

*Higiene y Sanidad Ambiental*, **18** (3): 1651-1656 (2018)

## Identificación de *Vibrio cholerae* y enterococos en aguas costeras del litoral habanero

### *IDENTIFICATION OF VIBRIO CHOLERAЕ AND ENTEROCOCCI IN COASTAL WATERS AT SEASHORE OF HAVANA*

Isis Maydel MARTÍNEZ PACHECO, María Isabel GONZÁLEZ GONZÁLEZ,  
Virginia LEYVA CASTILLO

Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Infanta 1158 e/ Clavel y Llinás, La Habana, Cuba. Correo-e: isisbio92@gmail.com

---

#### RESUMEN

La evaluación de aguas con fines recreativos para detectar la presencia de *Vibrio cholerae* y su relación con indicadores sanitarios recomendados como enterococos es de notable importancia en la actualidad. En los meses de marzo a noviembre de 2015 se procesaron un total de 178 muestras de diferentes puntos de La Habana de aguas costeras y residuales que vierten a aguas costeras. Para el aislamiento e identificación de *V. cholerae* se analizaron las muestras de agua siguiendo dos métodos de concentración: el hisopo de Moore para aguas residuales y la filtración por membrana para aguas costeras. La metodología empleada para la determinación de enterococos se realizó por la técnica de filtración por membrana. Además, se calculó la media geométrica de enterococos teniendo en cuenta estándares internacionales. Las técnicas empleadas permitieron el aislamiento de 75 cepas de *V. cholerae* no O1/ no O139 y una cepa de *V. cholerae* O1 serotipo Ogawa en el litoral oeste. Además, se aislaron 116 cepas de especies asociadas tales como *V. fluvialis*, vibrios halófilos decarboxilasa negativa, *Aeromonas* spp, entre otros. Todas las muestras analizadas para enterococos en aguas costeras fueron positivas y la mayoría fueron >35 UFC/100ml lo que indicaba una notable contaminación.

**Palabras clave:** *Vibrio cholerae*, enterococos, aguas costeras, vertimientos residuales.

#### ABSTRACT

The evaluation of recreational water to detect the presence of *Vibrio cholerae* and its relationship with health indicators recommended as enterococci is of considerable importance today. In the months from March to November 2015, a total of 178 samples from different areas of Havana (coastal waters and coastal wastewater discharged into coastal waters) were processed. For the isolation and identification of *V. cholerae* of water samples, they were analyzed by two methods of concentration: the swab Moore for wastewater and membrane filtration for coastal waters. The methodology for the determination of enterococci was performed by membrane filtration technique. Furthermore, the geometric mean of enterococci taking into account international standards was calculated. The techniques used allowed the isolation of 75 strains of *V. cholerae* non-O1 / non-O139 and *V. cholerae* O1 strain of serotype Ogawa on the west coast. In addition, 116 strains associated species such as *V. fluvialis*, halophilic vibrios negative decarboxylase, *Aeromonas* spp, including isolated. All samples analyzed for enterococci in coastal waters were positive and most were > 35 CFU/100ml indicating a remarkable contamination.

**Keywords:** *Vibrio cholerae*, enterococci, coastal waters, wastewater.

## INTRODUCCIÓN

La urbanización es un fenómeno mundial. Una gran parte de las poblaciones humanas vive actualmente en zonas urbanas que incluyen miles de habitantes, hasta millones en las grandes metrópolis (Galizia, 2015). Los recursos hídricos de una ciudad constituyen un componente clave que incide sobre las complejas condiciones ambientales que sostienen a las poblaciones humanas. La falta de un monitoreo adecuado para detectar contaminantes en el agua, aunado a las emergentes fuentes de contaminación, es un problema de importancia en los países desarrollados y en desarrollo (Vammen, 2015).

*Vibrio cholerae* es el agente causal del cólera, enfermedad diarreica aguda y deshidratante. Las fuentes de infección del cólera son: el agua de beber, los alimentos contaminados durante o después de ser preparados, los mariscos, las frutas y hortalizas que se han colectado en aguas contaminadas (Fernández y Alonso, 2010). En Cuba, las enfermedades infecciosas intestinales aún ocupan, en morbilidad, la segunda causa en la demanda de atenciones médicas.

Gran parte de la población humana vive a lo largo de zonas costeras de todo el mundo. Se estima que nadar en aguas con fines recreativos que están contaminadas causa alrededor de 120 millones de casos de enfermedades gastrointestinales en todo el mundo. Cambios en las lluvias y la temperatura como consecuencias del cambio climático, aumentan la contaminación microbiológica de las aguas así como, el incremento de las enfermedades transmitidas por el agua en regiones costeras (Fujioka *et al.*, 2015). En Cuba existe un marcado interés por la preservación de los ecosistemas acuáticos y por la salud pública; razón por la cual se evalúa tanto la calidad del agua potable como la del agua que se emplea con fines recreativos (Larrea-Murrell *et al.*, 2013).

La vigilancia de las aguas costeras con fines recreativos en el litoral de La Habana se debe realizar constantemente, por lo que la evaluación de estas aguas para detectar la presencia de *V. cholerae* y su relación con indicadores sanitarios recomendados como enterococos es de notable importancia en la actualidad (Fernández, 2015).

Los objetivos del estudio han sido:

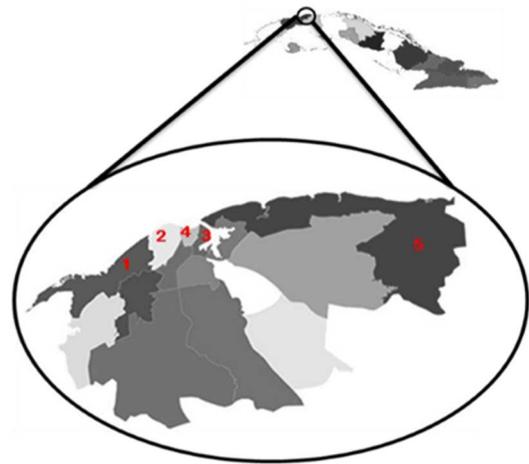
- Detectar *Vibrio cholerae* y enterococos en muestras de aguas costeras y vertimientos residuales a aguas costeras de diferentes puntos del litoral de La Habana.
- Identificar las cepas de *Vibrio cholerae* y especies asociadas detectadas.
- Evaluar la calidad bacteriológica de aguas costeras del litoral de La Habana con fines recreativos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En los meses de marzo a noviembre de 2015 se procesaron un total de 178 muestras de aguas costeras

y residuales que vierten a aguas costeras en diferentes puntos de La Habana (Fig.1).

La toma, conservación, transporte y procesamiento de las muestras de agua para el desarrollo de la técnica de aislamiento e identificación de *V. cholerae* y enterococos se realizó acorde a los procedimientos recomendados nacional e internacionalmente (Organización Panamericana de la Salud, 1994; González, 2010; American Public Health Association, 2012).



**Figura 1.** Puntos de muestreo: 1, Playa; 2, Plaza; 3, Habana Vieja; 4, Centro Habana; 5, Habana del Este.

Localidades	Número de muestras	Litoral
Playa	67	oeste
Plaza	17	oeste
Habana Vieja	7	oeste
Centro Habana	5	oeste
Habana del Este	82	este
Total	178	

**Tabla I.** Muestras de agua analizadas en diferentes puntos del litoral de La Habana. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

### Determinación de *V. cholerae*

Para el aislamiento e identificación de *V. cholerae* se analizaron las muestras de agua siguiendo dos métodos de concentración: el hisopo de Moore para aguas residuales y la filtración por membrana para aguas costeras según recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 1994; González, 2010; American Public Health Association, 2012).

### Determinación de enterococos

La metodología empleada para la determinación del indicador bacteriano de contaminación enterococos se realizó por la técnica de filtración por membrana (con equipo de filtración y membrana de 0,45

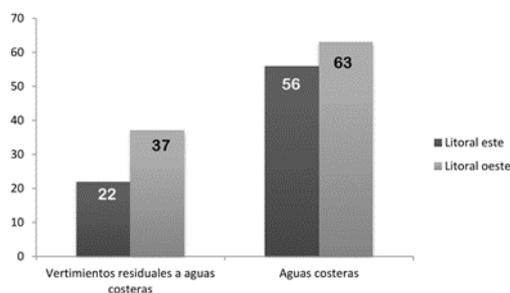
µm de nitrato de celulosa) recomendada por American Public Health Association (2012) e International Standardization Organization 7899-2 (2000).

### Media geométrica de los enterococos

La media geométrica se calcula con un número suficiente de muestras, generalmente no menos de cinco muestras tomadas a iguales intervalos en un período de 30 días. Estos valores se basan en los niveles de riesgo de ocho y 19 enfermedades en 1000 bañistas en playas (United States Environmental Protection Agency, 1986; United States Environmental Protection Agency; 2012).

## RESULTADOS

Un total de 178 muestras fueron analizadas por dos métodos de concentración, 119 muestras de aguas costeras por filtración de membrana y 59 de vertimientos residuales a aguas costeras del litoral por Hisopo de Moore (Fig. 2). El método de filtración por membrana se aplica para aguas claras mientras que el hisopo de Moore es el método más recomendado para aguas turbias muy contaminadas con materia orgánica como los vertimientos residuales.



**Figura 2.** Muestras analizadas de cada litoral. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

### *Vibrio cholerae*

De las 178 muestras analizadas para la determinación de *V. cholerae* (119 en aguas costeras y 59 en vertimientos residuales a aguas costeras) se encontró positividad 39 (Tabla II). En el litoral este fueron positivas 11 (9,2%) y en el litoral oeste 16 (13,4%) para un total de 27 muestras positivas (26,0%) a *V. cholerae*. Sin embargo, en las 59 muestras de vertimientos residuales se obtuvo una positividad menor (12 muestras; 20,4%) correspondiendo solo 4 muestras positivas (6,8%) en el litoral este y 8 (13,6%) en el oeste.

Las técnicas empleadas permitieron el aislamiento de 75 cepas de *V. cholerae* no O1/ no O139 y una cepa

de *V. cholerae* O1 en el litoral oeste. Además, se aislaron cepas de otras especies como: vibrio halófilo descarboxilasa negativa (76), vibrio halófilo lisina y ornitina positivas (24), vibrio halófilo arginina positiva (2), *Vibrio fluvialis* (4). También se aislaron especies asociadas al género *Vibrio* como: *Aeromonas* spp. (4) y *Pseudomonas* spp. (6) (Tabla III).

Zona costera	Aguas costeras (N=119)	Vertimientos residuales a aguas costeras (N=59)
Litoral este	11 (9,2%)	4 (6,8%)
Litoral oeste	16 (13,4%)	8 (13,6%)
Total	27 (22,7%)	12 (20,4%)

**Tabla II.** Número de muestras positivas (%) de *V. cholerae* en aguas del litoral habanero. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

Cepas	Aguas costeras (N=119)	Vertimientos residuales a aguas costeras (N=59)	Total
<i>V. cholerae</i> no O1/ no O139 (N=75)	49 (65,3)	26 (34,7)	75
<i>V. cholerae</i> O1 Ogawa (N=1)	1 (100)	0 (0)	1
Vibrio halófilo descarboxilasa negativa (N=76)	58 (76,3)	18(23,7)	76
Vibrio halófilo lisina y ornitina positivas (N=24)	14 (58,3)	10 (41,7)	24
Vibrio halófilo arginina positiva (N=2)	1 (100)	1 (100)	2
<i>Vibrio fluvialis</i> (N=4)	0 (0)	4 (100)	4
Subtotal	123	59	182
<i>Aeromonas</i> spp. (N=4)	4 (100)	0 (0)	4
<i>Pseudomonas</i> spp. (N=6)	6 (100)	0 (0)	6

**Tabla III.** Número (%) de cepas aisladas del género *Vibrio* y especies asociadas en aguas del litoral habanero. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

### Enterococos

Todas las muestras analizadas para enterococos en aguas costeras fueron positivas (51 en los puntos del litoral este y 45 en el litoral oeste). En el litoral este se

detectó un 41,7% de positividad y en litoral oeste 58,3% (Tabla IV).

Zona costera (N=96)	Muestras positivas
Litoral este	51 (41,7%)
Litoral oeste	45 (58,3%)
Total	96 (100%)

**Tabla IV.** Número de muestras positivas (%) de enterococos en aguas del litoral habanero. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

Rangos (UFC/100 ml)	Número de muestras positivas		Total
	Litoral este	Litoral oeste	
>300	16	22	38
300-200	5	9	14
200-100	4	0	4
100-30	9	19	28
<30	6	6	12
Total	40	56	96

**Tabla V.** Puntos con enterococos positivos de los muestreos realizados en cada litoral. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

Para el recuento de enterococos se contaba el número de colonias de cada placa analizada. En la tabla V se observan los rangos de colonias de enterococos en UFC/ 100 ml. En el litoral este hubo un menor número de muestras positivas (40) que en el litoral oeste (56).

Se calculó la media geométrica (MG) de enterococos teniendo en cuenta los meses muestreados de cada localidad (Tabla VI). En el litoral este la mayor media geométrica fue en agosto (93,7 UFC/ 100 ml), mientras que en el litoral oeste fue en septiembre (192,2 UFC/ 100 ml). La mayoría de los resultados de las medias geométricas de cada litoral dieron mayor que 35 UFC/ 100 ml (valor de media geométrica recomendada por United States Environmental

Protection Agency (2012) como criterio para la calidad del agua marina con fines recreativos).

De las muestras colectadas de aguas costeras se obtuvo que 24 fueron positivas a *V. cholerae* y a enterococos como se muestra en la tabla VII. El litoral oeste resultó tener 15 muestras positivas a diferencia del este donde fueron 9.

## DISCUSIÓN

En la evaluación microbiológica realizada del agua del litoral habanero en los meses de marzo a noviembre de 2015 del total de muestras analizadas (178), 51 muestras (12,6%) dieron positivas a *V. cholerae*. Las pruebas bioquímicas y serológicas utilizadas permitieron clasificar las cepas de *V. cholerae* y especies asociadas con completa concordancia en los resultados esperados. Solamente se aisló una cepa de *V. cholerae* O1 y no se aisló *V. cholerae* O139. Sin embargo, se aislaron 75 cepas de *V. cholerae* no O1. Esto concuerda con reportes de otros investigadores (Feghali y Adib, 2011; Percival y Williams, 2014) donde *V. cholerae* no O1/no O139 se detecta más frecuentemente que el serotipo O1; especialmente cuando no hay brotes ni epidemias de cólera. Traoré *et al.* (2014) plantea que este serogrupo es miembro autóctono de ecosistemas marinos e impide el aislamiento de cepas patógenas. Además, puede deberse a que *V. cholerae* esté en un estado viable pero inactivo o latente (Nayeemul *et al.*, 2013).

A pesar de que las cepas del género *Vibrio* que se aislaron no fueron serotipos causantes de cólera, se ha reportado que el serogrupo no O1/ no O139 causa casos esporádicos de diarreas, infecciones extraintestinales con signos de una enfermedad invasiva, gastroenteritis, infecciones de la piel, otitis, meningitis, septicemia y enterocolitis inflamatoria especialmente en niños y sujetos inmunocomprometidos (Collin y Rehnstam-Holm, 2011; Traoré *et al.*, 2012; Traoré *et al.*, 2014). Feghali y Adib (2011) exponen que las infecciones gastrointestinales son, usualmente, tratables pero en el caso de infecciones invasivas pudieran ser fatales.

De las muestras de aguas analizadas para *V. cholerae* se obtuvo mayor positividad en aguas costeras que en los vertimientos residuales a aguas costeras. El hábitat idóneo para la supervivencia de *V. cholerae* es las aguas costeras y en especial estuarinas, donde existen factores bióticos y abióticos que ayudan a la proliferación de estos microorganismos como es el plancton. En los vertimientos residuales es más difícil detectar este patógeno bacteriano, a pesar de emplear el método de concentración recomendado como es el hisopo de Moore, porque hay presencia de materia orgánica y tóxica, así como microorganismos competidores que inhiben su crecimiento.

Otras especies de *Vibrio* como los vibrios halófilos, también son responsables de enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos infectados (Traoré *et al.*, 2012). Además, cuando se encuentran

Meses	Marzo	Abril	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Litoral este	19,3	-	-	93,7	77,0	65,7
Litoral oeste	89,4	51,3	112,0	55,4	192,2	49,5

**Tabla VI.** Media geométrica de enterococos (UFC/100ml) de cada litoral. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

en aguas recreativas pueden causar gastroenteritis, celulitis y otitis (Collin y Rehnstam-Holm, 2011; Tey *et al.*, 2015).

Las especies del género *Vibrio* son autóctonas de los ecosistemas acuáticos. Algunas de ellas pueden causar infecciones en el hombre y se han relacionado con indicadores de contaminación fecal de uso convencional, tales como los enterococos en aguas costeras con fines recreativos.

Los enterococos son los indicadores recomendados para aguas costeras con fines recreativos porque se plantea que tienen mayor capacidad de sobrevivir en el ambiente, especialmente el marino, además de ser considerado en los estudios epidemiológicos realizados para zonas costeras (United States Environmental Protection Agency, 1986; Byappanahalli *et al.*, 2012 y United States Environmental Protection Agency, 2012). Además, se sostiene que estos son ubicuos y pueden persistir por largos periodos de tiempo en agua y suelos tropicales y subtropicales (Lata *et al.*, 2009).

Zona costera	Muestras positivas
Litoral este	9 (8,6%)
Litoral oeste	15 (14,4%)
Total	24 (23,0%)

**Tabla VII.** Número de muestras positivas a *V. cholerae* y a enterococos según puntos de muestreo. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, marzo-noviembre, 2015.

Todas las muestras utilizadas para el análisis de enterococos dieron positivas en ambos litorales. En el litoral oeste, el porcentaje de muestras positivas fue mayor que en el este, a pesar de que el número de muestra no fue el mismo. La presencia de estas bacterias es indicio de contaminación de origen fecal debido a que su hábitat normal es el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. Por lo tanto, su presencia en el agua de mar provoca riesgos sanitarios para los usuarios y visitantes de las playas ya

que puede llegar a causar vómito, diarrea, náuseas, dolor de estómago, infección en oídos y ojos, dolor de garganta, entre otros malestares (Stewart *et al.*, 2008).

En este estudio se encontraron 38 muestras con conteos altos de >300 UFC/100 ml, 14 de 300-200 UFC/100ml, 4 de 200-100UFC/100ml y 28 de 100-30 UFC/ml en ambos litorales. En un trabajo realizado en Perú en los meses de julio (verano) de 2005 a enero (invierno) de 2006 por Vergaray *et al.* (2007) se observó que la contaminación microbiana de origen fecal se elevó en forma significativa en verano. Ello posiblemente se debió al aumento notable de los usuarios y de la población que habita en las cercanías de la playa, lo cual trajo como consecuencia mayor población que defeca y mayor volumen de desagüe doméstico que va a descargar en la zona playera.

Los resultados encontrados en este estudio demuestran que las medias geométricas de enterococos están en la mayoría por encima de 35 UFC/ 100 ml, lo que indica que las zonas estudiadas en el período analizado presentaban contaminación notable de riesgo para la salud.

Por otra parte, al analizar los resultados de las muestras positivas a enterococos y *V. cholerae* sólo se encontraron 24 muestras para un 23,0% lo que indica que el grupo enterococo no es buen indicador de contaminación para inferir la presencia de *V. cholerae*. Esto se ha planteado por otros investigadores (González, 2003; Gugliandolo *et al.*, 2009) que no encontraron relación entre los indicadores de contaminación y *V. cholerae*.

El presente estudio enfatiza la importancia de las aguas costeras con fines recreativo del litoral habanero como reservorio para importantes patógenos como *V. cholerae*. Esto demuestra la validez de la investigación de especies patógenas que representan un factor de riesgo para la salud con el uso de estas aguas con fines recreativos dentro de los programas de vigilancia sanitaria y ambiental.

## BIBLIOGRAFÍA

- American Public Health Association (2012): Standard Methods for the examination of water and wastewater. 21ed. Washington, APHA, AWWA, JWPCF.  
 Byappanahalli, M. N., M. B. Nevers, A. Korajkic, Z. R. Staley, y V. J. Harwoodc (2012): Enterococci in

- the Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 76 (4): 685-706.
- Collin, B. y A. ehnstam-Holm (2011): Occurrence and potential pathogenesis of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* on the South Coast of Sweden. *Federation of European Microbiological Societies.* 78: 306-313.
- Feghali R. y S. M. Adib (2011): Two cases of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 septicaemia with favourable outcome in Lebanon. *Eastern Mediterranean Health Journal.* 17 (8): 722-724.
- Fernández S. y G. Alonso (2010): Cólera y *Vibrio cholerae*. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel".* 40 (2): 50-67.
- Fernández, M. A. (2015): Propuesta de Vigilancia de *Vibrio cholerae* en aguas con fines recreativos del litoral norte habanero 2014-2015. Tesis en opción al título de Máster en Salud Ambiental. La Habana, Cuba.
- Fujioka, R. S., H. M. Solo-Gabriele, M. N. Byappanahalli y M. Kirs (2015): U.S. Recreational Water Quality Criteria: A Vision for the Future. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 12 (1): 7752-7776.
- Galizia, J. (2015): El Agua en las Regiones Urbanas. En: K. Vammen y A. de la Cruz (eds.), *Desafíos del Agua Urbana en Las Américas.* pp. 19-20. Cuernavaca: México.
- González, M. I. (2010): Procedimiento Normalizado de Operación del Laboratorio: Aislamiento e identificación de *V. cholerae* en aguas, INHEM.
- González, M. I.; T. Torres y S. Chiroles (2003): Calidad microbiológica de aguas costeras en climas tropicales. *Revista Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo.* 3 (4):1-5.
- Gugliandolo, C.; V. Letini; M. T. Fer; E. La Camera y T. L. Maugeri (2009): Water quality and ecological status of the Alcantara River estuary (Italy). *New Microbiologica.* 32: 77-87.
- International Standardization Organization 7899-2 (2000): Water quality. Detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: Membrane filtration method.
- Larrea-Murrell, J. A., M. Ma. Rojas-Badía, B. Romeu-Álvarez, N. M. Rojas-Hernández y M. Heydrich-Pérez (2013): Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 44 (3): 24-34.
- Lata, P.; S. Ram; M. Agrawal y R. Shanker (2009): Enterococci in river Ganga surface waters: Propensity of species distribution, dissemination of antimicrobial-resistance and virulence-markers among species along landscape. *BioMed Central Microbiology.* 9 (140): 1-10.
- Nayeemul, S. M., M. Kamruzzaman, M. Mohiuddina, M. Kamruzzamana, J. J. Mekalanosb y S. M. Faruquea (2013): Quorum-sensing autoinducers resuscitate dormant *Vibrio cholerae* in environmental water samples. *PNAS.* 110 (24): 9926-9931.
- OPS (1994): Métodos de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*. Washington, DC: CDC/NCID-OPS.
- Percival, S. L. y D. W. Williams (2014): *Vibrio*. En: M. V. Yates y R. M. Chalmer (eds.), *Microbiology of Waterborne Diseases. Microbiological Aspects and Risks.* pp. 237-248. Oxford: UK.
- Stewart, J. R.; R. J. Gast; R. S. Fujioka; H. M. Solo-Gabriele; J. S. Meschke; L. A. Amaral-Zettler; E. del Castillo; M. F. Polz; T. K. Collier; M. S. Strom; C. D. Sinigalliano; P. D. Moeller y A. F. Holland (2008): The coastal environment and human health: microbial indicators, pathogens, sentinels and reservoirs. *Environmental Health.* 7 (2): 1-14.
- Tey, Y. H.; K-J. Jong; S-Y. Fen y H-C. Wong (2015): Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio vulnificus* in the Aquacultural Environments of Taiwan. *Journal of Food Protection.* 78 (5): 969-976.
- Traoré, O.; O. Martikainen; A. Siitonen; A. S. Traoré; N. Barro y K. Haukka (2014): Occurrence of *Vibrio cholera* in fish and water from a reservoir and a neighboring channel in Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal Infection Devices Countries:* 8 (10): 1334-1338.
- Traoré, S. G.; B. Bonfoh; R. Krabi; P. Odermatt; J. Utzinger; K. N. Rose; M. Tanner; J. Frey; M. L. Quilici y M. Koussémon (2012): Risk of *Vibrio* Transmission Linked to the Consumption of Crustaceans in Coastal Towns of Cote d'Ivoire. *Journal of Food Protection.* 75 (6): 1004-1011.
- United States Environmental Protection Agency (1986): Bacteriological ambient water quality criteria availability. *Federal Register.* 51 (45): 8-12.
- United States Environmental Protection Agency (2012): Recreational water quality criteria. Office of Water, Washington, DC.
- Vammen, K (2015): Un rápido vistazo a: Los Desafíos del Agua Urbana en las Américas. *Perspectivas de las Academias de Ciencias.* En: K. Vammen y A. de la Cruz (eds.), *Desafíos del Agua Urbana en Las Américas.* pp. 22-26. Cuernavaca: México.
- Vergaray, G.; C. R. Méndez; H. Y. Morante; V. L. Heredia y V. R. Béjar (2007): Enterococcus y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG.* 10 (20): 82-86.