

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Escuela Académico Profesional de Ciencias Biológicas

**MICROORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD  
DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO EN LIMA  
METROPOLITANA**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

PRESENTADA POR:  
Bach. EDGAR ORLANDO MARCHAND PAJARES

LIMA - PERÚ  
2002

## INDICE

	Pag.
RESUMEN	1
SUMMARY	2
I. INTRODUCCION	3
II. ANTECEDENTES	6
III. MATERIAL Y MÉTODOS	15
IV. RESULTADOS	
1.-AGUA DE INMUEBLES	21
2.- AGUA DE POZO	22
3.- TABLAS Y FIGURAS	26
V. DISCUSION	42
VI. CONCLUSIONES	47
VII. RECOMENDACIONES	48
VIII. BIBLIOGRAFIA CITADA	49
IX. ANEXOS	55

## **RESUMEN**

El peligro más común con relación al agua de consumo humano es el de su contaminación, directa o indirectamente, debido a la acción de aguas residuales, excretas de hombres y animales, además de factores fisicoquímicos y ambientales. El presente trabajo tuvo como objetivos mejorar los requisitos existentes para perfeccionar los estándares de calidad del agua de uso humano; aislar otros posibles microorganismos indicadores de la calidad microbiana del agua y evaluar la calidad microbiológica del agua de consumo humano en Lima Metropolitana.

El trabajo se efectuó entre Junio y Diciembre del año 2000. Se analizaron 224 muestras de agua del Sistema de almacenamiento y distribución de agua en inmuebles y 56 muestras de agua provenientes de pozo. De éstas, 40 (17,86%) muestras de agua de inmuebles y 41 (73,68%) muestras provenientes de pozos no cumplieron las normas microbiológicas. Además de los indicadores tradicionales se encontró *Pseudomonas aeruginosa* y Estreptococos fecales, hallándose estos microorganismos en muchos de los casos, en ausencia de coliformes. Se concluye que éstos dos microorganismos indicadores pueden ser utilizados como indicadores complementarios de la calidad del agua de uso humano.

**PALABRAS CLAVE:** Coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, Estreptococos fecales, Enterococos, agua de consumo humano.

## **SUMMARY**

The most common danger in relation to the water of human consumption is that of its contamination, direct or indirectly, due to the action of residual waters, excrete of the man and animals, besides physiochemical and environmental factors.

The present work had as objectives to improve the existent requirements to perfect the standards of quality of the water of human use, isolate other possible indicators microorganism of the microbial quality of the water and to evaluate the microbiological quality of the water of human consumption in Metropolitan Lima.

The work was made between June and December of the year 2000. 224 samples of water of the storage system and distribution of water in properties and 56 samples of water coming from wells were analyzed. Of these, 40 (17,86%) samples of water of properties and 41 (73,68%) samples coming from wells didn't comply the microbiological norms. Besides the traditional indicators, *Pseudomonas aeruginosa* and faecal streptococci were found, being these microorganisms in many of the cases in absence of coliforms. In conclusion, these two indicators microorganisms can be used as complementary indicators of the quality of the water of human use.

**KEYWORDS:** Coliforms, *Pseudomonas aeruginosa*, faecal streptococci, enterococci, water of human consumption.

## **I.- INTRODUCCIÓN**

El agua de consumo humano ha sido definida en las Guías de Calidad del Agua de Bebida de la Organización Mundial de la Salud- OMS (OMS, 1985) como “adecuada para consumo humano y para todo uso doméstico habitual incluida la higiene personal”. El agua no debe presentar ningún tipo de riesgo que pueda causar irritación química, intoxicación o infección microbológica que sea perjudicial a la salud humana (VARGAS, 1996).

Debido a estas condiciones, en el caso de los microorganismos patógenos no existe un límite inferior tolerable; por lo que el agua destinada al consumo, la preparación de alimentos y bebidas o la higiene personal no debe contener ningún agente patógeno para los seres humanos. Esto se puede conseguir seleccionando fuentes de agua de buena calidad, tratando y descontaminando eficazmente el agua contaminada con heces de seres humanos o de animales u otras sustancias y protegiéndola para que no haya contaminación durante la distribución al usuario. (OMS, 1995).

Los microorganismos en general, son encontrados comúnmente en el agua, suelo y aire. La cantidad de ellos, presentes en cualquiera de estos medios, depende de una serie de factores tales como: humedad, temperatura y nutrientes. (CACERES, 1990).

El peligro más común y difundido, relativo al agua de consumo humano es el de su contaminación microbiana con aguas servidas y excretas del hombre y de los animales. Si dicha contaminación es reciente y se hallan microorganismos patógenos, es posible que dichos microorganismos se encuentren vivos y con capacidad de producir enfermedad. (VERGARAY y MENDEZ, 1994). Para controlar los peligros se aplican criterios (guías y estándares) para normar la calidad de las aguas; éstos establecen requisitos que deben satisfacer las aguas para que puedan ser destinadas al consumo

humano sin que afecten su salud. El cumplimiento de los requisitos de calidad sanitaria debe reducir en forma significativa los riesgos de contraer enfermedades infectocontagiosas (INHEM, CUBA, 1992). Sin embargo, si los requisitos de calidad sanitaria no son los adecuados, carecerán de importancia para proteger y controlar la calidad del agua y su aplicación no cumplirá con los objetivos previstos.

Los requisitos establecidos en la norma vigente en el Perú para controlar la calidad del agua de consumo humano (NORMA TECNICA NACIONAL: NTN 214.003 ITINTEC) carecieron de estudios previos de carácter nacional y fueron adoptados de normas de otros países, los cuales tienen condiciones epidemiológicas y socioculturales diferentes. La NTN establece como límites permisibles un máximo de 500 Bacterias heterotróficas por mililitro y ausencia de coliformes totales y coliformes fecales por 100 mililitros. Estos indicadores bacteriológicos de la calidad del agua no garantizan que esté exenta de riesgo para la salud, debido a que existen gérmenes que pueden encontrarse en el agua cuando no se detectan los indicadores mencionados (ONTIVEROS, 1983); este hecho se puede deber a una mayor capacidad de supervivencia de los microorganismos patógenos (GALARRAGA, 1984) a una mayor resistencia a las concentraciones de Cloro libre residual (CLR) que comúnmente se utiliza para desinfectar al agua (CACERES, 1990; FREIRA, 1995) o a una interferencia en el crecimiento de los indicadores.

Debido a que en Lima hay una elevada prevalencia de enfermedades infectocontagiosas producidas por microorganismos que son viabilizados por el agua de consumo humano (GALARRAGA, 1984), es necesario proteger y controlar su calidad mediante la aplicación de requisitos eficaces. Por ello se considera de especial importancia evaluar el estándar nacional de aceptabilidad del agua de consumo humano y proponer criterios para el perfeccionamiento de los mismos.

Los objetivos del presente trabajo son:

▪ **OBJETIVO GENERAL**

- Proponer microorganismos indicadores complementarios para perfeccionar el estándar nacional de calidad microbiana del agua de consumo humano.

▪ **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Evaluar la Calidad microbiana del agua de consumo humano en Lima Metropolitana.
- Determinar los factores que favorecen la contaminación del agua de consumo humano.
- Aislar posibles indicadores de contaminación microbiana.
- Correlacionar la presencia y recuento de los indicadores aislados con los indicadores de calidad de la Norma Técnica Nacional (NTN).

## **II.- ANTECEDENTES**

Los agentes patógenos transmitidos por el agua constituyen un problema mundial que demanda un urgente control mediante la implementación de medidas de protección ambiental a fin de evitar el incremento de las enfermedades relacionadas con la calidad del agua (VARGAS, 1996).

El agua de calidad apta para consumo humano cuando entra al sistema de distribución, puede contaminarse a través de conexiones cruzadas, retrosfonaje, rotura de las tuberías del sistema de distribución, conexiones domiciliarias, cisternas y reservorios defectuosos, grifos con trancos dañados y durante el tendido de nuevas tuberías o reparaciones realizadas sin las mínimas medidas de seguridad (OMS, 1985; OMS, 1995; VARGAS, 1996). Asimismo defectos en la construcción o en las estructuras de pozos, depósitos, ausencia o irregular mantenimiento de dichas instalaciones son causas que predisponen el ingreso y proliferación de microorganismos desde distintas fuentes (GOYA, 1997). Además existen factores secundarios que permiten el crecimiento de microorganismos en el agua dentro de los sistemas de distribución y almacenamiento como: cantidad y tipo de nutrientes, oxígeno, temperatura, pH, concentración de desinfectante y material de las tuberías (GALARRAGA, 1984).

La determinación de microorganismos intestinales normales como indicadores de contaminación fecal, en lugar de patógenos, es un principio de aceptación universal en la vigilancia y evaluación de la seguridad microbiana en los sistemas de abastecimiento de agua (GOEZ, 1999). Estos microorganismos deben cumplir diferentes requisitos como: ser inofensivos para humanos, permanecer más tiempo que los microorganismos patógenos y con su ausencia demostrar un agua segura libre de microorganismos



patógenos (GALARRAGA, 1984). Además, un buen indicador debe ser específico de contaminación fecal debe hallarse en forma constante en las heces y estar asociado a las aguas residuales. Asimismo, debe ser fácilmente aislable, identificable y enumerable en el menor tiempo posible y con el menor costo. Debe ser capaz de crecer en los medios de cultivo comunes, estar distribuido al azar en las muestras y ser resistente a la inhibición de su crecimiento por otras especies (GOEZ, 1999).

El objetivo de las normas y estándares es el de controlar la cantidad de un determinado microorganismo en el agua, siendo este microorganismo la causa de una enfermedad específica o un indicador de las condiciones dentro de las cuales de podría transmitir esa enfermedad (JONES, 1997).

Los microorganismos indicadores contemplados por la Norma Técnica Nacional (NTN ITINTEC 214.003) son tres: Bacterias Heterotróficas, Coliformes totales y Coliformes fecales.

Las Bacterias Heterotróficas están presentes en todos los cuerpos de agua y constituyen un grupo de bacterias ambientales de amplia distribución, éstas son indicadoras de la eficacia de los procesos de tratamiento, principalmente de la desinfección (descontaminación).

El grupo coliforme abarca los géneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*. Cuatro de estos géneros (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*) se encuentran en grandes cantidades en el ambiente (fuentes de agua, vegetación y suelos) no están asociados necesariamente con la contaminación fecal y no plantean ni representan necesariamente un riesgo evidente para la salud (ALLEN, 1996). Las bacterias coliformes, no deben estar presentes en sistemas de abastecimiento, almacenamiento y distribución de agua, y si así ocurriese, ello es indicio de que el tratamiento fue inadecuado o que se produjo contaminación posterior.

Se ha demostrado que las especies de *Enterobacter* y *Klebsiella* colonizan con frecuencia las superficies interiores de las cañerías de agua y tanques de almacenamiento (a menudo llamado "rebrote") y crecen formando una biopelícula cuando las condiciones son favorables, es decir, presencia de nutrientes, temperaturas cálidas, bajas concentraciones de desinfectantes y tiempos largos de almacenamiento (ALLEN, 1996). En este sentido, la determinación de coliformes se usa como indicador de la eficacia del tratamiento (CACERES, 1990). Los coliformes fecales (termorresistentes) se definen como el grupo de organismos coliformes que pueden fermentar la lactosa a 44°-45°C, comprenden el género *Escherichia* y en menor grado, especies de *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (EASTON, 1998). Los coliformes termorresistentes distintos de *E. coli* pueden provenir también de aguas orgánicamente enriquecidas, por ejemplo de efluentes industriales o de materias vegetales y suelos en descomposición. Como los organismos coliformes termoresistentes se detectan con facilidad, pueden desempeñar una importante función secundaria como indicadores de la eficacia de los procesos de tratamiento del agua para eliminar las bacterias fecales (OMS, 1995).

Existen microorganismos que están considerados como "otros indicadores", los cuales no están contemplados en la NTN. Entre estos se encuentran *Pseudomonas aeruginosa* y el grupo de los Estreptococos fecales.

El grupo *Pseudomonas* está constituido por bacilos aerobios gramnegativos y móviles, algunos de los cuales producen pigmentos solubles en agua. Las especies del género *Pseudomonas* se identifican sobre la base de varias características fisiológicas. Una de las propiedades más notables de *Pseudomonas* es la gran variedad de compuestos orgánicos que utilizan como fuentes de carbono y energía (ONTIVEROS, 1983). *Pseudomonas aeruginosa*, no es un parásito obligatorio, puede ser fácilmente encontrada en el suelo y se comporta como desnitrificante, teniendo un papel importante en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza (SOARES, 1996).

Los patógenos oportunistas están presentes naturalmente en el medio ambiente y no están catalogados como agentes patógenos en sentido propio, aunque pueden causar enfermedades a las personas cuyos mecanismos de defensa locales o generales son deficientes, por ejemplo a los ancianos, a los lactantes, quienes han sufrido quemaduras o heridas extensas, a los enfermos sometidos a un tratamiento inmunosupresor o a los que padecen el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Si el agua que esas personas utilizan para la bebida o el baño contiene un gran número de estos microorganismos oportunistas puede producirles diversas infecciones cutáneas y de las membranas mucosas del ojo, oído, nariz y garganta. Ejemplos de estos agentes son *Pseudomonas aeruginosa* y en menor grado especies de *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Aeromonas* así como ciertas micobacterias de desarrollo lento (OMS, 1995).

El hallazgo de *Pseudomonas aeruginosa* en balones de agua destilada de hospitales y su presencia en reservorios de agua potable (tanques domiciliarios, tanques cisterna, depósitos de medios de transporte) con mayor frecuencia y en concentraciones más elevadas que las detectadas en los sistemas de distribución, ha sido atribuido a la posible multiplicación y mayor supervivencia de la misma, en relación con las demás bacterias comúnmente aisladas del agua (CALDERON, 1976).

Se ha demostrado que *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de sobrevivir y multiplicarse en aguas tratadas, esto debido a una densa capa polisacárida la cual establece una barrera no solo física sino química capaz de proteger a la bacteria de las moléculas e iones de Cloro libre residual (REILLY, 2000). En el Perú, Torres (1991), efectuó estudios para evaluar la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* al Cloro libre residual obteniendo resultados que demuestran que el tiempo de reducción del 99% de bacterias a la concentración de 1 mg/l de Cloro libre residual a pH 9 es aproximadamente dos veces menos efectivo que a pH 7, siendo de 100 y 35 minutos

respectivamente. Por lo que concluye que la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el agua potable es de alto riesgo para la salud, en especial de los neonatos, pacientes hospitalizados e inmunodeficientes; debiendo ser considerado como un indicador de eficiencia de la desinfección, y ser incluida su detección y cuantificación en los análisis de rutina. En resumen, la presencia de este microorganismo es un indicador de la calidad del agua ya que su resistencia al cloro es superior a la de otros microorganismos aislados del agua (GUINEA, 1979; ONTIVEROS, 1983; APHA, 1995).

La importancia de *Pseudomonas* se tornó mayor cuando se comprobó su capacidad de inhibir los coliformes, siendo los indicadores de contaminación de agua más usados en el mundo, se corre un gran riesgo de consumir agua con índice de coliformes cero los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas* (SOARES, 1996). Se ha comprobado que especies de los géneros *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Bacillus*, Actinomycetos y levaduras son microorganismos que influyen en la detección del grupo coliforme ya que ejercen sobre éstos una acción inhibitoria (GELDREICH, 1978). Estudios efectuados por Roberts, NC y colaboradores (1982) reportaron que especies del género *Pseudomonas* producen una sustancia denominada "Pseudocin" (PLS) que inhibe el crecimiento de *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *Klebsiella sp.* por lo que se considera que aún cuando las aguas tratadas muestren estar libres de coliformes no se puede asegurar su potabilidad (ONTIVEROS, 1983). Le Chevallier (1985), encontró que especies de *Pseudomonas*, entre ellas *Pseudomonas aeruginosa* producen bacteriocinas con acción antibiótica frente a diversos coliformes como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter agglomerans*.

Asimismo, Contreras y col. (1996) realizaron un estudio comparativo para evaluar el establecimiento poblacional de *Pseudomonas aeruginosa* y Coliformes fecales en agua de consumo humano, encontrando que al aumentar

la proporción entre *Pseudomonas aeruginosa* y Coliformes fecales, éstos últimos disminuyen, demostrando que los catabolitos de *Pseudomonas aeruginosa* (piocinas) tienen efecto bactericida sobre coliformes, principalmente *E. coli*, lo cual produciría su disminución o diseminación conduciendo a resultados erróneos en el control de calidad.

Wheater y colaboradores (BROWN, 1978) investigando *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, en aguas dulces, residuales domésticas y de hospital encontraron que en excretas de diferentes animales no se encontró *Pseudomonas aeruginosa*, pero si en las excretas humanas, lo que demuestra que este organismo se encuentra relacionado con efluentes de fuentes humanas y confirman el punto de vista de Cabelli, Kenedy y Levin (1976) de que cuentas de *E. coli* mayores a 1000/100 mL. con ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* sugieren de que la fuente de contaminación fecal es de tipo animal más que humana (ONTIVEROS, 1983).

Robertson (1983), evaluando *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Vibrio parahemolyticus* llegó a la conclusión de que *Pseudomonas aeruginosa* es un indicador complementario a coliformes totales y fecales en aguas, además de estar más asociado, en comparación con los coliformes, a residuos fecales humanos más que de animales.

De Vicente (1991), estudiando la relación entre *Pseudomonas aeruginosa* y coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales en playas marinas de Málaga, España, llegó a la conclusión de que los residuos domésticos son una mayor fuente de *Pseudomonas aeruginosa* habiendo una relación directa entre la densidad de *Pseudomonas aeruginosa* en los residuos domésticos y la densidad de coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales en las aguas de río y mar, contaminadas por dichos residuos.

En Canadá, bacteriólogos que tradicionalmente utilizaban coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales como indicadores bacteriológicos de calidad del agua, comenzaron a determinar otros

microorganismos tales como *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* para poder garantizar la calidad microbiana del agua (DUTKA, 1978).

En el Perú, en un estudio realizado por Torres (1991), se indica que la ausencia de bacterias coliformes en las muestras de agua de cisternas y tanques, no significan la ausencia de riesgo microbiológico, pudiéndose encontrar *Pseudomonas aeruginosa* como patógeno oportunista.

Los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que forman pares o cadenas durante el crecimiento. Algunos forman parte de la microbiota normal humana, otros se relacionan con importantes enfermedades humanas atribuibles a una sensibilización hacia ellos. La clasificación de los estreptococos se ha establecido tomando en consideración la morfología de la colonia las reacciones hemolíticas, la especificidad serológica (clasificación de Lancefield), las reacciones bioquímicas, la resistencia a factores físicos y químicos y finalmente a sus características ecológicas (APHA, 1995).

El grupo de los Enterococos es un subgrupo de los Estreptococos fecales e incluye a especies como *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. gallinarum* y *S. avium*. Los Enterococos son diferenciados de otros estreptococos fecales por su habilidad de crecer en medios con 6,5% de Cloruro de Sodio, a pH 9,6, a 10° C y a 45°C (APHA, 1995). Debido a su resistencia a estos factores que permiten un mayor tiempo de supervivencia (CABELLI et al, 1976) son considerados como indicadores de contaminación fecal antigua en contraste con la presencia de coliformes que indican contaminación fecal reciente (SOARES, 1996).

El uso de Estreptococos fecales como indicadores de contaminación fecal del agua de consumo humano no es reciente. En 1928, Green luego de un estudio prolongado concluyó que *Streptococcus faecalis* tenía un mayor significado sanitario que *Escherichia coli* (Citado por SOARES, 1996). Recientemente los estreptococos fecales han sido considerados como

organismos de supervivencia superior a los coliformes en aguas. A puntos distantes de la fuente de contaminación, ellos fueron muchas veces los únicos indicadores de contaminación fecal (CABELLI et al, 1983).

Los estreptococos fecales han sido utilizados con los coliformes fecales para diferenciar la contaminación fecal del hombre de otros animales de sangre caliente (APHA, 1995). La razón entre coliformes fecales (CF) y estreptococos fecales (EF) proveen información acerca de la fuente de contaminación. Un rango mayor de 4 es considerado indicativo de contaminación fecal humana, un rango menor a 0,7 sugiere contaminación por una fuente no humana (APHA, 1995).

Los estreptococos fecales rara vez se multiplican en agua contaminada y son más persistentes que *E. coli* y las bacterias coliformes. Además los estreptococos son muy resistentes al secado y pueden ser utilizados para realizar controles sistemáticos después de la colocación de nuevas tuberías maestras o la reparación de los sistemas de distribución, así como para detectar la contaminación de aguas subterráneas o superficiales (OMS, 1995).

Cabelli et al (1982), llevaron a cabo una investigación epidemiológica de la calidad de agua y sus efectos a la salud en playas marinas. Muestras de agua fueron analizadas para determinar la presencia de coliformes, Enterococos, *Pseudomonas aeruginosa* y *Clostridium perfringens*, como posibles indicadores. Se demostró una correlación entre los niveles de Enterococos en el agua y una mayor incidencia en enfermedades gastrointestinales en nadadores que usaron estas aguas.

Estudios realizados por Fleisher y col. (1993) en playas marinas y Seyfried y col. (1985) en agua dulce, demostraron que existe una relación matemática entre la densidad de Estreptococos fecales y la aparición de casos de gastroenteritis, no hallando asociación entre esta enfermedad y Coliformes

fecales. Asimismo en Israel, Fattal y col. (1987) analizando aguas marinas para la presencia de *Escherichia coli*, Enterococos y Coliformes fecales, concluyeron que es mayor el riesgo de contraer enfermedades entéricas en aguas con un alto nivel de Enterococos.

En el Perú, Vergaray y Méndez (2001), modificaron el método de Numeración de Estreptococos fecales y Enterococos por el Método de Tubos múltiples establecido por la APHA (1995), utilizando Agar M-Enterococos en lugar de Caldo Púrpura de Bromocresol, obteniendo resultados satisfactorios.



### **III.- MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo se realizó en la Ciudad de Lima Metropolitana entre los meses de Junio y Diciembre del año 2000.

Se tomó en consideración el agua de consumo humano que proviene de las Aguas superficiales del Río Rímac y es tratada mediante procesos físicos y químicos en la Planta de "La Atarjea". El agua es distribuida a los inmuebles de la ciudad a través de la Red pública. Los inmuebles que tienen uno o dos pisos carecen de almacén de agua, los que tienen más pisos reciben el agua en una cisterna del subsuelo de donde es impulsada a un tanque elevado para luego ser distribuida mediante una red interna de tuberías a los grifos de los diferentes pisos.

A su vez, se tomó en consideración el agua de consumo humano proveniente de pozos subterráneos que es distribuida por camiones cisterna a zonas urbano-marginales.

#### **1. - INSPECCIÓN HIGIÉNICO-SANITARIA**

En el caso de agua de inmuebles se realizó un muestreo aleatorio en edificaciones (viviendas, restaurantes, hoteles, instituciones públicas, fábricas, etc.) que contaban con sistemas de almacenamiento y distribución de agua (tanques y cisternas). El estudio incluyó la Inspección higiénico-sanitaria del Sistema de Almacenamiento y distribución para lo cual se elaboró una ficha de inspección tomando en cuenta puntos críticos como presencia de tapa adecuada, presencia de reborde, estado higiénico de los almacenes de agua, etc. En el caso de agua de pozo, se realizó un muestreo aleatorio de pozos, surtidores, camiones cisterna y reservorios de agua extradomiciliarios en zonas urbano marginales de los Conos Norte, Sur y Este de la Gran Lima. Se realizaron inspecciones higiénico-sanitarias en los lugares de muestreo para lo

cual se elaboraron fichas de inspección higiénico-sanitaria tomando en consideración puntos críticos tales como material de construcción de los pozos y reservorios de agua, profundidad y el estado higiénico de los mismos. Además se evaluaron las condiciones higiénico-sanitarias del ambiente circundante tomando en consideración aspectos como presencia de letrinas, aguas servidas, animales domésticos, basurales y tipo de suelo. Así mismo en las viviendas se evaluaron las condiciones de almacenamiento del agua. En ambos casos (inmuebles y pozos) se dejaron recomendaciones para lograr mejorar las deficiencias higiénico-sanitarias.

## **2. -MUESTREO**

Se tomaron las muestras de agua de acuerdo al Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater de la APHA (APHA, 1995). Se midió el Cloro Libre residual in situ mediante la técnica del DPD (N, N dietil-p-fenildiamina)-Aquamerck 11100 y el pH. Se tomaron muestras de agua (200 mL aproximadamente) en frascos estériles con tapa rosca "SCHOTT DURAN" que contenían 0,1 mL de Tiosulfato de Sodio al 10%.

### **2.1.- AGUA DE INMUEBLES**

El muestreo se realizó en los distritos de Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco.

Se tomaron muestras correspondientes al agua de la Red pública que descarga en la cisterna y muestras de grifo de diferentes pisos del inmueble dependiendo de la complejidad del sistema. Se desinfectaron los puntos de descarga con alcohol para luego dejar fluir el agua durante 2 a 3 minutos, tiempo suficiente para permitir limpiar la línea de servicio.

## **2.2.- MUESTRAS PROVENIENTES DE POZOS DE AGUA SUBTERRÁNEA.**

El muestreo se realizó en zonas rurales de Comas, Puente Piedra, Carabaylo, San Juan de Lurigancho, Chorrillos, San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo, Villa El Salvador, Lurín y Pachacamac.

El muestreo se realizó introduciendo el frasco en el fondo del pozo con ayuda de una cuerda o soguilla, en surtidores al igual que en camiones cisterna se tomaron muestras directamente de la manguera de descarga. En muestras de agua almacenadas en tanques extradomiciliarios, se tomaron muestras del punto de descarga del almacén utilizando el mismo procedimiento que en inmuebles.

## **3. - ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Las muestras fueron llevadas al laboratorio en una caja térmica (cooler) a 4°C, para realizar la detección y numeración de gérmenes siguiendo las recomendaciones de los Métodos Standard (APHA, 1995), considerándose los siguientes parámetros: Bacterias Heterotróficas por el método de recuento en placa, Numeración de Coliformes Totales y Coliformes fecales (Termotolerantes) por el método de Tubos Múltiples (NMP), Numeración de Streptococos fecales y Enterococos por el método de Tubos múltiples (NMP) y Detección y numeración de *Pseudomonas aeruginosa* por el método de tubos múltiples (NMP).

### **3.1. - RECuento DE BACTERIAS HETEROTRÓFICAS (APHA, 1995)**

Se utilizó la técnica de incorporación (pour plate method). El método consistió en adicionar un volumen de 1 mL de la muestra y/o sus diluciones a una placa petri estéril de 15mm X 100 mm (por duplicado) para luego verter agar plate count licuado y temperado (a 45°C) a la placa, homogeneizar de acuerdo a los métodos de rotación, dejar solidificar e incubar las placas invertidas a 35°C durante 48 horas.

### **3.2. - NUMERACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y TERMOTOLERANTES POR EL MÉTODO DE TUBOS MÚLTIPLES (NMP). (APHA, 1995)**

El método consistió en utilizar como medio de cultivo para la prueba presuntiva, Caldo Lauril Triptosa en volúmenes de 10 mL de concentración simple (X), para inóculos de 1 mL y de doble concentración (2x) para inóculos de 10 mL.

Luego de inoculada la muestra y/o sus diluciones, se incubó a 35°C por 24-48 horas, considerándose como positivos los tubos con presencia de gas y turbidez.

De los tubos positivos, se transfirió una asada a tubos con Caldo Brila y Caldo EC. Se incubó a 35°C por 24-48 horas los tubos de Caldo Brila y a 44,5°C durante 24 horas los tubos con Caldo EC.

La formación de gas en tubos de Caldo Brila y Caldo EC, se consideró como positivo para Coliformes Totales y Coliformes Fecales (Termotolerantes) respectivamente. Luego se hizo la lectura del Número más Probable (NMP) en

las tablas correspondientes, estimándose como Número más probable (NMP) de Coliformes Totales por 100 mL y NMP de Coliformes Fecales por 100 mL.

### **3.3. - NUMERACIÓN DE ESTREPTOCOCOS FECALES Y ENTEROCOCOS POR EL MÉTODO DE TUBOS MÚLTIPLES (NMP). (APHA 1995, modificado por Vergaray y Méndez (2001))**

Se inocularon series de tubos con Caldo Azida Glucosa (de concentración doble y simple) de igual forma que para el grupo coliforme, incubándose a 35°C durante 24-48 horas. Las lecturas positivas correspondieron a tubos con presencia de turbidez y sedimento. Para la prueba confirmativa, de los tubos positivos, se sembró el contenido por estrías en placas con Agar M-Enterococos, incubándose a 35°C durante 24-48 horas.

Se escogieron colonias típicas (pequeñas, rosadas) para luego transferirlas a tubos con Caldo BHI con NaCl al 6,5%, pH 9,6, crecimiento a 10°C y 45°C. Los tubos con crecimiento (turbidez) se consideraron positivos para luego calcular el NMP de Enterococos por 100 mL (FLUJOGRAMA 3).

### **3.4. - NUMERACIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa* POR EL MÉTODO DE TUBOS MÚLTIPLES (NMP). (APHA, 1995)**

Para la prueba presuntiva se utilizó Caldo Asparragina (doble y simple concentración) procediendo de la misma forma que la técnica para coliformes. Se incubó a 35°-37°C durante 24-48 horas. Las lecturas se realizaron con ayuda de luz Ultravioleta de onda larga (357 nm.) registrándose como positivos aquellos tubos que produjeron pigmento verde o fluorescencia.

Con ayuda de un asa de sembró por estrías el contenido de los tubos positivos de la prueba presuntiva en Agar Cetrimide, incubándose a 41,5°C durante 24-48 horas.

De Agar Cetrimide se seleccionaron colonias típicas (verde azuladas y fluorescentes a la luz UV), las colonias seleccionadas fueron transferidas a un cepario con Agar Tripticasa de Soya (TSA) incubándose a 35°C por 24 horas.

De cada cepario se realizaron pruebas de catalasa y oxidasa, seleccionándose aquellas que dieron reacción positiva en ambas. A partir de las cepas Oxidasa (+) y Catalasa (+) se realizaron las siguientes pruebas Bioquímicas: crecimiento a 4°C, crecimiento a 41,5°C, reducción de nitratos y Producción de Píocianina. De las cepas positivas se calculó el Número más probable (NMP) reportándose como NMP/100 mL de *Pseudomonas aeruginosa*. (FLUJOGRAMA 4).

## **IV.- RESULTADOS**

### **1. - AGUA DE INMUEBLES**

De acuerdo a la Inspección Higiénico-sanitaria del Sistema de almacenamiento y distribución de agua de inmuebles, de 224 cisternas evaluadas, las principales deficiencias en la construcción y/o mantenimiento fueron: Agua turbia y/o sedimento (70,48%), Tubería interna oxidada (53,33%), Paredes internas sucias (40%), Sin tapa (38,10%), sin reborde de protección (33,33%) y ambiente sucio (8,57%). Otras deficiencias encontradas fueron: presencia de Algas (6,67%), película superficial en el agua (6,67%), objetos extraños dentro de la cisterna (5,71%), vectores, principalmente cucarachas (3,81%) e inaccesibilidad (2,86%) (TABLA 1).

De los 224 tanques evaluados, las principales deficiencias encontradas en la construcción y/o mantenimiento fueron: Agua turbia y/o sedimento (78,10%), paredes internas sucias (52,38%), tubería interna oxidada (46,66%), sin tapa (39,05%), inaccesibilidad (21,90%), sin reborde de protección (18,10%) y ambiente sucio (16,10%). Además se encontró: película superficial en el agua (7,62%), algas (5,71%), objetos extraños dentro del tanque (3,81%) y cucarachas (2,96%) (TABLA 2).

El agua proveniente de la red pública no presentó contaminación microbiológica (FIGURA 1), contaminándose en el sistema de abastecimiento y distribución de los inmuebles, en donde el 17,86% presentó contaminación microbiológica (no apta para el consumo humano), principalmente por Bacterias heterotróficas (BH), Coliformes Totales (CT) (70%) y Coliformes fecales (termotolerantes) (CF) (52,50%) (FIGURAS 2 Y 3).

Se encontró *Pseudomonas aeruginosa* (PA) en el 8,03% de muestras de inmuebles (FIGURA 4). En el 44,44% de casos hubo una presencia compartida

entre *Pseudomonas aeruginosa* y coliformes y en el 55,55%, presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y ausencia de coliformes. Además hubo un 77,77% de presencia compartida entre BH y PA y 22,22% de presencia de PA y ausencia de BH (TABLA 3). Asimismo se muestra el incremento de muestras no aptas para el consumo humano considerando como criterio a PA además de la Norma Técnica Nacional (NTN) (TABLA 5).

Se encontró 6,23% de Estreptococos fecales (EF) (FIGURA 5), habiendo en un 78,57% presencia de EF y coliformes y 21,42% presencia de EF y ausencia de coliformes. Asimismo se muestra la relación entre BH y EF, donde hay un 92,85% de presencia compartida entre EF y BH y 7,14% de presencia de EF y ausencia de BH (TABLA 4). Además se muestra el incremento de muestras no aptas al consumo humano considerando como criterio a EF además de la NTN y a PA y EF además de la NTN (TABLA 5).

Con relación a la concentración de Cloro Libre Residual (CLR), el 38,84% de muestras de inmuebles tuvieron un rango entre 0,6 y 1,0 ppm de CLR, el 35,71% entre 0,1 y 0,5 ppm de CLR, el 24,11% carecía de CLR y el 1,34% una concentración mayor que 1 ppm de CLR. Además el mayor número de muestras inaptas (88,88%) fueron aquellas que carecían de CLR (0 ppm), seguidas de aquellas que tuvieron rangos entre 0,1-0,5 ppm (5,56%), 0,6-1,0 ppm (5,56%) y mayor de 1 ppm (0%) (TABLAS 5 Y 6).

## **2. – MUESTRAS PROVENIENTES DE POZOS DE AGUA SUBTERRÁNEA.**

Las deficiencias Higiénico-sanitarias encontradas en fueron: Pozos y surtidores sin autorización de funcionamiento (60%), presencia de vectores (cucarachas) en un 36%, algas (32%), Cercanía a letrinas (32%), Cercanía a basurales (12%), presencia de animales domésticos en el ambiente circundante (12%), pozos sin protección física (8%) y sin revestimiento interno (4%) (TABLA 8).



Del total de muestras, 73,68% presentaron contaminación microbiológica de acuerdo a la NTN. Los indicadores encontrados fueron: Coliformes totales y fecales (92,86%) y Bacterias Hetrotróficas (42,86%) (FIGURAS 6 Y 7).

Se encontró *Pseudomonas aeruginosa* en el 60,71% de muestras de agua provenientes de pozo (FIGURA 8). En el 54,54% de casos hubo una presencia compartida entre *Pseudomonas aeruginosa* y coliformes y en el 45,45% presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y ausencia de coliformes. Además hubo un 81,81% de presencia compartida entre BH y PA y 18,18% de presencia de PA y ausencia de BH (TABLA 9). Asimismo se muestra el incremento de muestras no aptas para el consumo humano considerando como criterio a PA además de la NTN (TABLA 11).

Asimismo se encontró Estreptococos fecales en el 46,43% de muestras de agua de pozo (FIGURA 9), habiendo en todos los casos presencia compartida de este indicador con coliformes. Además se muestra la relación entre BH y EF (TABLA 10) y el incremento de muestras no aptas al consumo humano considerando como criterio a EF además de la NTN y a PA y EF además de la NTN (TABLA 11).

Con respecto a la concentración de Cloro Libre residual (CLR) en las muestras de agua de pozo, el 75% de muestras carecía de CLR (0 ppm) y el 25% tuvo una concentración entre 9,6 y 1.0 ppm de CLR. El 92,86% de muestras sin CLR y el 7,14% de muestras con CLR entre 0,6 y 1 ppm, fueron consideradas inaptas (TABLAS 12 Y 13).

**TABLA 1**  
**DEFICIENCIAS EN LA CONSTRUCCIÓN Y/O MANTENIMIENTO DE 224 CISTERNAS EN INMUEBLES DE LIMA (\*)**

<b>DEFICIENCIA</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
Inaccesible	6	2,86
Sin Reborde de Protección	73	33,33
Sin Tapa	84	38,10
Tubería interna oxidada	117	53,33
Agua Turbia y/o Sedimento	155	70,48
Paredes Internas Sucias	88	40,00
Ambiente Sucio	19	8,57
Algas	15	6,67
Vectores	8	3,81
Objetos Extraños	13	5,71
Película Superficial	15	6,66

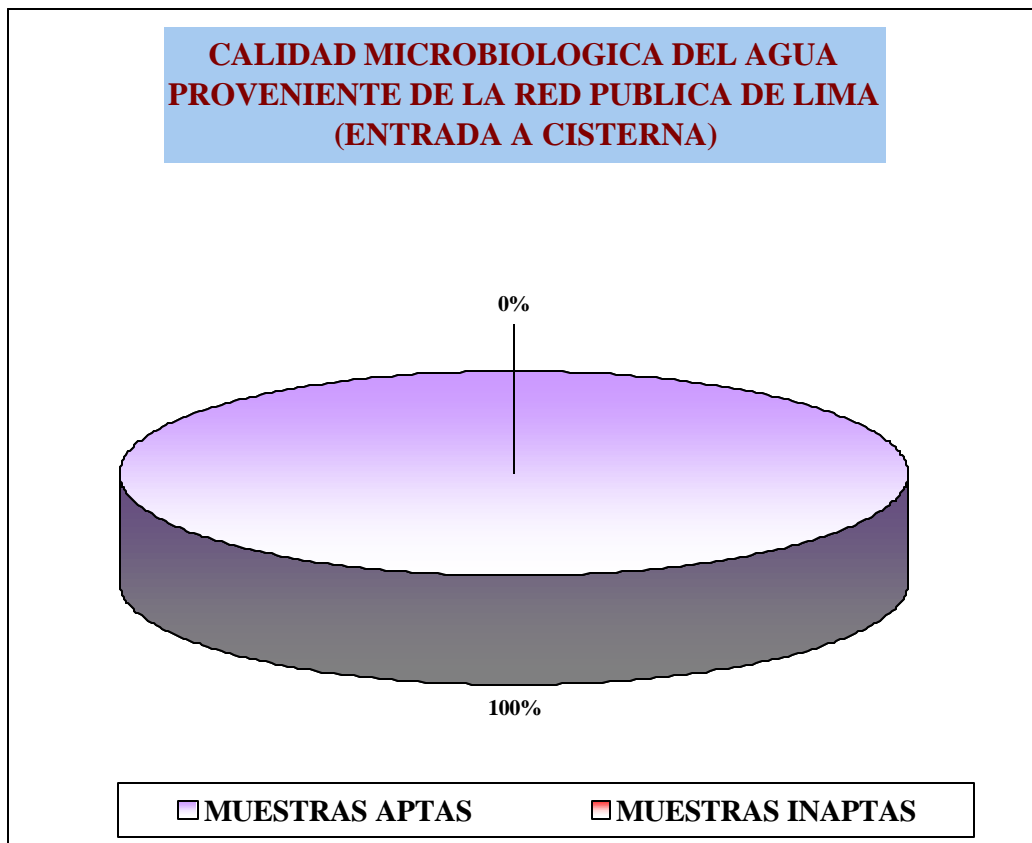
\* En los Distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco.

**TABLA 2**  
**DEFICIENCIAS EN LA CONSTRUCCIÓN Y/O MANTENIMIENTO DE 224**  
**TANQUES ELEVADOS EN INMUEBLES DE LIMA (\*)**

<b>DEFICIENCIA</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
Inaccesible	48	21,90
Sin Reborde de protección	39	18,10
Sin tapa	85	39,05
Tubería interna oxidada	102	46,66
Agua Turbia y/o Sedimento	170	78,10
Paredes Internas Sucias	114	52,38
Ambiente Sucio	35	16,10
Algas	12	5,71
Vectores	6	2,86
Objetos Extraños	8	3,81
Película Superficial	17	7,62

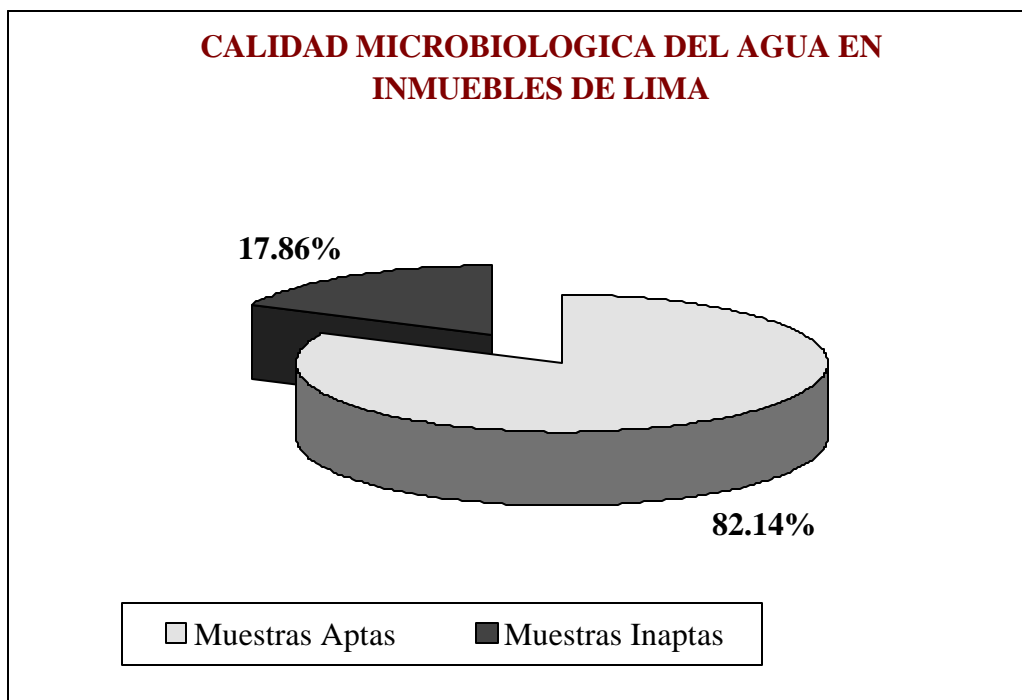
\* En los Distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco.

FIGURA 1



\* En los Distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco.

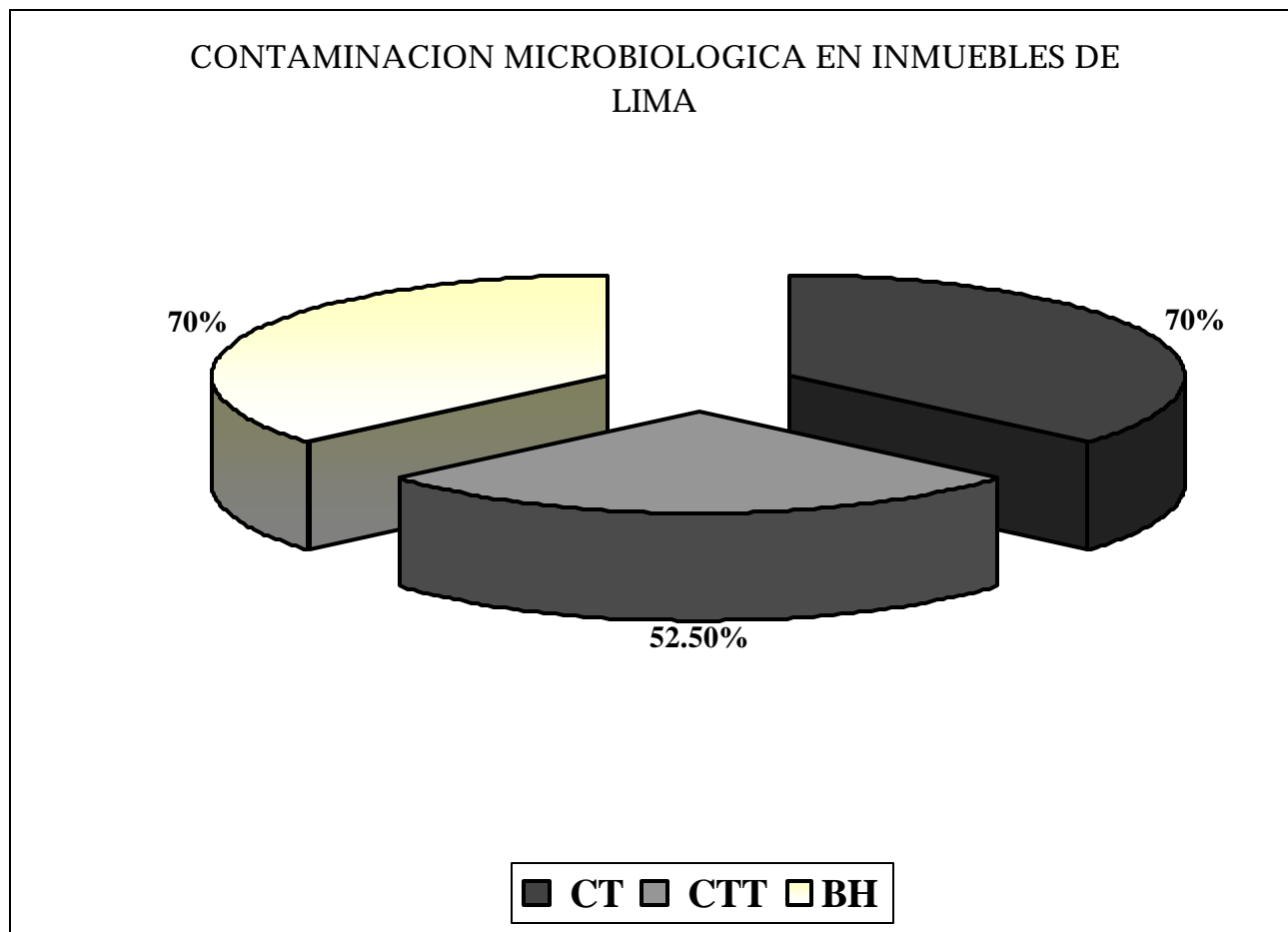
FIGURA 2



\* En los Distritos del Rímac, San Martín de Porres, Cercado, Lince, La Victoria, Miraflores y Surco.

\*\* De acuerdo a la Norma Técnica Nacional (NTN). No se consideraron muestras con *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus fecales*.

FIGURA 3



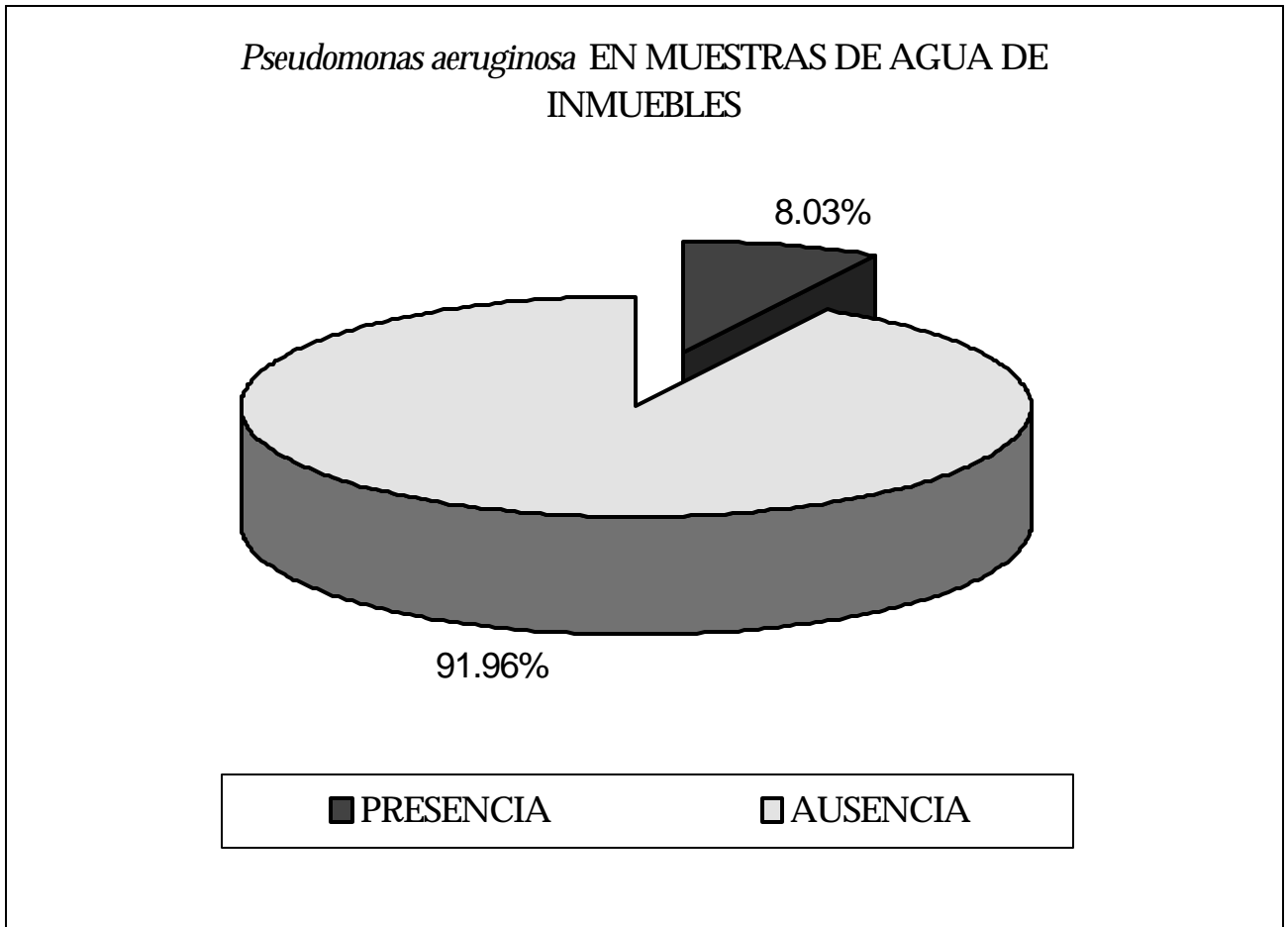
CT: Coliformes Totales

CTT: Coliformes fecales (Termotolerantes)

BH: Bacterias Heterotróficas

\* De acuerdo a la Norma Técnica Nacional (NTN)

FIGURA 4



**TABLA 3**  
**PRESENCIA / AUSENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* VS OTROS MICROORGANISMOS INDICADORES EN MUESTRAS DE AGUA DE CONSUMO HUMANO EN INMUEBLES**

<b>INDICADOR</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa (+)</i>
BH(-)	22,22%
BH (+)	77,77%
<b>TOTAL</b>	100%

<b>INDICADOR</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa (+)</i>
COLIF (+)	44,44%
COLIF (-)	55,55%
<b>TOTAL</b>	100%

BH: Bacterias heterotróficas

COLIF: Coliformes.



FIGURA 5



**TABLA 4**  
**PRESENCIA/AUSENCIA DE ESTREPTOCOCOS FECALES VS OTROS INDICADORES EN MUESTRAS DE AGUA DE CONSUMO HUMANO EN INMUEBLES**

INDICADOR	ESTREPTOCOCOS FECALES (+)
BH (+)	92,85 %
BH (-)	7,14%
<b>TOTAL</b>	100%
INDICADOR	ESTREPTOCOCOS FECALES (+)
COLIF (+)	78,57%
COLIF (-)	21,42%
<b>TOTAL</b>	100%

BH: Bacterias heterotróficas

COLIF: Coliformes

**TABLA 5**  
**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO EN INMUEBLES DE LIMA UTILIZANDO COMO CRITERIO A LA NORMA TÉCNICA NACIONAL Y OTROS INDICADORES.**

CRITERIOS UTILIZADOS	NORMA TÉCNICA NACIONAL					
	APTAS		INAPTAS		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
<b>PA</b>	174	77,68	50	22,32	224	100
<b>EF</b>	181	80,80	43	19,19	224	100
<b>PA + EF</b>	171	76,34	53	23,66	224	100

PA: *Pseudomonas aeruginosa*

EF: *Streptococcus Fecales*

**TABLA 6**

**CONCENTRACIÓN DE CLORO LIBRE RESIDUAL EN MUESTRAS DEL SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE INMUEBLES**

ppm	N°	%
0	54	24,11
0,1-0,5	80	35,71
0,6-1,0	87	38,84
>1	3	1,34
TOTAL	224	100

ppm: Partes por millón.

**TABLA 7**

**CLORO LIBRE RESIDUAL vs CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE INMUEBLES**

Cloro residual (ppm)	Muestras Aptas N°	Muestras Aptas %	Muestras Inaptas N°	Muestras Inaptas %
0	18	9,62	36	88,88
0,1-0,5	78	42,31	2	5,56
0,6-1,0	85	46,15	2	5,56
>1	3	1,92	0	0
TOTAL	184	100	40	100

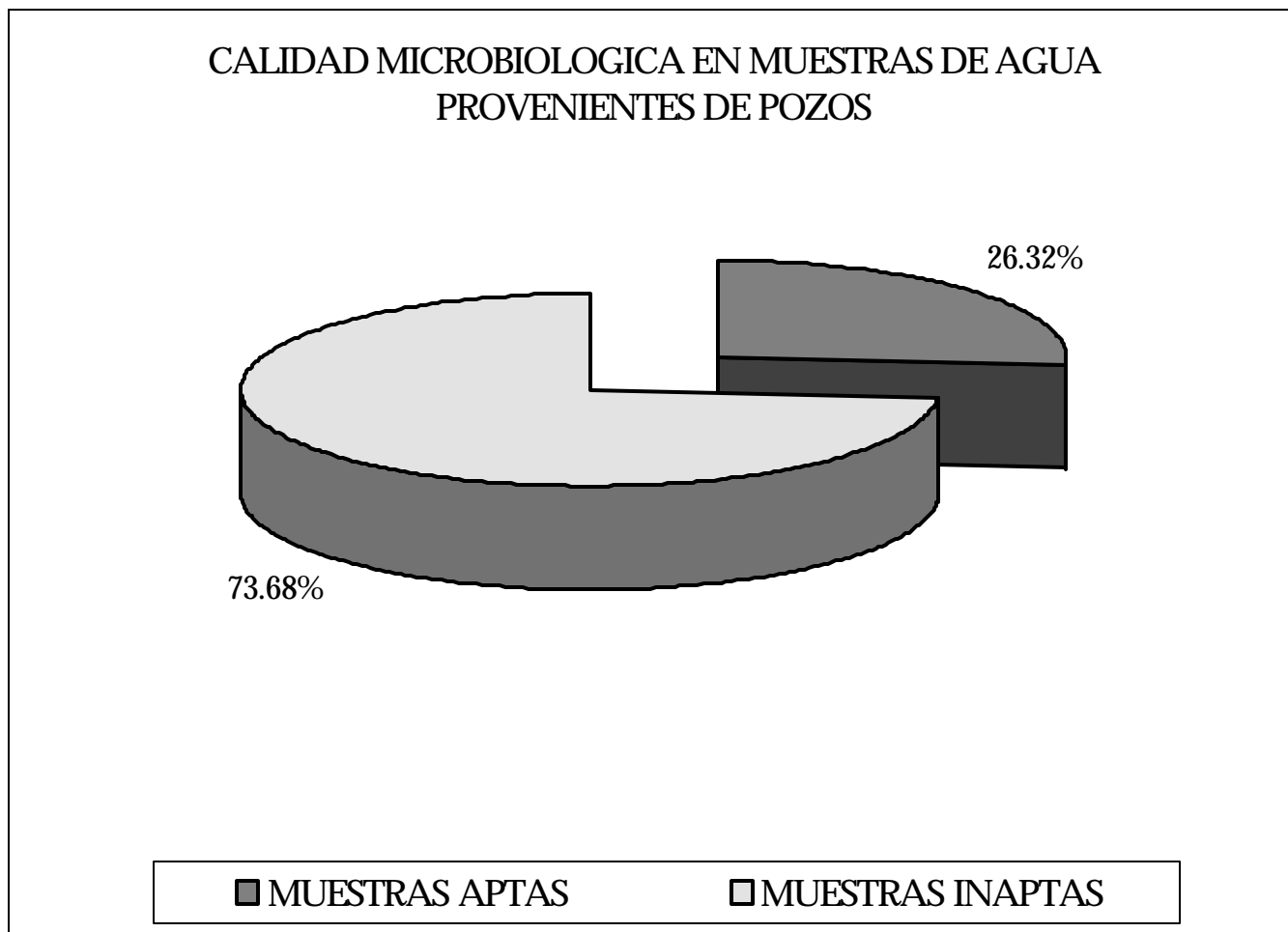
ppm: Partes por millón.

**TABLA 8**  
**CONDICIONES HIGIENICO SANITARIAS EN POZOS (\*)**

<b>DEFICIENCIA</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
Presencia de Vectores	20	36
Presencia de Algas	18	32
Pozo sin Protección	4	8
Sin Revestimiento	2	4
Cercanía a Basurales	7	12
Cercanía a letrinas	18	32
Presencia de animales	7	12
Sin autorización de funcionamiento	34	60

\* En zonas de Comas, Puente Piedra, Carabayllo, San Juan de Lurigancho, Chorrillos, San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo, Villa El Salvador, Lurín y Pachacamac.

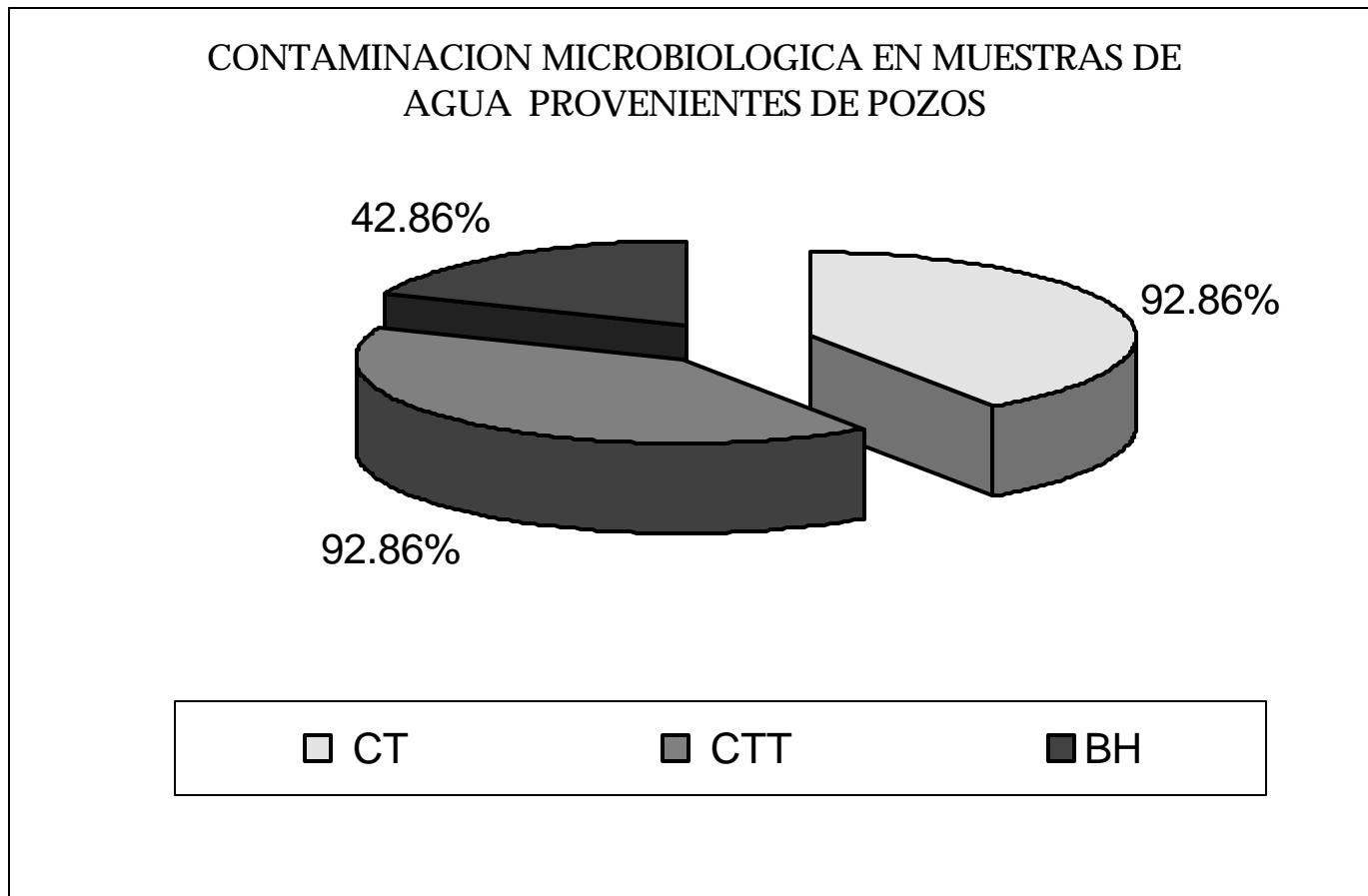
FIGURA 6



\* En zonas de Comas, Puente Piedra, Carabaylo, San Juan de Lurigancho, Chorrillos, San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo, Villa El Salvador, Lurín y Pachacamac.

\*\* De acuerdo a la Norma Técnica Nacional (NTN). No se consideraron muestras con *Pseudomonas aeruginosa* y *Estreptococos fecales*.

FIGURA 7



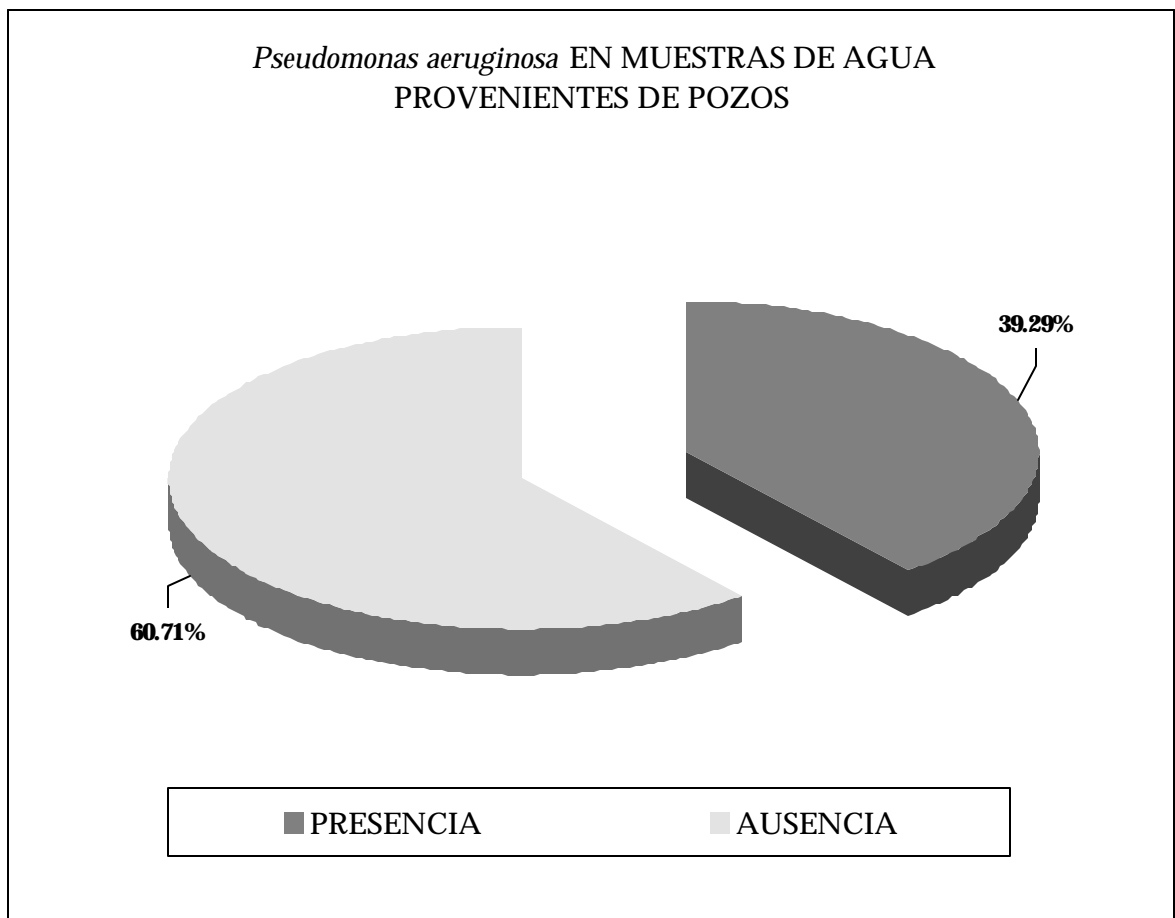
CT: Coliformes Totales

CTT: Coliformes fecales (Termotolerantes)

BH: Bacterias heterotróficas

\* De acuerdo a la Norma Técnica Nacional (NTN)

FIGURA 8



**TABLA 9**

**PRESENCIA/AUSENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* VS OTROS MICROORGANISMOS INDICADORES EN AGUA DE CONSUMO HUMANO PROVENIENTE DE POZOS**

<b>INDICADOR</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa (+)</i>
BH (-)	18,18%
BH (+)	81,81%
<b>TOTAL</b>	100%

<b>INDICADOR</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa (+)</i>
COLIF (+)	45,45%
COLIF (-)	54,54%
<b>TOTAL</b>	100%

BH: Bacterias heterotróficas

COLIF: Coliformes



FIGURA 9



**TABLA 10**

**PRESENCIA/AUSENCIA DE ESTREPTOCOCOS FECALES VS OTROS MICROORGANISMOS INDICADORES EN AGUA DE CONSUMO HUMANO PROVENIENTE DE POZOS**

INDICADOR	ESTREPTOCOCOS FECALES (+)
BH (-)	23,08 %
BH (+)	76,92 %
<b>TOTAL</b>	100%
INDICADOR	ESTREPTOCOCOS FECALES (+)
COLIF (+)	100 %
COLIF (-)	0 %
<b>TOTAL</b>	100%

BH: Bacterias heterotróficas

COLIF: Coliformes

**TABLA 11**

**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO PROVENIENTE DE POZOS UTILIZANDO COMO CRITERIO A LA NORMA TÉCNICA NACIONAL Y OTROS INDICADORES**

CRITERIOS UTILIZADOS	NORMA TÉCNICA NACIONAL					
	APTAS		INAPTAS		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
<b>PA</b>	3	5,36	53	94,64	56	100
<b>EF</b>	15	26,32	41	72,38	56	100
<b>PA + EF</b>	3	5,36	53	94,64	56	100

PA: *Pseudomonas aeruginosa*

EF: Estreptococos fecales.

**TABLA 12**  
**CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL EN MUESTRAS DE AGUA PROVENIENTES DE POZOS**

ppm	N°	%
0	42	75
0,1-0,5	0	0
0,6-1,0	14	25
>1	0	0
TOTAL	56	100

ppm: Partes por millón.

**TABLA 13**  
**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA VS CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL EN MUESTRAS DE AGUA PROVENIENTES DE POZOS**

CONCENTRACIÓN DE CLORO RESIDUAL (ppm)	MUESTRAS APTAS	%	MUESTRAS INAPTAS	%
0	4	30	38	92,86
0,1-0,5	0	0	0	0
0,6-1,0	11	70	3	7,14
>1	0	0	0	0
TOTAL	15	100	41	100

ppm: Partes por millón.

## **V.- DISCUSIÓN**

Los resultados respecto a la calidad Microbiológica del Agua de la red pública no presentan contaminación microbiana, encontrándose dentro de los parámetros que contempla la Norma Técnica Nacional (NTN 214.003-ITINTEC). Esta situación ha progresado notablemente en comparación a los años 1992 y 1993 en donde se encontró del total de muestras que provenían de la red pública un índice de contaminación del 18 y 6 % respectivamente (VERGARAY y MÉNDEZ, 1994). Sin embargo durante las continuas inspecciones un gran número de usuarios se quejaron de recibir agua de la red pública con turbidez y sedimento. Además la concentración de Cloro libre residual en la red pública no es constante sino variable.

En Lima, el porcentaje de la población abastecida de forma intermitente es del orden del 70%, siendo el número promedio de horas de servicio de agua potable de 13,7. Esta situación constituye un factor de riesgo para el deterioro de la calidad del agua a nivel domiciliario ya que la falta de continuidad obliga a la población a construir almacenes intradomiciliarios (cisternas y tanques elevados) que no son suficientemente protegidos y que no reciben limpieza y desinfección periódica (PRONAP, 1998; OPS-OMS, 2000).

Cabe destacar que la calidad microbiológica del agua en red pública es óptima por lo cual la contaminación se da en los sistemas de distribución y almacenamiento a nivel de inmuebles, coincidiendo con lo establecido por Torres (1991), quien demostró que los puntos críticos en el sistema de agua potable son el tratamiento de agua, distribución y almacenamiento en tanques y cisternas de reserva en las viviendas y hospitales ya además con respecto al almacenamiento, éste no es controlado por las autoridades sanitarias y no se le da la importancia debida. La contaminación del agua en tanques y cisternas se debe principalmente a la deficiente protección física de los reservorios de agua, así como la inadecuada limpieza y desinfección de dichos reservorios

periódicamente. Las principales deficiencias en el mantenimiento de tanques y cisternas fueron: corrosión de la tubería interna y válvula, lo cual favorece la colonización de microorganismos (GALARRAGA, 1984), la ausencia de tapa hermética o la falta de una tapa adecuada, que permite el ingreso de partículas y objetos extraños a los depósitos de agua, y la ausencia de reborde de protección, lo cual permite a pesar de contar con una tapa adecuada el ingreso de partículas contaminantes. La deficiencia más común observada en tanques y cisternas fue la acumulación de sedimento en el fondo (tierra) y paredes internas sucias, esto debido a que en dichos inmuebles no se realiza la limpieza y desinfección de los depósitos de agua periódicamente. Esta situación permite que el Cloro libre residual lanzado por Sedapal en una concentración óptima reaccione con la materia orgánica y favorezca la pérdida del cloro residual por consumo, esto sumado a la evaporación por acción de los rayos solares en tanques sin protección hace que el agua quede sin protección contra la contaminación microbiológica. Otro problema preocupante es la reacción de la materia orgánica con el Cloro libre residual lo cual puede producir Compuestos Orgánicos halogenados (Trihalometanos) lo que representa un riesgo para la salud pública (CACERES, 1990; FREIRIA y col. 1995). A pesar de estas deficiencias observadas solo el 17,86 % de muestras resultaron ser no aptas para el consumo humano, esto debido a la protección prolongada que otorga el cloro y la constante recirculación del agua en dichos inmuebles.

De acuerdo al análisis microbiológico del agua de inmuebles, el 17,86% presentó contaminación microbiana superior a los límites que establece la NTN; los microorganismos indicadores predominantes fueron Bacterias heterotróficas (70%), Coliformes Totales (70%) y Coliformes fecales (52,50%). La existencia de fugas y filtraciones entre los sistemas de almacenamiento y distribución del agua en el interior de los inmuebles y los sistemas de drenaje domiciliarios hacen posible la contaminación por Coliformes Totales y Coliformes Fecales (FLORES, 1995).

Del total de muestras de agua de inmuebles, 18 (8,03%) presentaron contaminación por *Pseudomonas aeruginosa* (PA), habiéndose encontrado en el 55,55% de muestras solo este microorganismo, no considerando este último criterio (de acuerdo a nuestra NTN) para considerar la muestra como inapta, si se considerara este indicador como criterio para declarar una muestra de agua como no apta para el consumo humano, el porcentaje de muestras no aptas se elevaría al 22,32%. Se encontró presencia de PA y ausencia de BH en un 22,22% considerándose estas muestras como aptas para el consumo humano a pesar de la presencia de PA. Además se encontró en el 44,44% de muestras la presencia combinada de PA, Bacterias Heterotróficas y Coliformes. A partir de esto se puede afirmar que la ausencia de bacterias coliformes en muestras de agua de cisternas y tanques no significan la ausencia de riesgo microbiológico (TORRES, 1991). Es de especial importancia considerar que PA es capaz de sobrevivir y multiplicarse en aguas tratadas (ONTIVEROS, 1983), tiene capacidad inhibitoria de coliformes (CONTRERAS, 1995), sobrevive en pequeñas cantidades de nutrientes y produce patogenicidad condicionada en el hombre (SOARES 1996).

Asimismo se detectaron 14 muestras (6,25%) contaminadas con *Streptococcus fecales*, de las cuales 11 fueron detectadas junto a Bacterias Heterotróficas y Coliformes, y solo 3 en ausencia de otros indicadores, siendo estas tres últimas muestras, al igual que en el primer caso, consideradas como aptas para el consumo humano. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios que proporcionen un mayor número de datos que justifiquen esta hipótesis. Sin embargo considerando a *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus fecales* como indicadores adicionales a los establecidos en la Norma Técnica Nacional, el porcentaje de muestras no aptas para el consumo humano se elevaría de 17,86% a 23,66%.

En el caso del agua proveniente de pozos el riesgo sanitario es alto, más aun sabiendo que en Lima Metropolitana aproximadamente el 25% de la

población total (6074814 h.) es abastecida directa o indirectamente a través de pozos (Fuente: SEDAPAL).

Del total de muestras analizadas, el 73,68 % presenta contaminación microbiológica, principalmente por Coliformes totales y fecales (92,86%), seguido de Bacterias Heterotróficas (42,86%), situación similar a la encontrada por Pardón (1995) en donde el riesgo de contaminación microbiológica fue alto en un 70%. El problema radica principalmente en la proliferación de pozos y surtidores clandestinos los cuales no poseen ningún tipo de control sanitario, sin tratamiento y desinfección del agua, condiciones higiénico sanitarias deplorables (presencia de basurales, letrinas, animales, etc.), mala ubicación del sistema de evacuación de excretas lo cual infiltra en el terreno y penetra por las paredes del pozo, contaminando el agua. Camiones cisternas en mal estado, muchos de los cuales no cuentan con registro ni autorización de funcionamiento, contribuyen con esta situación.

En las zonas urbano-marginales, la situación es similar ya que los pobladores almacenan el agua en tanques de cemento, los cuales no cuentan con la protección, ni limpieza adecuada, generándose así un efecto multiplicador de la contaminación del agua lo cual origina severos problemas de enfermedades gastrointestinales, principalmente en niños y ancianos.

Con respecto a la concentración de cloro libre residual (CLR) en muestras de agua de pozo, la mayoría (75%), no presenta CLR y solo un 14% presenta una concentración adecuada de CLR (entre 0,6 y 1 mg/L). Asimismo, se comprueba la acción eficaz del CLR en la protección microbiológica del agua siendo el mayor número de muestras contaminadas, aquellas que no presentaron una concentración adecuada de CLR.

De un total de 56 muestras de agua de consumo humano proveniente pozos, se detectó presencia de PA en 22 muestras (39,29%) y presencia de

Estreptococos fecales en 26 muestras (46,43%), estos indicadores no fueron utilizados como criterio para determinar la inaptitud de las muestras de agua, encontrándose un 45,45% de muestras con PA y ausencia de coliformes y 18,18% de muestras con PA y ausencia de BH las cuales fueron consideradas como aptas para el consumo humano.

En el caso de los Estreptococos fecales, las 26 muestras detectadas con este microorganismo tuvieron correlación con Coliformes, la presencia alta de este indicador se debe principalmente a la contaminación de origen fecal de la napa freática por lo cual es de suma importancia tomar en cuenta a este microorganismo indicador, el cual reproduce mejor las características de la gastroenteritis humana, tiene relación directa entre su densidad y aparición de enfermedades entéricas y son mejores indicadores de contaminación fecal en lugar de los Coliformes (CABELLI, 1982; SEYFRIED, 1985; FATTAL, 1983; FLEISHER, 1993).

Al igual que en el caso de agua de inmuebles, utilizando a *Pseudomonas aeruginosa* y Estreptococos fecales como indicadores de contaminación microbiana adicionales a los descritos en la Norma Técnica Nacional, el porcentaje de muestras no aptas para el consumo humano se elevaría del 73,68% a un 94,64%, otorgando así una mayor seguridad al momento de calificar como apta al agua de consumo humano.



## **VI.- CONCLUSIONES**

1. De acuerdo a la NTN, 17,86% de muestras de agua de inmuebles son inaptas, no tomándose en consideración a *Pseudomonas aeruginosa* y Estreptococos fecales. Si se tomara en cuenta estos indicadores el porcentaje de muestras inaptas se elevaría al 23,66%.
2. De acuerdo a la NTN, 73,68% de muestras de agua de pozos son inaptas, no tomándose en cuenta muestras con *Pseudomonas aeruginosa* y Estreptococos fecales. Si se tomara en cuenta estos indicadores el porcentaje de muestras inaptas se elevaría al 94,64%.
3. Se comprobó la importancia de *Pseudomonas aeruginosa* y Estreptococos fecales como indicadores de la calidad microbiológica del agua de consumo humano, complementarios al uso de Bacterias Heterotróficas y Coliformes.
4. La contaminación microbiológica del agua en inmuebles, se debe principalmente a la falta de mantenimiento, limpieza y desinfección de los Sistemas de Distribución y almacenamiento de Agua.
5. En pozos, el problema radica principalmente en las condiciones higiénico-sanitarias, las características del suelo y la contaminación de la napa freática por excretas.

## **VII.-RECOMENDACIONES**

1. Implementar un Programa de Vigilancia de Agua de Consumo humano en Zonas urbano-marginales dando un marco legal adecuado frente al funcionamiento de pozos y camiones cisterna.
2. Realizar cada seis meses la limpieza y desinfección de tanques y cisternas en inmuebles.
3. Realizar estudios epidemiológicos de salud pública en zonas abastecidas por pozos cuyas aguas estén contaminadas por *Streptococos* fecales y *Pseudomonas aeruginosa*.

## **VIII.- BIBLIOGRAFÍA CITADA**

ALLEN, M. 1996. La Importancia para la Salud pública de los indicadores bacterianos que se encuentran en el agua potable. Reunión sobre la calidad del Agua Potable. CEPIS. OPS. OMS. Lima, Perú.

APHA, WEF, AWWA. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19 th edition. American Public Health Association. Washington DC.

BROWN, M.R.W. 1978. Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa*. Birmingham, University of Aston.

CABELLI, V.L. *et al.* 1976. The impact of pollution on marine bathing beaches. An epidemiological study. *Limnology and Oceanography* 2: 424.

CABELLI, DUFOUR, Mc CABE, LEVIN. 1982. Swimming Associated Gastroenteritis and Water Quality. *American Journal of Epidemiology*. Vol 115 (4): 606-616.

CABELLI, DUFOUR, Mc CABE, LEVIN. 1983. A marine recreational water quality criterion consistent with indicator concepts and risk analysis. *Journal WPCF*. 55 (10): 1306-1314.

CÁCERES LOPEZ OSCAR. 1990. Desinfección del Agua. Ministerio de Salud-OPS. Lima-Perú.

CALDERÓN E. y DE BENEDETTI, R. 1976. Comportamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en distintos tipos de agua. XV Congreso Interamericano de Ingeniería sanitaria. AIDIS.

CONTRERAS, G.J; COHA, J.M.; MARTÍNEZ, A.M y AURAZO, M. 1996. Efecto Bactericida de Catabolitos de *Pseudomonas aeruginosa* sobre Coliformes fecales en Agua de Consumo. Lima. IV Congreso Latinoamericano de Higiene y Microbiología de Alimentos.

DE VICENTE A.; CODINA, J.C. y ROMERO, P. 1991. Relationship between *Pseudomonas aeruginosa* and bacterial indicators in polluted natural waters. JWST. Vol 24 (2). Pp: 121-124.

DUTKA,B.J. 1978. Pathogenes as indicators of water quality-1-Candida albicans. 2 Ps.aeruginosa. Canadá, Institute Canadá-Center for Inland Waters Burlington.

EASTON, J. 1998. The Development of a Risk Assessment Methodology to evaluate the adverse human health effect of pathogens found in servage contaminate waters. Enviromental Health Engineering program. University of Alabama at Birmingham.

FATTAL, B.; PELEG-OLEVSKY, E.; AGURSKY, T. & SHUVAL, H. 1987. The association between seawater pollution as measured by bacterial indicators and morbidity among bathers at Mediterranean bathing beaches of Israel. Chemospere, 16 (2/3): 565-570.

FLEISHER,J.; JONES, F.; KAY, D.; STANWELL, R.; WYER, M. & MORANO, R. 1993. Water and non water related risk factors for gastroenteritis amons bathers exposed for savage- contaminated marine waters. International Journal of Epidemiology. 1993, 22: 698-708.

FLORES, J.; SUÁREZ, G.; FRANCO, M.;HEREDIA, M. y VIVAS, M. 1995. Calidad Bacteriológica del Agua potable de la Ciudad de Mérida, México. Salud Pública de México. Vol 37 (3) pp.236-239.

FREIRIA GANDARA MARÍA, ALVAREZ A, LORENZO R.A RACAMÓN DE F y RODRÍGUEZ A. 1995. Compuestos orgánicos halogenados en aguas tratadas con cloro. Alimentación, Equipos y Tecnología. Abril 1995.

GALARRAGA SOTO, EFRÉN 1984. Algunos Aspectos relacionados con microorganismos en agua potable. Revista Politénica de información técnica científica 9(3) p. 135-43.

GELDREICH E. 1978. Characterizing bacterial populationsa in trated water Suplies: A progress report. International Seminar on Microbiological. Sao Paulo. Brasil.

GOEZ MARIANO, VÁSQUEZ MARÍA JOSÉ 1999. Determinación y diferenciación de E. Coli y Coliformes Totales usando un mismo sustrato cromogénico. Textos Completos. CEPIS.

GOYA, A.B. y WILDE, O.R. 1997. Calidad Bacteriológica de las aguas en plantas faneadoras de la Provincia de Tucumán. Lab. Regional-GELAB-SENASA.

GUINEA, 1979. Análisis Microbiológico de Aguas. Ed. Omega.

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, EPIDEMIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 1992. Criterios para el perfeccionamiento de las Normas de Calidad Sanitaria de las aguas de Uso recreativo. Ministerio de salud. CUBA.

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, EPIDEMIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA 1992. Relación entre las Concentraciones de Cloro Residual, la Turbiedad y los Niveles de Coliformes fecales en Agua de Consumo. Ministerio de Salud. CUBA.

ITINTEC 1987, Normas técnicas 214.003 y 214.009 para el Control Microbiológico de aguas. ITINTEC. Lima-Perú.

JONES, J.G. 1998. Calidad Microbiológica del agua: características del problema. Ingeniería Sanitaria y Ambiental Número 37 p:48-53. Extractado de AQUA Vol 46 (6). 1997.

LE CHEVALLIER M. & MC FETERS G.A.1985. Enumerating Injured Coliforms in Drinking Water. Journal AWWA, June 1985. pp: 81-87

OMS 1985. Guías OMS para la Calidad del Agua de Bebida. Volumen 1. Publicación Científica OPS Nx 481.

OMS. 1995. Guías para la calidad del agua potable. OMS. Ginebra.

OPS-OMS.2000. Evaluación Global de los Servicios de abastecimiento de agua y saneamiento. Informe Analítico. Perú.

ONTIVEROS ARREOLA, ME 1983 . Pseudomonas aeruginosa como indicador de la calidad bacteriológica del agua para uso recreacional. Secretaría de Agricultura y Recursos Hídricos. México.

PARDÓN, M.; TELLO, P.;HERNÁNDEZ, S; ARANIBAR, S. DEL AGUA-PERÚ. 1991. Abastecimiento de Agua mediante camiones cisterna en Lima Metropolitana. Estado Actual y Acciones necesarias para su mejoramiento. IX Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental.

PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL DESARROLLO. PRONAP. 1999. Informe sobre desarrollo humano NY, PNUD.

REILLY, K. & KIPPIN, J. 2000. Relación entre el contaje bacteriológico y otros parámetros de calidad del agua tratada en sistemas de distribución. Hojas de divulgación técnica. CEPIS, 4p.

ROBERTS, NC. 1982. Pseudomonas inhibition of coliform group. Abstract of the annual meeting of the American Society for Microbiology.

ROBERTSON, W.J. & TOBIN, R.S. 1983. The relationship between three potential pathogens and pollution indicator organism in Nova Scotian coastal waters. Can. J. Microbiology. 29: 1264-1269.

SEDAPAL. 1995. Plantas de Tratamiento de Agua de la Ciudad de Lima. Procesos de Tratamiento de Agua. 3p.

SEYFRIED, P.; TOBIN, R. BROWN, N. & NESS, P. 1985. A prospective study of Swimming- related illness 1. Swimming-associated health risk. American Journal of Public Health. September 75 (9): 1068-1070.

SOARES PAULO, SILVA CARLOS y DA CRUZ ODIR. 1996. Pseudomonas aeruginosa como indicador em análises bacteriológicas de águas de abastecimiento público. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e ambiental. II-014.

TORRES, Y. 1991. Utilización de *Pseudomonas aeruginosa* como indicador de contaminación en el agua de tanques y cisternas. Boletín de Lima Número 78. pp 27-28.

TORRES, Y. 1991. Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* al Cloro libre residual. Revista AINSA; 11(1):21-25.

VARGAS GARCÍA CARMEN. 1996. Control de Calidad del Agua en la Red de Distribución. CEPIS. 6p.

VARGAS GARCÍA CARMEN, ROJAS RICARDO y JOSELI JUAN. 1996. Control y Vigilancia de la Calidad del Agua de Consumo humano. Textos Completos. CEPIS. 27p.

VERGARAY GERMÁN y MÉNDEZ CARMEN ROSA. 1991. Riesgos infectocontagiosos del agua de bebida que se consume en la Ciudad de Lima. Libro de resúmenes de la I Reunión Científica- ICBAR. UNMSM. pag. 98.

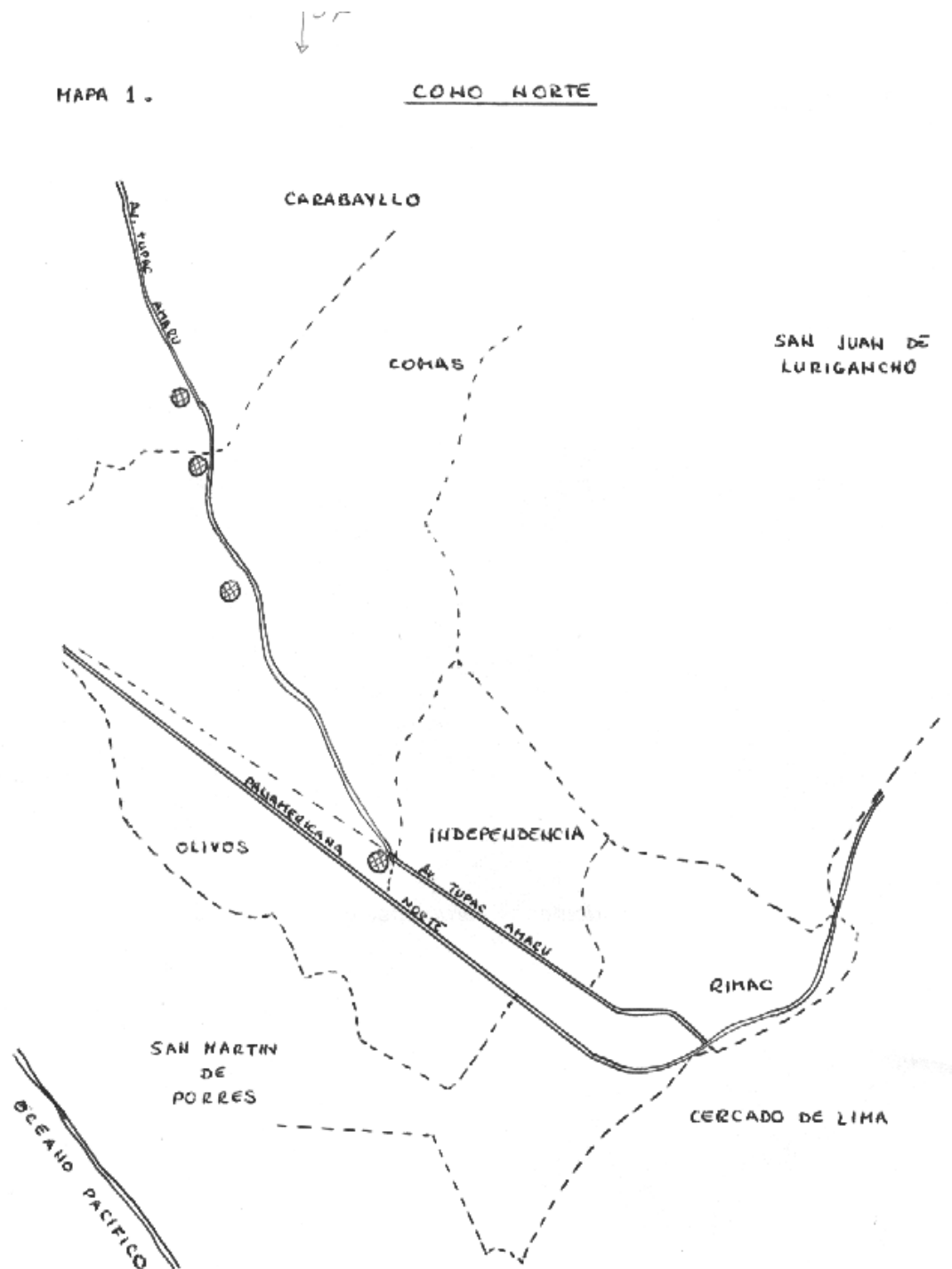
VERGARAY GERMÁN y MÉNDEZ CARMEN ROSA. 1994 Eficacia de un Programa para proteger la Calidad del Agua proveniente de plantas de tratamiento. Revista Peruana de Epidemiología 7 (2). pp: 5-11.

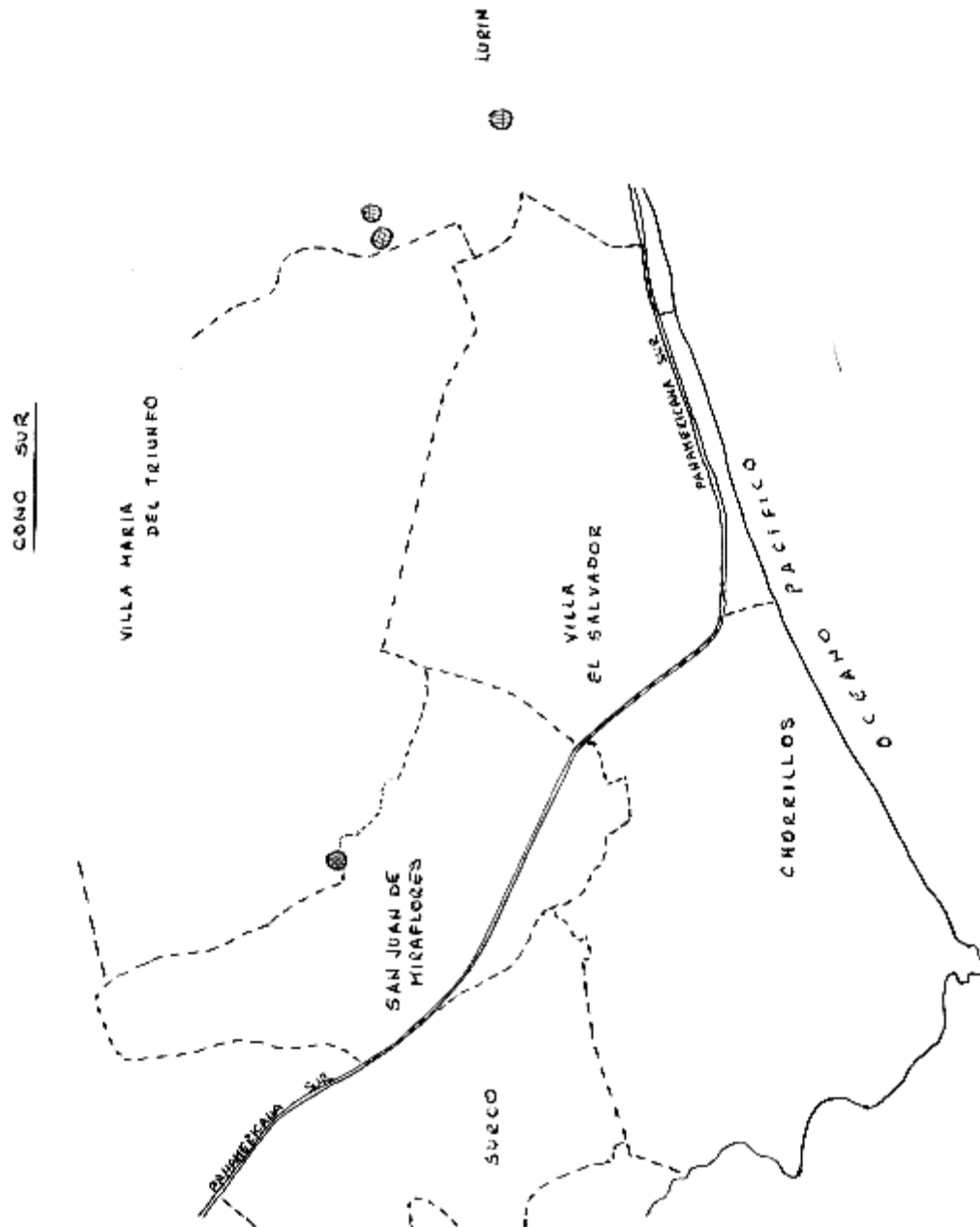
VERGARAY GERMÁN, MÉNDEZ CARMEN ROSA y MARCHAND EDGAR. 2001. Bases para el perfeccionamiento de los estándares microbianos de aguas de uso humano. Libro de resúmenes de la X Reunión Científica- ICBAR. UNMSM. pag. 116.

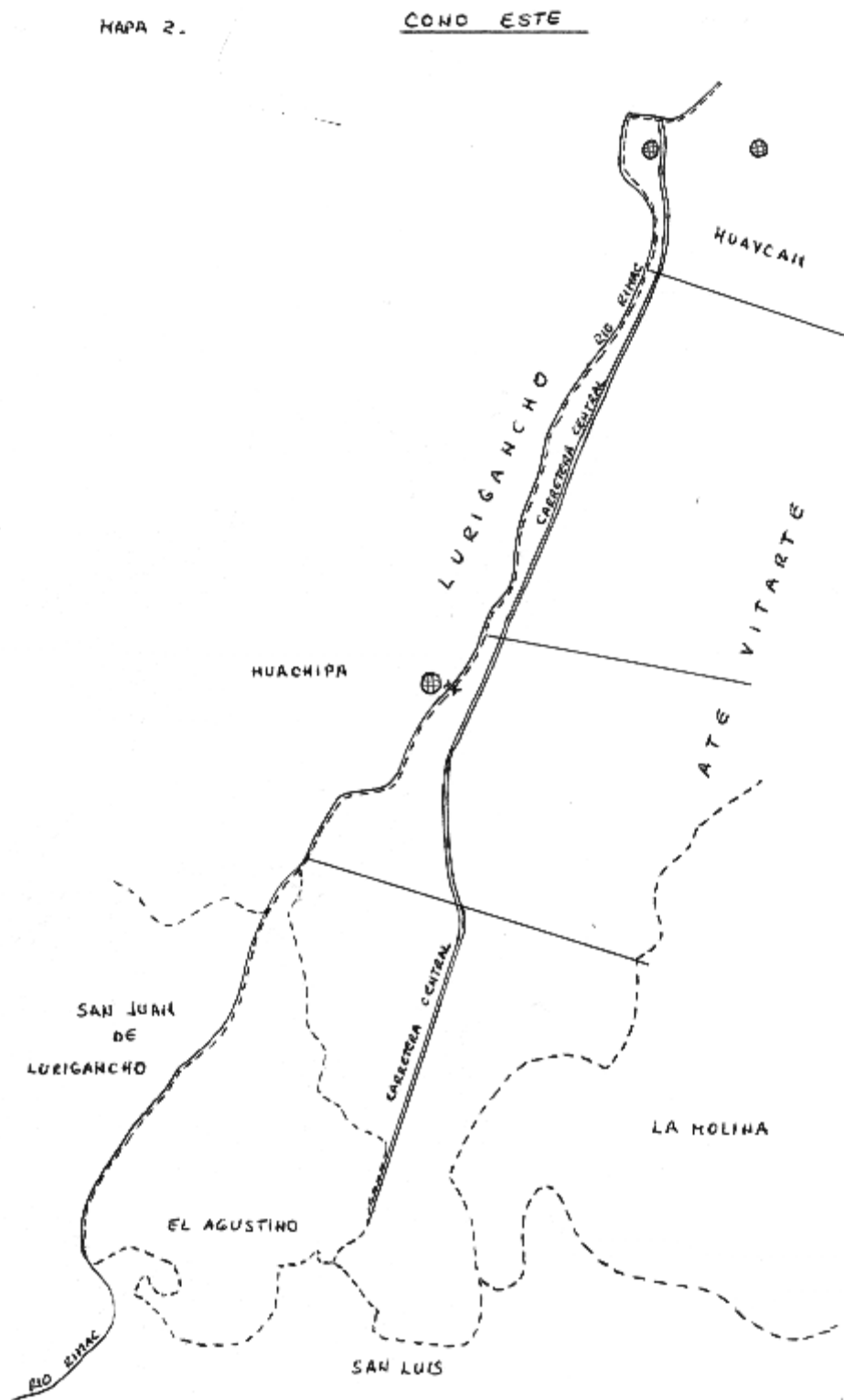


IX.- ANEXOS

ANEXO1: PUNTOS DE MUESTREO PARA POZOS SUBTERRÁNEOS







**ANEXO 2: FICHA DE INSPECCIÓN HIGIÉNICO SANITARIA**  
**SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE AGUA DE CONSUMO HUMANO EN**  
**INMUEBLES**

LUGAR Y PUNTO DE MUESTREO \_\_\_\_\_

DIRECCIÓN \_\_\_\_\_

FECHA/HORA DE MUESTREO \_\_\_\_\_

CLORO RESIDUAL LIBRE \_\_\_\_\_ pH \_\_\_\_\_

---

**I.- CISTERNA**

- |                              |         |       |           |
|------------------------------|---------|-------|-----------|
| 1.- Reborde:                 | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 2.- Accesibilidad:           | B ( )   | R ( ) | M ( )     |
| 3.- Tapa adecuada:           | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 4.- Tubería:                 |         |       |           |
| Material:                    | PVC ( ) |       | METAL ( ) |
| Estado de conservación:      | B ( )   | R ( ) | M ( )     |
| 5.- Sedimento:               | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 6.- Paredes internas sucias: | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 7.- Algas:                   | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 8.- Insectos/Vectores:       | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 9.- Objetos extraños:        | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 10.- Película superficial:   | SI ( )  |       | NO ( )    |

**II.- TANQUE**

- |                              |         |       |           |
|------------------------------|---------|-------|-----------|
| 1.- Reborde:                 | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 2.- Accesibilidad:           | B ( )   | R ( ) | M ( )     |
| 3.- Tapa adecuada:           | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 4.- Tubería:                 |         |       |           |
| Material:                    | PVC ( ) |       | METAL ( ) |
| Estado de conservación:      | B ( )   | R ( ) | M ( )     |
| 5.- Sedimento:               | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 6.- Paredes internas sucias: | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 7.- Algas:                   | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 8.- Insectos/Vectores:       | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 9.- Objetos extraños:        | SI ( )  |       | NO ( )    |
| 10.- Película superficial:   | SI ( )  |       | NO ( )    |

**ANEXO 3: FICHA DE INSPECCIÓN HIGIÉNICO SANITARIA DE POZOS**

ZONA DE MUESTREO \_\_\_\_\_

LUGAR Y PUNTO DE MUESTREO \_\_\_\_\_

DIRECCIÓN \_\_\_\_\_

FECHA/HORA DE MUESTREO \_\_\_\_\_

CLORO RESIDUAL LIBRE \_\_\_\_\_ pH \_\_\_\_\_

---

**I.- CONDICIONES HIGIÉNICO SANITARIAS DEL LUGAR DE MUESTREO**

- |                             |        |        |
|-----------------------------|--------|--------|
| 1.- Presencia de Basurales: | SI ( ) | NO ( ) |
| 2.- Presencia de animales:  | SI ( ) | NO ( ) |
| 3.- Letrinas/silos:         | SI ( ) | NO ( ) |
| 4.- Tipo de suelo: _____    |        |        |

**II.- CARACTERÍSTICAS DEL POZO/SURTIDOR**

- |                                     |           |                  |
|-------------------------------------|-----------|------------------|
| 1.- Material:                       | Noble ( ) | Rústico ( )      |
| 2.- Profundidad (aprox.) _____      |           |                  |
| 3.- Revestimiento interno:          | SI ( )    | NO ( )           |
| 4.- Tapa adecuada                   | SI ( )    | NO ( )           |
| 5.- Algas en paredes:               | SI ( )    | NO ( )           |
| 6.- Insectos/Vectores:              | SI ( )    | NO ( )           |
| 7.- Autorización de funcionamiento: | SI ( )    | NO ( )           |
| 8.- Manguera de descarga            |           |                  |
| Estado de conservación:             | B ( )     | R ( )      M ( ) |

INSPECTOR \_\_\_\_\_

**ANEXO 4**

**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE AGUAS**

CÓDIGO DE MUESTRA: \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_\_

PUNTO DE MUESTREO \_\_\_\_\_

DIRECCIÓN \_\_\_\_\_

CLORO RESIDUAL \_\_\_\_\_ pH \_\_\_\_\_

	10	1	-1	-2	-3	-4
Numeración de Bacterias heterotróficas (24h)						
Numeración de Bacterias heterotróficas (48h)						
Caldo Lauril Sulfato(35°C x 24h)						
Caldo Lauril Sulfato (35°C x 48h)						
NMP de Coliformes Totales (Caldo Brila 35°C x 24h)						
NMP de Coliformes Totales (Caldo Brila 35°C x 48h)						
NMP de Coliformes Fecales (Caldo EC 44,5°C x 24h)						
Caldo Azida Glucosa (35°C x 24h)						
Caldo Azida Glucosa (35°C x 48h)						
Agar M- Enterococos (35°C x 48h)						
Prueba Presuntiva Ps : Caldo Asparragina (37°C x 24h)						
Prueba Confirmativa Ps: Agar Cetrimide (41,5 °C x 24h)						

NUMERACIÓN DE BACTERIAS HETEROTRÓFICAS (ufc/ml) \_\_\_\_\_

NMP COLIFORMES TOTALES (NMP CT/100ml) \_\_\_\_\_

NMP DE COLIFORMES FECALES (NMP CF/100 ml) \_\_\_\_\_

NMP DE ESTREPTOCOCOS FECALES/ 100ml: \_\_\_\_\_

NMP DE ENTEROCOCOS/100 ml \_\_\_\_\_

NMP DE *Pseudomonas aeruginosa*/100 ml. \_\_\_\_\_

OTROS/OBSERVACIONES \_\_\_\_\_

CALIFICACIÓN \_\_\_\_\_

ANALISTA \_\_\_\_\_

**ANEXO 5: TABLAS DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP)**

**ÍNDICE DEL NMP Y LÍMITES DE CONFIANZA DE 95% PARA VARIAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS CUANDO SON INOCULADOS 5 PORCIONES DE 10 mL DE MUESTRA**

N° de tubos que presentan reacción positiva, a partir de 5 tubos de 10mL.	Índice de NMP /100mL.	Límites de confianza en el 95%	
		Inferior	Superior
0	< 2.2	0	6.0
1	2.2	0.1	12.6
2	5.1	0.5	19.2
3	9.2	1.6	29.4
4	16.0	3.3	52.9
5	> 16.0	8.0	infinito

**ÍNDICE DEL NMP Y LÍMITES DE CONFIANZA DEL 95% PARA VARIAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS, CUANDO SON UTILIZADAS TRES PORCIONES DE 10 mL, 3 PORCIONES DE 1 mL y 3 PORCIONES DE 0,1 mL DE MUESTRA.**

N° de tubos que presentan reaccion positiva cuando son utilizados			Indice NMP/100mL	Límites de confianza 95%	
3 tubos 10mL	3 tubos 1mL	3 tubos 0.1mL		Inferior	Superior
0	0	0	<3	-	-
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
0	2	0	-	-	-
1	0	0	4	<0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	-	-
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
2	3	0	-	-	-
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470



3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800
3	3	3	>=2400		

## **ANEXO 6: MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS UTILIZADOS**

### **1.- AGUA DE DILUCIÓN**

#### **SOLUCIÓN STOCK A**

Fosfato monopotásico 34,0 g.

#### **Preparación**

Disolver el fosfato monopotásico en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH hasta 7,2 con NaOH 1N y completar el volumen a 1 litro de agua destilada.

#### **SOLUCION STOCK B**

Sulfato de Magnesio 50,0 g.

#### **Preparación**

Disolver el Sulfato de Magnesio en 1 litro de agua destilada.

#### **Preparación del Agua de dilución.**

Agregar 1,25 mL de la solución stock A de fosfato monopotásico y 5 mL de la solución stock B de sulfato de magnesio a un litro de agua destilada. Distribuir en frascos la cantidad de 90 mL.

### **2.- AGAR PLATE COUNT (agar peptona de caseina- glucosa- extracto de levadura)**

COMPOSICIÓN g/L

Peptona de Caseina	5
Extracto de Levadura	2,5
D (+) glucosa	1
Agar-agar	14
Agua destilada	1000 mL

### **3.- CALDO LAURIL TRIPTOSA**

COMPOSICIÓN	g/L
Triptosa	20,0
Lactosa	5,0
Cloruro Sódico	5,0
Lauril Sulfato Sal Sódica	0,1
Hidrógeno fosfato dipotásico	2,75
Dihidrógeno fosfato potásico	2,75
Agua destilada csp.	1 L

pH 6,8 .Autoclavar 15 minutos a 121°C.

### **4.- CALDO BRILA (CALDO VERDE BRILLANTE BILIS LACTOSA)**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona	10
Lactosa	10
Bilis de buey desecada	20
Verde brillante	0,0133

pH 7,2 . Autoclavar 15 minutos a 121°C

## **5.- CALDO EC**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona de Caseína	20
Lactosa	5
Mezcla de Sales biliares	1,5
Cloruro Sódico	5
Hidrogeno fosfato dipotásico	4
Dihidrogeno fosfato potásico	1,5
pH 6,9. Autoclavar 15 a 121°C.	

## **6.- CALDO AZIDA GLUCOSA**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona de Caseína	15,0
Extracto de Carne	4,8
D (+) glucosa	7,5
Cloruro Sódico	7,5
Azida Sódica	0,2
Agua destilada csp.	1L
pH 7,2. Autoclavar 15 minutos a 121°C	

## **7.- AGAR M- ENTEROCOCOS**

COMPOSICIÓN	g/L
Triptosa	20
Extracto de Levadura	5
Glucosa	2
Dipotasio fosfato	4
Azida de Sodio	0,4

2,3,5- trifenil tetrazolio cloruro	0,1
Agar	10
Agua destilada csp.	1L

No autoclavar.

## **8.- CALDO BHI (BRAIN HEART INFUSION BROTH)**

COMPOSICIÓN	g/L
Extracto de cerebro, corazón y peptona	27,5
D (+) glucosa	2
Cloruro de Sodio	5
Hidrogenofosfato disódico	2,5
Agua destilada csp.	1 L

pH 7,4. Autoclavar a 121°C durante 15 minutos.

## **9.- CALDO ASPARRAGINA**

COMPOSICIÓN	g/L
L- Asparragina	3
Dipotasio hidrógeno fosfato	1
Sulfato de Magnesio	0,5
Agua destilada csp.	1000 mL

pH 6,9-7,2. Autoclavar a 121°C durante 15 minutos.

## **10.- AGAR CETRIMIDE**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona de gelatina	20
Cloruro de Magnesio	1,4
Sulfato potásico	10
N-cetil-N,N,N-trimetiamoniobromuro (Cetrimide)	0,3
Agar-agar	13
Aditivo: glicerina	10 mL
Agua destilada	1 L

pH 7,2. Autoclavar

## **11.- AGAR TRIPTICASA DE SOYA (TSA)**

COMPOSICIÓN	g/L
Triptona	15
Peptona de Soya	5
Cloruro de Sodio	5
Agar	15
Agua destilada csp	1L.

pH 7,3

## **12.- CALDO NITRATO**

COMPOSICIÓN	g/L
Peptona de Carne	8,6
Cloruro sódico	6,4
Nitrato potásico	1,5
Agua destilada csp	1L

## **13.- MEDIO PARA LA DETERMINACION DE PIOCIANINA**

	g/L
Peptona	20
Glicerina	10
Sulfato de potasio anhidro	10
Cloruro de magnesio anhidro	1,4
Agar	13,6
Agua destilada csp	1L

Ajustar el pH a 7,2, distribuir en tubos de 13 mm X 100 mm y autoclavar.

#### 14.- REACTIVO DE PETER-GRIESSE

##### SOLUCION A

COMPOSICIÓN	g/L
$\alpha$ -Naftilamina	0,5
Acido Acético	100 mL

##### SOLUCION B

COMPOSICIÓN	g/L
Acido Sulfanílico	0,8
Acido Acético 5N	100 ml.

#### 15.- REACTIVO PARA LA PRUEBA DE OXIDASA

##### COMPOSICIÓN

N,N- Dimetil-p-fenilenodiaminaoxalato

##### Preparación

Preparar solución acuosa al 1% de N,N dimetilparafenilenodiaminoxalato, distribuir en frascos de vidrio oscuro y refrigerar (no congelar), preparar solo 2 mL cada vez.