

---

*Higiene y Sanidad Ambiental*, 13 (5): 1102-1107 (2013)

## **Contaminación microbiológica por enterobacterias y coliformes totales de la playa de Stela Maris, Comodoro Rivadavia, Argentina, derivada de los efluentes cloacales**

### ***MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION FOR TOTAL COLIFORM AND ENTEROBACTERIAS FROM SEWAGE IN THE STELA MARIS BEACH, COMODORO RIVADAVIA, ARGENTINA***

Graciela Natalia PUCCI, Adrian Javier ACUÑA, Oscar Héctor PUCCI

Centro de Estudios e investigación en Microbiología Aplicada- Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Ciudad Universitaria 4km, Comodoro Rivadavia, Chubut. Correo-e: granapu@unpata.edu.ar

---

#### **RESUMEN**

La contaminación antrópica de las playas es un tema importante a resolver. El objetivo fue evaluar la contaminación por enterobacterias y coliformes totales presentes en la playa del Stela Maris de la ciudad de Comodoro Rivadavia (Chubut, Argentina), y el tiempo de sobrevivencia de dichas especies en la arena. Durante las cuatro estaciones de un año, se recolectaron muestras de agua de mar y sedimento en dos zonas, una cercana al emisario y la otra de una zona alejada a las que se les realizaron recuentos de enterobacterias, coliformes totales y bacterias mesófilas; también se estudió la supervivencia de coliformes totales y enterobacterias a 10 °C a través de recuentos semanales en los medios violeta- rojo- bilis y violeta- rojo-bilis glucosa respectivamente. Se aislaron e identificaron cepas por el sistema Sherlock de MIDI (Sistema Sherlock MIDI version 6.0). Los elevados recuentos de microorganismos evidenciaron que existe contaminación fecal en la playa estudiada. Las enterobacterias y coliformes poseen una alta velocidad de muerte debido al stress fisiológico al ser introducidos en el ambiente marino. Sin embargo, se evidenció cierta permanencia de enterobacterias y coliformes en los sedimentos.

**Palabras clave:** Contaminación antrópica, enterobacterias, coliformes, aguas residuales.

#### **ABSTRACT**

The anthropogenic pollution of beaches is the primary cause of beach closing. The aim was to assess the contamination by enterobacteria and total coliforms present in the beach called Stela Maris, Comodoro Rivadavia (Chubut, Argentina) and study the survival time of these species in the sand. During the four seasons, samples were collected from seawater and sediment in two areas, one near the sewage and the other from a remote area to which underwent. Enterobacteriaceae, total coliforms and mesophilic bacteria were counted. The survival of culturable total coliforms, and enterobacteria in marine sediments from sites near sewage outfalls was studied at 10 °C by means of weekly counts on violet red-bile-violet red-bile-glucose media. Strains were isolated and identified by the MIDI Sherlock system (MIDI Sherlock System version 6.0). The high counts of microorganisms showed a fecal contamination in the beach. Enterobacteriaceae and coliforms have a high rate of death due to physiological stress and the marine environment. However, it showed some permanence of enterobacteria and coliforms in sediments.

**Keywords:** Anthropogenic pollution, enterobacteria, coliforms, wastewater.

## INTRODUCCIÓN

Comodoro Rivadavia presentó en los últimos años un crecimiento importante en su población, el cual no fue acompañado por un sistema adecuado de eliminación de cloacas, esto conlleva a una contaminación presente en las playas de arena de la ciudad, la cual podrían usarse para recreación. En la playa se encuentran emisarios que están deteriorados por la corrosión y esto conlleva importantes pérdidas de líquido cloacal en la zona intermarial. Esto genera peligro de contraer enfermedades infecto contagiosas, asociada a bacterias patógenas como *Salmonella*, *E. coli* enterohemorrágica, o patógenos oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio vulnificus* o *Aeromonas hydrophila* (da Silva et al, 2011; Pote et al, 2006; Skórczewsky et al, 2012)

La salinidad del mar junto con la incidencia de la luz, temperatura, falta de nutrientes y competencia con microorganismos autóctonos dificultan la permanencia de bacterias del tipo enterobacterias (Rozen y Belki, 2001). A pesar del stress fisiológico ocasionado por el cambio en las condiciones ambientales, cuando dichos microorganismos ingresan al ambiente marino, pueden permanecer cierto tiempo en los sedimentos (Anderson et al, 2005; Baghel et al, 2005).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la contaminación por enterobacterias y coliformes totales en la playa lindera al barrio Stella Maris. Además, se estudió el tiempo de supervivencia de los mismos a 10°C y las comunidades bacterianas presentes en los sedimentos y agua de mar.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Toma de muestras

Se tomaron muestras puntuales, en la playa del Barrio Stella Maris (Playa 99), ubicada en la zona sur de Comodoro Rivadavia, de sedimento (S) del área intermareal a una profundidad de 10 a 30 cm de dos sitios, el sitio 1 ubicado en cercanías al emisario submarino (S45° 52,995 WO 67° 30,216) y el sitio 2 alejado del mismo (S45° 53,028 WO 67° 30, 254), también se tomaron muestras de agua de mar de ambos sitios.

### Análisis microbiológico

La determinación de bacterias aerobias heterotróficas se realizó por el método de diseminación en superficie a partir de diluciones seriadas de las muestras en agua de mar envejecida y estéril. Se utilizaron medios de cultivo TSA Tripteína Soya Agar (en g/L: Tripteína 15,0; Peptona de soya 4,0; NaCl 5,0 y Agar 15,0; pH 7,3±0,2) para bacterias aerobias heterótrofas, agar violeta cristal-rojo neutro-bilis (en g/L: Peptona 7,0; Extracto de levadura 3,0; NaCl 5,0; Lactosa 10,0; Rojo neutro 0,03; mezcla de sales biliares 1,5; Violeta cristal 0,002; Agar 13,0; pH 7,4 ± 0,1) para

coliformes totales, y agar violeta cristal-rojo neutro-bilis-glucosa (en g/L: Peptona 7,0; extracto de levadura 3,0; NaCl 5,0, D(+)-glucosa 10,0; rojo neutro 0,03; mezcla de sales biliares 1,5; violeta cristal 0,002; agar 13,0; pH 7,4 ± 0,1) para enterobacterias. Las placas se incubaron 24 horas a 37°C.

### Selección y aislamiento de cepas bacterianas

Como criterio para seleccionar los cultivos a estudiar, se tomó el de aislar, a partir de las placas de recuento, todas las cepas que se observaron formando colonias aisladas. Las cepas seleccionadas fueron aisladas hasta cultivo puro con sucesivos repiques en agar nutritivo (tripteína 17 g, peptona de soya 3 g, cloruro de sodio 5 g, fosfato dipotásico 2,5 g, glucosa 2,5 g, agua de mar 1000 mL, pH 7,3).

### Identificación de cepas bacterianas

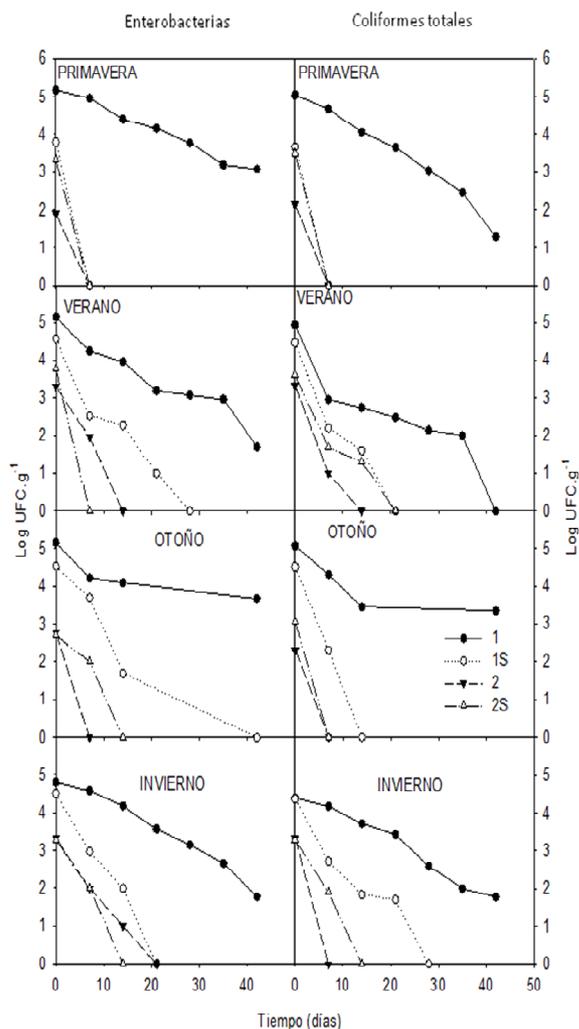
La identificación de las cepas seleccionadas se realizó por FAMES. La extracción de los ácidos grasos de membrana se realizó sobre 40 mg de bacterias comenzando con una saponificación con alcohol metílico-hidróxido de sodio-agua 150 mL: 45 g: 150 mL, seguida de una metilación con ácido clorhídrico 6 N y alcohol metílico, 325 mL: 275 mL, y a continuación una extracción con n-hexano-metil terbutil éter (1:1) y lavado con hidróxido de sodio-agua, 10,8 g - 900 mL (Härtig et al, 2005).

Los ácidos grasos se determinaron como metil ésteres por cromatografía gaseosa, usando una columna capilar Ultra 2 de 25 m de longitud y 0,2 mm de diámetro. El análisis se llevó a cabo con un cromatógrafo HP 6890 series II GC, inyección 'splitless'; presión inicial 10 psi; programa de temperatura: 170-288°C a 28°C/min, 288- 310°C a 60°C/min, 1,5 min de permanencia a 310°C, detector por ionización de llama (Pucci & Pucci 2006). La integración de los picos se efectuó mediante HP 10.01 Chem Station, los ácidos grasos fueron identificados utilizando Sherlock 6.0 (MIDI Inc., Newark, Del.) con el estándar Agilent 'Calibration standards kit for the microbial identification system'. La composición en ácidos grasos fue calculada como porcentaje del área de pico.

A las bacterias no identificadas por el sistema se les realizaron pruebas metabólicas para enterobacterias.

### Prueba de supervivencia

En frascos estériles de 100 mL se colocaron 30 mL de agua de mar o 30 g de sedimento con 30 mL de agua de mar estéril. Los sistemas fueron incubados a 10 °C y se realizaron recuentos bacterias de coliformes totales (agar violeta cristal-rojo neutro-bilis) y para enterobacterias (agar-violeta cristal-rojo neutro-bilis-glucosa) cada siete días hasta ausencia de microorganismos en las placas de Petri.



**Figura 1.** Recuentos de enterobacterias y coliformes totales en el estudio de supervivencia de las bacterias en los sedimentos intermarial y muestras de agua a la temperatura de 10°C. El número 1 corresponde a la muestra de agua del efluente, 1S a la muestra de sedimento al lado del efluente, 2 a la muestra de agua de una zona alejada al efluente y 2S es la muestra de sedimento alejado al efluente en las cuatro estaciones del año.

### Análisis estadístico

Los valores de mineralización y recuento se analizaron utilizando análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa BIOM (Applied Biostatistics Inc., 3 Heritage, Setauket, NY 11711 USA). Para el análisis de los perfiles de FAMEs obtenidos se realizó un estudio de componentes principales utilizando el programa PAST.

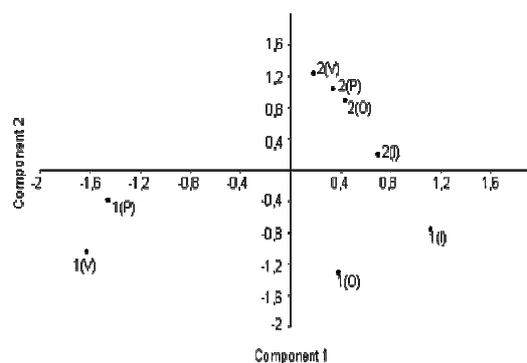
## RESULTADOS

### Recuentos iniciales

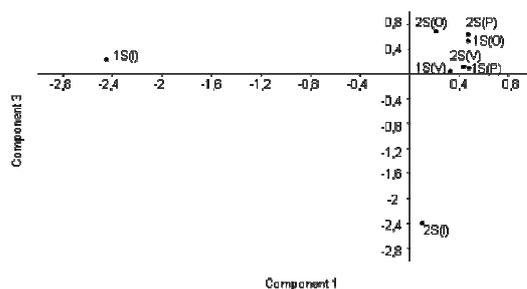
Todas las muestras tomadas durante el estudio presentaron valores de recuento en el inicio para los tres tipos de medios de cultivo que se utilizaron. Siendo el sitio 1, como era de esperar, donde se encontraron los mayores valores de recuentos realizados. Los valores de TSA fueron de  $10^6$  UFC/mL en las muestras de agua recolectadas en verano, primavera e invierno, y de  $10^5$  UFC/mL en la muestra de otoño, los valores de los coliformes totales para la muestra de agua fueron de  $10^5$  UFC/mL y en las muestras de sedimento los valores se encontraron entre  $10^2$ - $10^3$  UFC/mL.

En el sitio dos se encontraron en el orden de  $10^4$  UFC/mL en verano e invierno, y de  $10^3$  UFC/mL primavera y otoño. En los sedimentos se observaron recuentos de  $10^5$  UFC/mL en invierno y verano, y de  $10^4$  UFC/mL en primavera y otoño. El recuento de coliformes estuvo en el orden de  $10^2$ - $10^3$  UFC/mL para la muestra de agua de mar y  $10^3$  UFC/mL para la de sedimento. Puede observarse que los mayores recuentos de coliformes totales y enterobacterias en los sedimentos se presenta en la estación de verano donde la temperatura promedio es de  $16 \pm 1,5^\circ\text{C}$ .

La supervivencia de las enterobacterias y las bacterias coliformes totales presentaron recuento hasta el día 42 del ensayo a  $10^\circ\text{C}$ , después de este tiempo no se encontró desarrollo en las placas Petri (figura 1). La mayor sobrevivencia de estos tipos de bacterias se dio en la muestra proveniente del líquido cloacal, (muestra 1) cuyos recuentos se encontraron en el orden  $10^5$  UFC/mL salvo en invierno que disminuyó a  $10^4$  UFC/mL. Puede observarse que la velocidad de depuración es inversamente proporcional a la carga inicial.



**Figura 2.** Análisis del componente principal de FAME de las comunidades bacterianas en agua de mar (1 y 2) en otoño (O), verano (V), primavera (P) e invierno (I).



**Figura 3.** Análisis del componente principal de FAME de las comunidades bacterianas en sedimento (1S y 2S) en otoño (O), verano (V), primavera (P) e invierno (I).

Los sedimentos cercanos al vertido de líquido cloacal, presentan recuentos iniciales del orden de  $10^4$  UFC/mL, excepto la muestra 1S tomada en primavera que presenta recuentos del orden de  $10^3$  UFC/mL. En esta muestra, no se observó desarrollo bacteriano luego de la primera semana de incubación a  $10^\circ\text{C}$ .

La muestra más alejada del efluente, 2, presentó recuentos iniciales del orden  $10^2$ - $10^3$  UFC/mL. En dicha muestra no se observó desarrollo bacteriano después de la primera semana, salvo en la muestra de invierno donde se observó crecimiento hasta la segunda semana. Los sedimentos tomados en el punto 2 presentan recuentos iniciales comprendidos entre  $10^2$ - $10^4$  UFC/mL. En estas muestras los recuentos se negativizaron en la primera semana, salvo para las muestras 2S tomadas en verano e invierno que son las que presentan recuentos iniciales más altos. En estas muestras, hubo desarrollo bacteriano hasta la segunda semana.

#### Identificación de cepas

Se aislaron 197 cepas a partir de las muestras de las cuales 75 no se pudieron identificar por el sistema MIDI, pero se identificaron por pruebas metabólicas en donde el mayor porcentaje, 62%, fueron identificadas como *E. coli*. Los géneros bacterianos recuperados con mayor frecuencia en la muestra de agua de mar cercana al emisario fueron *Escherichia* y *Pseudomonas* con porcentaje de recuperación del 49 y 23% respectivamente. Dentro de los géneros mencionados, las especies más representativas fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia fergusonii*. En la muestra 2, se aislaron con mayor frecuencia los géneros *Enterococcus* y *Escherichia*, cuyos porcentajes de recuperación fueron del 22% para ambos géneros. Las especies recuperadas con mayor frecuencia en dicha muestra fueron *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*. En la muestra de sedi-

mento, los géneros con mayor porcentaje de recuperación fueron *Enterococcus* (24,6%) y *Pseudomonas* (35%) en la muestra 1S, y en la 2S *Vibrio* (40%) y *Enterococcus* (23,7%). Las especies que se recuperaron con mayor frecuencia dentro de estos géneros fueron *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas putida* en la muestra 1S y *Enterococcus faecalis* y *Vibrio diazotrophicus* en la muestra 2S.

En el análisis de componentes principales (fig. 2 y 3) se observa que las muestras de agua de mar (1 y 2) se agrupan juntas. El mismo comportamiento se observa para las muestras de sedimento (1S y 2S). Esto indica, que las comunidades bacterianas en las muestras de agua de mar son diferentes a las presentes en el sedimento. Esto puede deberse a que cuando estos microorganismos son introducidos en el medio marino, las condiciones ambientales cambian y su capacidad de reproducirse y sobrevivir es escasa. Algunos grupos bacterianos, son más resistentes al stress fisiológico. Por ejemplo, los enterococos fecales mueren a una velocidad más lenta en el agua de mar que los coliformes fecales (Rozen y Belki, 2001). Esto explicaría la menor biodiversidad en las muestras de sedimento, que se evidencia en el índice de Shannon para el punto 1, el cual disminuye de 2,20 en la muestra de agua de mar a 1,59 en la muestra de sedimento. La mayoría de coliformes y enterobacterias mueren al ser introducidos en el ambiente marino, y solo unos pocos pueden sobrevivir en el sedimento (Davis et al, 2005).

#### DISCUSIÓN

Las descargas de líquidos cloacales son una importante fuente de contaminación en las zonas costeras (Creig et al, 2002; Steittenberg y Baldini, 2010). Los efluentes cloacales son eliminados mediante emisarios submarinos, los cuales permiten reducir la contaminación orgánica y bacteriológica gracias al volcado a cierta distancia de la costa, que junto con las mareas y corrientes permiten diluir las aguas servidas (Huenca et al, 1996; Sinton et al, 1999). El sitio de la playa estudiada presenta pérdidas de líquido cloacal por el mal mantenimiento del ducto. El aporte incontrolado de líquidos cloacales, aumenta el riesgo de contraer enfermedades infecciosas asociadas con patógenos o patógenos oportunistas, y ocasionadas por el consumo de mariscos y pescados o por contacto directo debido al uso de las playas con fines recreacionales. El recuento de coliformes totales y enterobacterias fue positivo en todas las muestras y en todas las estaciones. Los recuentos bacterianos iniciales, muestran que existe contaminación fecal en todos los puntos de la playa estudiada. Estos elevados valores se deben al mal estado del emisario, por lo que este, no cumpliría su función de diluir las aguas servidas, aumentando el riesgo de infección por patógenos ya sea por contacto o consumo de mariscos o pescados (Braga et al, 2000). Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas

fueron del orden de  $10^6$  UFC/mL en las muestras de agua en verano, primavera e invierno, y de  $10^5$  UFC/mL en la muestra de otoño. En los sedimentos, los recuentos bacterianos fueron menores a los de las muestras de agua, siendo del orden de  $10^5$  UFC/mL excepto en la muestra 1S tomada en invierno donde es del orden de  $10^6$  UFC/mL. Esto indica, que la mayoría de microorganismos introducidos a través del emisario submarino, no sobrevive al stress fisiológico del ambiente marino (Rozen y Belki, 2001).

Los recuentos en los sedimentos próximos al emisario (punto 1) fueron en general menor que en las muestras de agua, indicando que gran parte de estas bacterias no sobreviven al estrés fisiológico producido por un ambiente marino desfavorable. Esto concuerda con los recuentos obtenidos en la muestra del sitio 2, donde los recuentos bacterianos son dos órdenes de magnitud menor respecto a la muestra del sitio 1. Por otro lado, también contribuye el proceso de dilución que se produce a medida que aumenta la distancia del punto de volcado del efluente. Los recuentos bacterianos en los sedimentos del sitio 2 son mayores que en la muestra de agua, lo que demuestra cierta permanencia de enterobacterias en los sedimentos. Esto podría deberse a que las partículas de sedimento actuarían como reservorio de microorganismos patógenos, ya que los microorganismos tienden a absorberse sobre las partículas suspendidas en el agua que luego precipitan (Pote et al, 2009). Otros factores que podrían influenciar son la mayor disponibilidad de nutrientes en las partículas de sedimento sobre áreas de eliminación de aguas residuales (Blumenroth y Wagner-Dobler, 1998; Craig et al, 2002; Craig et al, 2004), reducción de la inactivación solar (Sinton et al, 1999) y protección contra depredadores (Davies y Bavor, 2002). Por lo tanto, los sedimentos pueden constituir un importante reservorio de bacterias indicadores cultivables (Alm y Burkner, 2003; Ann et al, 2002, Dorsey et al, 2013). Las bacterias entéricas que colonizan el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente, son eliminadas a través de la materia fecal. Cuando estos microorganismos son introducidos en el medio marino, las condiciones ambientales cambian, por lo que su capacidad de reproducirse y sobrevivir es escasa. No se observó desarrollo bacteriano después de los 50 días de incubación. La alta velocidad de muerte, está provocada por la incidencia de luz UV, la alta salinidad, la temperatura del agua, la falta de nutrientes y la competencia con otros microorganismos (Muruleedhara et al, 2006; Noble et al, 2003; Toledo et al, 2005). Debido a esto, la presencia de enterobacterias y coliformes indica contaminación reciente. Contrariamente, las bacterias intestinales han mostrado una cierta persistencia en agua de mar, pudiendo permanecer en el sedimento. Esta situación, se evidenció en la muestra 2, donde el recuento de enterobacterias y coliformes totales fue mayor en el sedimento respecto a la muestra de agua. En el medio acuático, los sedimentos pueden constituir un depó-

sito de los diferentes contaminantes como metales pesados y microorganismos. Algunos estudios (Davis et al, 2005; Hughes, 2003) demostraron que los indicadores bacterianos adsorbidos en las partículas de sedimentos pueden ser protegidos de la influencia de muchos factores tales como los depredadores, la toxicidad de metales pesados, la salinidad y la radiación UV. Las poblaciones de los sedimentos de coliformes fecales pueden ser un promedio de 2200 veces mayor que en la cuenta de agua (Crabill et al, 1999). Por otro lado, el tiempo de sobrevida, está directamente relacionado con la carga inicial volcada al mar. La muestra que presenta mayor sobrevida es la 1 que posee mayor carga bacteriana inicial.

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo, podemos concluir que los recuentos bacterianos de microorganismos estudiados revelan que existe contaminación por enterobacterias y coliformes totales en la playa de la 99, lo que origina riesgos sanitarios y ambientales. Los sedimentos actuarían como reservorios de microorganismos patógenos y patógenos oportunistas. La mayoría de los microorganismos volcados al mar a través del emisario submarino no sobrevive debido al stress fisiológico en el ambiente marino. El tiempo de depuración es variable. Sin embargo, en un corto plazo, las playas de arena linderas al barrio Stella Maris quedaría libres de microorganismos patógenos y potenciales patógenos si se elimina la fuente de contaminación.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al CEIMA y a la UNPSJB por el financiamiento del trabajo. Al personal técnica del laboratorio Cecilia Tiedemann, Mirta Leiva y Miriam Robledo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alm EW, Burke J, Spain A. Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand and freshwater beaches. *Water Research* 2003; 37: 3978-3982.
- Ann YJ, Kampbell DH, Breidenbach GP. Escherichia coli and total coliforms in water and sediments at lake marinas. *Environmental Pollution* 2002; 63: 771-778.
- Anderson LK, Whitlock EK, Harwood JV. Persistence and differential of faecal indicator bacteria in subtropical water and sediment. *Applied and Environmental Microbiology* 2005; 71: 3041-3048.
- Arcos Pulido M, Avila SL, Estupiñan Torres SM, Gómez Prieta AC. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua 2005; 3: 69-79.
- Baghel VS, Gopal K, Dwivedi S, Rudra D. Tripathi bacterial indicators of faecal contamination of the Gangetic river system right at its source. *Ecological Indicators*. 2005; 5: 49-56.

- Blumenroth P, Wagner-Dobler I. Survival of inoculants in polluted sediments: effect of strain origin and carbon source competition. *Microb. Ecol.* 1998; 35: 279–288.
- Braga E, Bonetti C, Burone L, Bonetti J. Eutrophication and bacterial pollution caused by industrial and domestic wastes at the baixada Santina estuarine system- Brazil. *Marine Pollution Bulletin.* 2000; 40: 165-173.
- Brettar I, Holfe M . Influence of ecosystematic factors on survival of *Escherichia coli* after large-scale release into lake water mesocosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58: 2201–2210.
- Crabill C, Donald R, Snelling J, Foust R, Southam G. The impact of sediment fecal coliform reservoirs on seasonal water quality in Oak Creek, Arizona. *Water Research* 1999; 33: 2163–2171.
- Craig, J. Fallowfield, N. Cromar. Enumeration of faecal coliforms from recreational coastal sites: evaluation of techniques for the separation. *J. Appl. Microbiol.*, 2002; 93: 557–565
- Craig D, Fallowfield H, Cromar N. Use of macrocosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with in situ measurements. *J. Appl. Microbiol.* 2004; 96 : 922–930.
- da Silva TFBX & Débora Toledo Ramos, Dziejczak M, Mara Ribas de Oliveira C y Carvalho de Vasconcelos E. Microbiological Quality and Antibiotic Resistance Analysis of a Brazilian Water Supply Source. *Water Air Soil Pollut* 2011; 218:611–618
- Davies C, Bavor H. The fate of stormwater-associated bacteria in constructed wetland and water pollution control pond systems. *J. Appl. Microbiol.* 2002; 89: 349–360.
- Davis K, Anderson MA, Yates MV. Distribution of indicator bacteria in Canyon Lake, California. *Water Research* 2005; 39: 1277–1288.
- Dorsey JH, Carmona-Galindo VD, Learcy C, Huh J, Valdez J. An assessment of fecal indicator and other bacteria from an urbanized coastal lagoon in the City of Los Angeles, California, USA. *Environmental Monitoring and Assessment* 2013; 185: 2647-2669
- Härtig C, Loffhagen N, Harms H. Formation of trans fatty acids is not involved in growth-linked membrane adaptation of *Pseudomonas putida*. *Applied Environmental Microbiology* 2005; 71: 1915-1922.
- Herrera A, Suarez P . Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. *INCI.* 2005; 30: 171-176.
- Huenca W, Santander E, Pasilla L, Mondaca M. Sobrevida de bacilos gram negativos en ambiente marino. *Gayana Oceanol.* 1996; 4: 153-157.
- Hughes KA. Influence of seasonal environmental variables on the distribution of presumptive fecal coliforms around an antarctic research station. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69: 4884–4891.
- Kay D, Jones F, Wyer MD , Fleisher JM, Salmon RL, Godfree AF, et al. Predicting likelihood of gastroenteritis from sea bathing: results from randomised exposure. *The Lancet.* 1994; 344: 905–909.
- Muruleedhara NB, Whitman LR, Shively DA, Sadowsky MJ, Ishii S. Population structure, persistence, and seasonality of autochthonous *Escherichia coli* in temperate, coastal forest soil from a Great Lakes watershed. *Environmental Microbiology* 2006; 8: 504–513.
- Noble RT, Leecaster MK, McGee CD, Weisberg SB, Ritter K. Comparison of bacterial indicator analysis methods in stormwater-affected coastal waters. *Water Research* 2004; 38: 1183–1188.
- Pote J, Haller L, Kottelat R, Sastre V, Arpagaus P, Wildi W. Persistence and growth of fecal culturable indicators in water column and sediments of Vidy Bay, Lake Geneva, Switzerland. *Journal of Environmental.* 2009; 21: 62-69.
- Rozen Y, Belki S. Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbiology Reviews* 2001; 25: 513-529
- Sinton L, Finlay R, Lynch P. Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65: 3605–3613.
- Toledo H, Hernandez C, Rodriguez C, Brittner V, Ferreira L, Orellana F. Estudio de la contaminación fecal mensual y estacional en la zona costera adyacente al emisario submarino en la bahía de Puerto Montt. *Guyana* 2005; 69: 104-112.
- Skórczewsky P, Mudryk Z, Gackowska J, perlinski P. Abundance and distribution of fecal indicator bacteria in recreational beach sand in the southern baltic sea. *Revista de Biología Marina y Oceanografía.* 2012; 47 503-512.
- Steittenberg ME y Baldini MD. Deterioro de un área recreacional por efectos del volcado de líquidos cloacales. *Revista Argentina de Microbiología* 2010; 42: 307-310.