mananciais superficiais – não é novo, mas ainda é cercado de controvérsias. No Brasil, particularmente, ainda há carência de estudos mais conclusivos e a bibliografia mais recente é escassa. O presente trabalho, a partir de um caso específico, retoma então o tema, procurando contribuir para a discussão de sua validade em ambientes aquáticos típicos de condições brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na bacia hidrográfica do ribeirão São Bartolomeu (RSB), mais especificamente na área de drenagem (aqui chamada de bacia de captação) à montante do ponto de captação de água para abastecimento para consumo humano de partes da cidade e da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Trata-se de uma área de pequena dimensão (aproximadamente 2.000 ha), com presença de atividades agropecuárias e sob influência de forte pressão imobiliária nas regiões mais próximas à zona urbana da cidade e ao ponto de captação.

O RSB é um curso hídrico de reduzida vazão ($< 100 \text{ L.s}^{-1}$ em períodos de estiagem) que recebe o aporte hídrico de sete córregos, a partir dos quais foram delimitadas as sub-bacias monitoradas neste estudo, nomeadas, informalmente, a partir da denominação do curso d'água principal - sub-bacia 1: referente ao próprio ribeirão São Bartolomeu; sub-bacia 2: Córrego São Lucas; sub-bacia 3: Córrego dos Machados; sub-bacia 4: Córrego Santa Catarina; sub-bacia 5: Córrego Paraíso; sub-bacia 6: Córrego palmital; sub-bacia 7: Córrego Antuérpia; sub-bacia 8: Córrego do Engenho (Figura 1).

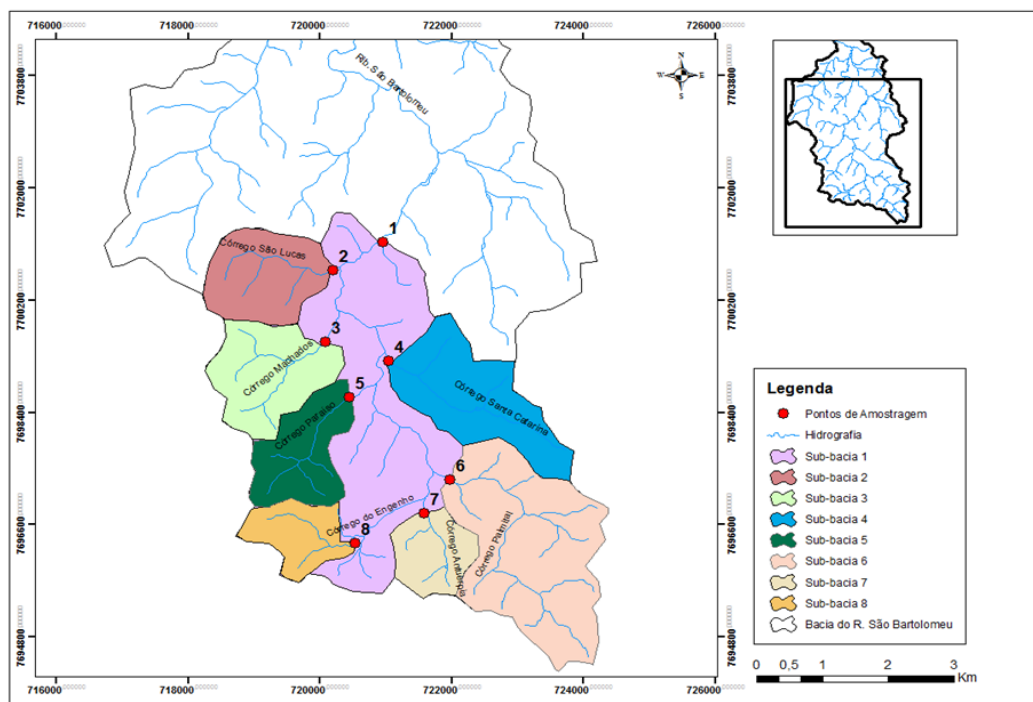


Figura 1 – Localização dos pontos de coleta de água na bacia hidrográfica do ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG.

O monitoramento foi realizado mensalmente, em cada sub-bacia citada e no ponto de captação da estação de tratamento de água (ETA) da UFV, no período de julho de 2012 a maio de 2014. Foram analisadas as seguintes variáveis:

- colifagos: método de plaqueamento em camada simples de Ágar (SCA), de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Wastewater* (APHA, 2005); foram utilizadas as seguintes cepas de fagos e bactérias hospedeiras, fornecidas pela CETESB: (i) para análise de colifagos somáticos - *E.coli* CN-13, resistente ao ácido nalidíxico (ATCC 700609); fago phi- X174 (13706-B1); (ii) para análise de colifagos F-Específico - *E.coli* Famp, resistência ao antibiótico ampicilina e com plasmídeo codificador da formação de “pili” (ATCC 700891); fago MS2 (ATCC 15597-B1).
- coliformes totais, *E. coli* e enterococos: técnica do substrato definido (cromogênico-fluorogênico), respectivamente com os meios Colilert® (Idexx Laboratories Inc) e Chromocult® Enterococci Broth (Merck®). DQO (Demanda Química de Oxigênio), condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, pH e turbidez, de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.

No total, 19 amostras foram analisadas em cada ponto, mas em alguns pontos houve problemas de contaminação durante o procedimento de análise dos colifagos, impossibilitando a obtenção de resultados. Os resultados foram inicialmente tratados e discutidos na forma de estatística descritiva. Primeiramente, para efeito de inferências estatísticas, foi verificado se os dados seguiam distribuição normal e se apresentavam homogeneidade de variância, aplicando os testes de normalidade (Kolmogorov e Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett). Como as distribuições dos dados não obedeceram a ambos os critérios, foram utilizados testes não paramétricos - Teste Kruskal-Wallis para comparação de médias (entre contagens de colifagos nas sub-bacias) e correlação de Spearman para verificação de associações entre variáveis (ocorrência de colifagos e os demais organismos indicadores de contaminação e variáveis de qualidade da água). Os resultados foram interpretados ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

As Tabelas 1 e 2 apresentam a estatística descritiva dos resultados de, respectivamente, colifagos CN-13 e Famp nas amostras de água coletadas nos pontos selecionados da bacia do RSB. Ambos os bacteriófagos

foram detectados durante o período de estudo com expressiva variabilidade. As contagens médias de CN-13 oscilaram entre 2,47 a 75,1 UFP/100mL; as de Famp entre 0,06 a 10,32 UFP/100mL.

Tabela 1 – Estatística descritiva dos resultados de colifagos somáticos (CN-13) em amostras de água, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, Julho de 2012 a maio de 2014

SUB-BACIA	Colifagos somáticos (CN-13) (UFP/100mL)							
	N ⁽¹⁾	Min ⁽²⁾	25%	Média	75%	Max ⁽³⁾	DP ⁽⁴⁾	CV ⁽⁵⁾
SB1-Ribeirão São Bartolomeu	17	0,0	0,0	75,1	103,5	395,0	118,5	157,89
SB2-Córrego “São Lucas”	19	0,0	0,0	5,42	4,0	49,0	11,72	216,20
SB3-Córrego dos Machados	19	0,0	0,0	5,53	7,0	46,0	11,13	201,44
SB4-Córrego Santa Catarina	17	0,0	0,0	2,47	3,5	14,0	4,78	193,65
SB5-Córrego Paraíso	18	0,0	0,0	2,83	1,0	39,0	9,15	323,08
SB6-Córrego Palmital	19	0,0	0,0	3,05	1,0	41,0	9,41	308,36
SB7 -Córrego “Antuérpia”	19	0,0	0,0	18,3	10,0	210,0	48,3	263,79
SB8-Córrego Engenho	17	0,0	0,0	55,5	131,5	250,0	88,8	159,69

NOTAS: (1) Número de amostras (2) Valor mínimo (3) Valor máximo (4) Desvio padrão. (5) Coeficiente de variação (%).

Tabela 2 – Estatística descritiva dos resultados de colifagos F-RNA (Famp) em amostras de água, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, julho de 2012 a maio de 2014

SUB-BACIA	Colifagos F-RNA (Famp) (UFP/100mL)							
	N ⁽¹⁾	Min ⁽²⁾	25%	Média	75%	Max ⁽³⁾	DP ⁽⁴⁾	CV ⁽⁵⁾
SB1-Ribeirão São Bartolomeu	19	0,0	0,0	10,32	8,0	102,0	25,35	245,77
SB2-Córrego “São Lucas”	19	0,0	0,0	1,0	1,0	8,0	2,49	249,44
SB3-Córrego dos Machados	18	0,0	0,0	1,06	0,25	11,0	2,73	258,88
SB4-Córrego Santa Catarina	18	0,0	0,0	0,06	0,0	1,0	0,24	424,26
SB5-Córrego Paraíso	19	0,0	0,0	2,0	4,0	11,0	3,22	160,73
SB6-Córrego Palmital	19	0,0	0,0	4,19	3,0	35,0	9,45	230,22
SB7 -Córrego “Antuérpia”	18	0,0	0,0	3,56	1,0	50,0	11,79	331,69
SB8-Córrego Engenho	18	0,0	0,0	2,28	0,0	35,0	8,29	363,84

NOTAS: (1) Número de amostras (2) Valor mínimo (3) Valor máximo (4) Desvio padrão. (5) Coeficiente de variação (%).

A análise de diferença de médias entre as sub-bacias não apontou maior ocorrência de colifagos para qualquer sub-bacia específica. Entretanto, algumas características das sub-bacias, destacadas a seguir, podem auxiliar o entendimento da ocorrência diferenciada dos colifagos, mesmo que não estatisticamente significante.

Ao longo de todo o período de monitoramento, a sub-bacia Córrego do Engenho destacou-se por apresentar a maior contagem média de colifagos somáticos (CN-13) (55,5 UFP/100mL) e a maior variabilidade dos resultados (DP = 88,8 UFP/100mL). É importante ressaltar que essa sub-bacia apresenta área considerável com solo exposto (45,5 %) e o maior número de animais de produção. Na sub-bacia Córrego Antuérpia, onde se registrou a segunda maior média de colifagos somáticos (18,3 UFP/100mL e DP=48,3UFP/100mL), embora apenas 7,5% das propriedades estejam aí localizadas, existem uma caprinocultura e uma suinocultura, que não realizam nenhum tipo de tratamento dos dejetos. Por outro lado, a sub-bacia Córrego Santa Catarina, que apresentou a menor concentração média de colifagos somáticos (3,5 UFP/100mL) e também a menor variabilidade dos resultados (DP = 14,0NMP/100mL), apresenta o menor percentual (2,5%) de propriedades com exploração animal e conta com área de preservação ambiental (aproximadamente 77% da área é coberta por mata e capoeiras). Em estudo realizado por Silva (2010) nesta mesma bacia hidrográfica, verificou-se que o uso e ocupação do solo foi o fator que mais contribuiu para a contaminação da água.

Em relação aos colifagos F-RNA, todos os pontos monitorados apresentaram concentrações menores que as de colifagos Famp. As maiores concentrações médias foram observadas nas sub-bacias Córrego Palmital (4,19 UFP/100mL) e Córrego Antuérpia (3,56 UFP/100mL). É importante destacar que a sub-bacia Córrego Palmital apresenta o maior número de propriedades rurais e a maior concentração de bovinos. Nos pontos de coleta nas sub-bacias Córrego dos Machados e Córrego São Lucas foi verificada as menores concentrações de colifagos F-RNA (Famp), 1,0 e 1,06 UFP/100mL, respectivamente.

A Figura 2 apresenta as concentrações médias (log 10) de coliformes totais, *E. coli*, enterococos e de colifagos CN-13 e Famp nos pontos de coleta na bacia do ribeirão São Bartolomeu. As concentrações médias de coliformes totais, *E. coli* e enterococos foram bem mais elevadas que as dos colifagos. A julgar pelos valores de *E. coli* e enterococos, as sub-bacias Córrego dos machados (SB3) e Córrego Santa Catarina (SB4) apresentaram, de forma geral, o menor grau de contaminação; por outro lado, córrego Palmital (SB6) e córrego do Engenho (SB8) foram as sub-bacias que apresentaram maior grau de contaminação.

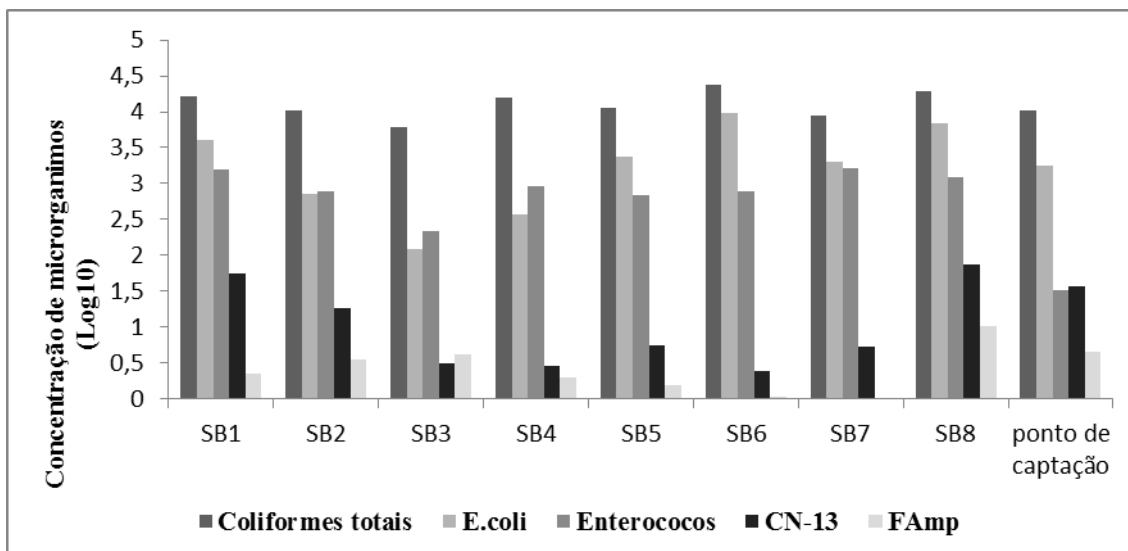


Figura 2 - Concentração média (log 10) de coliformes totais, *E. coli*, enterococos, colifagos somáticos (CN 13) e colifagos F-RNA (Famp) nos pontos de coleta na bacia do ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG.

Os testes de correlação não revelaram associações, forte e, ou estatisticamente significantes, entre a ocorrência dos colifagos e dos demais organismos indicadores investigados (coliformes totais, *E. coli* e enterococos) (Tabela 3). Os baixos coeficientes de correlação obtidos apontam, para os dados obtidos, independência em relação ao comportamento dos microrganismos indicadores e dos colifagos analisados nos pontos de coleta de água na bacia hidrográfica do ribeirão São Bartolomeu. Somente foi verificada correlação estatisticamente significativa entre coliformes totais e *E. coli*, o que já era esperado.

Tabela 3 – Matriz de correlação - coeficiente de correlação de Spearman (rs) e valores de p (entre parênteses) - entre colifagos somáticos (CN-13), colifagos F-RNA (Famp) e coliformes totais, *E. coli* e enterococos, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa, MG, julho de 2012 a maio de 2014.

Variáveis	Colifagos somáticos (CN-13)	Colifagos F_RNA (Famp)	Coliformes totais	<i>E. coli</i>	Enterococos
Colifagos somáticos (CN-13)	NA	0.588 (0,473)	-0,099 (0,254)	0,072 (0,408)	-0,111 (0,387)
Colifagos F_RNA (Famp)	0.588 (0,473)	NA	-0,010 (0,912)	0,009 (0,919)	-0,072 (0,576)
Coliformes totais	-0,099 (0,254)	-0,010 (0,912)	NA	0,640 (0,001)	-0,420 (0,744)
<i>E. coli</i>	0,072 (0,408)	0,009 (0,919)	0,640 (0,001)	NA	0,056 (0,660)
Enterococos	-0,111 (0,387)	-0,072 (0,576)	-0,420 (0,744)	0,056 (0,660)	NA

Células destacadas em cinza indicam correlação estatisticamente significativa ($\alpha \leq 0,05$). NA: não se aplica pelo fato da associação entre variáveis não fazer sentido.

Alguns autores já vêm discutindo a ausência de correlação entre colifagos e bactérias indicadoras de contaminação fecal. De acordo com Tavares *et al.* (2005), não é esperado que haja correlação quantitativa significativa entre colifagos e organismos indicadores tradicionais, bactérias do grupo coliformes e enterococos. Grabow *et al.* (1984) citam que as razões mais importantes dessa falta de relação clara entre coliformes e colifagos está associada às diferenças na sobrevivência e multiplicação de fagos e bactérias em diferentes ambientes aquáticos. Muniesa e Jofre (2004) também citam que, devido à multiplicação de colifagos no ambiente, sua utilização como indicadores não é conveniente. Leclerc *et al.* (2000) descrevem que colifagos somáticos não são considerados bons indicadores, pois seus hospedeiros muitas vezes não têm procedência fecal devido às diversas fontes não fecais de bactérias coliformes.

Em geral, também não foram verificadas correlações estatisticamente significante entre os colifagos e as variáveis físicas e químicas de qualidade da água (Tabela 4). A única exceção foi o oxigênio dissolvido, que se mostrou significativamente correlacionado com a ocorrência de colifagos F_RNA e de DQO; mas essas correlações se mostraram fracas e, mais importante, positivas, o que não faz sentido.

Tabela 4. Matriz de correlação - coeficiente de correlação de Spearman (rs) e valores de p (entre parênteses) - entre colifagos somáticos (CN-13), colifagos F-RNA (Famp) e variáveis físicas e químicas de qualidade da água, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa, MG, julho de 2012 a maio de 2014.

Variáveis	Turbidez	pH	Condutividade	OD	DQO
Colifagos somáticos (CN-13)	0,032 (0,694)	-0,051 (0,535)	-0,104 (0,416)	0,100 (0,474)	0,003 (0,984)
Colifagos F_RNA (Famp)	-0,057 (0,484)	0,005 (0,947)	0,128 (0,319)	0,281 (0,040)	-0,248 (0,070)
Turbidez	NA	-0,074 (0,366)	0,170 (0,184)	0,266 (0,052)	-0,037 (0,789)
pH	-0,074 (0,366)	NA	0,065 (0,611)	0,167 (0,228)	-0,068 (0,628)
Condutividade	0,170 (0,184)	0,065 (0,611)	NA	0,127 (0,359)	-0,083 (0,549)
OD	0,266 (0,052)	0,167 (0,228)	0,127 (0,359)	NA	0,379 (0,003)
DQO	-0,037 (0,789)	-0,068 (0,628)	-0,083 (0,549)	0,379 (0,003)	NA

CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados, inferir-se-ia que os colifagos, somáticos e F-específicos, não são bons indicadores de contaminação fecal em águas superficiais. O tema segue, portanto, aberto a novas investigações e sujeito a informações mais consistentes.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), à CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas de estudos e recursos financeiros para a pesquisa. À Fapemig também pelo apoio para participação no congresso. À Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB pelo fornecimento das cepas de bactérias hospedeiras para colifagos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington, D.C.: APHA, AWWA, WEF, 2005.
2. BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E.; CARVALHO, G.R.M.; SILVA, C.V.. Coliformes como indicadores da qualidade da água alcance e limitações. In: Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, XXVII, Porto Alegre, 2000 Anais...Porto Alegre, ABES, 2000 (CD ROM)

3. EBDON, J.; MUNIE, M.; TAYLOR, H. The application of a recently isolated strain of Bacteroides (GB-124) to identify human sources of faecal pollution in a temperate river catchment. *Water Research*, v. 41, p. 3683-3690, 2007
4. FURUSE, K.; OSAWA, S.; KAWASHIRO, J.; TANAKA, R.; OZAWA, A.; SAWAMURA, S.; YANAGAWA, Y.; NAGAO, T.; WATANABE, I. Bacteriophage distribution in human faeces: continuous survey of healthy subjects and patients with internal and leukaemic diseases. *Journal of General Virology*, v. 64, p. 2039-2043, 1983.
5. GOODRIDGE, L.; ABEDON, S. T. Bacteriophage biocontrol and bioprocessing: Application of phage therapy to industry. *SIM News*. V. 53, n. 6, p. 254-262, 2003.
6. GRABOW, W. O. K. Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. *Water SA*. 27: 251-268. 2001.
7. GRABOW, W.O.K.; COUBROUGH, P.; NUPEN, E.M.; BATEMAN, B.W. Evaluation of coliphages as indicators of the virological quality of sewage-polluted water. *Water SA*, v. 10, n. 1, p. 7-14, USA, 1984.
8. HAVELAAR, A. H. VANOLPHEN, M. and DROST, Y. C. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh-water. *Applied and environmental Microbiology*, 59 (9), pp. 2956-2962. 1993.
9. HAVELAAR, A. H. Virus, bacteriophages and water purification. *Veterinary Quarterly*. v. 9, n. 4, p. 356-360, 2011.
10. IAWPRC Study Group on Health Related Water Microbiology. Bacteriophages as model viruses in water quality control. *Water Research*, v. 25(5), p.529-545. 1991.
11. JOFRE, J. BOSCH, A. LUCENA, F. GIRONÉS, R. AND TARTERA, C. Evaluation of Bacteroides fragilis bacteriophages as indicators of the virological quality of water. *Water Science and Technology*, v.18 (10), pp. 167-173. 1986.
12. LECHEVALLIER, M. W.; KARIM, M. R.; WEIHE, J.; ROSEN, J. S.; SOBRINHO, J. Coliphage as a potential indicator of distribution system integrity. *Journal of the American Water Works Association*, v. 98, n. 7, p. 87-96, 2006.
13. LECLERC, H.; EDBERG, S.; PIERZO, V.; DELATTRE, J. M. Bacteriophages as indicators of enteric viruses and public health risk in groundwaters. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, p. 5-21. 2000.
14. MOCE-LLIVINA, L.; LUCENA, F.; JOFRE, J. Enteroviruses and bacteriophages in bathing waters. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 11, p. 6838-6844, 2005.
15. MUNIESA, M.; JOFRE, J. Factors influencing the replication of somatic coliphages in the water environment. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 86, p. 65-76, Netherlands, 2004.
16. PAYAN, A.; EBDON, J. E.; TAYLOR, H.; GANTZER, C.; OTTOSON, J.; PAPAGEORGIOU, G.; BLANCH, A. R.; LUCENA, F.; JOFRE, J.; MUNIESA, M. A. Method for the isolation of suitable bacteriophage host strains of Bacteroides for tracking sources of faecal pollution in water. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, p. 5659-5662, 2005.
17. PAZ-Y-MIÑO, M.; BARZOLA, C.; LAZCANO, C.; PONCE, M.; LEÓN, J. Colifagos como indicadores de contaminación fecal y de remoción bacteriana em la potabilización del agua. *Revista Peruana de Biología*, v. 10, n. 2, p. 133-144, Peru, 2003.
18. PEDROSO, M.Z.; FRANÇA, J.P.; RODRIGUES, P.F.; SANTOS, A.; JÚNIOR, O.C. Uma síntese sobre colifagos como indicadores de poluição fecal. *Revista O Mundo da Saúde*, São Paulo, SP, v.27, n.4, p.559-563. 2003.
19. REYNOLDS, K. A. Coliphage: a better water quality indicator. *Water Conditioning and Purification*, v. 48, n. 9, EUA, set. 2006.
20. SCOTT, T. M.; ROSE, J. B.; JENKINS, T. M.; FARRAH, S. R.; LUKASIK, J. Microbial source tracking: Current methodology and future directions. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 12, p. 5796-5803, 2002
21. SILVA, C. H. C. Identificação de fragilidades ambientais na bacia do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG utilizando análise multicritério. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.
22. TARTERA, C.; JOFRE, J. Bacteriophages active against Bacteroides fragilis in sewage polluted waters. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 53, p. 1632-1637, 1987.
23. TARTERA, C.; LUCENA, F.; JOFRE, J. Human origin of Bacteroides fragilis bacteriophages present in the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 55, n. 10, p. 2696-2701, 1989.
24. TORANZOS, G.A. MCFETERS, G.A.; BORREGO, J.J. Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. In: Hurst, C.J. Crawford, R.L. Knudsen, G.R. McInerney, M.J. and Stetzenbach, L.D. (eds.) *Manual of environmental microbiology*. 2nd edition. Washington DC: ASM Press. 2002.

25. WITHEY, S.; CARTMELL, E.; AVERY, L. M.; STEPHENSON, T. Bacteriophages –potential for application in wastewater treatment processes. Science of the Total Environment, v. 339, p. 1-18, 2005.
26. WORLD HEALTH ORGANIZATION . Guidelines for drinking water quality. Volume 1. Recommendations. 3rd ed. World Health Organization. Genebra, 2004.