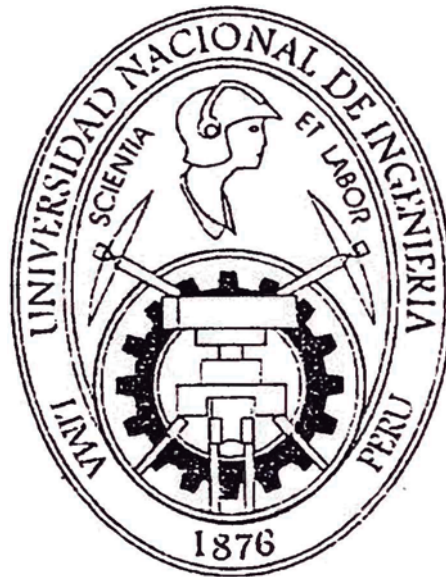


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**“COLIFORMES, BACTERIAS HETEROTRÓFICAS Y  
PROTOZOARIOS EMERGENTES EN RESERVORIOS DOMÉSTICOS  
DE AGUA”**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO SANITARIO**

**PRESENTADO POR:**

**SAÚL SERVA LOZANO**

**VICTOR REYNALDO COLMENARES BOCANEGRA**

**LIMA, PERÚ  
2007**

## **DEDICATORIA**

**Dedicamos el presente estudio de investigación a nuestras familias, como reconocimiento a su apoyo incondicional e invaluables consejos.**

## **AGRADECIMIENTO**

Expresamos gustosamente nuestros agradecimientos a todos los que directa o indirectamente, colaboraron con la elaboración del presente estudio de investigación.

En especial:

- Al Instituto General de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería.
- Al Dr. Manuel Tantaleán Vidaurre, por sus sabias enseñanzas, consejos e invaluables aportes al presente estudio.
- Al Dr. Guy Carvajal Carranza, por su apoyo, asesorías permanentes y sabias enseñanzas.
- A la Blg. Rosa Martínez Rojas, por sus enseñanzas, apoyo e invaluables aportes al presente estudio.
- Al Msc. Alejandro Mendoza Rojas, por sus enseñanzas como asesor y su trato cordial en todo momento.
- A los estudiantes que participaron de manera directa en los diversos trabajos del presente estudio en especial a Alfonso Martínez Patiño.

## RESUMEN

Se presenta la evaluación de los reservorios domésticos de 29 viviendas de la urbanización La Capullana del distrito de Santiago de Surco en donde gran parte de los vecinos no realizan prácticas de limpieza periódica de dichas unidades. La investigación consistió en agrupar los resultados según la naturaleza o tipo de material de los reservorios para de ese modo poder establecer o no algún tipo de relación o diferencia con la presencia de coliformes, bacterias heterotróficas y protozoarios emergentes como la *Acanthamoeba* sp., el *Cryptosporidium* sp. y la *Cyclospora cayetanensis*. De las 29 viviendas, 7 poseían tanque elevado de fibra de vidrio, 7 de asbesto cemento, 4 de concreto, 6 de polietileno y 5 poseían cisterna. Como resultado se obtuvo que el agua que alimentaba a las 29 unidades estaba en buen estado y que esta condición se mantenía en el agua almacenada siempre y cuando hubiese constante recirculación no pudiendo establecerse algún tipo de diferencia marcada según el tipo de material. En cuanto a las paredes se determinó la presencia de coliformes en todos los grupos en un porcentaje que variaba entre un 14 a 33 % no pudiendo establecerse mayor diferencia en función al tipo de material. Por otro lado se observó que la *Acanthamoeba* sp. estaba presente en las paredes de los tanques elevados con mayor antigüedad en la zona (fibra de vidrio, asbesto cemento y concreto) en un porcentaje aproximado al 50%. Finalmente, en los sedimentos se encontró la mayor presencia y concentración de microorganismos y parásitos, siendo el grupo de las cisternas la que mostró los mayores valores llegando a tener en promedio coliformes totales de  $\geq 13\,200$  NMP.  $(100\text{ mL})^{-1}$ , coliformes termotolerantes de  $2\,804$  NMP.  $(100\text{ mL})^{-1}$ , recuento heterotrófico de  $27\,000$  UFC.  $\text{mL}^{-1}$ , presencia de *Acanthamoeba* sp. en un 100%, presencia de *Cryptosporidium* sp. en un 100% y presencia de *Cyclospora cayetanensis* en un 25%.

## INDICE GENERAL

I.	Carátula .....	
II.	Dedicatoria .....	II
III.	Agradecimiento .....	III
IV.	Resumen.....	IV
V.	Índice general.....	V
VI.	Contenido de la Tesis .....	VI
1.	INTRODUCCIÓN .....	01
2.	MARCO TEÓRICO .....	03
2.1	Grupo Coliforme .....	03
2.2	Recuento Heterotrófico... ..	05
2.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	06
2.3.1	Aspecto Teórico.....	06
2.3.2	Taxonomía.....	10
2.3.3	Morfología.....	11
2.3.3.1	Trofozoíto .....	11
2.3.3.2	Quiste .....	12
2.3.4	Ciclo biológico .....	13
2.3.5	Infecciones por <i>Acanthamoeba</i> sp .....	13
2.4	<i>Cryptosporidium</i> sp. ....	15
2.4.1	Aspecto Histórico .....	15
2.4.2	Taxonomía.....	17
2.4.3	Morfología .....	18
2.4.4	Ciclo biológico .....	19
2.4.5	Infección por <i>Cryptosporidium</i> sp .....	23
2.5	<i>Cyclospora Cayetanensis</i> .....	24
2.5.1	Aspecto Histórico .....	24
2.5.2	Taxonomía .....	26
2.5.3	Morfología .....	27
2.5.4	Ciclo biológico .....	27
3.	OBJETIVOS .....	32

4.	TRABAJOS REALIZADOS .....	33
4.1	Estudios Preliminares .....	34
4.1.1	Preparación de Materiales de Muestreo.....	34
4.1.2	Preparación de Insumos y Materiales de Laboratorio.....	35
4.1.3	Pruebas Preliminares de Muestreo y Procesamiento de Muestras en el Laboratorio .....	35
4.1.3.1	Pruebas Preliminares de Muestreo .....	35
4.1.3.2	Pruebas preliminares de Procesamiento de Muestras en el laboratorio. ....	35
4.1.3.2.1	Grupo Coliforme .....	36
4.1.3.2.2	Recuento Heterotrófico .....	36
4.1.3.2.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	37
4.1.3.2.4	<i>Cryptosporidium</i> sp. y <i>Cyclospora cayetanensis</i> .....	37
4.2	Estrategia de Intervención.....	39
4.1	Inscripción y sorteo .....	39
4.3	Desarrollo de los trabajos de investigación .....	40
4.3.1	Preparación de Insumos y Materiales de Muestreo .....	40
4.3.2	Preparación de Insumos y Materiales de Laboratorio.....	40
4.3.3	Muestreo y Procesamiento de Muestras.....	40
5.	MATERIALES Y METODOLOGIA.....	41
5.1	Materiales y Metodología de Muestreo.....	41
5.1.1	Materiales de Muestreo.....	41
5.1.2	Metodología de Muestreo .....	41
5.2	Materiales y Metodología de Determinación de Parámetros Microbiológicos y Parasitológicos .....	43
5.2.1	Grupo Coliforme .....	43
5.2.2	Recuento Heterotrófico .....	45
5.2.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	43
5.2.4	<i>Cryptosporidium</i> sp. y <i>Cyclospora Cayetanensis</i> .....	48
6.	RESULTADOS .....	51
6.1	Agua que alimenta a la unidad.....	52
6.1.1	Grupo Coliforme .....	52

## VII

6.1.2	Recuento Heterotrófico .....	52
6.1.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	52
6.2	Agua Almacenada.....	53
6.2.1	Grupo Coliforme .....	53
6.2.2	Recuento Heterotrófico .....	54
6.2.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	54
6.3	Pared .....	55
6.3.1	Grupo Coliforme.....	55
6.3.2	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	56
6.4	Agua con Sedimento.....	56
6.4.1	Grupo Coliforme .....	56
6.4.2	Recuento Heterotrófico .....	57
6.4.3	<i>Acanthamoeba</i> sp. ....	58
6.4.4	<i>Cryptosporidium</i> sp. ....	59
6.4.5	<i>Cyclospora cayetanensis</i> .....	59
7.	DISCUSIÓN .....	60
8.	CONCLUSIONES.....	69
9.	RECOMENDACIONES .....	71
10.	FUENTES DE INFORMACION .....	73
	ANEXOS .....	81

## INDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO I :</b>	<b>Cuadro Resumen de Resultados por Grupos de Reservorios .....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO II :</b>	<b>Resultados del Grupo I: Tanques de Fibra de Vidrio .....</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO III:</b>	<b>Resultados del Grupo II: Tanques de Asbesto Cemento...</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO IV:</b>	<b>Resultados del Grupo III: Tanques de Concreto .....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO V:</b>	<b>Resultados del Grupo IV: Tanques de Polietileno .....</b>	<b>109</b>
<b>ANEXO VI:</b>	<b>Resultados del Grupo V: Cisternas .....</b>	<b>117</b>
<b>ANEXO VII:</b>	<b>Resultados del Grupo VI Tanques Grupo Cisternas....</b>	<b>126</b>
<b>ANEXO VIII:</b>	<b>Ficha de Evaluación Higiénico Sanitaria .....</b>	<b>132</b>
<b>ANEXO IX:</b>	<b>Protocolo de Resultados de Análisis Microbiológicos .....</b>	<b>134</b>
<b>ANEXO X:</b>	<b>Medios de Cultivo y Reactivos .....</b>	<b>143</b>
<b>ANEXO XI :</b>	<b>NMP y límites de confianza del 95% para diversas combinaciones de resultados positivos, cuando se usan tres tubos de cada dilución con volúmenes de 10, 1 y 0.1 ml .....</b>	<b>137</b>
<b>ANEXO XII:</b>	<b>Consumos Medidos (m<sup>3</sup>/mes) Urb. La Capullana – Distrito de Santiago de Surco .....</b>	<b>146</b>
<b>ANEXO XIII:</b>	<b>Códigos de Muestras .....</b>	<b>148</b>
<b>ANEXO XIV:</b>	<b>Procesamiento Estadístico .....</b>	<b>153</b>
<b>ANEXO XV:</b>	<b>Calendario de toma de muestras.....</b>	<b>157</b>
<b>ANEXO XVI:</b>	<b>Esquema del Área de Influencia del Estudio de Investigación .....</b>	<b>159</b>
<b>ANEXO XVII:</b>	<b>Panel Fotográfico .....</b>	<b>161</b>



## 1. INTRODUCCIÓN

Por lo general las personas que residen en viviendas no realizan prácticas de mantenimiento periódico en sus reservorios domésticos como cisternas y tanques elevados, trayendo como consecuencia que al interior de estas unidades se aprecie condiciones antihigiénicas, representadas mayoritariamente por sarro amarillento, gran cantidad de sedimentos, algas, incrustaciones blanquecinas, acumulación de capas biofilmicas e insectos <sup>(1)</sup>.

Si bien el agua que ingresa a la red de distribución cumple con las normas que garantizan su potabilidad, la calidad de esta puede verse deteriorada antes de llegar al usuario debido a una red susceptible a contaminarse o por un manejo deficiente y descuido del mismo usuario en sus reservorios de agua dentro del domicilio <sup>(2,3)</sup>.

El presente estudio de investigación surge entonces como consecuencia de la existencia de un vacío de conocimiento con respecto a que si las condiciones higiénicas desfavorables en los reservorios domésticos establecen la presencia de microorganismos que pudieran tener relevancia para la salud por su versatilidad y patogenicidad.

La zona elegida para el muestreo es la urbanización La Capullana del distrito de Santiago de Surco, con 34 años de existencia la cual posee un nivel socioeconómico B en donde existe un grado aceptable de educación (Fuente: INEI censo 1993).

En un inicio la urbanización contaba con lotes en cantidades por igual de uno y dos pisos y con una continuidad en el servicio de agua de agua potable de 24 horas, lo cual se vio afectado con el paso de los años al llegar los conflictos socioeconómicos al país reflejándose particularmente con cortes intempestivos y racionamiento del suministro, llegando al punto que las familias tuvieron en un inicio que coleccionar agua de los parques de la zona. Ante tal situación, a finales de los años 80, muchos vecinos empezaron a instalar sus reservorios

domésticos como tanques y cisternas de manera empírica y sin ningún asesoramiento profesional, de tal forma que aseguraron el abastecimiento en sus viviendas <sup>(4,5)</sup>. A mediados de los 90, se cambió fuente de abastecimiento del pozo 115 por el de la Planta de la Atarjea, mejorándose las condiciones de continuidad y presión en la zona, haciendo que algunos vecinos prescindan de sus unidades.

En el presente estudio se tomaron muestras en cuatro puntos fijos al interior de una cantidad determinada de reservorios domésticos entre los meses de enero y Setiembre del 2005, las cuales fueron obtenidas de forma aleatoria a fin de establecer en la zona el estado sanitario a nivel microbiológico y parasitológico de los reservorios domésticos, siendo los principales parámetros el Grupo Coliforme, el Recuento Heterotrófico, y los protozoarios emergentes *Acanthamoeba* sp., *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Grupo Coliforme <sup>(6,7,8)</sup>

El Grupo Coliforme (con forma de coli) es la denominación genérica que incluye a todas las bacterias con los siguientes caracteres bioquímicos:

- Ser aerobias o anaerobias facultativas.
- Ser Gram-negativas.
- No ser esporogéneas.
- Fermentar la lactosa con formación de gas dentro de las 48 horas, a una temperatura de 35 °C.

Dichas bacterias tienen importancia relevante como parámetros de contaminación del agua y los alimentos ya que el empleo de coliformes como indicadores de organismos patógenos es una práctica vigente en la actualidad.

Las bacterias del Grupo Coliforme se encuentran principalmente en el intestino de los seres humanos y de los animales de sangre caliente, encontrándose también distribuidas en la naturaleza.

El Grupo Coliforme está conformado por los siguientes géneros de bacterias:

- *Escherichia*
- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Citrobacter*

Por su amplia diversidad el Grupo Coliforme ha sido dividido en los dos siguientes grupos:

- Coliformes totales
- Coliformes termotolerantes o fecales.

No todos los coliformes son de origen fecal por lo que se tuvo que realizar la diferenciación en los grupos ya mencionados, entendiéndose que los coliformes totales comprenden la totalidad del grupo y los coliformes fecales ó termotolerantes son aquellos de origen intestinal. Esta diferenciación es importante desde el punto de vista del diagnóstico higiénico sanitario, ya que va a permitir determinar con certeza la procedencia de la contaminación de la muestra.

La definición de los coliformes fecales ó termotolerantes responde a aquel grupo que aparte de tener las características bioquímicas mencionadas, fermentan la lactosa a 44.5 – 45.5 °C. Este procedimiento permite descartar a las bacterias del género *Enterobacter* que no crece a dicha temperatura mas si crecen las bacterias de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. En términos sanitarios el hallazgo de coliformes fecales indica la polución o contaminación fecal y ya que las enfermedades transmitidas por el agua generalmente son de carácter intestinal la presencia de dicha polución señala la posibilidad de que existan agentes etiológicos productores de estas enfermedades.

Las pruebas para la determinación del Grupo Coliforme son diversas siendo las más comunes la de tubos múltiples de fermentación (prueba presuntiva, prueba confirmativa de coliformes totales y de termotolerantes) y la técnica de filtros de membrana, mencionando que cada técnica tiene sus limitaciones específicas como por ejemplo: Para aguas con sedimento (que es el caso de la presente investigación) no se puede utilizar la técnica de filtros de membrana porque se obturaría el filtro durante el proceso de filtración siendo la técnica más apropiada la de tubos múltiples de fermentación.

Según la normas ISO 9001 y Norma Técnica Peruana (NTP) el agua potable no debe presentar coliformes totales ni termotolerantes (ver tabla N° 1)

**Tabla N° 1**

	<b>Densidad del Grupo Coliforme en Agua Potable</b>	
	<b>Norma ISO 9001</b>	<b>Norma Técnica Peruana</b>
<b>Coliformes Totales</b>	0/100 mL	0/100 mL
<b>Coliformes Termotolerantes</b>	0/100 mL	0/100 mL

## **2.2 Recuento Heterotrófico <sup>(6.9)</sup>**

La contaminación del agua de tipo bacteriológico se debe a diversos factores entre ellos el contacto con los desechos humanos y de animales, ya que los agentes patógenos como las bacterias, protozoos y virus, se encuentran en las heces, en la orina y sangre, y son el origen de muchas enfermedades y epidemias.

El análisis de las muestras de agua y los métodos para determinar la existencia, tipo y número de microorganismos es básico para la microbiología del agua.

Entre los métodos básicos utilizados para investigar el número de microorganismos se encuentra el recuento en placa para la determinación del número de células viables. Sin embargo, este método habitualmente no permite determinar el número exacto de microorganismos que existe en una determinada muestra, ya que solo son susceptibles en el conteo sólo aquellos microorganismos capaces de crecer en las condiciones establecidas.

El recuento en placa es el método más utilizado para la determinación del número de células viables o unidades formadoras de colonias (UFC) en una muestra de agua. Este método se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo sólido definido, vertido en placas Petri, donde se ha sembrado un volumen conocido de agua, transcurrido un tiempo y una temperatura de incubación determinados. La incubación se realiza a 35° C, en aerobiosis durante 48 horas. A partir del número de colonias obtenidas en las placas de

Petri, se calcula el número de microorganismos por mililitro, con la finalidad de determinar la calidad de la muestra de agua, reflejando las condiciones de almacenamiento y las condiciones higiénicas sanitarias de las instalaciones.

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o de sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Asimismo, un recuento elevado puede significar excesiva contaminación del agua, por ende, la posibilidad de que existan microorganismos patógenos.

## **2.3. *Acanthamoeba***

### **2.3.1. Aspecto Histórico**

El protozoo parásito, *Acanthamoeba*, fue descrito por primera vez en 1930, por Sir Aldo Castellani como un microorganismo saprófito que se desarrollaba en cultivos de levaduras de *Cryptococcus paraoseus*; M. Douglas denominó a la ameba como *Hartmannella castellani* en el género *Hartmannella*, pero posteriormente fue reclasificada como *Acanthamoeba castellani* <sup>(10,11)</sup>. La contaminación espontánea de cultivos de células de riñón de mono por amebas de vida libre fue publicada en 1957 <sup>(11,12)</sup>. En 1958 Clyde Culbertson y colaboradores demostraron el potencial patogénico de las amebas en animales, induciendo una encefalitis en ratones tras la inoculación de una *Acanthamoeba* que contaminaba las células en cultivo durante la producción de la vacuna contra la poliomielitis al interior de Laboratorios Eli Lilly. Las amebas fueron denominadas como *Acanthamoeba* sp. cepa Lilly A-1, pero más tarde y en honor al Dr. Clyde G. Culbertson, se le denominó como *Acanthamoeba culbertsoni* <sup>(13,14)</sup>. Actualmente, se ha establecido que *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. polyphaga* y probablemente otras especies, son capaces de producir infecciones en seres humanos y animales <sup>(15)</sup>.

Se ha establecido que las amebas de vida libre producen en el hombre enfermedades de curso diverso; desde cuadros agudos a fatales con componentes de predominio necrótico a enfermedades crónicas con reacción inflamatoria granulomatosa <sup>(16)</sup>.

De 1971 a 1980, Kenney, Robert, Rorke, Jager y Stamm reportaron los primeros casos de encefalitis en seres humanos, en los cuales se identificaron claramente como responsables a las amebas del género *Acanthamoeba*; la enfermedad producida por ésta se conoce como encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) <sup>(17)</sup>. La primera descripción de la queratitis por *Acanthamoeba* data de 1974 <sup>(18)</sup>, desde esa fecha en los Estados Unidos, se mantuvo como una infección poco frecuente hasta 1984, donde aumentó la incidencia de esta enfermedad, siendo reportada con mayor frecuencia en portadores de lentes de contacto y asociado al mal cuidado de los mismos <sup>(19)</sup>.

En el Perú en el año 1957, Delgado Pacheco y Aguila Pardo, publican el 1er. Caso peruano de abscesos amebianos cerebrales y meningoencefalitis sin compromiso hepático ni pulmonar <sup>(20)</sup>.

Entre los años de 1974 a 1978 Takano J. y colaboradores reportan cuatro casos de meningoencefalitis en jóvenes procedentes de Piura, Trujillo, Lima y Chincha en personal militar con antecedente de haberse bañado en lagunas. Ellos identificaron las *Acanthamoeba castellani* y *A. culbertsoni* como las causantes de dicha patología. Todos los casos fueron fatales <sup>(21)</sup>.

La *Acanthamoeba* es una ameba de vida libre que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza. El hábitat natural de estas amebas es el medio acuático o medios muy húmedos, habiéndose aislado varias especies del medio ambiente como: agua de mar, agua de charcos, aguas residuales, lagunas, ríos, así como también de sistemas de tratamiento y distribución de agua potable y de otros que han sido tratados con cloro como las piscinas <sup>(16,22,23)</sup>. También se han aislado de suelo, vegetación, enfriadores de agua, filtros de acondicionadores de aire, polvo, lentes de contacto, piscinas termales; equipo de la lente de contacto; piscinas, máquinas de la diálisis, cultivo de células mamarias y tejidos

pulmonares, exudados faríngeos de pacientes con enfermedades respiratorias incluso de las secreciones de individuos sanos extraídas de las cavidades nasales, globos oculares y tubos digestivos<sup>(24,25,26)</sup>. Reciben la denominación de anfizoicas porque son capaces de vivir en el medio ambiente y actuar como parásitos en el ser humano<sup>(16)</sup>.

Se presenta bajo dos estadios: trofozoito y quiste, que adopta en función a las condiciones ambientales a la que está expuesta, ya sean estas, favorables o desfavorables, respectivamente<sup>(27)</sup>.

La *Acanthamoeba* tiene gran capacidad patógena, siendo capaz de producir enfermedades con mayor incidencia en personas inmunocomprometidas y enfermos crónicos, y pacientes que han recibido terapia de inmunosupresión, los cuales constituyen la población de riesgo<sup>(28)</sup>. Las vías de invasión del hospedador humano son variadas, así como las lesiones causadas por los trofozoítos, que pueden afectar a diversos órganos y como a tejidos. Son frecuentes las lesiones en piel, ojos y cerebro, donde produce la conocida encefalitis granulomatosa amebiana (E. G. A), casi siempre mortal<sup>(27)</sup>.

La *Acanthamoeba* juega un rol importante como depredador de comunidades microbianas, estableciéndose también endosimbiosis con diversos microorganismos entre los cuales están patógenos de gran importancia como enterobacterias, pseudomonas, vibrios, etc.

Las bacterias utilizan a la ameba como hospedador en presencia de factores hostiles y también bajo condiciones favorables de temperatura, osmolaridad y pH, pueden multiplicarse e inducir la lisis de aquellas, caso de *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Chlamydia pneumoniae*, *E. coli* O-157, *Helicobacter pylori*, *Campilobacter jejuni*, etc., con las consecuencias que éste hecho puede tener para la propagación de patógenos al hombre. Es por ello en la actualidad diversos investigadores en el mundo la utilizan para entrenamiento y ensayo en laboratorio con bacterias patógenas<sup>(18)</sup>.



El caso del *Helicobacter pylori* es el de una bacteria que ha sido ampliamente estudiada, a pesar de ello las vías de transmisión aún son poco conocidas. El hallazgo del ADN bacterial en muestras de agua sugiere que las rutas de transmisión se deben a factores ambientales. Se tienen referencias de reportes exitosos de co-cultivos de *Helicobacter pylori* con *Acanthamoeba castellanii*. El *Helicobacter pylori* fue capaz de propagarse y quedar viable por varias semanas en la presencia de la ameba bajo condiciones de laboratorio. La bacteria metabólicamente activa podría ser vista dentro de las vacuolas. Dicha cavidad pareciera que ofrece a la bacteria condiciones microaerobias precisas y un prolongado suplemento de nutrientes necesarios para su desarrollo <sup>(29)</sup>.

La implicancia de este hallazgo resulta ser que la ameba provee condiciones que favorecen la supervivencia del *Helicobacter pylori*. Tanto la multiplicación intracelular como el ingreso de la bacteria dentro de la ameba no ha sido materia de un estudio más detallado.

En la naturaleza, la ameba de vida libre y el *Helicobacter pylori*, están involucrados en diferentes interacciones. La ameba generalmente actúa como depredador de dicha bacteria, alimentándose de ella. Pero el fenómeno de cómo las amebas de vida libre sirven como vectores e incubadores para la bacteria, merece mejor atención. Algunas bacterias han desarrollado mecanismos para evadir el ataque del lisosoma y ser asimilados por la ameba como alimento. De esta manera pueden sobrevivir y reproducirse dentro de esta <sup>(29)</sup>.

Dada la asociación entre el *Helicobacter pylori* y las amebas de vida libre en la naturaleza, la transmisión a huésped humano se debería a la exposición de agua contaminada que contenga al parásito vector. Esto se relacionaría con datos basados en resultados de PCR en muestras de agua. Donde el *Helicobacter pylori* va de la mano con brotes y tempranas muestras de la infección durante la infancia en países del tercer mundo donde las condiciones de salubridad son precarias, lo cual contrasta con el hecho que esto es raro en los niños de los países desarrollados, donde la prevalencia del *Helicobacter pylori* sólo se incrementa gradualmente con la edad <sup>(29)</sup>.

### 2.3.2. Taxonomía

De acuerdo a la nomenclatura actual, las amebas son seres vivos del reino Protista. Las amebas de vida libre que afectan al ser humano pertenecen a dos phyla del reino Protista: Choanozoa y Amoebozoa <sup>(16,30)</sup>.

Phylum Choanozoa: Agrupa organismos primitivos, algunos de los cuales pueden ser ameboflagelados con un flagelo transitorio, no tienen aparato de Golgi, pero poseen mitocondrias o hidrogenosomas y peroxisomas. El phylum incluye la clase Heterolobosea, el orden Schyzopyrenida, la familia Vahlkampfiidae; y los géneros *Naegleria* y *Vahlkampfia* <sup>(16,30,31)</sup>.

Phylum Amoebozoa: Agrupa organismos con pseudópodos como medio de locomoción y alimentación, mitocondrias con crestas tubulares. La mayoría de las especies son de vida libre. El phylum incluye la clase Lobosea, que a la vez contiene a dos subclases: Gymnamoebida y Testacealobosia <sup>(16,31)</sup>.

La subclase Gymnamoebida contiene cinco órdenes: Euamoebida, Leptomyxida, Copromyxida, Acanthopodida y Loboreticulatida.

El género *Acanthamoeba* se encuentra dentro de la familia Acanthamoebidae, de la subclase Acanthopodida <sup>(30,31)</sup>.

- Reino : Protista
- Subreino : Sarcomastigota
- Phylum : Amoebozoa
- Subphylum : Lobosa
- Clase : Lobosea
- Subclase : Gymnamoebida
- Orden : Acanthopodida
- Familia : Acanthamoebidae
- Género : *Acanthamoeba*, *Protacanthamoeba*, *Balamuthia*

### 2.3.3. Morfología

El Género *Acanthamoeba* presenta dos formas:

#### 2.3.3.1. Trofozoito

La *Acanthamoeba* presenta una forma vegetativa o trofozoito y una forma quística o quiste. En cultivos, los trofozoitos de las diferentes especies de *Acanthamoeba* son irregulares y presentan múltiples proyecciones pseudopodiales retráctiles, filamentosas o espinosas llamadas acantopodios. Sobreviven en el medio ambiente, especialmente, en el medio acuático a temperaturas variables entre 25 y 35° C a pH ligeramente neutro <sup>(16,32)</sup>.

Como trofozoito, la *Acanthamoeba* se alimenta de ciertas bacterias cuando vive en el medio ambiente, tanto así que se le involucra un papel como reservorio de algunas de ellas, lo cual recibe el nombre de endosimbiosis. Entre las más importantes tenemos al *Helicobacter pylori*, *Campilobacter jejuni*, *Legionella* sp. En ensayos, se ha demostrado que la *Acanthamoeba* puede transportar a las siguientes bacterias: *Afilia felis*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis*, *Simkania negevensis* y *Vibrio cholerae* <sup>(33)</sup>.

El tamaño de los trofozoitos varía de acuerdo a cada especie de ameba, con promedios de 20 a 40 micras; así los diámetros mayores son de 21 a 45 micras para *A. castellanii*, de 25 a 60 micras para *A. astronyxes*, y 14 a 41 micras para *A. polyphaga* <sup>(16)</sup>.

En los tejidos infectados, los trofozoitos de *Acanthamoeba* tiene, un tamaño de 15 a 35 micras de diámetro mayor, son ovoides y de contornos ligeramente irregulares, de pared delgada, citoplasma granular y vacuolado, con un único núcleo esférico, anfófilo y un prominente nucleolo central intensamente hematoxilífico a manera de un cariosoma; la superficie interna de la membrana nuclear no muestra cromatina periférica, un signo que ayuda a diferenciar estos trofozoitos de los de *E. histolytica* <sup>(16)</sup>.

### **2.3.3.2. Quiste**

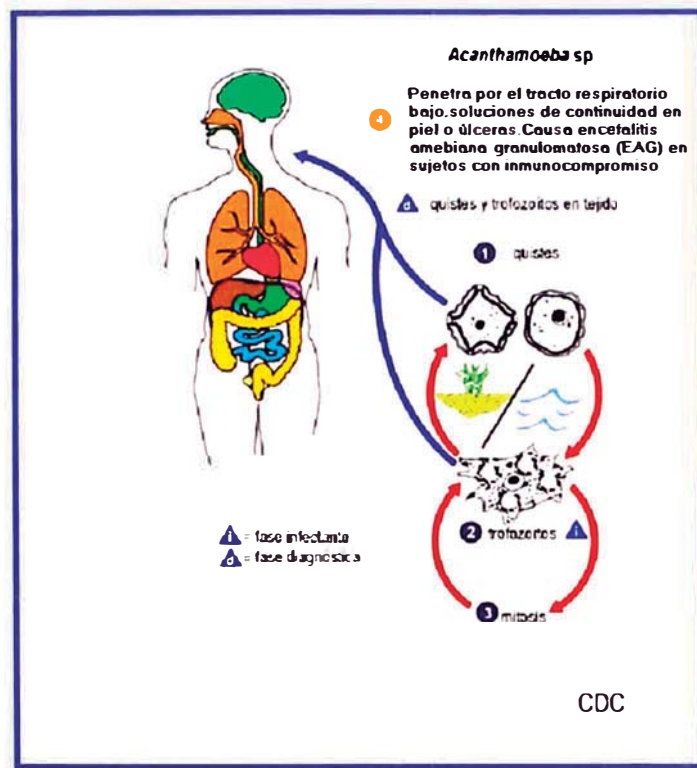
Los quistes de *Acanthamoeba* son esféricos o poligonales y tienen una doble pared, miden de 6 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro, aunque generalmente son de 15 a 25  $\mu\text{m}$  de diámetro. El citoplasma es granular, con numerosas vacuolas alimentarias, distribuidas alrededor del núcleo: una, y algunas veces dos de estas vacuolas alimentarias, son contráctiles y vacían su contenido acuoso a intervalos de 40 a 50 segundos. El núcleo es evidente como una débil estructura refráctil, con un aún más refráctil cariosoma redondeado <sup>(16)</sup>.

*Acanthamoeba* se encuentra protegida del medio ambiente pudiendo sobrevivir periodos no menores a 25 años <sup>(34)</sup>. El quiste tiene 2 paredes compuestas por celulosa: el endoquiste y el exoquiste. La pared posee poros los cuales permiten a la ameba emerger de su estadio quístico al estadio de trofozoito <sup>(35)</sup>.

Bajo condiciones desfavorables, como un ambiente anaeróbico, falta de alimento, desecación y cambios de temperatura y pH, se desarrollará el quiste a partir del trofozoito, el cual puede soportar temperaturas extremas de  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $56^{\circ}\text{C}$ , así como la desinfección y desecación <sup>(18)</sup>.

### 2.3.4. Ciclo biológico

Figura N°1



Fuente: Fuente: CDC, Division of Parasitic Diseases, Parasite Image Library, 2006

Fig. N°1 La *Acanthamoeba* sp. sólo tiene dos estados. Ooquiste <sup>1</sup> y trofozoito <sup>2</sup>, en su ciclo de vida. Existe como estado no flagelado como parte de ciclo de vida. Los trofozoitos se replican por mitosis (la membrana nuclear no permanece intacta) <sup>3</sup>. Los trofozoitos son la forma infecciosa y se cree que se adquiere su entrada a través del tracto respiratorio inferior, heridas o úlceras en la piel e invaden el sistema nervioso central por diseminación hematológica <sup>4</sup> (26).

### **2.3.5. Infecciones por *Acanthamoeba***

La *Acanthamoeba* es usualmente un parásito oportunista que toma ventaja de las deficiencias metabólicas e inmunológicas del huésped.

Los factores que predisponen a un individuo a la infección por *Acanthamoeba* son terapias de inmunosupresión, tratamiento con una amplia gama de antibióticos, diabetes mellitus, varios tipos de cáncer, malnutrición, embarazo, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), alcoholismo crónico, quemaduras, heridas, traumas quirúrgicos y terapia de radiación <sup>(36)</sup>.

La principal vía de infección es el tracto respiratorio, pulmones y piel por inhalación de polvo y aerosoles que contienen el quiste de este parásito. La ameba se propaga de las lesiones originadas en estos tejidos a través de torrente sanguíneo al cerebro y al sistema nervioso central SNC. Cuando se propaga al SNC, la enfermedad es conocida como Encefalitis Amebiana Granulomatosa EAG <sup>(36)</sup>. La queratitis amebiana está relacionada al uso de lentes de contacto, y usualmente se produce por contaminación de estos cuando son lavados con agua de caño donde los trofozoítos pueden existir y replicarse, mientras que se alimentan de bacterias, hongos y otros organismos <sup>(18)</sup>.

Las principales enfermedades originadas por *Acanthamoeba*, y cuyo registro se cuenta, son las siguientes:

- Encefalitis amebiana granulomatosa
- Queratitis
- Lesiones Cutáneas (Colonización de la piel)
- Neumonitis
- Sinusitis

Estas dos últimas se presentan en ocasiones como cuadros en pacientes inmunocomprometidos, así como insuficiencia renal o hepática y sépsis. Las lesiones de piel generalmente ocurren como una manifestación tardía de la enfermedad diseminada en pacientes con EAG. Sin embargo, la enfermedad

cutánea se observa en pacientes con sida en ausencia del compromiso del sistema nervioso central <sup>(36,37)</sup>.

## **2.4 *Cryptosporidium***

### **2.4.1. Aspecto histórico**

El *Cryptosporidium* es un protozooario, coccidio parásito unicelular que infecta tanto a seres humanos como animales. En 1907 Ernest Edward Tizzer aisló en glándulas gástricas de un ratón de laboratorio, al que llamó *Cryptosporidium muris*. En 1912 se encontró en el intestino de ratón otra nueva especie de este parásito, a la que se denominó *Cryptosporidium parvum*, al cual se le asoció con enfermedades diarreicas en aves de corral en la década de los cincuenta y en 1971, se determinó que el *Cryptosporidium parvum* producía diarreas en el ganado vacuno <sup>(38)</sup>. Se identificó por primera vez en humanos en 1976, cuando se reporta el primer caso de criptosporidiosis <sup>(39,40)</sup>.

La forma inactiva del *Cryptosporidium* llamada ooquiste, es excretada en las heces fecales de las personas o animales infectados. El ooquistes, que tiene una pared protectora resistente, sobrevive bajo una gran variedad de condiciones ambientales <sup>(41)</sup>.

Basándose en el tamaño de los ooquistes, se han identificado dos especies que afectan a los mamíferos: *C. parvum* y *C. muris*. De las especies conocidas solamente *C. parvum* parece estar asociada con infecciones en los humanos. Este organismo presenta distribución mundial y su transmisión ha sido relacionada a la ingestión de aguas contaminadas con materia fecal, a la ingestión de alimentos contaminados y a la transmisión de persona a persona <sup>(39)</sup>

Por métodos fenotípicos y genotípicos se ha demostrado la presencia de dos tipos de *C. parvum*: el genotipo 1 ocurre exclusivamente en personas

naturalmente infectadas y el genotipo 2 presente en ganado vacuno y también en personas, por lo tanto, responsable de la transmisión zoonótica de la enfermedad <sup>(42,43)</sup>. La contaminación de aguas de consumo con material fecal de ganado vacuno así como con aguas negras o material fecal humana se han asociado con brotes de diarrea causada por este protozooario. Es importante además, considerar que los métodos usuales de tratamiento de aguas de consumo, incluida la desinfección química o los métodos de filtración, no son garantía de una eficiente remoción de los ooquistes de este protozooario <sup>(44,45,46)</sup>.

Muchos brotes han sido documentados. En 1987, 13 mil personas de Carrollton, Georgia, se enfermaron con criptosporidiosis. Este fue el primer reporte de su diseminación a través de aguas municipales que cumplía con todos los estándares de agua, estatales como federales <sup>(41)</sup>. En 1993 ocurrió una epidemia de criptosporidiosis en Milwaukee, Wisconsin, que afectó a 403 mil personas, provocando la muerte de más de 100 de ellas. Este hecho se produjo por la contaminación de las fuentes de suministro de agua potable de la ciudad, lo cual causó alarma en el Departamento de Salud y a la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos. Este hecho marcó precedente en la historia de la salud pública y la ingeniería sanitaria de dicho país, evidenciando la vulnerabilidad de los sistemas de tratamiento ante la aparición de este patógeno emergente <sup>(41,46)</sup>.

La comida contaminada con heces de personas y animales siempre se había considerado un posible factor de la infección por *Cryptosporidium*. En ese mismo año (1993) se produjo un brote de criptosporidiosis en niños quienes habían bebido sidra preparada con manzanas frescas, las cuales habían sido contaminadas con heces de animales durante una feria de condado en Maine. Así se obtiene la primera documentación de este modo de transmisión con un resultado de 150 casos <sup>(41,46)</sup>.

Sin embargo, a pesar de estos casos registrados en un país del primer mundo, la prevalencia de este parásito es variable y está en función de las características socioeconómicas de la población, ya que es más frecuente en lugares con deficiencias en la infraestructura de los sistemas de abastecimiento de agua



potable, en las piscinas, eliminación de aguas residuales o estrecho contacto con animales como en las zonas rurales, aspectos ampliamente difundidos en países en vías de desarrollo como el nuestro <sup>(47)</sup>.

#### 2.4.2. Taxonomía

El género *Cryptosporidium* está clasificado de la siguiente manera <sup>(48,49)</sup>:

Reino	:	Protista
Phylum	:	Apicomplexa
Clase	:	Conoidasida
Subclase	:	Coccidiasina
Orden	:	Eucoccidiorida
Suborden	:	Eimeriorina
Familia	:	Cryptosporidiidae
Género	:	<i>Cryptosporidium</i>
Especies	:	<i>parvum, muris, bailey, meleagridis, serpentis</i>

Los microorganismos agrupados en el phylum Apicomplexa poseen un complejo apical visto al microscopio electrónico, tiene como características generales: un conoide, un anillo polar, un rhoptrio ó sarconema y microtubúlos. No poseen, ni cilios, ni flagelos a excepción de los gametos de algunos grupos que presentan flagelos <sup>(48)</sup>.

El phylum Apicomplexa posee hoy tres clases conocidas: Conoidasida (Sporozoasida), Aconoidasida y Blastocystea <sup>(50)</sup>.

La clase Conoidasida, que posee dos subclases, entre ellas: Gregarinasina y Coccidiasina. Complejo apical completo, cuyo estado infectivo se debe al esporozoito el cuál se origina de la esporogonia <sup>(51)</sup>.

La subclase Coccidiasina contiene cuatro órdenes que son: Agamococcidiorida (que no poseen esquizogonia, ni gametogonia sólo esporogonia), Protococcidiorida (que no poseen esquizogonia, pero si presentan gametogonia

y esporogonia. Son parásitos de invertebrados), Ixorheorida (no posee gametogonia; esquizogonia y esporogonia presentes) y Eucoccidiorida (presentan gametogonia esquizogonia y esporogonia. Parásitos de invertebrados y vertebrados) <sup>(48,51,52)</sup>.

Orden Eucoccidiorida contiene dos subórdenes: Eimeriorina y Adeleorina (Ambos encontrados como parásitos de tejidos) <sup>(51)</sup>.

Los miembros de ambos subórdenes maduran dentro de un simple huésped, a los cuales entran a través de la boca, como ooquistes, y salen de él también como ooquiste, por las heces u orina <sup>(48)</sup>.

Los Eimeriorina se caracterizan por desarrollar microgametos y microgamontes independientemente. Los esporozoitos están dentro de un ooquiste. En este suborden tenemos nueve familias, las cuales son: Spirocystidae, Selenococcidiidae, Aggregatidae, Cryptosporidiidae, Lankesterellidae, Eimeriidae, Calyptosporiidae, Sarcocystidae y Elleipsisomatidae <sup>(53)</sup>.

Los Eimeriorina son parásitos de animales y que en algunos casos infestan al hombre por zoonosis, como sucede con la familia Cryptosporidiidae y en especial el género *Cryptosporidium* que produce diarreas de importancia en el hombre, como única especie el *C. parvum* que afecta al hombre, mientras especies como: *C. muris*, *C. bailey*, *C. meleagridis* y *C. serpentis*, afectan a otros animales <sup>(48,53,54)</sup>.

### **2.4.3. Morfología**

La contaminación de aguas superficiales y la insuficiente purificación del agua de bebida, da lugar a la proliferación de enteropatógenos como el *Cryptosporidium*.

La forma diagnóstica en material fecal de *Cryptosporidium* corresponde a la forma de ooquiste, que aparece como una estructura esférica o ligeramente ovoidal que mide de 4 a 6 micras de diámetro. Cuando se observa con

microscopio de contraste de fases se ve que posee una doble pared y una estructura interna formada por 4 esporozoitos vermiformes y cuerpos residuales que no son claramente visibles <sup>(55)</sup>.

En las células epiteliales del intestino presentan un tamaño entre 2 y 6 micras, tienen forma esférica o elíptica y se encuentran localizados en vacuolas parasitóforas. Mientras que los ooquistes presentan cuatro esporozoitos, son ovoides y pueden medir entre 4 y 6 micras. Tienen ocho cromosomas de tamaños moleculares semejantes y presenta uno de los genomas más pequeños de los organismos unicelulares eucarióticos <sup>(56)</sup>.

Pueden observarse varios tipos de ooquistes: ooquistes no esporulados y ooquistes esporulados, en los cuales en muchos casos es posible observar esporozoitos como líneas transversales claras y el cuerpo residual como una mancha oscura excéntrica cuando están teñidos con Ziehl-Neelsen modificado <sup>(55)</sup>, ya que como característica de tinción, sus ooquistes tienen propiedades de ácido - alcohol resistencia.

#### **2.4.4. Ciclo biológico**

El *Cryptosporidium* es homoxeno (completa su ciclo en un huésped). La ruta de infección es fecal-oral, por la ingestión de agua o comida contaminada. Puede ser transmitida de persona a persona o de animal a persona. La persona o animal parasitado arroja los ooquistes al exterior junto con las heces. La ingesta de los ooquistes por un potencial huésped puede resultar en una infección <sup>(39)</sup>.

Cuando los ooquistes llegan al tracto gastrointestinal se liberan los esporozoitos y parasitan las células epiteliales del yeyuno e íleon; luego, el desarrollo de los diferentes estadios del parásito ocurre intracelularmente.

A primera fase también llamada esquizogonia, o fase asexual, y tiene inicio con la invasión de los enterocitos (célula epitelial intestinal) por los esporozoitos,

formando o esquizonte o meronte, unidad repleta de merozoitos. Puede producirse una o varias generaciones de esquizontes <sup>(47)</sup>.

La fase sexual o gamogonia tiene inicio al final de la esquizogonia (fase asexual), cuando la última generación de merontes penetra en nuevos enterocitos diferenciándose en macrogametos (gametos femeninos) y microgametos (gametos masculinos), posteriormente el macrogameto es fecundado por el microgameto, formando el ooquiste, y finalizando la fase endógena la pared celular se forma, para que el ooquiste inmaduro o de pared delgada sea liberado nuevamente en la cavidad intestinal produciendo al denominada auto-infección <sup>(47)</sup>.

La fase externa, también llamada de esporogonia ocurre cuando la célula que se divide es de origen sexual. El cigoto da lugar a un ooquiste, que por esporogonia da lugar un esporoquiste y en cuyo interior se forman los esporozoitos. Esto sucede con algunas condiciones determinadas, como por ejemplo, temperatura entre 28 a 30 ° C, presencia de humedad y oxígeno <sup>(47)</sup>.

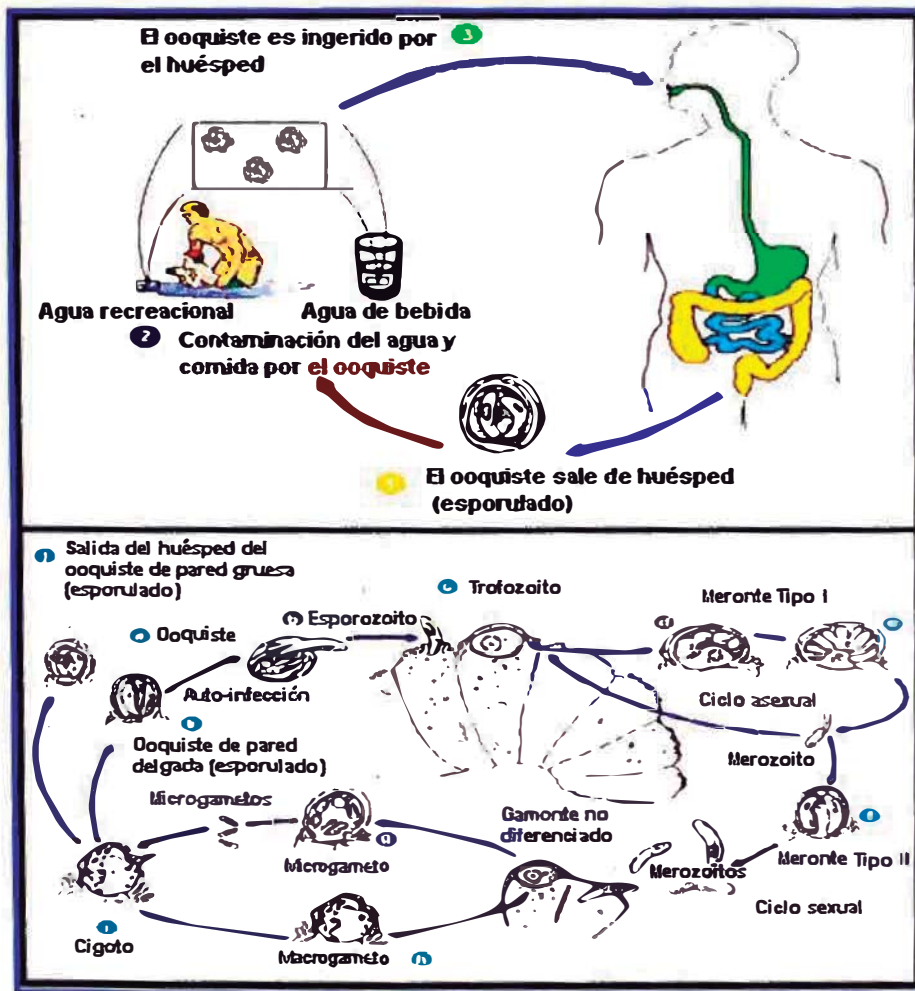
Los trofozoítos se multiplican asexualmente y producen merontes Tipo I (con 6-8 núcleos), y merontes Tipo II (con 4 núcleos). Los primeros producen de 6 a 8 merozoitos y los otros sólo 4 merozoitos. Los merozoitos Tipo I producen autoinfección. Los merozoitos del Tipo II invaden nuevas células epiteliales y se transforman en microgametos y microgametos; los cuales se fusionan y generan un cigoto (reproducción sexual). En el cigoto se producen esporozoitos potencialmente infectivos para constituir el ooquiste. Finalmente, los ooquistes son liberados vía heces fecales. Cada generación de parásitos se desarrolla y madura en un periodo de 12 a 24 horas. Después de ser arrojados al ambiente los esporozoitos mueren, mientras que los ooquistes pueden permanecer latentes más de un año en agua o en el suelo húmedo <sup>(38,44,46)</sup>.

Uno de los peligros que esconde este parásito es que la dosis infectiva para los humanos es muy pequeña. Estudios hechos en voluntarios indican que un promedio de 132 ooquistes son suficientes para provocar una infección en un adulto joven. En la población expuesta, las tasas infectivas son del orden del 40

%, mientras que otro parásito como la *Giardia lamblia* las tasas son del 5 al 15 % (57)

Se tiene referencias de algunas publicaciones de casos como el de los macacos, y monos, que al infectarse experimentalmente necesitan una dosis promedio de 200 mil ooquistes para que inicien el proceso infeccioso. Asimismo, por su alta capacidad autoinfectiva y su rápida ciclo de vida en terneras experimentales, la producción de ooquistes puede llegar a cantidades que van desde los 2 mil hasta los 20 mil millones diarios (57).

Figura N ° 2



Fuente: CDC, Division of Parasitic Diseases, Parasite Image Library, 2006

Fig. 2. Los ooquistes esporulados que contienen 4 esporozoitos son excretados por el huésped infectado a través de las heces y posiblemente también por otras rutas como las secreciones respiratorias<sup>1</sup>. La transmisión de *Cryptosporidium parvum* ocurre generalmente mediante el contacto con agua contaminada. En ocasiones las fuentes de alimento también pueden servir como vehículos de transmisión<sup>2</sup>. Los esporozoitos liberados infectan células epiteliales del intestino delgado para transformarse en trofozoítos. Después de ser ingeridos<sup>3</sup>, ocurre el desenquistamiento<sup>4</sup>. Los esporozoitos son liberados y estos parasitan las células epiteliales ( <sup>b</sup>, <sup>c</sup> ) del tracto gastrointestinal u otros tejidos como el tracto respiratorio. En estas células, los parásitos se multiplican asexualmente ( <sup>d</sup>, <sup>e</sup>, <sup>f</sup> ) y luego mediante diferenciación sexual formando microgametos (masculinos) <sup>g</sup> y microgametos (femeninos) <sup>h</sup>. Después de la fertilización de los microgametos por los microgametos ( <sup>i</sup> ), se desarrollan los ooquistes ( <sup>j</sup>, <sup>k</sup> ) que esporulan en el huésped infectado. Se producen dos tipos diferentes de ooquistes, el de pared gruesa, que es comúnmente excretado por el hospedero <sup>l</sup>, y el ooquiste de pared delgada <sup>m</sup>, que está involucrado en la autoinfección. Los ooquistes son infecciosos al ser excretados, por lo que permite la transmisión fecal-oral directa e inmediata<sup>(27)</sup>.

El más prominente signo clínico de la enfermedad es la diarrea. Otras consecuencias de la infección son: pérdida de peso, depresión, fiebre, deshidratación y muerte. La criptosporidiosis parece ser una enfermedad cosmopolita. En humanos, es reconocida como una zoonosis. Esta infección es de alto riesgo en personas inmunocomprometidas, como en casos de SIDA o en niños donde la respuesta inmune está disminuida; sin embargo, pueden infectar a personas inmunocompetentes<sup>(49)</sup>.

#### **2.4.5. Infección por *Cryptosporidium***

La criptosporidiosis es una enfermedad causada por especies de *Cryptosporidium*, protozooario coccidio que parasita el aparato digestivo del hombre y de un gran número de animales, por lo que se considera una zoonosis. Este protozooario cuenta con un ciclo homoxeno (completa su ciclo en un solo huésped) <sup>(49)</sup>, y por lo general afecta a todos los animales y/o personas inmunocompetentes e inmunocomprometidos, manifestándose clínicamente en estos último.

La criptosporidiosis consiste en una enfermedad de nuevo registro en humanos que es producida por un protozooario llamado *Cryptosporidium parvum*. El parásito se desarrolla en el tracto digestivo del huésped, donde cumple todo su ciclo vital. Finalmente, los ooquistes son arrojados al exterior junto con las heces. La ingestión de los ooquistes por algún huésped potencial puede resultar en una infección <sup>(55)</sup>. La ruta de transmisión a los humanos, llamada fecal-oral, puede ser de persona-persona o animal-persona, por la ingestión de agua o comida contaminada <sup>(39)</sup>.

La prevalencia de este microorganismo es variable, en función de las características socioeconómicas de la población, ya que es más frecuente en los lugares con problemas de infraestructura sanitaria, en las piscinas, en la eliminación de aguas residuales o con estrecho contacto con animales <sup>(56)</sup>.

La forma infectiva es el ooquiste de pared gruesa, muy resistente a la mayor parte de los desinfectantes y que sobrevive en el medio externo. Los ooquistes de pared delgada no son excretados en las heces, sin embargo, poseen capacidad infectiva, por lo que estos factores implican que existan varias rutas de transmisión <sup>(56)</sup>.

El *Cryptosporidium* puede transmitirse de humanos a humanos, de humanos a animales y de animales a humanos. Además de la contaminación fecal del medio ambiente puede producirse la diseminación a través del agua, de los alimentos e incluso del aire, a través de las manos o de los objetos contaminados <sup>(56)</sup>.

El agua se ha implicado en brotes de criptosporidiosis. La cloración no destruye los ooquistes de *Cryptosporidium*, por lo que la potabilidad del agua no garantiza que esta este libre de ooquistes del parásito, sin embargo, a pesar del pequeño tamaño de los ooquistes (4-6 micras), la filtración del agua con el tamaño de poro conveniente, puede ser efectiva para eliminarlos <sup>(46)</sup>.

## **2.5 *Cyclospora cayetanensis***

### **2.5.1. Aspecto histórico**

*Cyclospora cayetanensis* es un coccidio intestinal de reciente descripción, productor de diarreas y de procesos extraintestinales en el hombre <sup>(58)</sup>.

La primera descripción de este organismo fue realizada por Ashford R. W., en el año 1979, quién observó, en las heces de tres pacientes de Papúa-Nueva Guinea, la existencia de unos elementos esféricos, algunos de ellos esporulados y con cuatro esporozoitos, lo que le sugirió que podría tratarse de una nueva especie del género *Isospora* y se reportó como tal debido que las técnicas de tinción ácida eran poco conocidas y esto sucedía mucho antes del advenimiento del análisis filogenético molecular. La asociación entre la presencia en las heces de unos organismos esféricos de 8-10 micras de diámetro y la aparición de unos cuadros diarreicos explosivos fue posterior, y se pensó que dichos elementos podrían ser los ooquistes de un nuevo coccidio patógeno para el hombre <sup>(58)</sup>.

La aparente forma quística de este nuevo organismo y su característica ácido-alcohol resistencia sugirieron que podría tratarse de un protozooario flagelado intestinal o de una nueva especie del género *Cryptosporidium*, respectivamente. Sin embargo, la observación de estructuras internas similares a los cuerpos tilacoides, típicos de las cianobacterias, determinó conveniente la denominación como "CLB" (*cyanobacterium like body*). Organismos de similar apariencia habían sido aislados en pacientes desde 1985. Desde 1988 hasta 1991 se estudiaron dos grupos de niños en dos etapas. Juntos involucraba semanas de exámenes de 377 muestras de heces de niños cuyo rango de edad eran desde



un mes hasta un poco más de dos años. Las muestras de heces fueron examinadas tanto con técnica de tinción ácido-resistente, como inmunofluorescencia con un anticuerpo monoclonal <sup>(58,59)</sup>.

El tamaño de los CLB, las características de su esporulación y exquistación cuando se incuban en dicromato potásico, y la liberación de células ultraestructuralmente similares a los esporozoítos de los coccidios intestinales, permitieron incluir a estos organismos en el género *Cyclospora* y la creación de una nueva especie, *Cyclospora cayetanensis*, en honor al lugar donde se habían realizado los estudios iniciales, la Universidad Cayetano Heredia (Lima, Perú), de la Asociación benéfica PRISMA, y de la Universidad John Hopkins, Baltimore USA, quienes lo caracterizan como coccidio <sup>(58,59)</sup>.

En 1993, Ortega y colaboradores indujeron con éxito la esporulación de *Cyclospora*, y demostraron que cuando el ooquiste está maduro tiene dos esporoquistes, en cada uno de los cuales se encierran dos esporozoítos y así quedó claro que éste era el estado ooquistico de un parásito coccidio, del género *Cyclospora*, en este trabajo se realizó el estudio al microscopio electrónico revelando que el esporozoíto de *Cyclospora* poseía un núcleo rodeado por membrana y micronemas características del phylum Apicomplexa, lo que brindó una evidencia adicional de que se trataba de un coccidio <sup>(59)</sup>.

La esporulación completa de los ooquistes ocurría de 5 a 13 días manteniendo el dicromato de potasio a 25 o 32 ° C. La exquistación completa resultaba de la liberación de dos esporozoítos desde dos esporoquistes de cada ooquiste. La presencia de organelos característicos de organismos coccidios fue confirmado mediante microscopía electrónica <sup>(59)</sup>.

Los estudios de secuenciación del ADN han permitido relacionar *Cyclospora* con el género *Eimeria*. No obstante, el estudio filogenético de *Cyclospora* requiere un mayor conocimiento de la secuencia de la sub-unidad pequeña del ARN de especies de los géneros *Isospora* y *Eimeria* para establecer la situación exacta de aquel parásito con respecto a estos dos géneros <sup>(58)</sup>.

### 2.5.2 Taxonomía

El género *Cyclospora* pertenece a la subclase Coccidiasina, phylum Apicomplexa.

El nombre de especie encontrada en humanos, *Cyclospora cayetanensis*, se deriva de la Universidad "Cayetano Heredia" en Lima, Perú, donde fueron realizados los estudios que llevaron a la identificación correcta de este parásito. Aún no se ha determinado si existe otra especie de este género que afecte al hombre, ni las fases de su ciclo de vida <sup>(59)</sup>.

El género *Cyclospora* está clasificado de la siguiente manera <sup>(53,54)</sup>:

Reino	:	Protista
Phylum	:	Apicomplexa
Clase	:	Conoidasida
Subclase	:	Coccidiasina
Orden	:	Eucoccidiorida
Suborden	:	Eimeriorina
Familia	:	Eimeriidae
Género	:	<i>Cyclospora</i>
Especies	:	<i>cayetanensis</i>

### 2.5.3. Morfología

Los ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* presentan forma esférica, no refráctiles, de 8 a 10 micras de diámetro. En la observación del microscopio óptico o de contraste de fases, el ooquiste se presenta como una esfera que presenta en su interior una masa con aspecto de mórula de color verdoso, de aproximadamente 6 a 7 micras de diámetro, con varios glóbulos, de aspecto lipídico, de unos 2 micras, dispuestos en racimo o roseta. Las mórulas son refráctiles a las tinciones corrientes, pero con las tinciones de Ziehl Neelsen y Kinyoun se tiñen de color rojo intenso o rosado y con safranina lo hacen de color

nararanja <sup>(54)</sup>. Al igual que sucede con el género *Cryptosporidium*, los ooquistes de *C. cayetanensis* son ácido-alcohol resistentes pero, a diferencia de los primeros, éstos presentan una intensa autofluorescencia azul periférica cuando son excitados con luz ultravioleta (365 nm) y color verde (450-490 nm) <sup>(58,59,60)</sup>.

Al microscopio electrónico muestra una cápsula fibrilar externa de 63 nm de grosor y una pared celular cuyo grosor es de 50 nm, cada ooquiste contiene 2 esporoquistes con 4 micras de diámetros cada uno y su pared celular con 62 nm de grosor. Cada esporoquiste contiene a su vez 2 esporozoítos de 90 micras de largo y 1,2 micras de ancho, éstos tienen el núcleo rodeado por membrana y micronema característico de los protozoos del phylum Apicomplexa <sup>(58,59)</sup>.

#### **2.5.4. Ciclo biológico**

Aunque los detalles del ciclo de vida en el huésped humano aún no han sido completamente caracterizados en la *Cyclospora cayetanensis*, ésta es similar al ciclo de *Isospora* sp., dado que sus ooquistes no están esporulados cuando se excretan y necesitan un tiempo en el medio externo para que ocurra su maduración. En condiciones de laboratorio la esporulación se produce de 7 a 13 días después de incubarse en agua destilada o dicromato de potasio al 2,5% a una temperatura entre 25 y 32° C <sup>(58,59)</sup>.

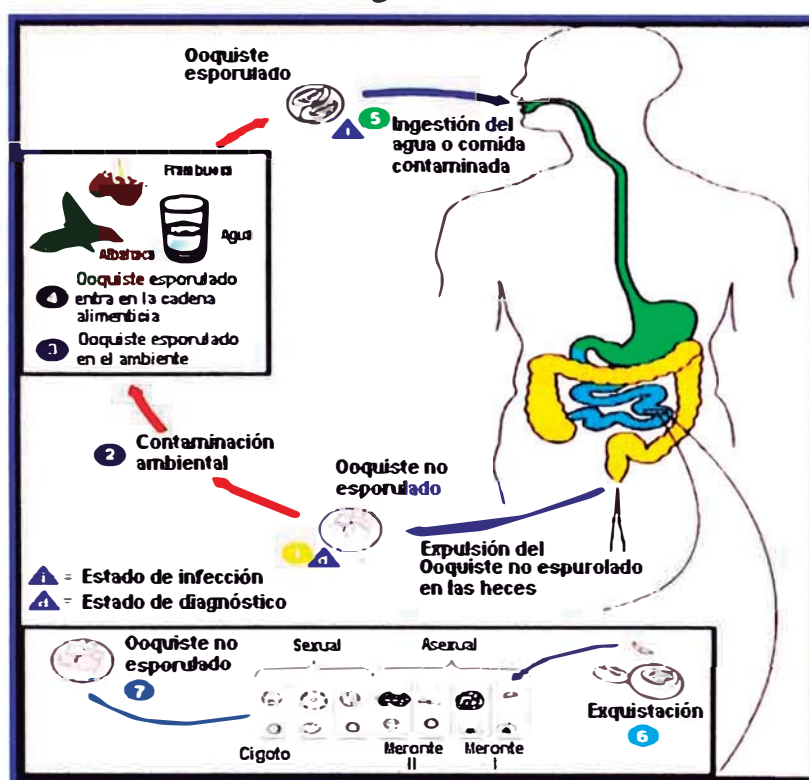
Este organismo realiza un ciclo vital enteroepitelial y monoxénico, como el de los restantes del phylum Apicomplexa, con alternancias de ciclos de reproducción asexual, esquizogonia o merogonia, y de reproducción sexual, esporogonia o gamogonia <sup>(58)</sup>.

El ciclo de reproducción asexual se inicia luego de la ingestión de los ooquistes maduros (esporulados), y se producen los siguientes eventos: Exquistación de los ooquistes en el duodeno y liberación de cuatro esporozoítos por ooquiste; fijación de los esporozoítos en la membrana de los enterocitos del intestino delgado e internalización de estos; división esquizogónica de los esporozoítos en el interior de las vacuolas parasitóforas localizadas en el polo luminal y formación

de merontes tipo I, con 8 a 12 merozoítos; seguido de la liberación de los merozoítos, infección de nuevos enterocitos e inicio de nuevos ciclos esquizogónicos. En un momento dado, la esquizogonia genera merontes tipo II, con 4 merozoítos gamontes. Finalmente se produce la transformación de los macrogametocitos fecundados en ooquistes y su liberación a la luz intestinal <sup>(58)</sup>.

Los ooquistes liberados son inmaduros, contienen un esporoblasto, y la esporulación o maduración se realiza en el exterior del tubo digestivo <sup>(58)</sup>.

Figura N° 3



Fuente: CDC, Division of Parasitic Diseases, Parasite Image Library, 2006

Fig. N°3 Ciclo biológico de la *Cyclospora cayentanensis*

*Cyclospora* es un coccidio de nueva descripción y hasta la fecha sólo se reconoce una especie dentro de este género que infecta al hombre: *Cyclospora cayentanensis*. La infección se produce por la ingestión de agua o alimentos contaminados por este parásito <sup>(61)</sup>.

La *Cyclospora* tiene una amplia distribución mundial. Sin embargo, la mayoría de las fuentes sobre la epidemiología de *Cyclospora*, sugieren a lugares como Nepal, Haití, y Perú como zonas endémicas, Aunque la ciclosporiasis parece ser común en algunos países, aún no se disponen de registros confiables <sup>(62)</sup>.

El hombre adquiere el parásito como consecuencia de la ingestión de los ooquistes maduros presentes en el agua o alimentos contaminados con deposiciones que contienen ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* <sup>(58)</sup>. La transmisión de persona a persona es poco probable, ya que los ooquistes requieren desde días a semanas para su maduración en el medio ambiente para llegar a ser infectivo. Luego que el ooquiste es ingerido, se produce la posterior liberación de los esporozoítos y su fijación e internalización en los enterocitos del yeyuno. El mecanismo de estos eventos es desconocido, pero se supone que es similar al de otros Apicomplexa como las el de la *Isospora* sp. <sup>(62)</sup>.

Mientras parasitan el intestino delgado producen lesión de la mucosa y se originan diarreas líquidas profusas que no se acompañan de reacción inflamatoria. Como ya se ha descrito los ooquistes inmaduros, después de ser eliminados por las heces permanecen en el medio ambiente, principalmente en el agua hasta su esporulación, pudiendo contaminar los vegetales y frutas cuando se utiliza como agua de riego o para diluir los insecticidas que se aplican a las plantas <sup>(63)</sup>.

Para determinar el diagnóstico, durante el examen directo con el microscopio óptico se observa como una esfera no refráctil de 8 a 10 micras de diámetro que contiene numerosos glóbulos refringentes agrupados dentro de la membrana. Al igual que los ooquistes de *Cryptosporidium* e *Isospora*, los de *Cyclospora* son ácidos-alcohol resistentes y por tanto pueden ser vistos si se usa una de las técnicas de tinción ácida. Se utilizan los métodos convencionales de concentración de materia fecal, ya sea mediante técnicas de flotación, en las que preferentemente se utiliza como elemento concentrador la sacarosa (solución de Sheather), o de sedimentación con la posterior preparación de frotis y tinción con

técnicas para organismos ácido-alcohol resistente como el Ziehl Neelsen modificado y la tinción de Kinyoun <sup>(64)</sup>.

Los ooquistes tienen una coloración variable que va desde un rojo oscuro con gránulos en su interior o con aspecto espumoso, o rosado, hasta los ooquistes no teñidos que se presentan como un cristal arrugado en este tipo de tinción, lo cual es distintivo del mismo <sup>(58)</sup>.

A pesar de esta característica distintiva, el ooquiste de *Cyclospora* se puede confundir con el de *Cryptosporidium*, si su diámetro no es medido con un micrómetro ocular. Los exámenes de laboratorio para realizar la identificación de *Cyclospora* son similares a los empleados para la identificación de especies *Cryptosporidium* <sup>(58)</sup>. Ver Tabla N°2

**Tabla N ° 2**

<b>Características</b>	<b><i>Cyclospora cayetanensis</i></b>	<b><i>Cryptosporidium</i> sp.</b>
Tamaño (micras)	8-10	4-6
Nº de esporoquistes	2	-
Nº de esporozoítos	4	4
Coloración con tinciones ácidas	Variable	Si
Fluorescencia a la luz ultravioleta (UV)	Verde oscuro - azul	No
Fluorescencia con auramina	Débil	Brillante

Fuente: Ana García, Álvaro Guerrero, Josefina Magraner, Remedios Guna, Victoria Domínguez y Rafael Borrás; 2001; *Cyclospora* y Ciclosporiasis; Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario; Valencia, España.

La principal diferencia entre estos dos parásitos es el tamaño. El ooquiste de *Cyclospora* mide 8 a 10 micras en relación al pequeño tamaño de los ooquistes de *Cryptosporidium* que mide de 4 a 6 micras de diámetro.

En referencia al empleo de métodos inmunológicos para el diagnóstico, es reciente el uso de anticuerpos monoclonales para inmunofluorescencia directa y la detección del agente por reacción en cadena de polimerasa (PCR), aunque está en etapa de evaluación <sup>(65)</sup>.

Como referencia de un trabajo realizado, se reportaron 2 casos de pacientes positivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); ambos con diarrea, asociada a la presencia de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* en heces, detectados por la técnica de Ziehl Neelsen modificado, en los que fue común un conteo de CD4 inferior a 200 células por mm<sup>3</sup>, lo que evidencia el carácter oportunista de esta parasitosis <sup>(66)</sup>.

## 4 TRABAJOS REALIZADOS

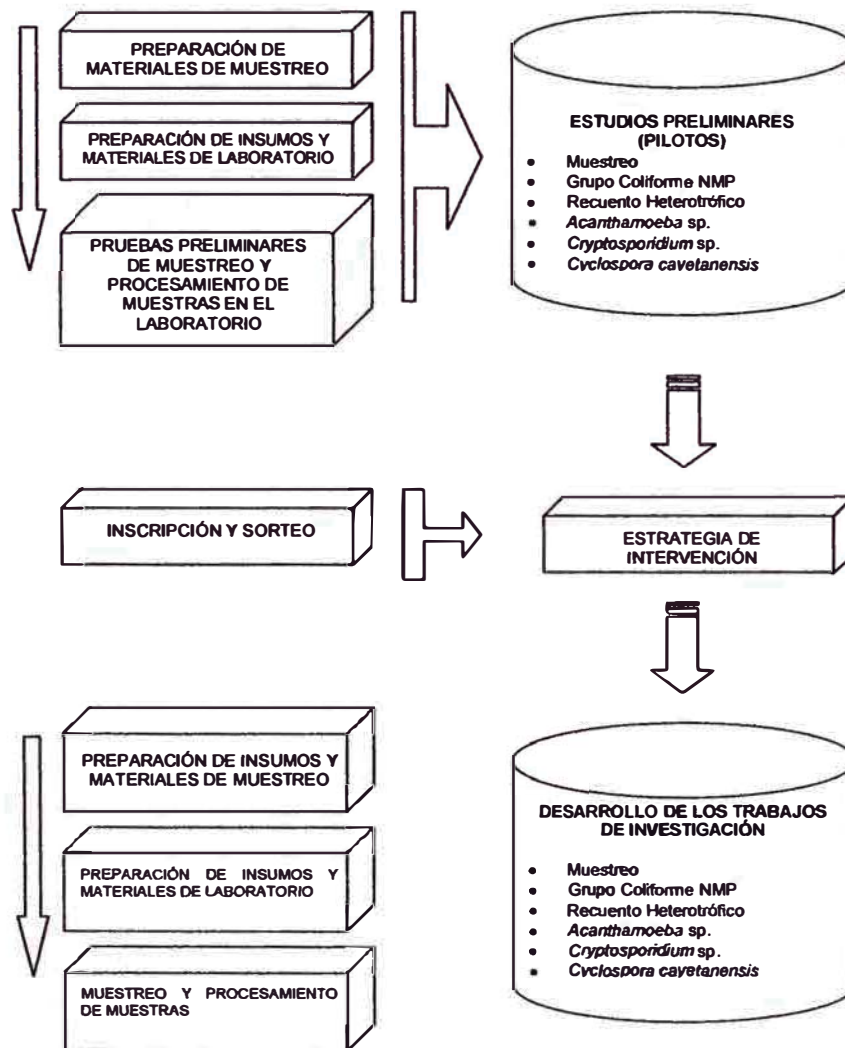
Los trabajos realizados se presentan en la figura N° 04 en donde se puede apreciar que estos se desarrollaron en las siguientes tres etapas:

### 4.1 Estudios Preliminares

### 4.2 Estrategia de Intervención

### 4.3 Desarrollo de los Trabajos de Investigación

Figura N° 04





## **4.1 Estudios Preliminares**

Los estudios preliminares (estudios pilotos) contemplaron todos aquellos trabajos que de una u otra forma lograron estandarizar y optimizar los procedimientos tanto en el laboratorio como en los muestreos de campo.

De este modo los trabajos en los estudios preliminares se dividieron en:

### **4.1.1 Preparación de Materiales de Muestreo**

### **4.1.2 Preparación de Insumos y Materiales de Laboratorio**

### **4.1.3 Pruebas Preliminares de Muestreo y Procesamiento de Muestras en el Laboratorio**

### **4.1.1 Preparación de Materiales de Muestreo**

Aparte de los materiales y equipos utilizados como jeringas, varillas telescópicas, kit de cloro, bomba eléctrica equipada, etc. se debieron preparar una serie de materiales para el muestreo los cuales se mencionan a continuación:

- Bidones de agua de mesa estériles, los cuales se prepararon mediante: El lavado, enjuague con agua destilada, la adición de 10 mL de tiosulfato de sodio al 10 %, el tapado de la boca con papel Kraft y el sometimiento al autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Hisopos estériles, los cuales se prepararon mediante el uso de algodón y alambre galvanizado teniendo en cuenta que cada uno de ellos fueron colocados en un frasco de DQO que fue previamente lavado y enjuagado con agua destilada. Finalmente se les agregó agua de dilución (1 g peptona por 1 L de agua destilada) sometiéndolos al autoclave a 121 °C por 15 minutos.

- Cepillos estériles, los cuales sirvieron para la homogenización de los sedimentos, y se prepararon mediante el envolvimiento con papel kraft y sometimiento al autoclave a 121°C por 15 minutos. Cabe recalcar que sólo 2 de los 16 cepillos comprados resistieron el proceso de esterilización usándose éstos durante todo el desarrollo del estudio de investigación.
- Frascos para muestreo, los cuales se prepararon mediante el lavado, enjuague con agua destilada, la adición de 0.1 - 0.2 mL de tiosulfato de sodio al 10 % y sometimiento al autoclave a 121°C por 15 minutos.

#### **4.1.2 Preparación de Insumos y Materiales de laboratorio**

Esta parte fue muy importante para el desarrollo del estudio de investigación puesto que se lograron establecer los procedimientos y cantidades necesarias para la obtención y disponibilidad de insumos (reactivos y medios de cultivo) y materiales (pipetas, placas petri, etc.) dándonos el criterio exacto de necesidades de estos según el número de unidades a muestrearse.

#### **4.1.3 Pruebas Preliminares de Muestreo y de Procesamiento de Muestras en el laboratorio**

##### **4.1.3.1 Pruebas Preliminares de Muestreo**

Se realizaron pilotos en las muestras procedentes de 3 domicilios de la zona con la finalidad de ensayar los procedimientos verificando el rendimiento que se tendría en el muestreo.

Las muestras se obtuvieron de los siguientes domicilios:

- Calle Los Tamarindos Mz H Lote 46
- Calle Tangará Mz H lote 74
- Calle Cumbibira Mz L Lote 19

Si bien en los pilotos existieron algunos contratiempos menores como la dificultad de acceso al reservorio, se apreció que lo planteado en el proyecto como procedimiento de muestreo era factible y si bien en un inicio demandaba alrededor de 3 horas, se esperaba que se pudiera optimizar conforme se desarrollaba los trabajos de campo del estudio de investigación.

#### **4.1.3.2 Pruebas Preliminares de Procesamiento de Muestras en el Laboratorio**

Los pilotos de procesamiento de muestras fueron muy importantes porque nos dieron una idea de la forma de realizar los trabajos en el laboratorio así como de la variación de los resultados. De este modo en las distintas pruebas se obtuvo lo siguiente:

##### **4.1.3.2.1 Grupo Coliforme**

Las pruebas se realizaron bajo el procedimiento ya establecido de fermentación en tubos múltiples trabajándose en el primer piloto con diluciones a partir de  $10^{-2}$  en adelante obteniendo resultados negativos hasta en la muestra de sedimentos. De forma paralela se sembró una muestra de sedimentos sin dilución obteniéndose un resultado positivo (fermentación y turbidez en del caldo Lauril Triptosa).

En los siguientes pilotos se realizaron las pruebas con concentraciones 2X y X de medio de cultivo (Caldo Lauril Triptosa) y con proporciones de la muestra de  $10^0$ ,  $10^1$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  mL con resultados positivos en las muestras de sedimento, concluyendo que todas las muestras deberían ser sembradas a partir de proporciones sin dilución y de concentraciones de dobles del medio (caldo Lauril Triptosa).

##### **4.1.3.2.2 Recuento Heterotrófico**

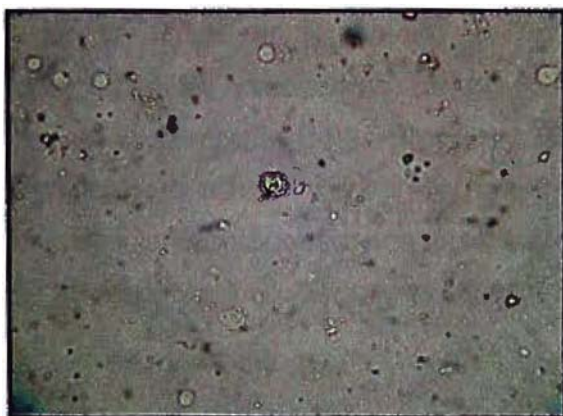
En los pilotos se sembraron muestras a partir de proporciones de 1 mL determinándose que para las muestras más concentradas con microorganismos (sedimento) se requería una concentración de  $10^{-2}$  mL en promedio por lo que se

determinó que para las muestras de agua almacenada y agua que alimenta a la unidad las diluciones a ser sembradas serían de  $10^0$  y  $10^{-1}$  mientras que para las muestras de sedimentos serían de  $10^0$  hasta  $10^{-3}$ .

#### 4.1.3.2.3 *Acanthamoeba* sp.

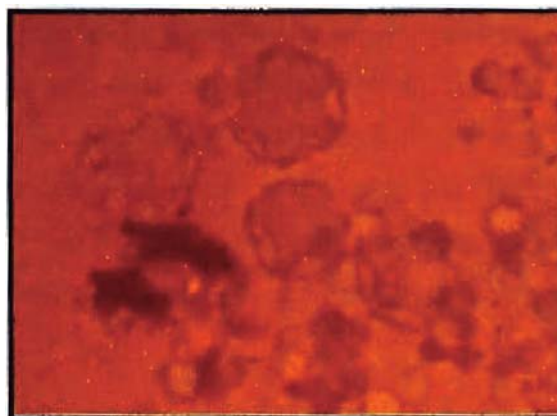
En una primera instancia se buscó *Acanthamoeba* sp. en una muestra de sedimento vista directamente al microscopio siendo positivo el resultado pero luego de una prolongada revisión, por lo que se optó realizar un cultivo según lo establecido en el proyecto de investigación (ver figuras N° 5 y N° 6).

Figura N° 05



*Acanthamoeba* sp. vista directamente al microscopio de una muestra de sedimento

Figura N° 06

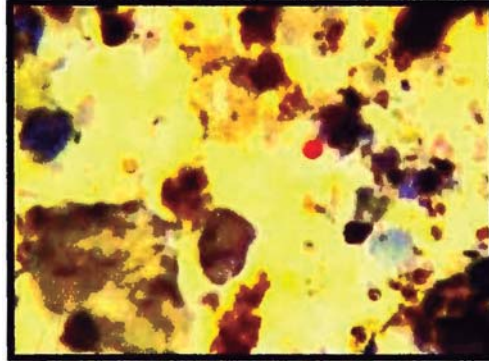


*Acanthamoeba* sp. vista al microscopio del cultivo en placa de una muestra de sedimento

#### 4.1.3.1.3 *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*

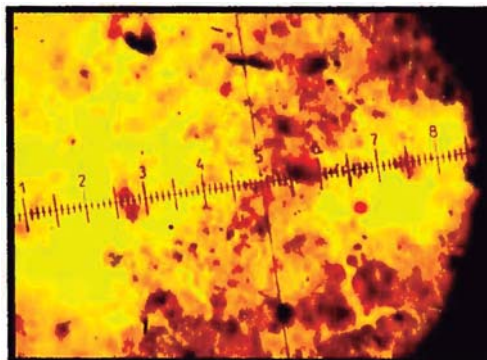
Inicialmente los trabajos consistieron en aplicar la metodología de Richie (con éter etílico) de centrifugación y precipitación para luego aplicar la tinción de Ziel Neelsen sobre el frotis en las láminas portaobjeto, obteniendo como resultado la presencia de un ooquiste de *Cryptosporidium* sp. en una de las 7 laminas portaobjeto (ver figura N° 07).

**Figura N° 7**



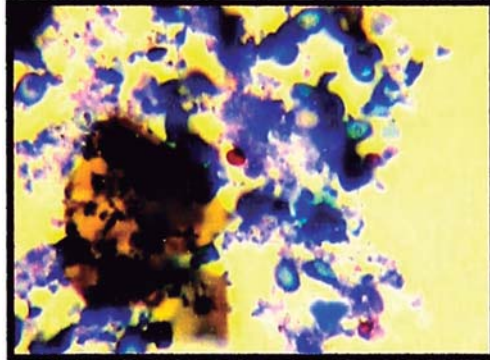
Como se puede apreciar en la figura N°7 el ooquiste aparece con una tinción perfecta con el inconveniente de que fue uno en siete laminas, motivo el cual se procedió a aplicar el método de flotación de Sheather (Solución de Azúcar), centrifugación, suspensión de gradiente y concentración de parásitos, con el resultado favorable de la presencia de varios ooquistes de *Cryptosporidium* por lámina, pero con el inconveniente de interferencia del azúcar en la tinción por Ziehl Neelsen presentándose una coloración amarillenta y una definición irregular del *Cryptosporidium* sp. durante la observación al microscopio (ver imagen figura N° 8).

**Figura N° 8**



Esto llevó a plantear el mejoramiento de la técnica utilizando para este caso el detergente para microbiología Tween® 80, obteniendo como resultado una limpieza y tinción satisfactoria. (ver figura N° 09).

**Figura N°09**



Del mismo modo teniendo en cuenta que las muestras procesadas en las láminas eran susceptibles a ser barridas durante la tinción o el montaje con el Bálsamo de Canadá se utilizó la clara de huevo durante la fijación del frotis.

## **4.2 Estrategia de Intervención**

Una de las posibles dificultades que se podían haber presentado en la ejecución del muestreo era el rechazo por parte del vecino a muestrear su unidad por lo que se vio conveniente ofrecer la limpieza de su reservorio a cambio del muestreo por lo que se llevó a cabo un sorteo con la cooperación de la Asociación de Propietarios de la Urbanización La Capullana.

### **4.2.1 Inscripción y sorteo**

Contando con el apoyo de la Asociación de Propietarios de la Urbanización La Capullana se procedió al volanteo de un comunicado indicando el sorteo de una limpieza gratuita pero no se tuvo la acogida esperada, por lo que se procedió a mandar a elaborar tickets de sorteo y pasar puerta por puerta inscribiendo a los vecinos en donde se obtuvo un número de 118 inscritos en total. El 14.01.2005 se efectuó el sorteo habiendo sido elegido como ganadores los propietarios de los predios indicados en el anexo 01.

### **4.3 Desarrollo de los Trabajos de Investigación**

En esta etapa los trabajos se dividieron en:

#### **4.3.1 Preparación de Insumos y Materiales de Muestreo**

#### **4.3.2 Preparación de Insumos y Materiales de Laboratorio**

#### **4.3.3 Muestreo y Procesamiento de Muestras**

Los trabajos en esta etapa son iguales a los trabajos preliminares estando en función a la metodología establecida en el siguiente capítulo y la cantidad de reservorios muestreados (ver anexo 01).

## **5 MATERIALES Y METODOLOGÍA**

En función a los trabajos realizados los materiales y metodologías del presente estudio son los siguientes:

### **5.1 Materiales y Metodología de Muestreo**

### **5.2 Materiales y Metodología de Determinación de Parámetros Microbiológicos y Parasitológicos**

#### **5.2.1 Grupo Coliforme (coliformes totales y termotolerantes)**

#### **5.2.2 Recuento Heterotrófico**

#### **5.2.3 *Acanthamoeba* sp.**

#### **5.2.4 *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis***

### **5.1 Materiales y Metodología de Muestreo**

#### **5.1.1 Materiales de Muestreo**

- Frascos para muestreo estériles de 250 y 500 mL con solución decolorante de tiosulfato de sodio al 10%.
- Bidones estériles
- Hisopos estériles
- Cepillos estériles
- Jeringas descartables estériles de 20 mL.
- Termómetro.
- Kit de cloro residual.
- Varilla telescópica.
- Bomba eléctrica equipada (mangueras de succión y descarga).

#### **5.1.2 Metodología de Muestreo**

La metodología empleada de muestreo para todas las unidades fue la siguiente:

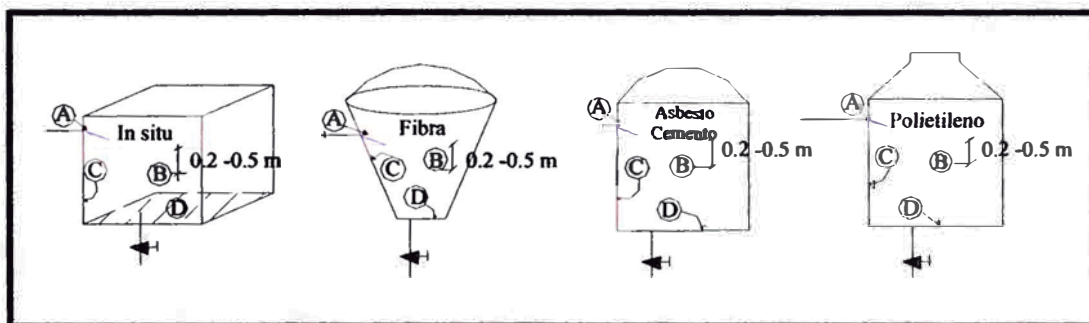


- Una vez ingresado en el predio y ubicados cerca al reservorio se procedió al inicio del llenado de la ficha de evaluación higiénico-sanitaria (ver Anexo 08) lo cual se realizó conforme se desarrollaban los trabajos.
- Se retiró cuidadosamente la tapa de la unidad verificando la existencia de controladores automáticos de nivel.
- Se tomó la muestra de agua almacenada correspondiente al punto B entre 20 a 50 cm por debajo del nivel del agua (ver figura N° 10).
- Se tomó la temperatura del agua (termómetro desinfectado) y el cloro residual.
- Se procedió al desaguado de la unidad mediante la apertura de la válvula de purga, o succión mediante una bomba eléctrica equipada.
- Cuando el nivel del agua pasó la mitad de la altura se tomó la muestra de pared en el punto C mediante el raspado con un hisopo estéril el cual fue almacenado en agua de dilución estéril. (ver figura N° 10).
- Una vez desaguado el tanque se tomó la muestra de sedimento en el punto D mediante el uso de una varilla telescópica desinfectada y una jeringa estéril, siendo ésta muestra para la determinación de parásitos (ver figura N° 10).
- Terminado el procedimiento de desaguado se llenó el bidón estéril con 10 L del agua que alimentaba a la unidad.
- Una vez llenado el bidón se homogenizaron los 10 litros almacenados en él para luego verterse cuidadosamente en el fondo de la unidad.
- Mediante un cepillo estéril (autoclavado) se procedió a homogenizar el sedimento mediante movimientos circulares 10 veces a la izquierda y 10 veces a la derecha para inmediatamente tomar la muestra mediante el uso de un frasco estéril.
- Se dejó correr el agua que alimenta a la unidad durante 5 minutos y se tomó la muestra en el punto A mediante un frasco

estéril conteniendo solución decolorante tiosulfato de sodio (ver figura N° 10).

- Finalmente se realizó la limpieza de la unidad.

Figura N°10



De la descripción anterior se deduce que del muestreo de una unidad se obtuvieron 5 muestras las cuales se procesaron en el laboratorio determinándose por cada una de ellas los parámetros que se muestran en el Tabla N° 3

Tabla N° 3

N° de Muestra	Descripción	Puntos de Muestreo	Parámetros Microbiológicos y Parasitológicos
1	Muestra de Agua que Alimenta la Unidad	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cuantitativo).</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo).</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo).</li> </ul>
2	Muestra de Agua Almacenada	B	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cuantitativo).</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo).</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo).</li> </ul>
3	Muestra de Pared	C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme. (cualitativo).</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo).</li> </ul>
4	Muestra de Sedimento I (sedimento diluido en 10 L)	D	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme. (cuantitativo).</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo).</li> </ul>
5	Muestra de Sedimento II	D	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo).</li> <li>• <i>Cryptosporidium</i> sp. (cualitativo).</li> <li>• <i>Cyclospora cayetanensis</i>. (cualitativo).</li> </ul>

Se precisa que la determinación de parámetros de las muestras estuvo en función a la factibilidad que ofreció para el procesamiento adecuado y viabilidad del resultado.

## **5.2 Materiales y Metodología de Determinación de Parámetros Microbiológicos y Parasitológicos.**

### **5.2.1 Grupo Coliforme**

#### **5.2.1.1 Materiales**

- Peptona
- Medio de cultivo Caldo Lauril Triptosa
- Caldo Bilis Verde Brillante
- Medio EC
- Tubos de ensayo 16 X 125 mm.
- Tubos de ensayo 20 X 150 mm.
- Tubos Durham
- Algodón
- Papel kraft
- Balón de vidrio ó matraz erlenmeyer
- Pipetas de 10 mL y 1 mL graduadas
- Probetas graduadas
- Pera de caucho
- Mechero Bunsen
- Asa de inoculación
- Portapipetas de metal
- Gradillas
- Canastilla de metal para esterilización de tubos de ensayo
- Espátula
- Balanza analítica
- Autoclave 121° C
- Estufa esterilizadora 180 ° C
- Incubadora 35° C
- Baño María 44.5° C

### **5.2.1.2 Metodología**

La metodología empleada para la determinación del grupo coliforme se realizó según el manual de Métodos Normalizados para el Análisis de Agua Potable y Residuales del American Public Health Agency.

### **5.2.1.3 Lectura de Resultados**

La lectura de resultados se realizó de la siguiente manera:

- Una vez incubado los tubos de la prueba de coliformes totales y termotolerantes se contará el número de tubos positivos (formación de gas y turbiedad) dentro de una misma columna correspondiente a una dilución.
- Luego se revisó la tabla para tres tubos de fermentación (Ver Anexo 11) correspondiente al NMP, de esa manera se obtiene cuantitativamente los valores del número más probable de coliformes totales y termotolerantes.

## **5.2.2 Recuento Heterotrófico**

### **5.2.2.1 Materiales**

- Agar Nutritivo
- Peptona
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Matraz erlenmeyer
- Placas petri 100 X 15 mm
- Pipetas 10 mL
- Mechero Bunsen
- Trípode

- Rejilla
- Incubadora 35° C
- Bagueta

#### **5.2.2.2 Metodología**

El procedimiento optado para utilizar fue según el manual de Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales del American Public Health Agency, usando el número de placas según la cantidad de diluciones realizadas para el procesamiento de las muestras que para este caso fueron desde  $10^0$  a  $10^{-3}$

#### **5.2.3 *Acanthamoeba* sp.**

##### **5.2.3.1 Materiales**

- Agar-Agar
- Caldo TSB
- Agua destilada
- Matraz Erlenmeyer
- Espátula de vidrio
- Pipetas de 10 mL
- Pipetas Pasteur
- Placas Petri 100 X 15 mm
- Láminas portaobjeto
- Láminas Cubreobjeto
- Frasco de vidrio
- Papel Kraft ó papel aluminio
- Pera de caucho
- Balanza analítica
- Estufa esterilizadora 180° C
- Autoclave

### 5.2.3.2 Metodología

La metodología para la detección de *Acanthamoeba* sp. fue la siguiente:

- Se esterilizó de manera individual mediante el uso de papel kraft un número apropiado de placas petri y pipetas a calor seco a 180°C por 2 horas.
- Se preparó el Agar-Agar mediante la preparación de 10 g de Agar-Agar por litro de agua destilada, en un erlenmeyer tapado con algodón y papel kraft. Se esterilizó al autoclave a 121° C por 15 minutos.
- Una vez preparado el Agar- Agar se vertió 20 mL a a las placas Petri esterilizadas y se dejó solidificar hasta el día siguiente
- Se obtuvo las bacterias muertas que sirvieron de alimento a la Acanthamoeba. Para ello se cultivó por 24 horas *Escherichia coli*. o *Yersinia pestis* en caldo TSB esterilizado el cual fue preparado en una proporción de 30 g de medio por litro de agua destilada.
- Una vez cultivadas las bacterias se verificó el cierre hermético del frasco e inmediatamente se sometió a inmersión en agua hervida por 30 minutos.
- Se agregó de 1 a 2 mL del caldo TSB con las bacterias muertas, en las placas.
- Se sembró aproximadamente 1mL de la muestra de agua con sedimento en las placas conteniendo las bacterias muertas para luego homogenizar mediante el uso de una espátula de vidrio esterilizada
- Se incubó a temperatura de ambiente por 7 a 15 días.
- Después de la incubación se tomó una muestra de la superficie del agar con un asa de inoculación y se realizó un frotis en una lámina portaobjeto la cual estaba con 2 a 3 gotas de agua destilada estéril.

- Se agregó una gota de lugol y se colocó una lámina cubreobjeto llevándolo al microscopio a objetivo de 100X (1000 aumentos a más dependiendo del ocular).

## **5.2.4 *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora Cayetanensis***

### **5.2.4.1 Materiales**

- Azúcar blanca
- Fenol o formol
- Tween @ 80
- Fucsina básica
- Metanol
- Hidróxido de sodio al 4%
- Azul de metileno
- Alcohol ácido al 3%
- Aceite de inmersión
- Xilol
- Bálsamo de Canadá
- Vaso precipitado 1L
- Pipetas 10 mL
- Tubos para centrifuga 50 mL
- Guantes
- Pipetas Pasteur
- Láminas portaobjeto
- Láminas cubreobjeto
- Centrifuga
- Microscopio
- Autoclave 121° C
- Estufa esterilizadora 180 ° C

## **5.2.4.2 Metodología**

La metodología para la detección de *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis* se dividen en la tres siguientes etapas:

### **5.2.4.2.1 Acondicionamiento de la Muestra**

### **5.2.4.2.2 Preparación de la Solución de Sheather**

### **5.2.4.2.3 Procedimiento de Concentración por Flotación**

#### **5.2.4.2.1 Acondicionamiento de la Muestra**

El Acondicionamiento de la muestra se realizó de la siguiente manera:

- Una vez tomada la muestra y llevada al laboratorio, se homogeniza mediante agitación vigorosa.
- Se filtró a través de una gasa estéril en un tubo para centrifuga.
- Se llevó a centrifugar la muestra por 5-10 minutos a 2500 revoluciones por minutos.
- Se elimina el agua sobrenadante quedándose sólo con el precipitado (muestra procesada).

#### **5.2.4.2.2 Preparación de la Solución de Sheather**

La preparación de la Solución Sheather se realizó de la siguiente manera:

- En un vaso de precipitado de 1 L se añadió y homogenizó en el siguiente orden:
  - ✓ 320 mL de agua destilada.
  - ✓ 500 g de azúcar blanca.
  - ✓ 6.5 mL de Fenol o Formol.
  - ✓ 9 mL de Tween ® 80.
- Se verificó la densidad de la solución la cual debió estar con  $1,290 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$



#### **5.2.4.2.3 Procedimiento de Concentración por Flotación**

El procedimiento de Concentración por Flotación fue el siguiente:

- Se agregó la solución de Sheather al tubo para centrifuga que contenía la muestra procesada y se procedió homogenizarlo mediante agitación vigorosa.
- Se centrifugó por 5 – 10 minutos a 2500 RPM.
- Se dejó reposar por 15 - 30 minutos hasta la formación del menisco.
- Se extrajo del menisco una proporción de solución mediante una pipeta pasteur y se procedió a colocarlo en otro tubo para centrifuga.
- Se agregó al nuevo tubo (conteniendo la proporción del menisco) agua destilada y se homogenizó mediante agitación vigorosa.
- Se centrifugó por 5 - 10 minutos a 2500 RPM y se extrajo el sobrenadante hasta dejar el pelet con el sedimento. En esta parte se tuvo cuidado puesto que en el pelet probablemente se encontraba el parásito.
- Se extrajo el pelet mediante una pipeta y se realizó un frotis en una lámina portaobjeto y se dejó secar. En esta parte se utilizó clara de huevo a fin de evitar el barrido de la muestra durante la tinción.
- Una vez secado el frotis se realizó la tinción por el método de Ziehl Neelsen modificado sobre las láminas.
- Terminada la tinción se dejó secar y se montó con Bálsamo de Canadá.
- Finalmente se observó al microscopio primero a menor aumento con objetivos 40X, y después a mayor aumento 100X.

## 6 RESULTADOS

Los resultados se presentan comparando los 5 grupos de la tabla N° 4, y si bien se muestrearon los tanques elevados pertenecientes a los predios de las unidades del grupo V, este sexto grupo no se comparó con los demás por constituirse por unidades de diferentes tipos de material como fibra de vidrio, asbesto cemento y concreto.

Tabla N° 4

Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
Tanques de Fibra de Vidrio (7 Unidades)	Tanques de Asbesto Cemento (7 Unidades)	Tanques de Concreto (4 Unidades)	Tanques de Polietileno (6 Unidades)	Cisternas (5 Unidades)

Como a cada unidad (reservorio) perteneciente a los grupos se les determinó parámetros microbiológicos y parasitológicos en cuatro puntos distintos del interior, los resultados comparativos se dividirán a su vez por dichos puntos (Ver tabla N° 5).

Tabla N° 5

Puntos de Muestreo	Descripción	Parámetros
A	Agua que Alimenta a la Unidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cuantitativo)</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo)</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo)</li> </ul>
B	Agua Almacenada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cuantitativo)</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo)</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo)</li> </ul>
C	Pared	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cualitativo)</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo)</li> </ul>
D	Agua con Sedimento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grupo Coliforme (cuantitativo)</li> <li>• Recuento Heterotrófico (cuantitativo)</li> <li>• <i>Acanthamoeba</i> sp. (cualitativo)</li> <li>• <i>Cryptosporidium</i> sp. y <i>Cyclospora cayetanensis</i> (cualitativo)</li> </ul>

## 6.1 Agua que Alimenta a la Unidad

### 6.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba a todas las unidades de los grupos no se observó la presencia de coliformes totales ni termotolerantes, lo cual nos indica que a nivel de este parámetro el agua llegaba en buenas condiciones. Cabe recalcar que la Norma Técnica Peruana establece que el agua potable no debe contener coliformes totales ni termotolerantes (coliformes totales = 0 NMP. (100 mL)<sup>-1</sup> y coliformes termotolerantes = 0 NMP. (100 mL)<sup>-1</sup>).

### 6.1.2 Recuento Heterotrófico

En cuanto al recuento heterotrófico también se observó que el agua que alimentaba a todas las unidades de los grupos se encontraba en buen estado estando este parámetro por debajo del límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana de 200 UFC. mL<sup>-1</sup>. (Ver figura N° 11).

Figura N° 11

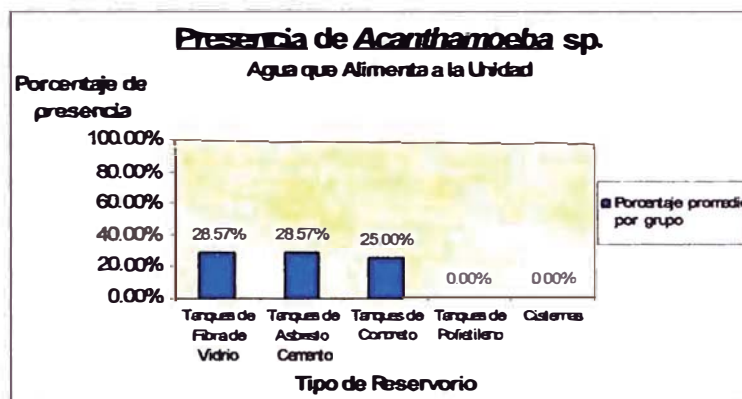


### 6.1.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua que alimentaba a las unidades la presencia de *Acanthamoeba* sp. se observó en tres de los cinco grupos siendo los grupos de los tanques de fibra y

de asbesto cemento los que presentaron la mayor incidencia con un 28.57 % equivalente a 2 de cada 7 unidades por grupo. (Ver figura N° 12).

Figura N° 12



## 6.2 Agua Almacenada

### 6.2.1 Grupo Coliforme

En el agua que almacenaba las unidades se observó pocos casos de presencia de coliformes totales y termotolerantes (Ver anexo 1) y si bien los hubieron, estos se promediaron con el número de unidades del grupo obteniendo los resultados que se aprecian en las figuras N°13 y N°14. En términos generales se puede apreciar que en la mayoría de los casos el agua se encontraba en buenas condiciones.

Figura N° 13

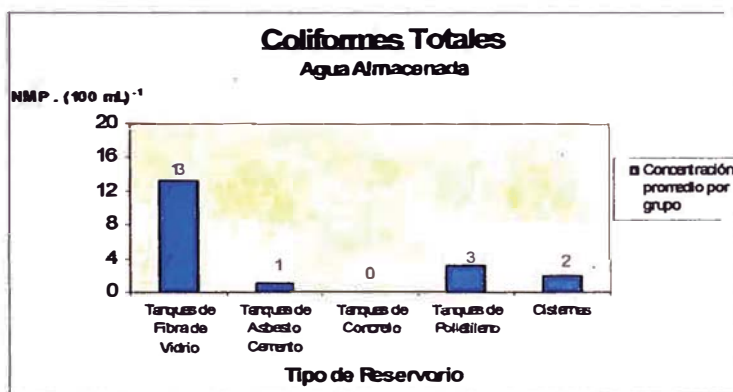
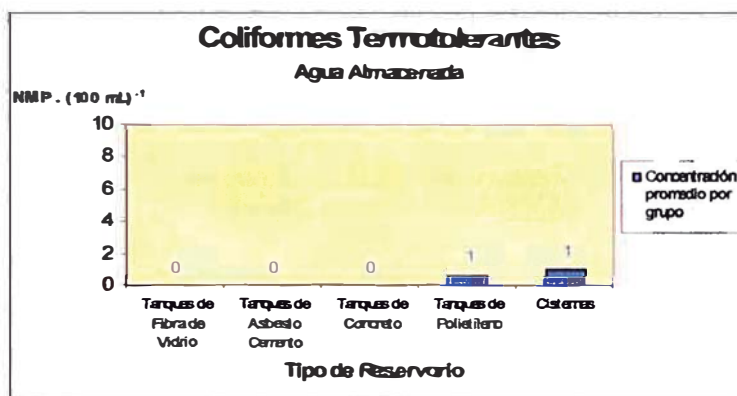


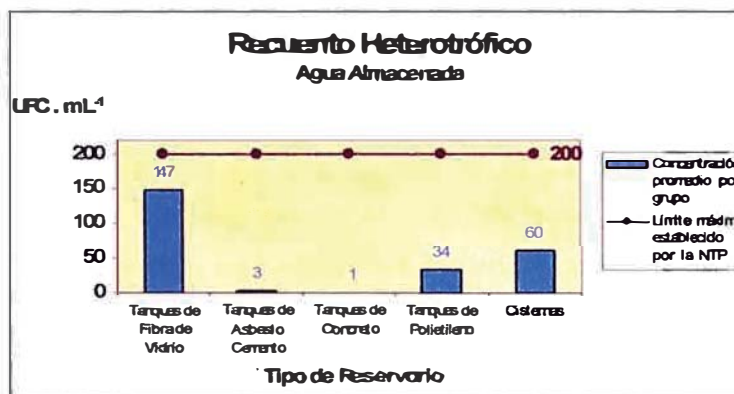
Figura N° 14



### 6.2.2 Recuento Heterotrófico

Del mismo modo que en los resultados anteriores, en la mayoría de casos el agua almacenada se encontraba por debajo del límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana de 200 UFC. mL<sup>-1</sup> apreciándose esto en la figura N° 15.

Figura N° 15



### 6.2.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua almacenada de las unidades la presencia de *Acanthamoeba* sp. se observó en tres de los cinco grupos siendo el grupo de los tanques de fibra de

vidrio el que presentó la mayor incidencia con un 28.57 % equivalente a 2 de cada 7 unidades por grupo. (Ver la figura N° 16).

**Figura N° 16**



### 6.3 Pared

#### 6.3.1 Grupo Coliforme

La presencia del Grupo Coliforme en las paredes de las unidades se observa de forma cualitativa en las figuras N° 17 y N° 18 , en ellos se aprecia que el mayor porcentaje de incidencia de coliformes totales lo tiene el grupo conformado por los tanques de polietileno con 33% equivalente a 2 de cada 6 unidades. Por otro lado se aprecia también que la presencia de coliformes termotolerantes es menor respecto a los totales siendo el grupo de concreto el que presenta la mayor incidencia con 25 % equivalente a 1 de cada 4 unidades.

**Figura N° 17**

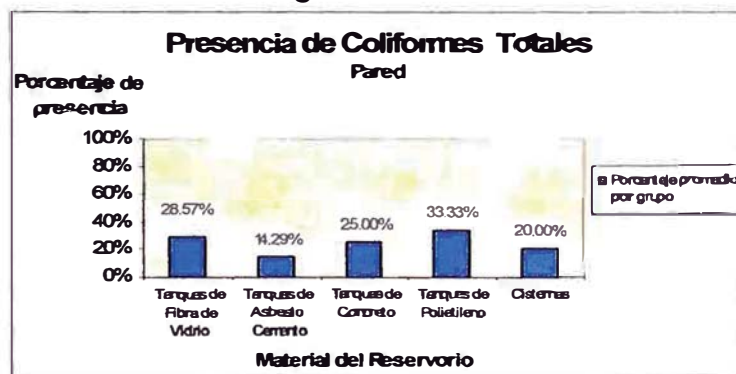
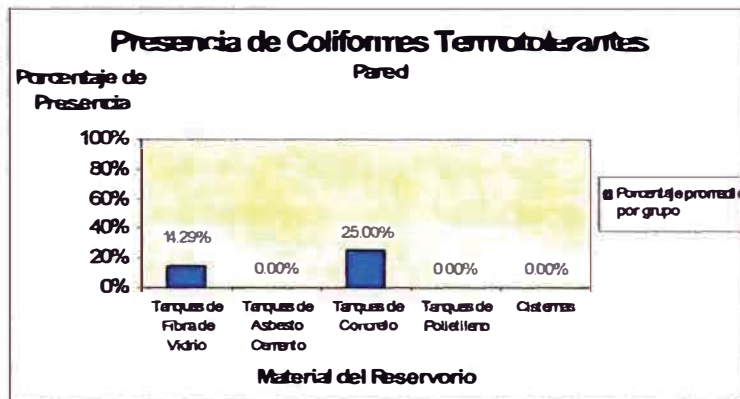


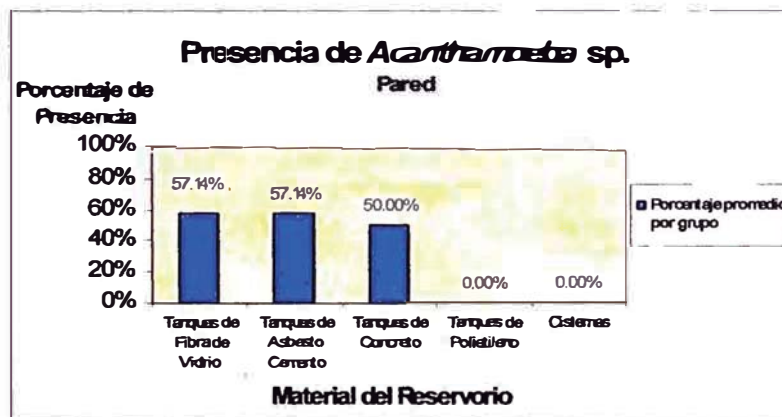
Figura N°18



### 6.3.2 *Acanthamoeba* sp.

En la pared las unidades la presencia de *Acanthamoeba* sp. se observó en tres de los cinco grupos siendo los grupos de los tanques de fibra de vidrio y de asbesto cemento los que presentaron la mayor incidencia con un 57.14 % equivalente a 4 de cada 7 unidades por grupo. (Ver figura N° 19).

Figura N° 19



## 6.4 Agua con Sedimento

### 6.4.1 Grupo Coliforme

La mayor incidencia del Grupo Coliforme esta en los sedimentos de las unidades y es que a pesar de encontrarse en la gran mayoría de casos el agua almacenada en buenas condiciones el sedimento es rico en coliformes totales y termotolerantes, entonces la presencia del grupo coliforme en los sedimentos se dio en los 5 grupos siendo el grupo de las cisternas la que presentó por un amplio margen de distancia la mayor concentración promedio correspondiente a coliformes totales de  $\geq 13,200$  UFC . mL<sup>-1</sup> y de coliformes termotolerantes de 2,804 UFC . mL<sup>-1</sup> (ver figuras N° 20 y N° 21).

Figura N° 20

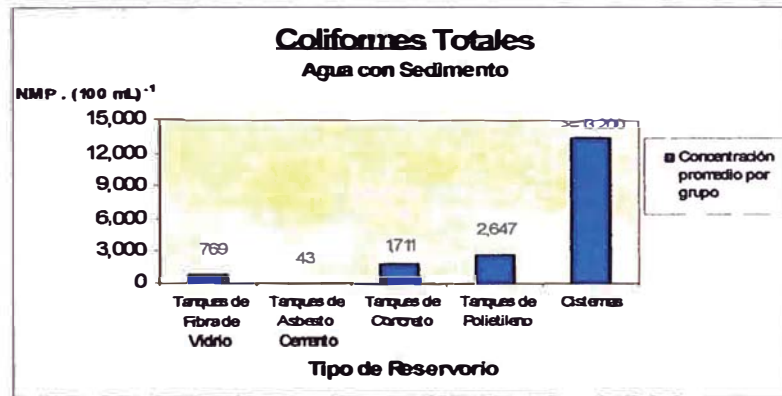
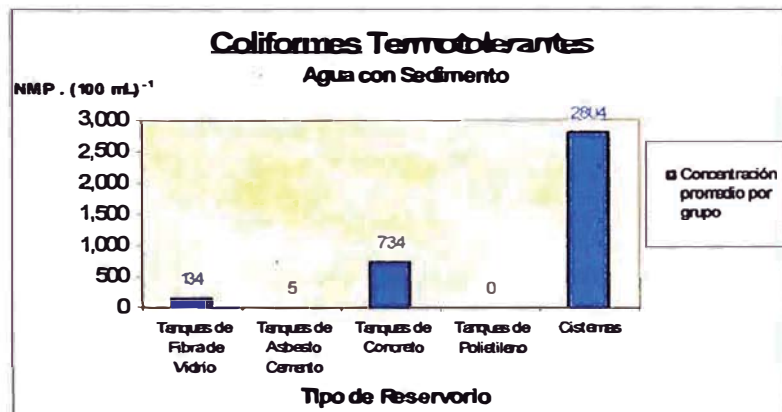


Figura N° 21





### 6.4.2 Recuento Heterotrófico

Un comportamiento similar al anterior se observa con el recuento heterotrófico en donde se aprecia que el sedimento posee gran cantidad de mesófilos viables siendo el grupo de las cisternas la que posee la mayor concentración promedio equivalente a aproximadamente 27,000 UFC . mL<sup>-1</sup> (ver figura N° 22)

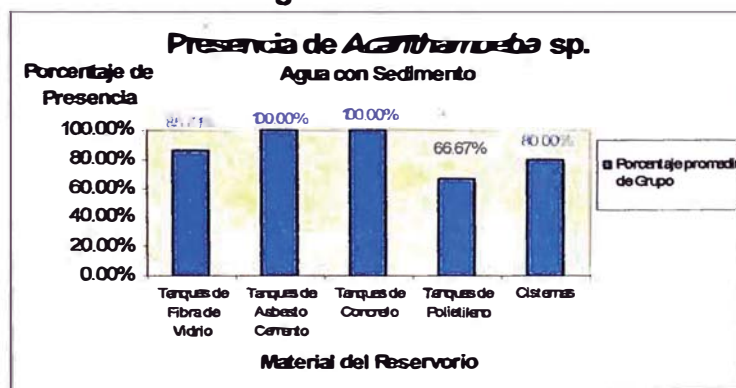
Figura N° 22



### 6.4.3 Acanthamoeba sp.

En los sedimentos de las unidades la presencia de *Acanthamoeba* sp. se dio en todos los grupos apreciándose en el 100% de las muestras de los grupos de asbesto cemento y de concreto seguido de: El grupo de tanques de Fibra de Vidrio con 85.71 %, del grupo de las cisternas con 80 % y de los tanques de polietileno con 66.67%. (Ver figura N° 23).

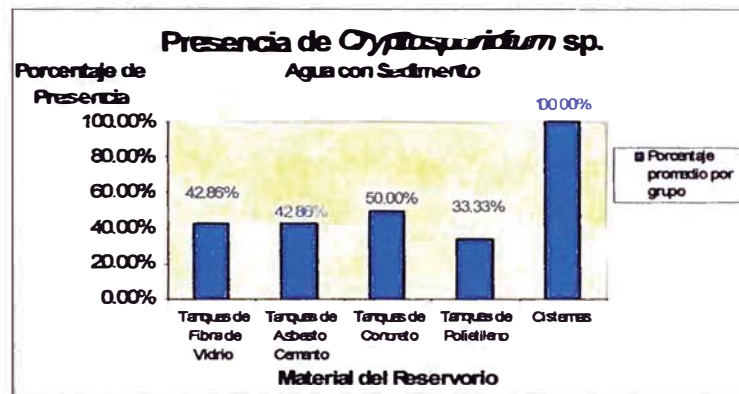
Figura N° 23



#### 6.4.4 *Cryptosporidium* sp.

En los sedimentos de las unidades la presencia de *Cryptosporidium* sp. se observó en los 5 grupos siendo en las cisternas en donde se apreció la mayor incidencia con 100% . (Ver figura N° 24)

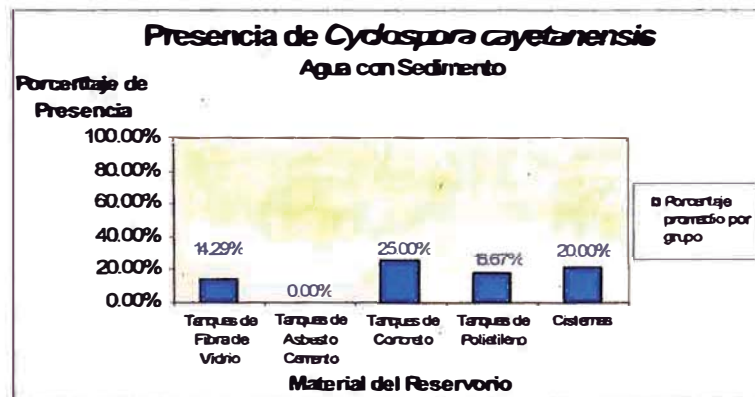
Figura N° 24



#### 6.4.5 *Cyclospora cayetanensis*

En los sedimentos de las unidades la presencia de *Cyclospora cayetanensis* se observó en 4 de los 5 grupos siendo en los tanques de concreto en donde se apreció la mayor incidencia con 25 % . (Ver figura N° 25).

Figura N° 25



## 7 DISCUSIÓN

Aunque los sistemas de tratamiento de agua suelen por lo general asegurar la potabilidad de la misma, la presencia de patógenos en los reservorios domésticos es una realidad ya estudiada en otros países <sup>(67)</sup>. Protozoarios emergentes como el *Cryptosporidium* sp. o la *Cyclospora cayetanensis* de alta resistencia a la desinfección del agua con cloro y cuyos tamaños (4 a 10  $\mu\text{m}$ ) son menores a la porosidad de los filtros de las plantas de tratamiento (aprox. 50  $\mu\text{m}$ ), han sido agentes causantes de problemas de salud infectando a gran parte de poblaciones enteras como las de Braun Station en 1984 (2 006 casos), Carrolton en 1987 (12 906 casos), o como la de la ciudad de Milwaukee en 1993 donde 400 000 personas de un total de 1 000 000 enfermaron muriendo más de 100 <sup>(49)</sup>. Por otro lado a nivel mundial se han reportado diversos casos de enfermedades como Encefalitis Granulomatosa Necrociante, Sinusitis, Queratitis, Neumonitis y Dermatitis a causa de la *Acanthamoeba* sp. donde el principal móvil fue el agua, no siendo el Perú ajeno a ello. <sup>(16, 17, 18, 68, 69)</sup>

La ciudad de Lima Metropolitana considerada por las Naciones Unidas como una de la principales mega ciudades de Latinoamérica, es abastecida mayormente por agua potable proveniente de la planta de tratamiento de La Atarjea que trata las aguas del río Rimac, el cual a su vez es el cuerpo receptor de descargas de aguas residuales de gran parte de los distritos que se encuentran aguas arriba de la captación (bocatoma). Si bien se logran los objetivos del tratamiento al cumplir con los parámetros establecidos de calidad de agua, protozoarios como *Cryptosporidium* sp., *Cyclospora cayetanensis* y *Acanthamoeba* sp. no son considerados dentro de dichos parámetros porque a nivel mundial no se ha establecido el procedimiento para su detección o cuantificación como prueba rutinaria de determinación de calidad de agua. <sup>(6, 49)</sup>

Por otro lado en los sistemas de distribución se presentan frecuentes casos de fugas, roturas y falta de continuidad, siendo estas condiciones un factor de riesgo para la intrusión de agentes contaminantes. <sup>(67)</sup>

En los trabajos preliminares de la presente investigación se logró establecer la presencia focalizada de los parámetros de calidad de agua como el Grupo Coliforme y Recuento Heterotrófico, donde los resultados en los tres pilotos señalaban que era en el sedimento en donde se presentaban los resultados positivos. Asimismo, en cuanto a los protozoarios se logró detectar *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*, además de aislar *Acanthamoeba* sp. de los sedimentos, obteniéndose vestigios de la presencia de dichos patógenos lo cual corroboraba la hipótesis que éstos patógenos al tener un menor tamaño que les permite pasar a través de la porosidad de los filtros de las plantas de tratamiento y al poseer una alta resistencia a la desinfección con cloro a concentraciones incluso mayores a las establecidas para el agua potable ( $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), discurrirían a través del sistema de abastecimiento de agua potable hasta llegar a los reservorios domésticos donde encontrarían condiciones similares a la de un sedimentador, precipitando al fondo de la unidad, para de este modo concentrarse con el paso del tiempo formando parte de los sedimentos y que sumado a las condiciones de oscuridad y humedad harían posible su supervivencia. <sup>(1, 16, 18, 22, 67, 70, 71, 72, 73)</sup>

En nuestro estudio hemos determinado que el agua que alimentaba a los reservorios domésticos (proveniente de la red pública) se encontraba en buen estado de acuerdo a los parámetros estándar de calidad de agua potable, como el Grupo Coliforme y el Recuento Heterotrófico, indicando que estos estuvieron por debajo de los límites máximos establecidos por la Norma Técnica Peruana (INDECOPI), por lo que no se presentaron concentraciones de coliformes totales ni termotolerantes y la concentración máxima promedio de mesófilos viables fue de  $16 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$  (en el grupo de los tanques de fibra de vidrio). A pesar de estos resultados, se registraron en 5 de 29 muestras la presencia de *Acanthamoeba* sp. las cuales pudieron haber sido arrastradas por la corriente de agua durante el

muestreo y si bien no se han encontrado referencias de estudios de la presencia de *Acanthamoeba* sp. en fuentes o en el sistema de distribución de agua potable en la ciudad de Lima, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en un estudio de investigación realizado en la ciudad de Ica logró aislar con éxito dichas amebas en diversas fuentes de agua incluyendo las de consumo humano. <sup>(24)</sup>

Por otro lado los reportes de queratitis por *Acanthamoeba* sp. indican que existen pacientes con dicha afección que realizaban la limpieza de sus lentes de contacto con agua corriente de caño, lo cual respalda la factibilidad de los resultados positivos en algunas de nuestras muestras provenientes del agua que alimentaba a los reservorios domiciliarios. <sup>(68,69)</sup>

En cuanto a los resultados de los análisis realizados al agua almacenada, se puede apreciar que en 6 de 29 muestras se dieron resultados positivos en cuanto a coliformes totales con un promedio máximo de 13 NMP.(100 mL)<sup>-1</sup> en el grupo de tanques de fibra de vidrio, 1 NMP.(100 mL)<sup>-1</sup> en el grupo de tanques de asbesto cemento, 3 NMP.(100 mL)<sup>-1</sup> en el grupo de los tanques de polietileno y 2 NMP.(100 mL)<sup>-1</sup> en el grupo de las cisternas. En cuanto a los coliformes termotolerantes en 2 de las 29 muestras se dieron resultados positivos con un promedio máximo de 1 NMP.(100mL)<sup>-1</sup> tanto en el grupo de los tanques de polietileno como en el de las cisternas, esto debido posiblemente a que no había una buena recirculación del agua o excesiva cantidad de suciedad, pues en dichas unidades presentaban un bajo contenido de la concentración del cloro residual. Lo cual ratifica que la presencia de material orgánico o inorgánico producto de la falta de higiene en los reservorios puede favorecer la proliferación de microorganismos con la consecuencia del consumo del desinfectante cloro. <sup>(67)</sup>

En lo que respecta al Recuento Heterotrófico en 21 de 29 muestras se dieron resultados positivos mayores a cero, estando estos por debajo de los límites máximos establecidos de la Norma Técnica Peruana (INDECOPI), indicándonos una buena calidad a nivel bacteriológico. En términos generales la calidad del agua

almacenada se mantiene en optimas condiciones a nivel de parámetros microbiológicos de Grupo Coliforme y Recuento Heterotrófico, siempre y cuando exista una recirculación constante de la misma. <sup>(67)</sup>

Asimismo, se pudo apreciar en general pocos casos de la presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua almacenada (4 de 29 muestras ) siendo la distribución en su grupo de 29% en tanques de fibra de vidrio, 25% en tanques de concreto y 17% en tanques de polietileno. Posiblemente esto se deba a que la ameba busca adherirse a las superficies mediante sus pseudópodos lo que hace presumir que al ingresar al reservorio buscaría el fondo o las paredes y que en gran parte de los casos en donde se encontró estaría adherida a partículas en suspensión producto de las condiciones antihigiénicas. <sup>(16,18)</sup>

Por otro lado, los resultados nos indican también que en algunos casos a pesar de las condiciones de recirculación del agua almacenada donde se presentaba un nivel aceptable de cloro residual había presencia de *Acanthamoeba* sp. y es que a diferencia de las bacterias estas amebas presentan un nivel de resistencia al cloro por encima de la concentración máxima recomendada para el agua potable, teniendo conocimiento que éstas resisten concentraciones de cloro hasta de 4 mg. L<sup>-1</sup>. <sup>(22,70)</sup>

En cuanto a las paredes de los reservorios (en el punto de muestreo a la mitad del nivel del agua) se ha encontrado de manera cualitativa (positivo, negativo) la presencia del Grupo Coliforme en los grupos estudiados, siendo los casos positivos equivalentes a 7 muestras. En la mayoría de casos los tanques elevados poseían una instalación sanitaria de desagüe conectada de manera directa con una trampa P la cual se encontraba seca, implicando que al haber un movimiento de aire producto de la variación del nivel del agua como consecuencia del consumo y la falta de presión a distintas horas del día, favorecería el ingreso de contaminantes del aire y vapores producto de la utilización de los servicios higiénicos en el predio. <sup>(1)</sup>

Del mismo modo, los microorganismos que llegan a través del sistema de abastecimiento de agua de forma continua lograrían encontrar en las condiciones antihigiénicas, ambientes favorables para su proliferación formando biopelículas entre las cuales podrían encontrarse microorganismos patógenos. <sup>(1,67)</sup>

Cabe precisar que en las paredes en donde se encontró la presencia de coliformes termotolerantes había presencia de *Acanthamoeba* sp., habiendo la posibilidad de establecerse algún tipo de relación entre ellas dado que existen diversas publicaciones sobre la capacidad de ciertas bacterias entéricas de replicarse en dicha ameba <sup>(74)</sup>.

Los resultados nos indican también la presencia de *Acanthamoeba* sp. en los grupos de tanques de fibra de vidrio, asbesto cemento y concreto en una proporción promedio de más del 50% (4 tanques de fibra, 4 tanques de asbesto cemento, 2 tanques de concreto) y es que la ameba como ya se indicó no es nadadora y busca adherirse a superficies a través de sus pseudópodos, realizando relaciones de simbiosis con diversas bacterias las cuales podría encontrar en las biopelículas formadas en las paredes. <sup>(1, 16, 67, 71)</sup>

En las paredes de los tanques de polietileno y las cisternas no se encontró la presencia de *Acanthamoeba* sp. , pudiendo deberse a que los tanques de polietileno tienen poco tiempo de instalación en la zona y en el caso de las cisternas no se generan cambios significativos en el nivel del agua, además que las muestreadas no poseían tuberías de rebose por donde pudiesen penetrar vapores contaminantes del desagüe que traen o generan condiciones adecuadas para su existencia . <sup>(67)</sup>

En cuanto a los sedimentos como ya se indicó anteriormente son de gran importancia puesto que a la luz de los resultados pilotos son los que presentaban las mayores concentraciones microorganismos y parásitos, que fueron ratificados luego de los diversos análisis realizados a los 29 reservorios domésticos de las

viviendas seleccionadas, por lo que se puede indicar que la presencia de dichos sedimentos generan condiciones apropiadas para el desarrollo de coliformes, bacterias heterotróficas y parásitos<sup>(67, 75)</sup>, y si bien los nuevos tanques prefabricados que se venden hoy en día en el mercado traen consigo un filtro para retener dichos sedimentos, en los trabajos de campo se pudo apreciar que parte del sedimento pasa por la porosidad de esos filtros que por lo general son de 50  $\mu\text{m}$ ; además que los protozoarios que son motivos de la presente investigación poseen un diámetro menor a dicha porosidad por lo que es de concluir que estos filtros no garantizan su retención<sup>(22,39,61)</sup>.

En nuestro estudio los resultados de los análisis realizados a los sedimentos determinó en lo referente al Grupo Coliforme que en 24 de las 29 unidades se dieron resultados positivos a coliformes totales con concentraciones promedio de 769 NMP.  $(100 \text{ mL})^{-1}$  para el grupo de los tanques elevados de fibra de vidrio, 43 NMP.  $(100 \text{ mL})^{-1}$  para el grupo de los tanques elevados de asbesto cemento, 711 NMP.  $(100 \text{ mL})^{-1}$  para el grupo de los tanques de concreto, 2 647 NMP.  $(100 \text{ mL})^{-1}$  para el grupo de los tanques de polietileno y de  $\geq 13\ 200$  NMP.  $(100 \text{ mL})^{-1}$  para el grupo de las cisternas que presenta una marcada diferencia con los demás grupos, probablemente debido a que las condiciones higiénicas en estas últimas son las más desfavorables. Asimismo, de las 24 muestras positivas, 18 fueron debido a coliformes termotolerantes y es que el sedimento contiene partículas orgánicas e inorgánicas que son suficientes para la supervivencia de dichos microorganismos, habiéndose encontrado literatura en donde con sólo de 10  $\text{mg. L}^{-1}$  a 100  $\text{mg. L}^{-1}$  de materia orgánica son suficientes para su desarrollo.<sup>(67)</sup>

En los trabajos de campo se pudo apreciar que en los tanques elevados la tubería de distribución estaba por encima del fondo entre 3 a 8 cm, favoreciendo la presencia de puntos muertos a pesar de la circulación del agua producto del consumo, de este modo la gran variedad de bacterias heterotróficas que poseen los sedimentos logran alcanzar mejores condiciones para su supervivencia al provocar la pérdida rápida del cloro residual que se encuentra próximo a ellos.<sup>(67)</sup>



Por otro lado en las cisternas muestreadas sucede una situación similar en donde la tubería de succión está de 8 a 15 cm por encima del nivel del piso, generando puntos muertos. Cabe recalcar nuevamente que es en el grupo de las cisternas en donde se presenta la mayor concentración de microorganismos y parásitos, dándose esta situación porque las condiciones higiénicas son las más desfavorables en comparación a la de los tanques elevados. De este modo se tiene por ejemplo que en las cisternas hay presencia de insectos, como las cucarachas *Periplaneta Americana* que se cobijan en las ranuras de la intersección de las paredes con el techo no tarrajado donde ponen sus huevos. Asimismo, éstas vomitan y defecan en las paredes de las cisternas, desprendiéndose para luego caer al agua almacenada hasta llegar a los sedimentos en donde es un lugar propicio para la proliferación de microorganismos, entonces teniendo en cuenta que las cucarachas son portadoras de gran cantidad de agentes patógenos se podría afirmar que de llegar alguno a los sedimentos prevalecerían por largo tiempo.<sup>(67)</sup>

Por otro lado los análisis de los estudios de campo ratifican lo encontrado en los pilotos respecto a la *Acanthamoeba* sp. determinándose su presencia en los sedimentos, la cual es capaz de transportar diversas bacterias manteniéndolas viables posibilitando su sobrevivencia .<sup>(71,72)</sup>

La presencia de la *Acanthamoeba* sp. fue muy elevada en todos los grupos, de esta manera se encontró en 25 de 29 muestras, donde en el grupo de los tanques de fibra de vidrio se tuvo una presencia de 85.71 % (6 de 7 unidades), el grupo de los tanques asbesto cemento se tuvo una presencia de 100 % (7 de 7 unidades), el grupo de los tanques de concreto se tuvo una presencia de 100% (4 de 4 unidades), el grupo de los tanques de polietileno se tuvo una presencia de 66.67 % (4 de 6 unidades) y en el grupo de las cisternas se tuvo una presencia de 80 % (4 de 5 unidades), y es que las condiciones en los sedimentos son muy favorables para su sobrevivencia y desarrollo, en donde encuentra una elevada concentración de microorganismos que le sirven de alimento.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos fue variable y bastante representativa en todas las unidades, pudiéndose apreciar que de las 29 muestras procesadas, 15 de ellas dieron positivo. La proporción porcentual de cada grupo fue la siguiente: 42.86 % en el grupo de tanques de fibra de vidrio, 42.86 % en el grupo de tanques de asbesto cemento, 50% en el grupo de tanques de concreto, 33.33% en el grupo de tanques de polietileno y del 100 % en el grupo de las cisternas.

Todo parece indicar que el *Cryptosporidium* sp. ingresa al reservorio doméstico a través del agua proveniente de red pública, habiendo reportes en Estados Unidos en donde se detectó la presencia los ooquistes de este parásito en las aguas tratadas y cuyas concentraciones variaban de 0.005 a 0.17 ooquistes por litro <sup>(44,49)</sup>. Como ya se indicó anteriormente se estima que estos precipitan permaneciendo viables en el sedimento y que por la falta de mantenimiento y limpieza el número se vería gradualmente incrementado conforme vayan llegando a través de la red pública, pudiendo generar situaciones de riesgo en donde pudiesen llegar concentrados a los usuarios durante sus actividades cotidianas de aseo o preparación de alimentos, por ejemplo un reservorio con una gran concentración de sedimentos puede quedar momentáneamente fuera de circulación por efecto de corte de suministro y consumo de agua interna (queda vacío) y al restablecerse el suministro el agua entraría golpeando a los sedimentos dispersando las bacterias y parásitos pudiendo llegar afectar al usuario que se encuentra preparando sus alimentos, realizando su aseo personal o en el peor de los casos que estando inmunodeprimido beba agua directa del caño consumiendo una dosis infectiva de 132 ooquistes. <sup>(57)</sup>

En relación a la *Cyclospora cayetanensis*, su presencia en el sedimento fue detectada en todos los reservorios menos en los tanques de asbesto cemento, en cuya unidad su presencia es nula. En los demás reservorios como en los de fibra de vidrio fue de 14.29% (1 de 7), concreto 25% (1 de 4), tanques de polietileno 16.67 % (1 de 6) y cisternas 20% (1 de 5).

Cabe recalcar que si bien se ha encontrado en una cantidad significativa la presencia de *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis* esto no significa que dicha presencia no pueda ser mayor, considerando que la técnica empleada para la detección es una técnica para heces y que tuvo que ser adaptada tras largos ensayos para los sedimentos y que puede estar sujeta a fallas como por ejemplo el barrido de la muestra procesada durante la tinción de Ziehl Neelsen.

Durante la realización de los trabajos de muestreo donde se obtuvieron los resultados mencionados se apreció en casi todos los casos una instalación sanitaria empírica del reservorio doméstico, sea tanque o cisterna; así por ejemplo muchas de las tuberías de rebose de los tanques elevados estaban conectadas directamente al sistema de desagüe del domicilio, habiéndose percibido malos olores durante la limpieza cuando los usuarios utilizaban los servicios higiénicos; asimismo, la mayoría de los tanques elevados no poseía tuberías de purga, lo que dificultaba el desaguado.

En términos generales, lo indicado anteriormente genera un ambiente propicio para la presencia y permanencia en el tiempo de bacterias y protozoarios emergentes como el *Cryptosporidium* sp., la *Cyclospora cayetanensis* y la *Acanthamoeba* sp. <sup>(67)</sup>

## 8 CONCLUSIONES

De acuerdo a los trabajos de campo y los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- ◆ No se ha establecido una clara diferencia entre la presencia de microorganismos y el tipo de material entre los tanques elevados de mayor antigüedad en la zona de estudio (fibra de vidrio, asbesto cemento y concreto).
- ◆ Existe una marcada diferencia de contaminación microbiológica en los cuatro puntos de muestreo estudiados en la presente investigación, siendo en el sedimento en donde se encuentra la mayor concentración de microorganismos y parásitos.
- ◆ Se ha establecido que a diferencia de los tanques elevados con mayor antigüedad en la zona, los tanques de polietileno no presentan en ningún caso coliformes termotolerantes en sus sedimentos.
- ◆ El agua que alimentaba a los reservorios domésticos se encontraba en buen estado a nivel de los parámetros microbiológicos de calidad de agua como Grupo Coliforme y Recuento Heterotrófico los cuales estaban por debajo de los límites máximos establecidos por la Norma Técnica Peruana.
- ◆ La calidad bacteriológica del agua que llega a los reservorios domiciliarios no excluye la presencia de parásitos como la *Acanthamoeba* sp., *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*.
- ◆ Si existen buenas condiciones de recirculación del agua almacenada, los resultados microbiológicos por lo general se encuentran por debajo de los límites máximos establecidos por la Norma Técnica Peruana.

- ◆ No es confiable determinar el estado sanitario de los reservorios domésticos en función a un simple muestreo del agua almacenada.
- ◆ En el 100% de los sedimentos de las cisternas muestreadas está presente la *Acanthamoeba* sp.
- ◆ El grupo de las cisternas presentaba las concentraciones más altas de coliformes y microorganismos heterotróficos en comparación con los grupos de los tanques elevados.
- ◆ Una de las causas más importantes por la que se presenta contaminación en los tanques y las cisternas, es la falta de asesoría profesional antes y durante la instalación de dichas unidades.
- ◆ El almacenar agua potable en reservorios domésticos sin un responsable manejo sanitario constituye un riesgo potencial para la salud teniendo en cuenta que estos llegan a presentar microorganismos patógenos de gran importancia.

## 9 RECOMENDACIONES

- Realizar pilotos o estudios de investigación sobre :
  - La capacidad patógena de la *Acanthamoeba* sp. presente en los sedimentos de los reservorios domésticos.
  - La relación entre la *Acanthamoeba* sp. de los reservorios domésticos y el *Helicobacter pylori*.
  - La relación entre la *Acanthamoeba* sp. de los reservorios domésticos y el *Vibrio cholerae*.
  - El consumo de cloro a distintos niveles de los reservorios y su relación con las condiciones higiénicas.
  - La presencia del *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis* en el agua almacenada de los reservorios.
  - El periodo de tiempo adecuado que debe existir entre limpiezas en los reservorios con relación a la presencia de los microorganismos patógenos determinados en el presente estudio.
  - La importancia sanitaria de los insectos presentes en los reservorios domésticos de agua.
  - Sobre la presencia de microorganismos patógenos en las heces de las aves.
  
- Se recomienda realizar campañas informativas y de educación sanitaria sobre:
  - La correcta instalación de los reservorios domésticos.
  - La periodicidad y correcta forma de realizar la limpieza de los reservorios domésticos
  - El adecuado uso y consumo del agua en una vivienda con reservorio doméstico.

- Se recomienda incluir como parámetros de determinación del estado sanitario de los reservorios domésticos a los protozoarios emergentes *Acanthamoeba* sp., *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*.
- Se recomienda mejorar la normatividad vigente a fin que las autoridades municipales puedan realizar la vigilancia sanitaria de los reservorios domésticos (viviendas consideradas unifamiliares).
- Se recomienda que en los muestreos de los reservorios en general se tome adicionalmente una muestra de sedimento con el propósito de determinarle la presencia de los microorganismos y parásitos contemplados en el presente estudio.
- Se recomienda realizar ensayos a fin de mejorar los procedimientos de laboratorio desarrollados en la presente investigación tales como los cultivos de *Acanthamoeba* sp. y concertación por flotación de *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayetanensis*.

## **10 FUENTES DE INFORMACIÓN**

1. Geldreich, E.E. 1996. Microbial Quality of Water Supply in Distribution Systems. Lewis Publishers.
2. Flores A. J., Suárez H.G., Puc F. M., Heredia N. M., Vivas R. M., Franco M. J. 1995. Calidad Microbiológica del Agua Potable de la Ciudad de Mérida, México; Salud Pública de México; 37: 236-239.
3. Dirección de Imagen Municipal, Municipalidad de Santiago de Surco. 2001. Somos Surco. Cuidado con el Mantenimiento de Tanques y Cisternas. 64:26.
4. National Academy of Science. 1995. El Suministro de Agua de la Ciudad de México. National Academy Press; Washington.
5. Ghersi E., Ñaupari H. 2005. Agua sucia: Las causas y las Responsabilidades del Cólera en Perú; 1: 1-14.
6. APHA, AWWA, WPCF. 1992. Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Editorial Díaz de Santos, 1ª edición.
7. García, Monses; Microbiología de los Alimentos; 1: 144-148.
8. J.M. J.A.Y. Microbiología Moderna de los Alimentos. 1: 301-306
9. Grupo Analiza Calidad. 2004. Análisis de microorganismos aerobios mesófilos. 1: 1-3.
10. Castellani A. August 1, 1930. An amoeba found in culture of a yeast. Preliminary note June 2, 1930: 160. Second note July 1, 1930: 188. Third note: 221. J. Trop. Med. Hyg.
11. Douglas M. 1930. Notes on the classification of the amoeba found by Castellani on culture of yeast-like fungus. J. Trop. Med. Hyg. 33: 258-259.



12. Jahnes W. G., Fulmer H. M., Li CP. 1957. Free-living amoeba as contaminants in monkey kidney tissue cultures. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.* 96: 484-488.
13. Culbertson C. G., Smith J. W., Cohen H. K., Minner J. R. 1959. Experimental infection of mice and monkeys by *Acanthamoeba*. *Am. J. Pathol.* 35: 185-197.
14. Culbertson C. G., Smith J. W., Minner J. R. 1958. *Acanthamoeba*: observation on animal pathogenicity *Science.* 127: 1506.
15. Ma P., Visvesvara G. S., Martínez A. J., Theodore F. H., Dagget P. M., Sawyer T. K., et al. 1990. *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections: review. *Rev. Infect. Dis.* 12: 490-513.
16. Oddó D. 2006. Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía, nomenclatura, protozoología y cuadros anátomo-clínicos. *Rev. Chil. Infect.* 3:200-214.
17. Ferreira E. y colaboradores. 1994. Manual para la vigilancia epidemiológica de la meningitis por amibas de vida libre. 13:4
18. Pérez-Irezábal J., Isasa P., Barrón J., Martínez I. 2005. Queratitis por *Acanthamoeba*; Servicios de Microbiología y Parasitología y de Oftalmología, Hospital de Cruces, Baracaldo, Vizcaya. Revisión temática: Parasitología: 1-9.
19. Stehr-Green J. K., Bailey T. M., Visvesvara G. S. 1989. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am. J. Ophthalmol.* 107: 331-336.
20. Delgado J., Aguila Pardo E. 1957. Abscesos amebianos cerebrales y meningoencefalitis. *Arch. Per. Pat. y Clin.* 11: 21-6.
21. Martínez A.J., Sotelo-Avila C., García-Tamayo J., Takano-Morón J., Willaert E., Stamm W. P. 1977. Meningoencefalitis due to *Acanthamoeba* sp. Pathogenesis and Clinic – Pathological Study. *Acta Neopath (Berl).* 37:183-191.

22. De Jonckheere J. F. 1991. Ecology of *Acanthamoeba*. Rev. Inf. Dis. 13: S 385-7.
23. Rodríguez Zaragoza S. 1994. Ecology of free living amoebae. Crit. Rev. Microb. 20: 225-241.
24. Suárez R., Espinoza Y., Villanueva C., Ramos J., Huapaya P., Marquina R. 2002. Aislamiento de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* a partir de fuentes de agua en la ciudad de Ica. 63:1-5.
25. John D. T. 1982. Primary Amebic Meningoencephalitis and the Biology of *Naegleria Fowleri*. Ann. Rev. Microbiol. 36: 101-123.
26. Centres for Disease Control, Division of Parasitic Disease, Parasite Image Library. 2006. Free-Living Amebic Infections. 1:7
27. Úbeda Ontiveros. 2004. Página personal. Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia; Departamento de Microbiología y Parasitología.
28. Martínez J, Janitschke K. 1985. *Acanthamoeba*, an opportunistic microorganism: A review. Journal Infection. 13: 251-258.
29. Winiecka-Krusnell J., Wreiber K., Von Euler A., Engstrand L., and Linder E. 2002. Free-living Amoebae Promote Growth and Survival of *Helicobacter pylori*. Sand J. Infect Dis. 34: 253-256.
30. Cavalier-Smith T. 2004. Only six kingdoms of life. Proc. R. Soc. Lond. 271: 1251-1262.
31. Schaeffer A.A. (1926): Taxonomy of the Amebas. Pap. Dept. Mar. Biol., Carnegie Inst. of Washington 24, 1-116.
32. Schuster F., Visvesvara G. 1998. Efficacy of novel antimicrobials against clinical isolates of opportunistic amoebas. J. Eukaryot Microbiol. 45:612-618.

33. Schuster F., Visvesvara G. 2004. Opportunistic amoebae: challenges in prophylaxis and treatment. *Drug Resist Update*; 7:41-51.
34. Mazur T., Hadas E., Iwanicka I. 1995. The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. *Trop. Med. Parasitol.* 46:106-108.
35. Schuster F., Visvesvara G. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int. J. Parasitol.* 34: 1001-1027.
36. Martinez J. A. 1991. Infection of the Central Nervous System Due to *Acanthamoeba*. *Rev. Infect. Dis.* 13: 399-402
37. Galarza C., Gutiérrez E., Uribe M., Ramos W., Ortega A., Ávila J., Hanco J., Espinoza Y., Espinoza M., Navimcopa M., Gámez D. Enero-abril 2006. Amebas de vida libre en lesiones cutáneas. Reporte de 4 casos; *Dermatol. Perú.*16:1-9.
38. Barer M. R., Wrigth A. E. 1990. *Cryptosporidium* and water. *Lett. Appl. Microbiol.* 11: 271-277.
39. Garza Almanza V., Morales Vallarta M. 2002. Agua y Salud: *Cryptosporidium parvum*, Agente Casual de una Nueva Enfermedad Relacionada con el Agua. Área Salud Ambiental, Programa Ambiental, Universidad Autónoma de Cd. Juárez (México). *RESPYN-Revista Salud Pública y Nutrición.* 3:1-8.
40. Millard P. S., Gensheimer K. F., Addiss D. G., Sosin D. M., Beckett G. A., Ahouck-Jankoski, Hudson A. 1994. An Outbreak of Cryptosporidiosis from Fresh-pressed Apple Cider. *Jour. Am. Med. Assoc.* 272:1592-1596.
41. Avery B.K., Lemley A., Hornsby A. G. 2000. *Cryptosporidium*: Un Patógeno Transmitido por el Agua. Universidad de Florida, Instituto de Ciencias Alimenticias y Agrícolas. SL 130:1-6

42. Mclaughlin J., Amar C., Pedraza-Diaz S., Nichols G. L. 2000. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. In the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1.705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. J. Clin. Microbiol. 38: 3984-3990.
43. Corinne S. L. et al. 1999. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis outbreaks and transmission in British Columbia, Canada. Am. J. Trop. Med. Hyg. 61: 63-69.
44. Smith H. V., Rose J. B. 1998. Waterborne cryptosporidiosis: Current Status. Parasitol. Today, 14: 14-22.
45. Barwick R. S., Levy D. A., Craun G. F., Beach M. J., Calderon R. L. 1998. Surveillance for waterborne diseases outbreaks United States, 1997-1998; Mor. Mortal. Wkly.; 49: 1-21.
46. Juranek D. D. 1995. Cryptosporidiosis: Sources of Infection and Guidelines for Prevention; Clinical Infect. Diseases. 21: S57-S61.
47. Moraes Julio. 10 e 11 de agosto de 2006. Coccidiose Aviária. Santa Maria, RS-Brasil; 1-8.
48. Fayer, R., Santin, M., Xiao, L. 2005. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (apicomplexa: cryptosporididae) from cattle, *bos taurus*. Journal of Parasitology. 91(3):624-629.
49. Bortolotti Muller A. P. 1999. Detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Em águas de abastecimento superficiais e tratadas da região metropolitana de São Paulo. 1:7-27.
50. Ruppert E.E., Fox R.S., Barnes R. D. 2004. Invertebrate Zoology. 17<sup>th</sup> Edition; Thomson, Brooks/Cole: XVII, 1-26.

51. Perkins F.O. 2000. Class Conoidasida Levine, 1988. In Lee, J. J., Leedale, G. F. and Bradbury, P. An Illustrated Guide to the Protozoa, Second Edition. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, U.S.A. 1: 202-339.
52. Upton S. J., Woods K.M., M.V. y Nesterenko. 1999. Receptor/ligand interactions between *Cryptosporidium parvum* and the surface of the host cell. *Biochimica et Biophysica Acta* 1454(2): 165-173.
53. Upton S.J. 2000; Suborder Eimeriorina Léger, 1911. In Lee, J.J., Leedale, G.F. and Bradbury, P. 1: 318-339.
54. Levine N.D. 1982. Apicomplexa. In Parker, S.P., *Synopsis and Classification of Living Organisms*. McGraw-Hill, New York. 1: 571-587.
55. Tay Zavala J., Gutiérrez Q. M., López M. R, Manjarrez Z. M. E., Molina L. J. 1995. *Microbiología y Parasitología Médicas*. Méndez editores. México DF. 1: 850.
56. Rodríguez J. C., Royo G. 2001. *Cryptosporidium* y criptosporidiosis. Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario de Elche, Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante). SEIMC, Revisión Temática: Parasitología. 10:1-7.
57. DuPont H. L., Chappell C. L., Sterling C. R., Okhuysen P. C., Rose J. B. and Jakubowski W. 1995. The Infectivity of *Cryptosporidium parvum* in Healthy Volunteers. *New England J. Med.* 332: 855-859.
58. García A., Guerrero A., Magraner J., Guna R., Domínguez V., Borrás R. 2001. *Cyclospora* y Ciclosporosis. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario, Valencia, España. SEIMC, Revisión Temática: Parasitología. 9:1-7.
59. Ortega Y. R., Sterling C. R., Gilman R. H., Cama V. A., Diaz F. Mayo 6 1993. *Cyclospora* Species: A New Protozoan Pathogen of Humans; 328: 1308-1312

60. Chacón de Álvarez N. Abril 2006. Coccidias Intestinales, Cátedra de Parasitología, Escuela "Luis Razetti", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.1: 30-35
61. Sturbaum G. D., Ortega Y .R., Gilman R. H., Sterling C. R., Cabrera L., Klein D. A. Jun 1998. Detection of *Cyclospora cayetanensis* in Wastewater; Applied and Environmental Microbiology. 64:2284-2286.
62. Rivera N., Torrejón E., Madrid M. Julio 1997. Primer Hallazgo de *Cyclospora cayetanensis* en Concepción, Chile 1997. Parasitología al día. 21: 129-132.
63. Ortega Y. R., Roxas C. R., Gilman R. H., Miller N. J., Cabrera L., Taquiri C., Sterling C. R. 1997. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. Am. J. Trop. Med. Hyg. 57:683-686.
64. Vásquez O., Álvarez R., Gonzáles N., Gonzalo A. Neme D, Romero R., Valencia S., Gómez V., Martínez I. 1998. Diagnóstico y Tratamiento de Infección por *Cyclospora cayetanensis* en pacientes pediátricos. Revista de Gastroenterología del Perú.18:116-120.
65. Orlando P. A., Lampel K. A. 2000. Extraction-Free, Filter-Based Template Preparation for Rapid and Sensitive PCR Detection of Pathogenic Parasitic Protozoo. J. Clin. Microbiol. 38: 2271-2277.
66. Santana Añé M., Núñez Fernández F. A., Pérez Ávila J., Barrero Bringuez M., Velásquez Viamontes B. 2000. Emergencia de un nuevo patógeno: *Cyclospora cayetanensis* en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. Rev. Cubana Med. Trop. 52: 66-69.
67. Castro del Campo N., Chaidez Quiroz C. 2003. Riesgos Microbiológicos del Almacenamiento de Agua Potable en Tinacos. Rev. Agua Latinoamericana. 3:1-5.

68. Barrio Barrio, Perena Soriano M F., Minués Muro E., Cristóbal Bescós J. A., Clavela, Romano Ortega P. 1999. Ortoqueratología y Queratitis por *Acanthamoeba*. Revista Española de Contactología. IX: 19-22.

69. Kilvington S., et. al. 2004. *Acanthamoeba* Keratitis: The role of the domestic tap water contamination in the United Kingdom. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 45:1.

70. Lares Villa F., Ayala Montenegro I. T., Verdugo Escoboza E. 2001. Amibas de Vida Libre Aisladas de Jacuzzis y Piscinas de Uso Recreativo en Hermosillo, Sonora. ITSON-DIEP. 3: 39-47.

71. Horn M., Wagner M. 2004. Bacterial Endosymbionts of Free-living Amoebae. J. Eukaryot Microbiol. 51:509-515.

72. Molmeret M., Horn M., Wagner M. Santic M., Abu Kwaik Y. 2005. Amoebae as Training Grounds for Intracellular Bacterial Pathogens. Applied and Environmental Microbiology. 71: 20-28.

73. Korich D. G., Mead J. R., Madore M. S., Sinclair N. A., Sterling C. R. 1990. Effects of Ozone, Chlorine Dioxide, Chlorine, and Monochloramine on *Cryptosporidium parvum* Oocysts Viability. Applied and Environmental Microbiology. 56: 1423-1428.

74. Tezcan-Merdol D., Ljungström M., Winiiecka-Krusnell J., Linder E., Engstrand L., Rhen M. 2004. Uptake and Replication of *Salmonella enterica* in *Acanthamoeba rhyodes*. Applied and Environmental Microbiology. 70: 3706-3714.

75. Marchand Pajares, Edgard O. 2002. Microorganismos Indicadores de la Calidad del Agua de Consumo Humano en Lima Metropolitana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.1: 42-47

# **ANEXOS**



## **ANEXO I**

### **CUADRO RESUMEN DE RESULTADOS POR GRUPOS**

CUADRO RESUMEN DE RESULTADOS POR GRUPOS

Tanques de Fibra de Vidrio																			
N°	Dirección	Tipo de Unidad	Muestra Agua que Alimenta a la Unidad				Muestra de Agua Almacenada				Muestra de Pared			Muestra de Sedimento					
			Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Prueba Confirmativa Coliformes Totales	Prueba confirmativa Coliformes Fecales	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
1	H-53	TE	0	0	2	Negativo	0	0	2	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	93	21	940	Positivo	Positivo	Negativo
2	C-55	TE	0	0	1	Positivo	0	0	1	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	15	7.3	2,150	Positivo	Positivo	Negativo
3	B-10	TE	0	0	7	Positivo	0	0	390	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	44	7.2	9,300	Positivo	Negativo	Negativo
4	A-30	TE	0	0	0	Negativo	0	0	5	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	460	460	1,230	Positivo	Negativo	Negativo
5	H-55	TE	0	0	101	Negativo	93	0	580	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	150	0	1,400	Negativo	Negativo	Negativo
6	K-45	TE	0	0	0	Negativo	0	0	52	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	23	9.1	1,575	Positivo	Positivo	Positivo
7	L-7	TE	0	0	1	Negativo	0	0	1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	4600	430	5,950	Positivo	Negativo	Negativo

Tanques de Asbesto Cemento																			
N°	Dirección	Tipo de Unidad	Muestra Agua que Alimenta a la Unidad				Muestra de Agua Almacenada				Muestra de Pared			Muestra de Sedimento					
			Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Prueba Confirmativa Coliformes Totales	Prueba confirmativa Coliformes Fecales	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
1	H-76	TE	0	0	1	Positivo	0	0	1	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	43	23	1,150	Positivo	Negativo	Negativo
2	H-67	TE	0	0	1	Negativo	3.6	0	9	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	9.1	3.6	1080	Positivo	Positivo	Negativo
3	F-35	TE	0	0	0	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0	430	Positivo	Positivo	Negativo
4	A-28	TE	0	0	1	Negativo	0	0	7	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	0	0	1030	Positivo	Positivo	Negativo
5	F-19	TE	0	0	0	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	0	0	142	Positivo	Negativo	Negativo
6	I-62	TE	0	0	1	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	240	7.3	1830	Positivo	Negativo	Negativo
7	K-18	TE	0	0	31	Positivo	3	0	4	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	9.1	3.6	690	Positivo	Negativo	Negativo

Tanques de Concreto																			
N°	Dirección	Tipo de Unidad	Muestra Agua que Alimenta a la Unidad				Muestra de Agua Almacenada				Muestra de Pared			Muestra de Sedimento					
			Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Prueba Confirmativa Coliformes Totales	Prueba confirmativa Coliformes Fecales	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
1	C-69	TE	0	0	1	Negativo	0	0	0	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	4600	2400	14200	Positivo	Negativo	Negativo
2	H-19	TE	0	0	0	Positivo	0	0	1	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	1100	75	1520	Positivo	Negativo	Negativo
3	O-24	TE	0	0	0	Negativo	0	0	1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	43	0	2300	Positivo	Positivo	Positivo
4	O-28	TE	0	0	0	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	1100	460	4,500	Positivo	Positivo	Negativo

Tanques de Polietileno																			
N°	Dirección	Tipo de Unidad	Muestra Agua que Alimenta a la Unidad				Muestra de Agua Almacenada				Muestra de Pared			Muestra de Sedimento					
			Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Prueba Confirmativa Coliformes Totales	Prueba confirmativa Coliformes Fecales	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
1	H-42	TE	0	0	1	Negativo	0	0	3	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	190	0	480	Positivo	Negativo	Negativo
2	F-30	TE	0	0	1	Negativo	9.1	0	105	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	93	0	2570	Positivo	Negativo	Negativo
3	K-61	TE	0	0	2	Negativo	0	0	82	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	4600	0	6000	Positivo	Negativo	Negativo
4	H-12	TE	0	0	1	Negativo	9.1	3.6	11	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	11000	0	14900	Negativo	Positivo	Negativo
5	I-46	TE	0	0	0	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0	89	Positivo	Negativo	Negativo
6	C-66	TE	0	0	0	Negativo	0	0	0	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0	116	Negativo	Positivo	Positivo

cisternas																			
N°	Dirección	Tipo de Unidad	Muestra Agua que Alimenta a la Unidad				Muestra de Agua Almacenada				Muestra de Pared			Muestra de Sedimento					
			Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Prueba Confirmativa Coliformes Totales	Prueba confirmativa Coliformes Fecales	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Coliformes Totales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Coliformes Fecales NMP . (100 mL) <sup>-1</sup>	Recuento Heterotrófico UFC . mL <sup>-1</sup>	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
1	C-36	CIS	0	0	17	Negativo	9.1	4	11	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	11000	2100	29,700	Positivo	Positivo	Negativo
2	J-10	CIS	0	0	0	Negativo	0	0	8	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	4600	280	8,700	Positivo	Positivo	Positivo
3	L-38	CIS	0	0	2	Negativo	0	0	281	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	24000	11000	36,600	Positivo	Positivo	Negativo
4	G-7	CIS	0	0	0	Negativo	0	0	1	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	24000	430	57,000	Negativo	Positivo	Negativo
5	C-59	CIS	0	0	0	Negativo	0	0	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	2400	210	3,000	Positivo	Positivo	Negativo

## **ANEXO II**

### **RESULTADOS DEL GRUPO I: TANQUES DE FIBRA DE VIDRIO**

## 5.1 Resultados Grupo I

### 5.1.1 Agua que Alimenta a la Unidad

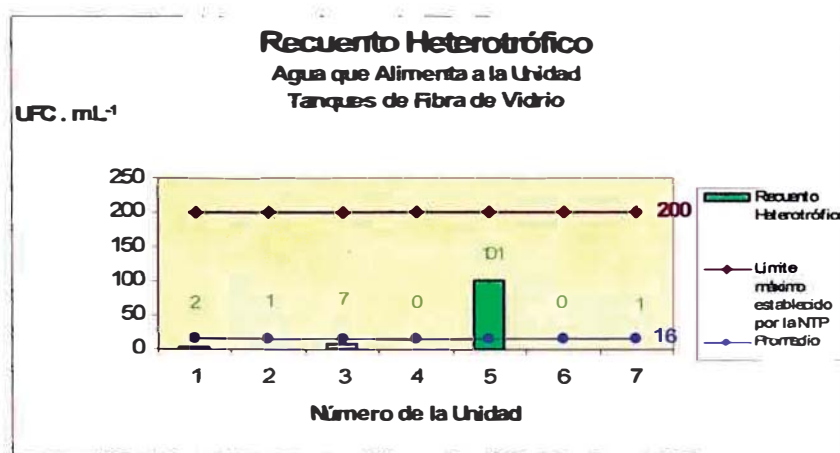
#### 5.1.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo I no hubo presencia de coliformes totales ni termotolerantes.

#### 5.1.1.2 Recuento Heterotrófico

El resultado del recuento heterotrófico del agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo I se aprecia en la figura N° 26

Figura N° 26

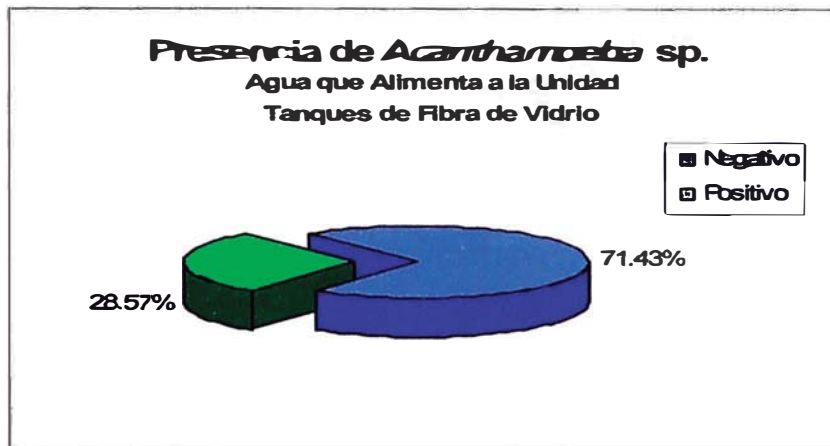


En el gráfico se observa que en todos los casos el recuento heterotrófico estaba por debajo del límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana.

### 5.1.1.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua que alimenta a las unidades en el grupo I se aprecia en la figura N° 27 :

Figura N° 27

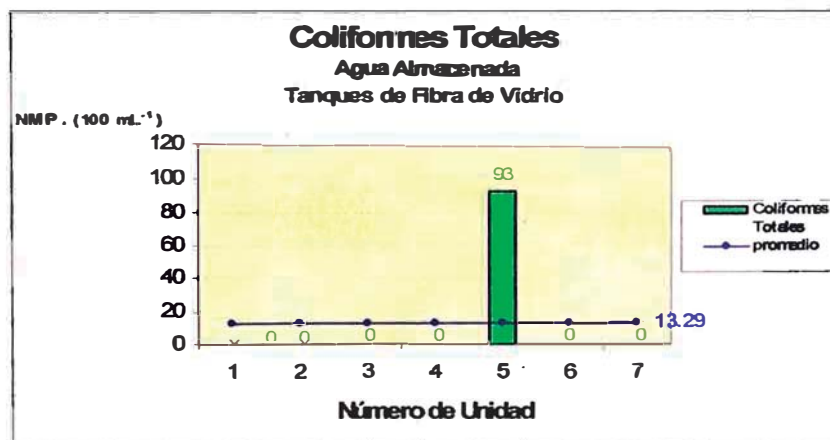


### 5.1.2 Agua Almacenada

#### 5.1.2.1 Grupo Coliforme

En el agua almacenada de las unidades del grupo I se observó solo la presencia de coliformes totales en la unidad número 5. (Ver figura N° 28).

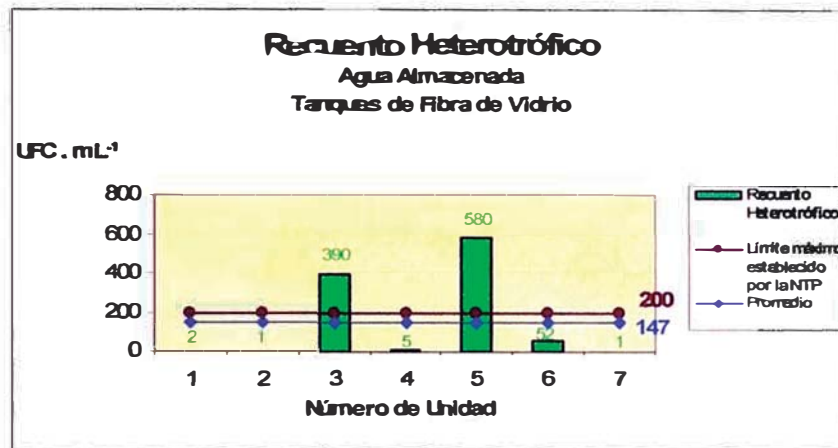
Figura N°28



### 5.1.2.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico del agua almacenada de las unidades del grupo I se aprecia en el siguiente gráfico:

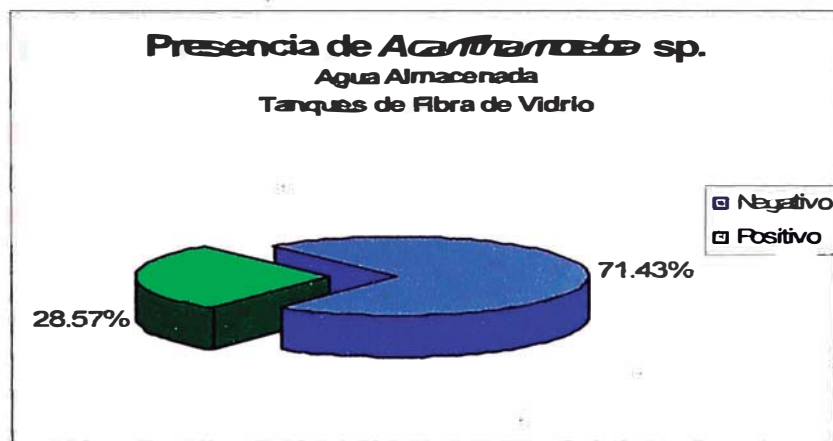
Figura N° 29



### 5.1.2.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua almacenada de las unidades del Grupo I se aprecia en la figura N° 30.

Figura N° 30



### 5.1.3 Pared

#### 5.1.3.1 Grupo Coliforme

En la pared de las unidades del grupo I se observó la presencia del grupo coliforme según las figuras N° 31 y 32.

Figura N° 31

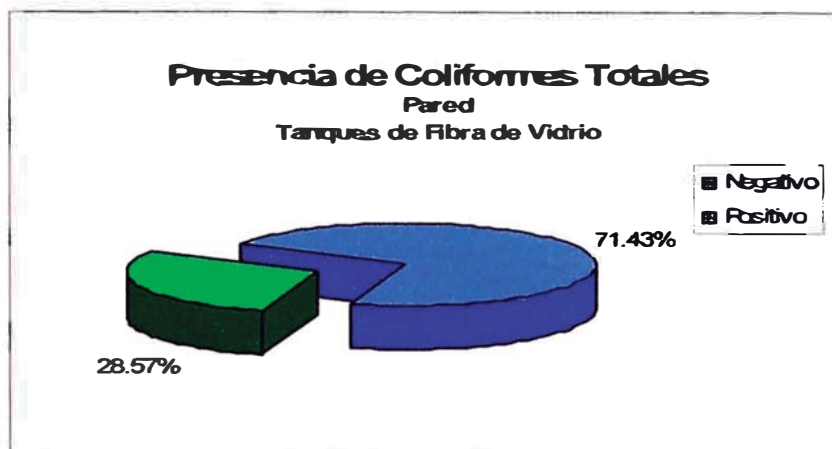
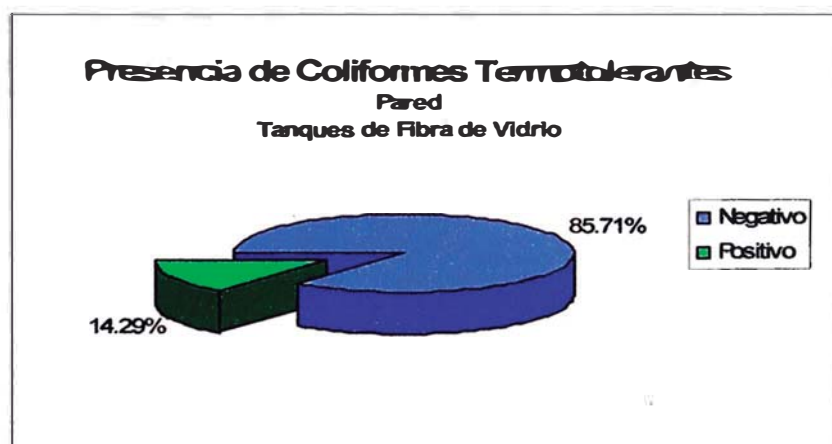


Figura N° 32



### 5.1.3.2 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en las paredes de las unidades del Grupo I se aprecia en la figura N° 33

Figura N° 33



### 5.1.4 Sedimento

#### 5.1.4.1 Grupo Coliforme

En el agua con sedimento de las unidades del Grupo I la presencia del grupo coliforme es variable apreciándose esto en las figuras N° 34 y 35:

Figura N° 34

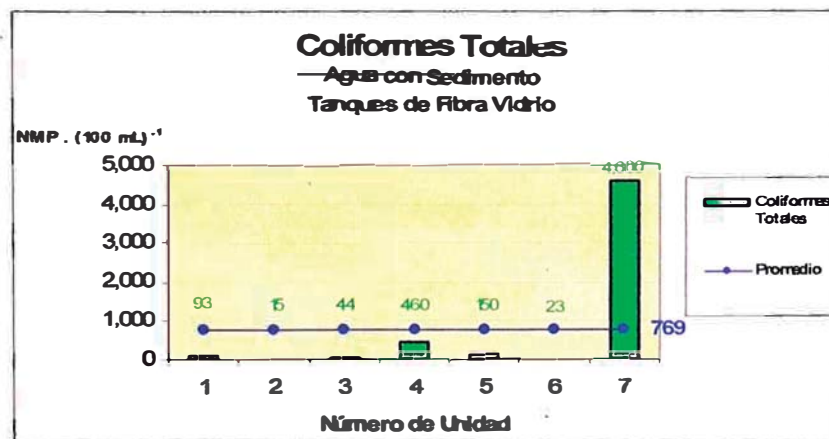
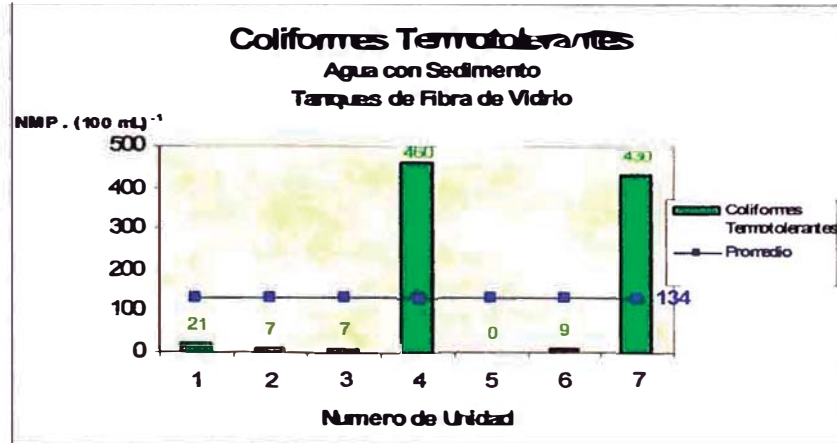




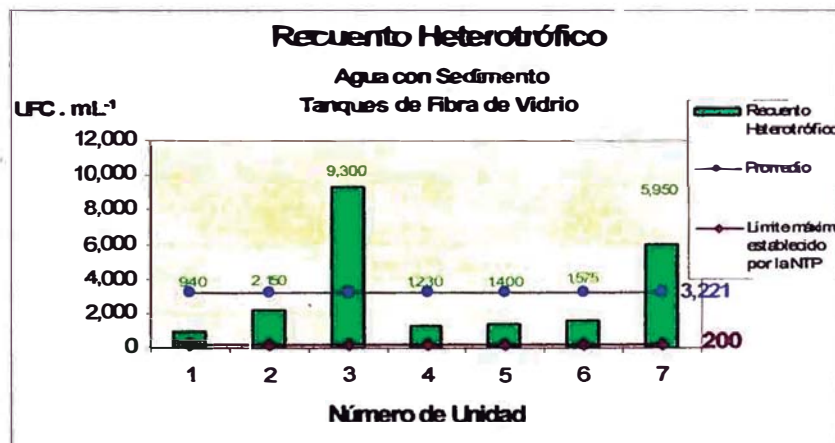
Figura N° 35



### 5.1.4.2 Recuento Heterotrófico

El recuento heterotrófico en el agua con sedimentos de las unidades del grupo I se aprecia en la figura N°36

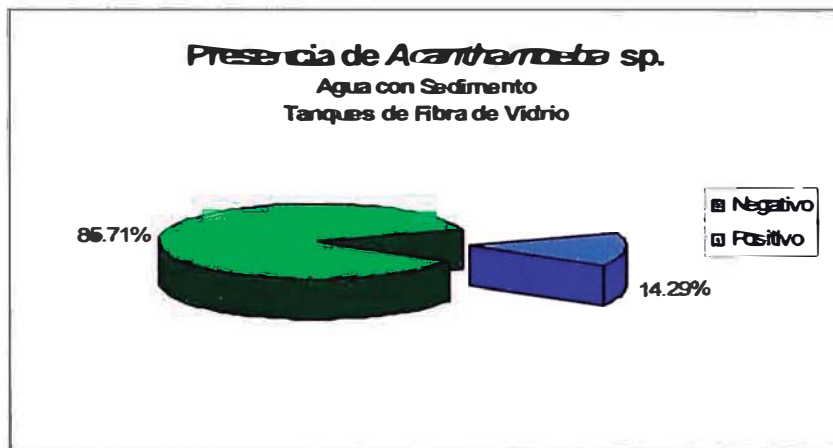
Figura N°36



### 5.1.4.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua con sedimento de las unidades del grupo I se aprecia en la figura N° 37

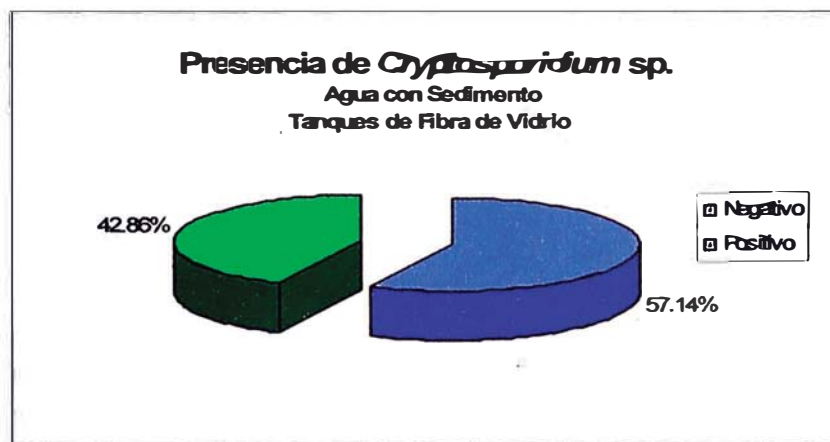
Figura N° 37



### 5.1.4.4 *Cryptosporidium* sp.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las unidades del grupo I se aprecia en la figura N°38

Figura N° 38



#### 5.1.4.4 *Cyclospora cayetanensis*

La presencia de *Cyclospora cayetanensis* en el agua con sedimento de las unidades del grupo I se aprecia en la figura N° 39:

Figura N° 39



## **ANEXO III**

### **RESULTADOS DEL GRUPO II: TANQUES DE ASBESTO CEMENTO**

## 5.2 Resultados Grupo II

### 5.2.1 Agua que Alimenta a la Unidad

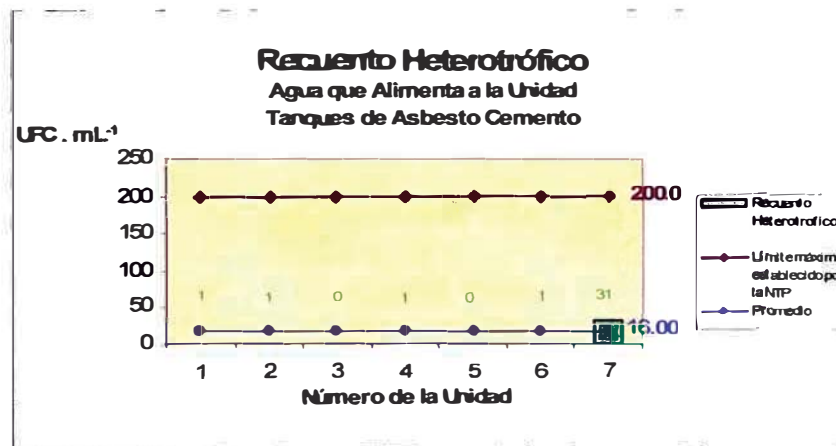
#### 5.2.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba las unidades del grupo II no hubo presencia de coliformes totales ni termotolerantes.

#### 5.2.1.2 Recuento Heterotrófico

El recuento heterotrófico del agua que alimentaba a las unidades del grupo II se aprecia en la figura N° 40:

Figura N° 40



#### 5.2.1.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua que alimentaba a las unidades del Grupo II se aprecia en la figura N° 41:

Figura N° 41

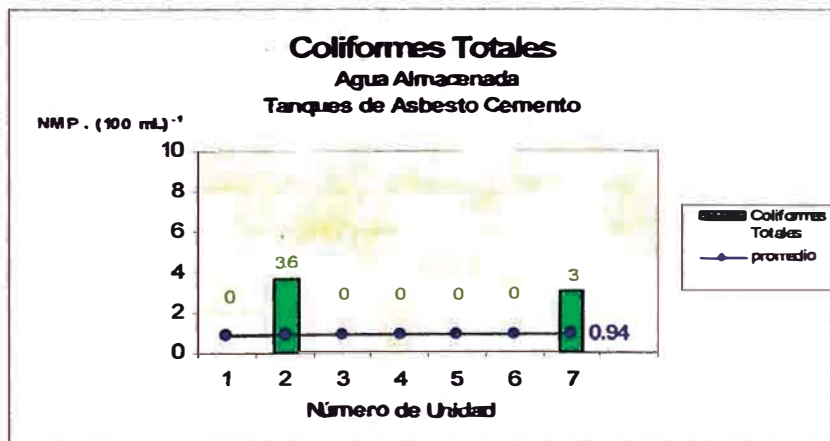


## 5.2.2 Agua Almacenada

### 5.2.2.1 Grupo Coliforme

En el agua que almacenaba los reservorios del Grupo II se observó sólo en dos unidades la presencia de Coliformes Totales según el la figura N°42:

Figura N° 42



### 5.2.2.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico del agua almacenada de las unidades del Grupo II se aprecia en la figura N° 43:

Figura N° 43



### 5.2.2.3 Acanthamoeba sp.

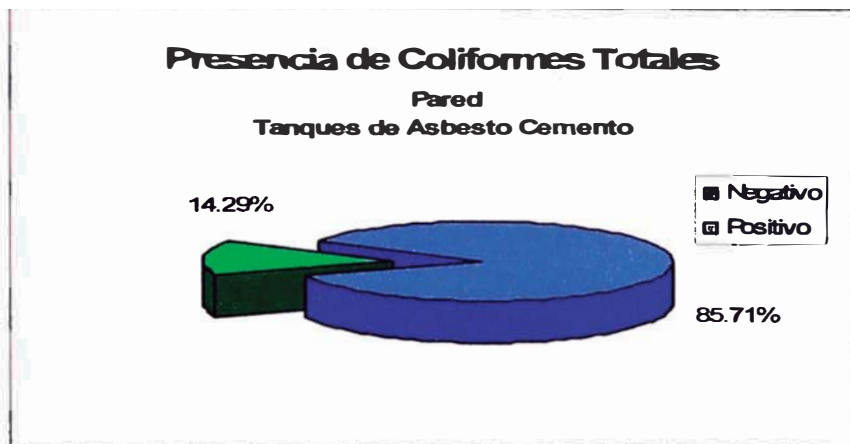
En el agua almacenada de las unidades del Grupo II no se tuvo presencia de *Acanthamoeba* sp.

### 5.2.3 Pared

#### 5.2.3.1 Grupo Coliforme

En la pared de los reservorios del Grupo II se observó la presencia sólo del Coliformes Totales según la figura N° 44:

Figura N° 44



### 5.2.3.2 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en las paredes de las siete unidades del Grupo II se aprecia en el siguiente gráfico:

Figura N° 45





## 5.2.4 Sedimento

### 5.2.4.1 Grupo Coliforme

En el sedimento de las unidades del Grupo II se observó la presencia del Grupo Coliforme lo cual se presenta en las figuras N° 46 y 47:

Figura N° 46

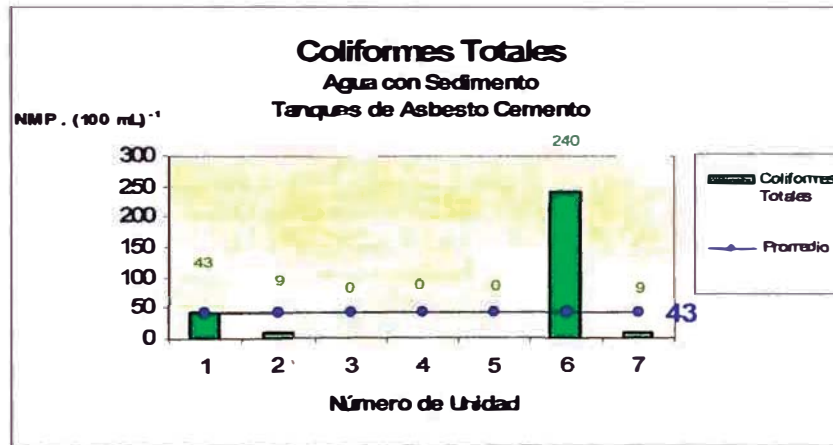
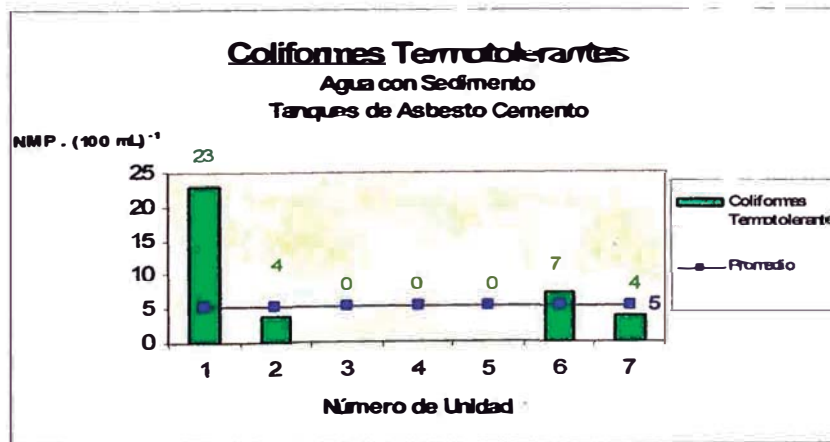


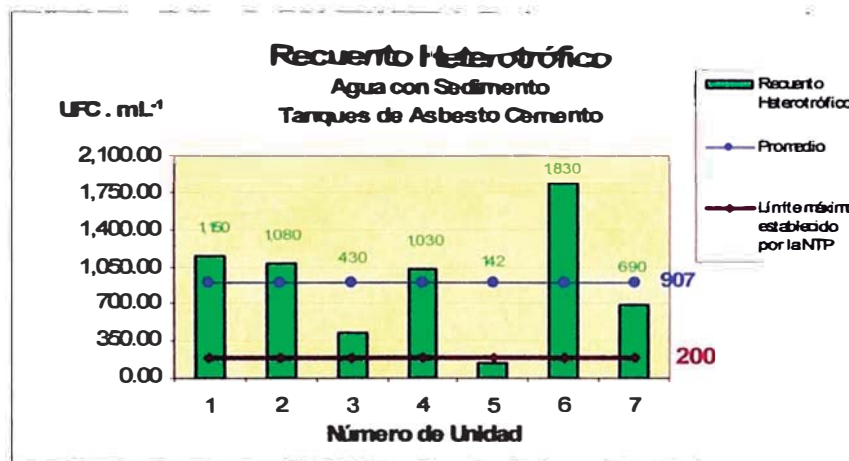
Figura N° 47



### 5.2.4.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico en los sedimentos de las unidades del Grupo II se aprecia en la figura N° 48:

Figura N° 48



### 5.2.4.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en los sedimentos de las unidades del Grupo II se aprecia en la figura N° 49:

Figura N° 49



#### 5.2.4.4 *Cryptosporidium* sp.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las siete unidades del Grupo II se aprecia en la figura N° 50:

Figura N° 50



#### 5.2.4.4 *Cyclospora cayetanensis*

En el agua con sedimentos de las unidades del Grupo II no hubo presencia de *Cyclospora cayetanensis*.

## **ANEXO IV**

### **RESULTADOS DEL GRUPO III: TANQUES DE CONCRETO**

### 5.3 Resultados Grupo III

#### 5.3.1 Agua que Alimenta a la Unidad

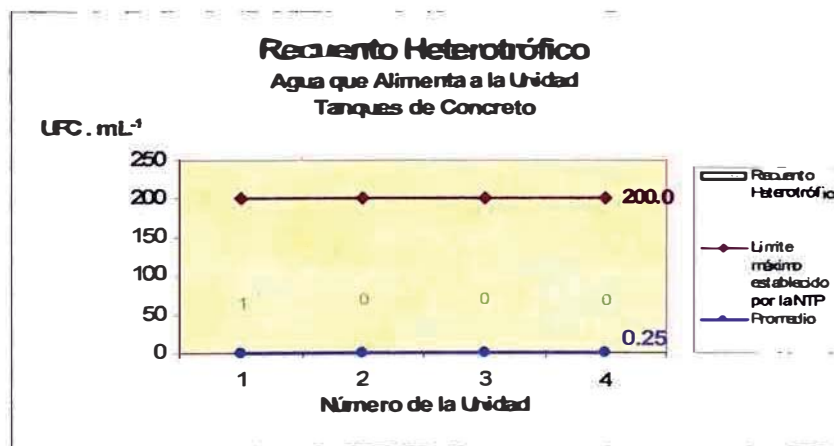
##### 5.3.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba las unidades del Grupo III no hubo presencia de Coliformes Totales ni Termotolerantes.

##### 5.3.1.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico del agua que alimentaba a las unidades del Grupo III sólo se observó crecimiento en la unidad 1, lo cual se aprecia en la figura N° 51:

Figura N° 51



##### 5.3.1.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua que alimentaba a las unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 52:

### 5.3.2.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua almacenada de las cuatro unidades del Grupo III se tuvo los siguientes resultados de presencia de *Acanthamoeba* sp.

Figura N° 54



### 5.3.3 Pared

#### 5.3.3.1 Grupo Coliforme

En las paredes de los reservorios del Grupo III se observó la presencia de Coliformes Totales y Termotolerantes de manera cualitativa y se aprecian en las figuras N° 55 y 56:

Figura N° 55

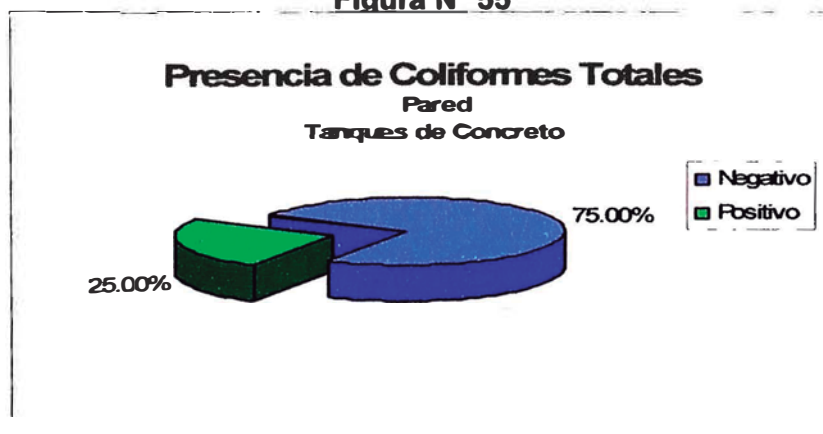


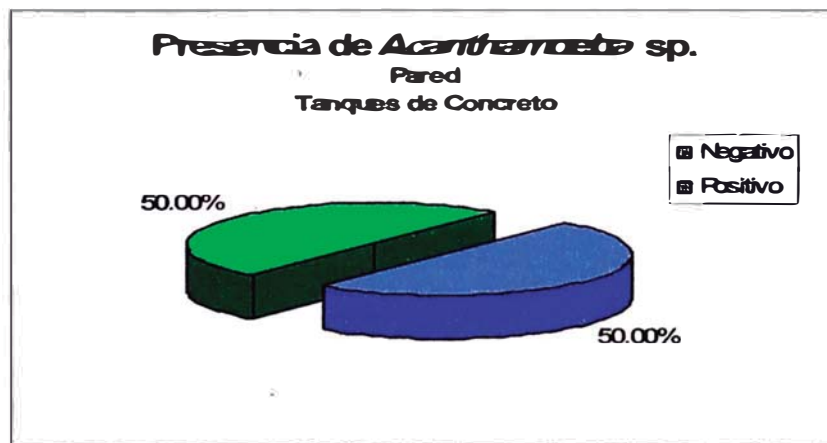
Figura N° 56



### 5.3.3.2 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en las paredes de las unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 57:

Figura N° 57



### 5.3.4 Sedimento

#### 5.3.4.1 Grupo Coliforme

En el sedimento de las unidades del Grupo III se observó la presencia del Grupo Coliforme lo cual se presenta en las figuras N° 58 y 59:

Figura N° 58

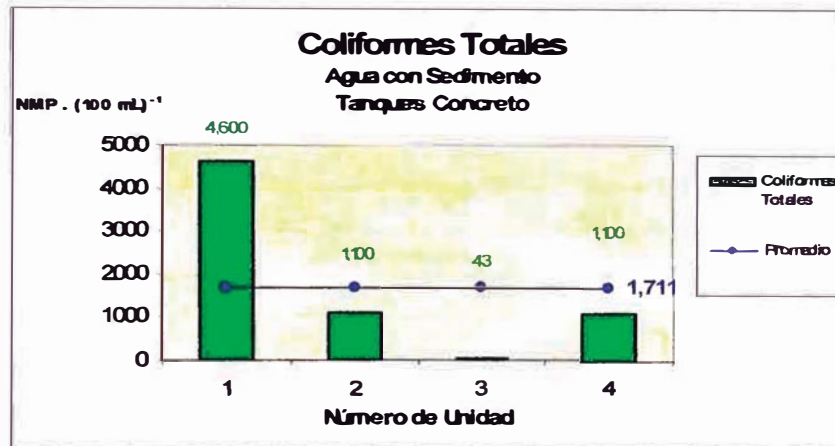
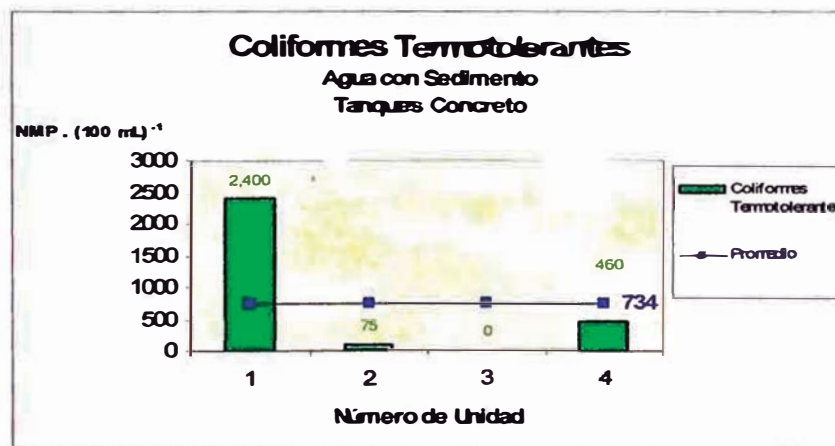


Figura N° 59

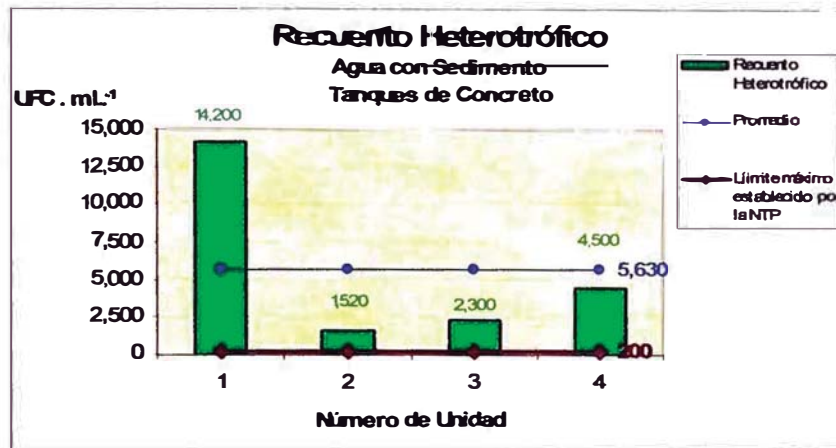


### 5.3.4.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico en los sedimentos de las unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 60:



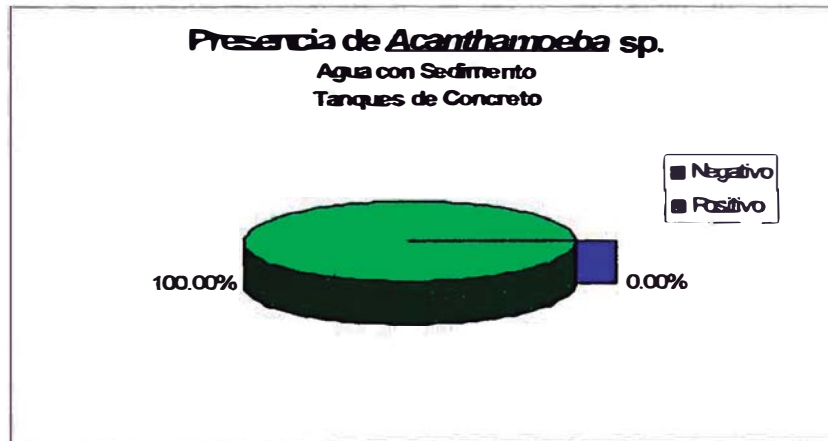
Figura N° 60



### 5.3.4.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en los sedimentos de las unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 61:

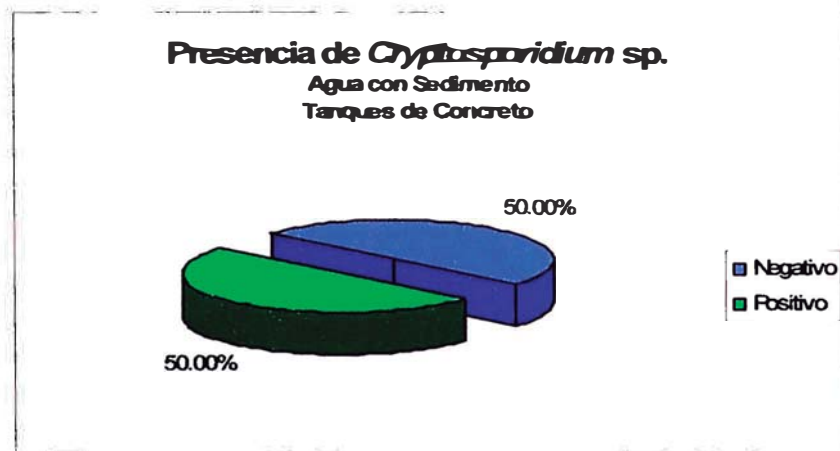
Figura N° 61



### 5.3.4.4 *Cryptosporidium* sp.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 62:

Figura N° 62



5.3.4.4 *Cyclospora cayetanensis* sp.

La presencia de *Cyclospora cayetanensis* en los sedimentos de las cuatro unidades del Grupo III se aprecia en la figura N° 63:

Figura N° 63



**ANEXO V**

**RESULTADOS DEL GRUPO IV:  
TANQUES DE POLIETILENO**

## 5.4 Resultados Grupo IV

### 5.4.1 Agua que Alimenta a la Unidad

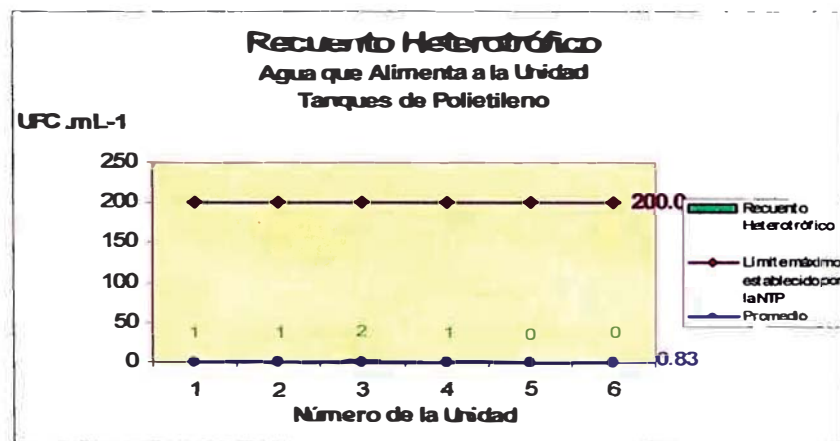
#### 5.4.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba las seis unidades del grupo IV no hubo presencia de coliformes totales ni termotolerantes.

#### 5.4.1.2 Recuento Heterotrófico

En el agua que alimentaba a cada una de las unidades del Grupo IV se observó que el recuento heterotrófico estaba muy por debajo del límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana. (Ver gráfico N ° 64).

Figura N° 64



#### 5.4.1.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua que alimentaba a las unidades del grupo IV no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

## 5.4.2 Agua Almacenada

### 5.4.2.1 Grupo Coliforme

La presencia o ausencia de manera cualitativa y cuantitativa de coliformes totales y termotolerantes en los reservorios que conforman el grupo IV se aprecian en las figuras N° 65 y 66.

Figura N°65

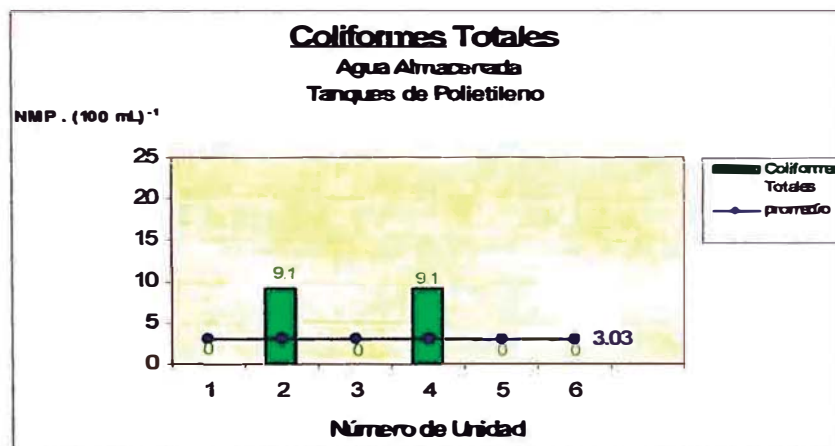
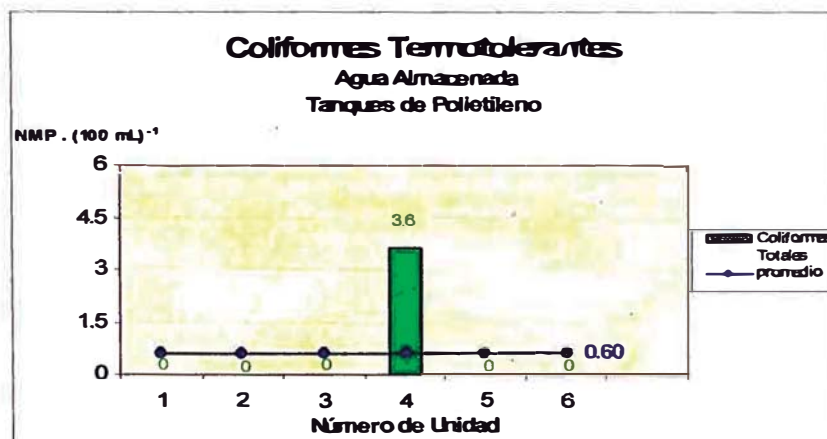


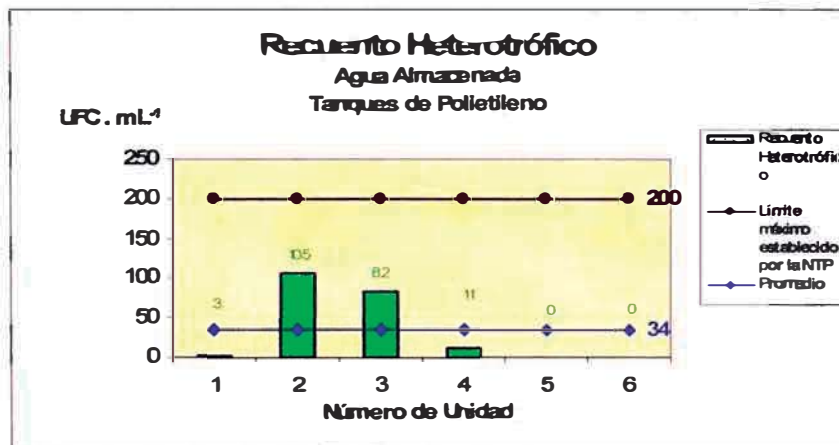
Figura N° 66



### 5.4.2.2 Recuento Heterotrófico

En el agua almacenada de cada una de las unidades del grupo IV se observó que el recuento heterotrófico estaba muy por debajo del límite máximo establecido por la Norma Técnica Peruana. (Ver figura N° 67).

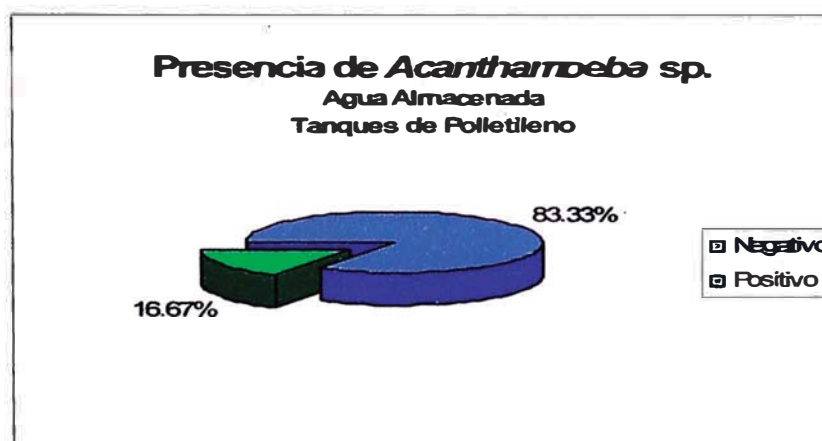
Figura N° 67



### 5.4.2.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua almacenada de las unidades del Grupo IV se observó la presencia de *Acanthamoeba* sp. en una de ellas, lo que representa el 16.67% del total. (Ver figura N° 68)

Figura N° 68

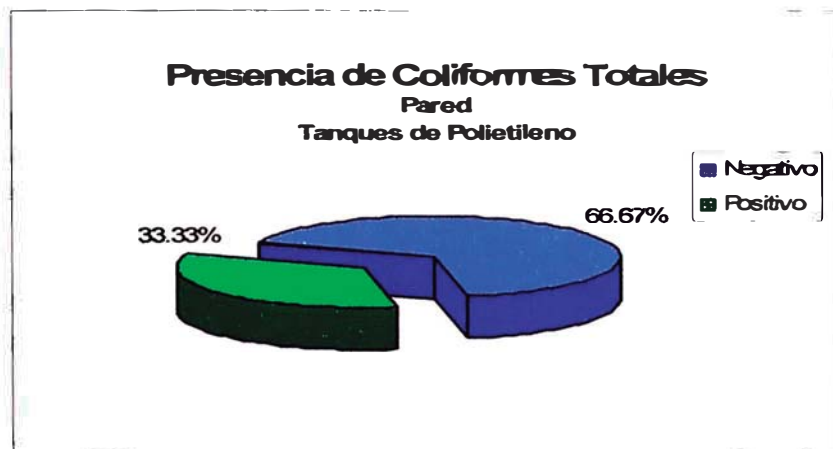


### 5.4.3 Pared

#### 5.4.3.1 Grupo Coliforme

En las paredes de las unidades del Grupo IV se observó la presencia sólo de Coliformes Totales según la figura N° 69:

Figura N° 69



#### 5.4.3.2 *Acanthamoeba* sp.

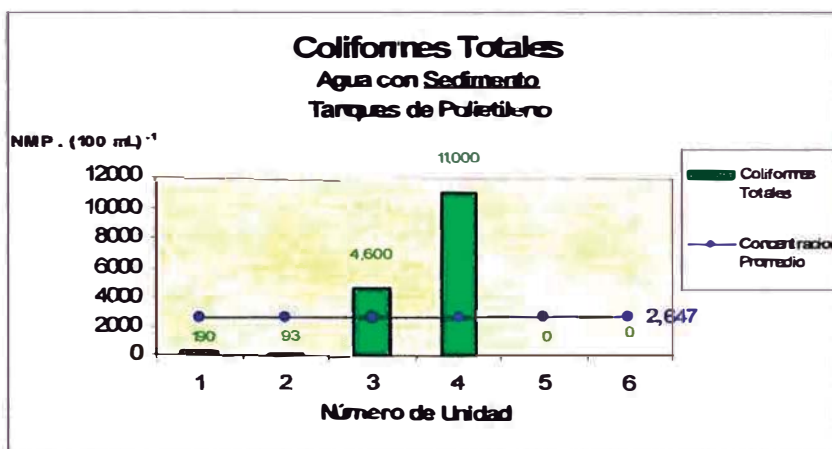
En las paredes de las unidades del Grupo IV no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

### 5.4.4 Sedimento

#### 5.4.4.1 Grupo Coliforme

En el sedimento de las unidades del Grupo IV se observó sólo la presencia de Coliformes Totales, los cuales se aprecian de manera cuantitativa en la figura N°70:

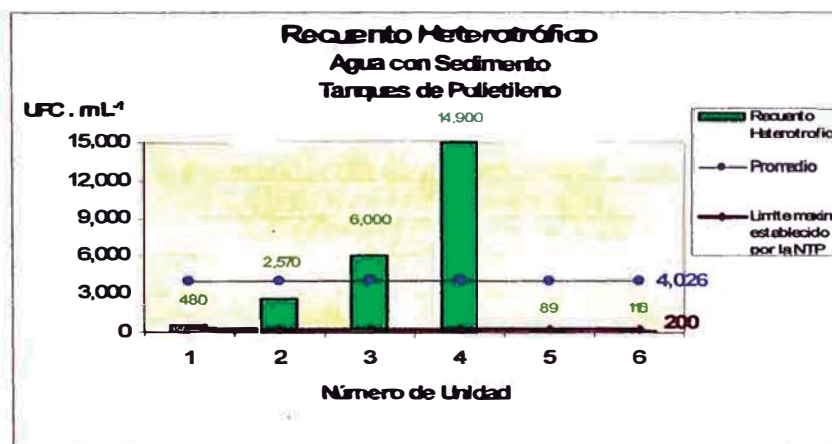
Figura N° 70



#### 5.4.4.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico en los sedimentos de las unidades del Grupo IV se aprecia en la figura N° 71:

Figura N° 71

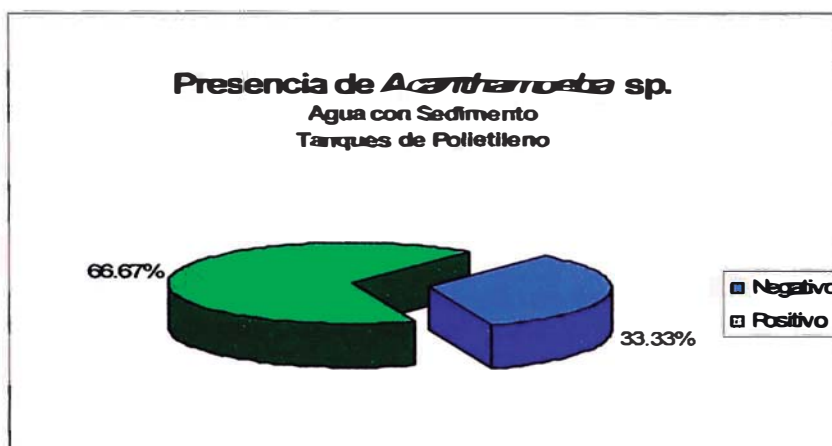


#### 5.4.4.3 Acanthamoeba sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en los sedimentos de las unidades del Grupo IV se aprecia en la figura N° 72:



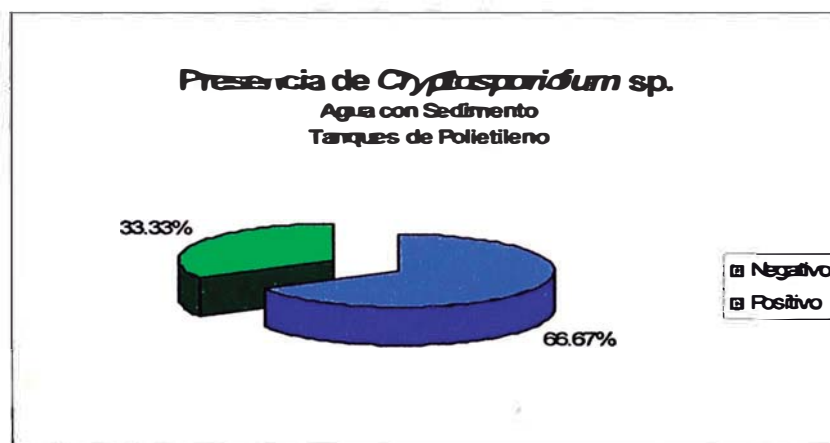
Figura N° 72



#### 5.4.4.4 *Cryptosporidium* sp.

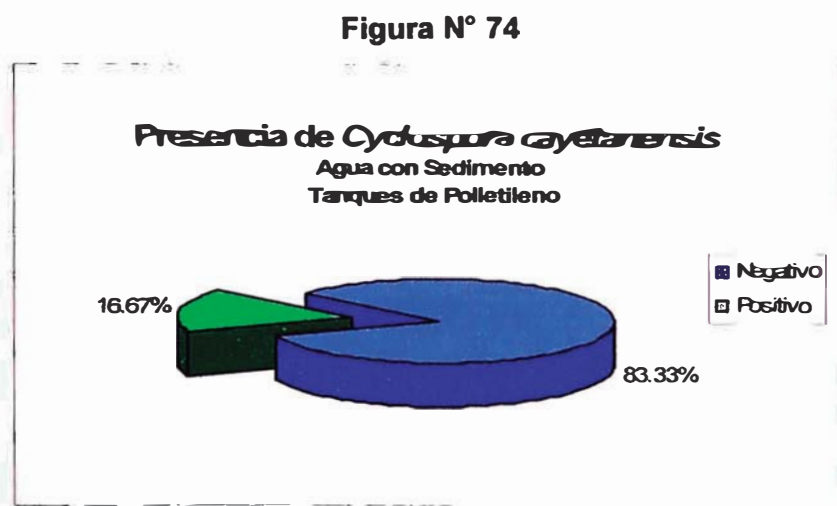
La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las unidades del Grupo IV se aprecia en la figura N° 73:

Figura N° 73



#### 5.4.4.4 *Cyclospora cayetanensis*

La presencia de *Cyclospora cayetanensis* en los sedimentos de las unidades del Grupo IV se aprecia en la figura N° 74:



**ANEXO VI**

**RESULTADOS DEL GRUPO V:  
CISTERNAS**

## 5.5 Resultados Grupo V (Cisternas)

### 5.5.1 Agua que Alimenta a la Unidad

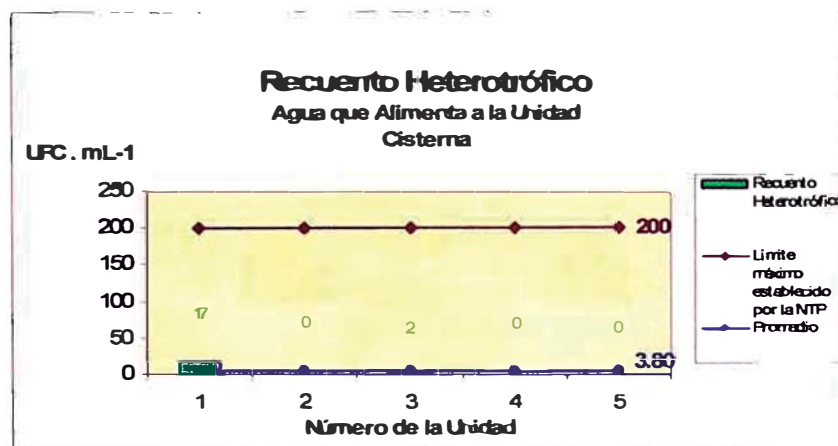
#### 5.5.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo V no hubo presencia de coliformes totales ni termotolerantes.

#### 5.5.1.2 Recuento Heterotrófico

El resultado del recuento heterotrófico del agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 75:

Figura N° 75



#### 5.5.1.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua que alimenta a las unidades en el grupo V no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

## 5.5.2 Agua Almacenada

### 5.5.2.1 Grupo Coliforme

En el agua almacenada de las unidades del grupo V se observó la presencia del grupo coliformes en la unidad número 1. (Ver figuras N° 76 y N° 77)

Figuras N° 76

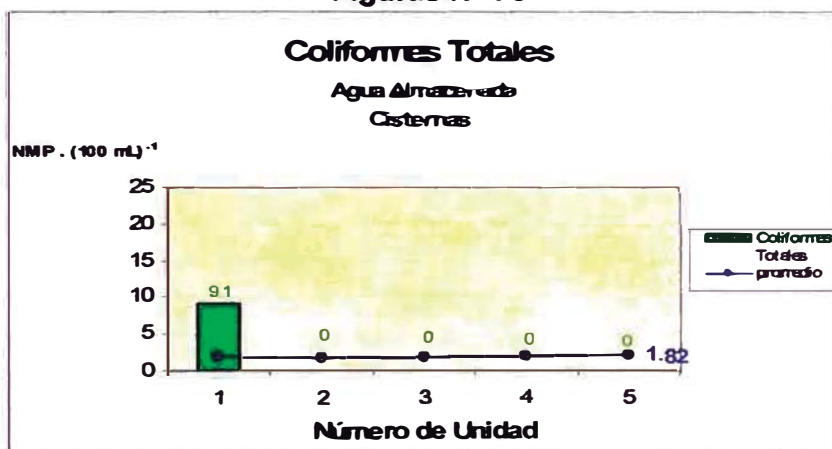
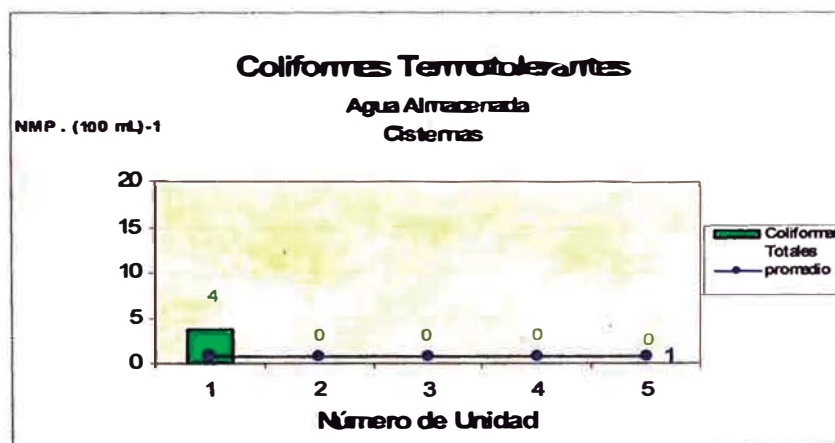


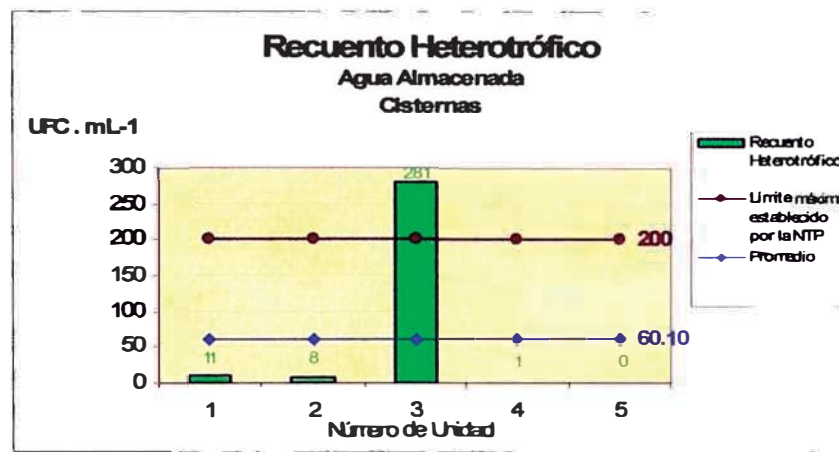
Figura N° 77



### 5.5.2.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico del agua almacenada de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 78:

Figura N° 78



### 5.5.2.3 *Acanthamoeba* sp.

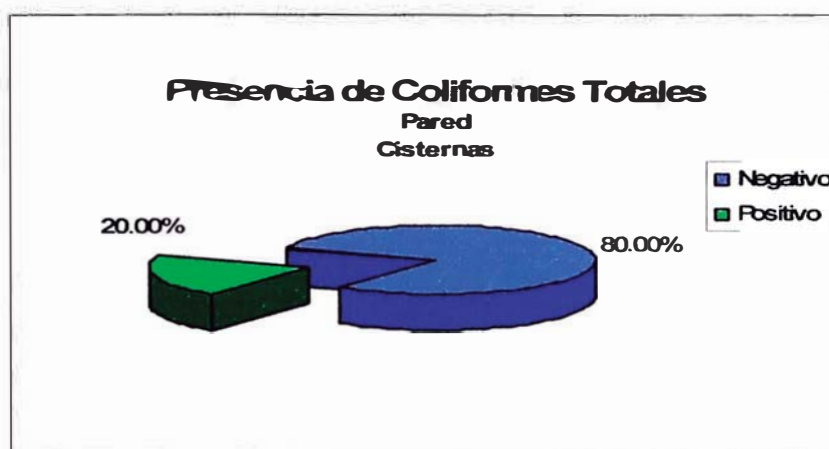
En el agua almacenada de las unidades del Grupo V no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

### 5.5.3 Pared

#### 5.5.3.1 Grupo Coliforme

En la pared de las unidades del grupo V se observó la presencia de coliformes totales según la figura N° 79:

Figura N° 79



### 5.5.3.2 *Acanthamoeba* sp.

En las paredes de las unidades del Grupo V no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

### 5.5.4 Sedimento

#### 5.5.4.1 Grupo Coliforme

En el agua con sedimento de las unidades del Grupo V la presencia del grupo coliforme es variable apreciándose esto en las figuras N° 80 y 81

Figura N° 80

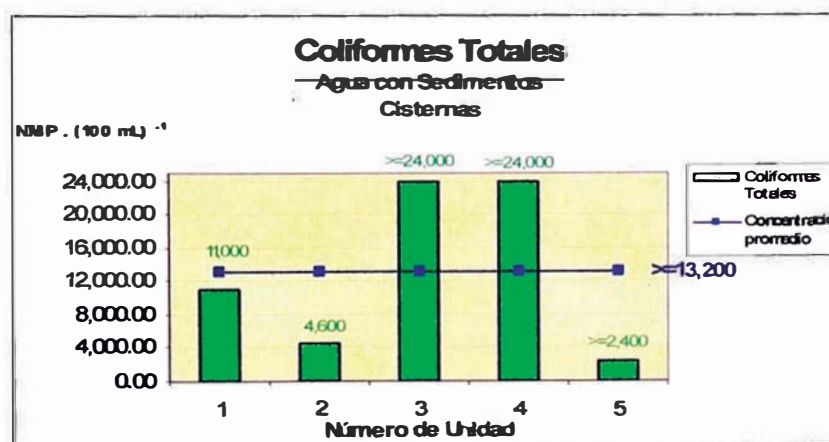
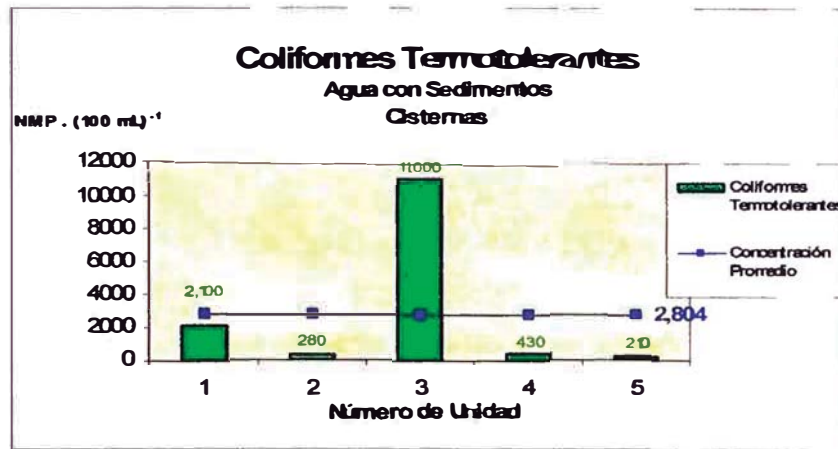


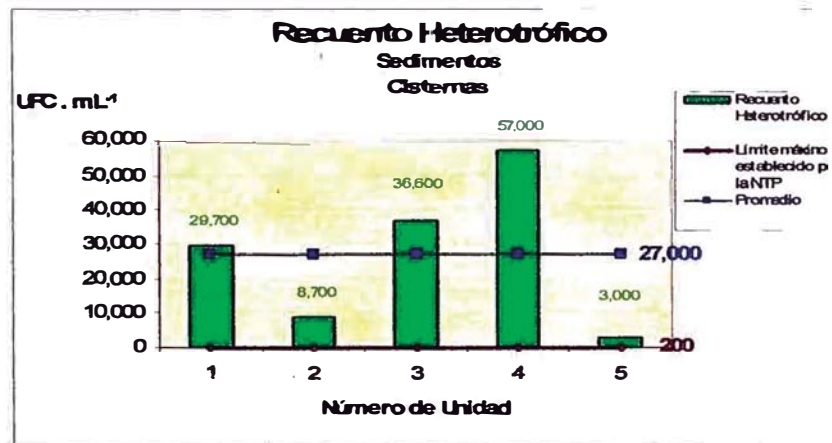
Figura N° 81



### 5.5.4.2 Recuento Heterotrófico

El recuento heterotrófico en el agua con sedimentos de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 82

Figura N° 82

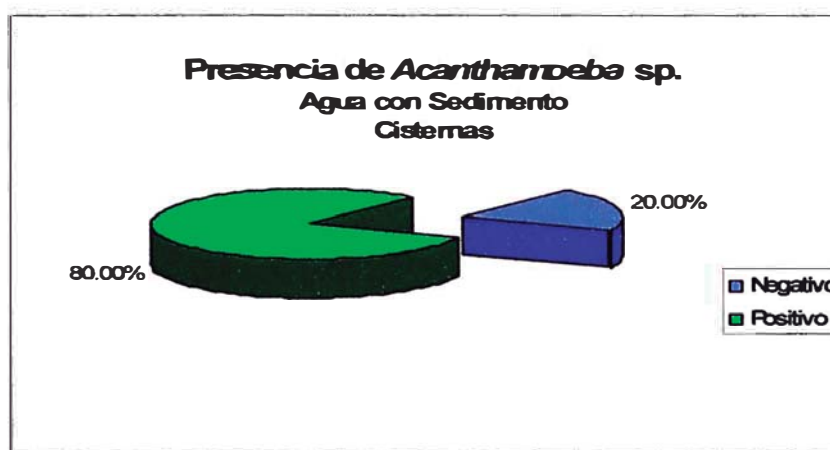




### 5.5.4.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua con sedimento de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 83

Figura N° 83



### 5.5.4.4 *Cryptosporidium* sp.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 84

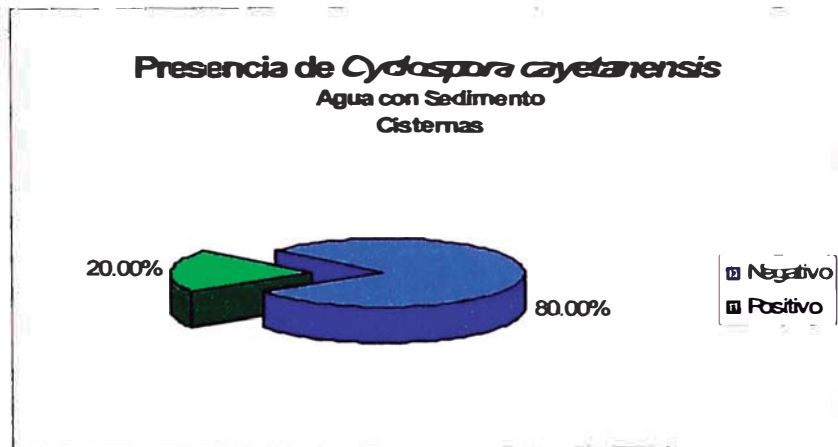
Figura N° 84



#### 5.5.4.4 *Cyclospora cayetanensis*

La presencia de *Cyclospora cayetanensis* en el agua con sedimento de las unidades del grupo V se aprecia en la figura N° 85:

Figura N° 85



## **ANEXO VII**

### **RESULTADOS DEL GRUPO VI: TANQUES DE LAS CISTERNAS**

## 5.6 Resultados Grupo VI (Tanques de las cisternas)

### 5.6.1 Agua que Alimenta a la Unidad

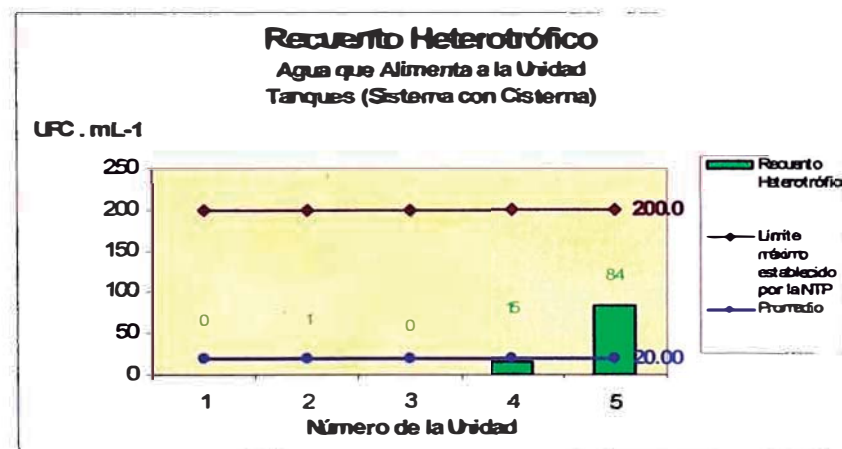
#### 5.6.1.1 Grupo Coliforme

En el agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo VI no hubo presencia de coliformes totales ni termotolerantes.

#### 5.6.1.2 Recuento Heterotrófico

El resultado del recuento heterotrófico del agua que alimentaba a cada una de las unidades del grupo VI se aprecia en la figura N° 86.

Figura N° 86



#### 5.6.1.3 *Acanthamoeba* sp.

En el agua que alimenta a las unidades en el grupo VI no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

### 5.6.2 Agua Almacenada

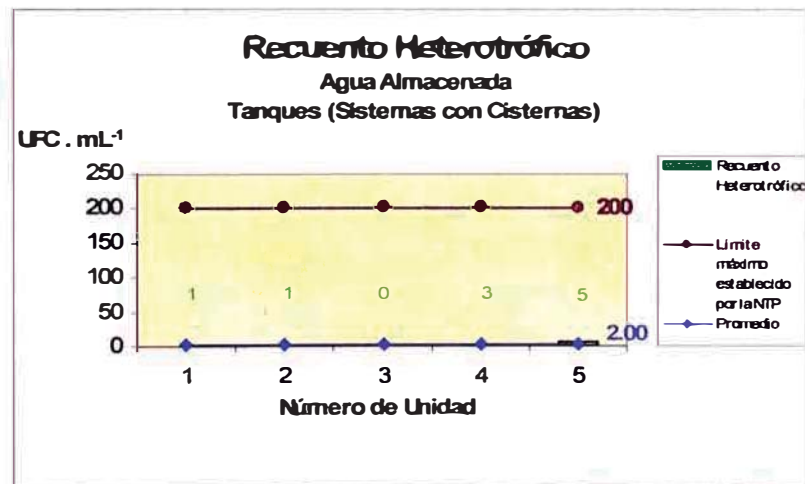
### 5.6.2.1 Grupo Coliforme

En el agua almacenada de las unidades del grupo VI no se observó la presencia del grupo coliformes en ninguna de las unidades.

### 5.6.2.2 Recuento Heterotrófico

El Recuento Heterotrófico del agua almacenada de las unidades del grupo VI se aprecia en la figura N° 87:

Figura N° 87



### 5.6.2.3 Acanthamoeba sp.

En el agua que alimenta a las unidades en el grupo VI no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

## 5.6.3 Pared

### 5.6.3.1 Grupo Coliforme

En la pared de las unidades del grupo VI no hubo presencia del grupo coliforme.

### 5.6.3.2 *Acanthamoeba* sp.

En el agua que alimenta a las unidades en el grupo VI no hubo presencia de *Acanthamoeba* sp.

## 5.6.4 Sedimento

### 5.6.4.1 Grupo Coliforme

En el agua con sedimento de las unidades del Grupo VI la presencia del grupo coliforme es variable apreciándose esto en las figuras N° 88 y 89

Figura N° 88

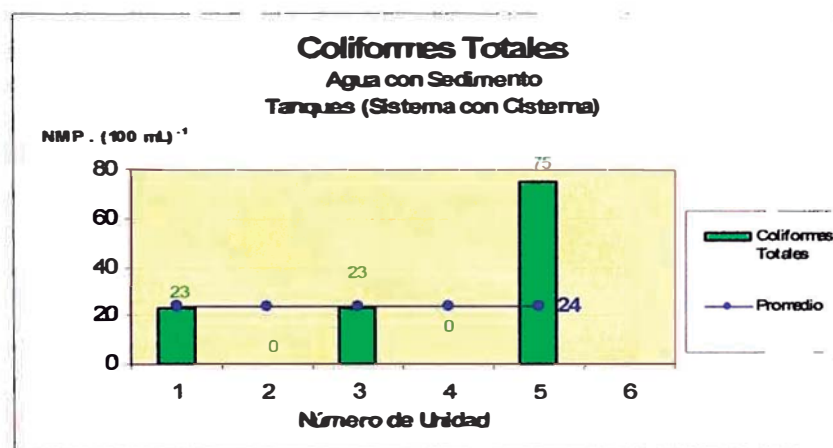
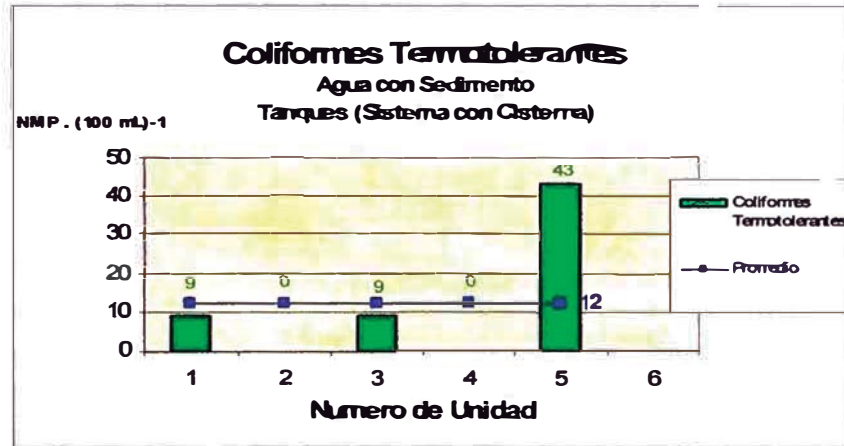


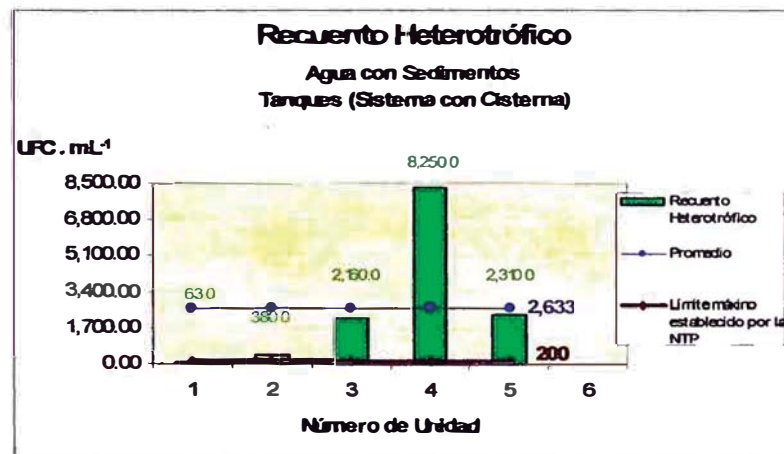
Figura N°89



#### 5.6.4.2 Recuento Heterotrófico

El recuento heterotrófico en el agua con sedimentos de las unidades del grupo VI se aprecia en la figura N° 90

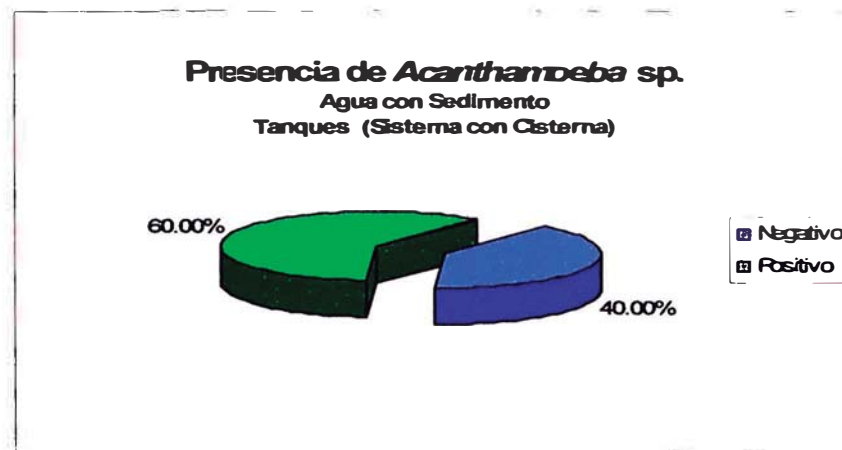
Figura N° 90



### 5.6.4.3 *Acanthamoeba* sp.

La presencia de *Acanthamoeba* sp. en el agua con sedimento de las unidades del grupo VI se aprecia en la figura N° 91

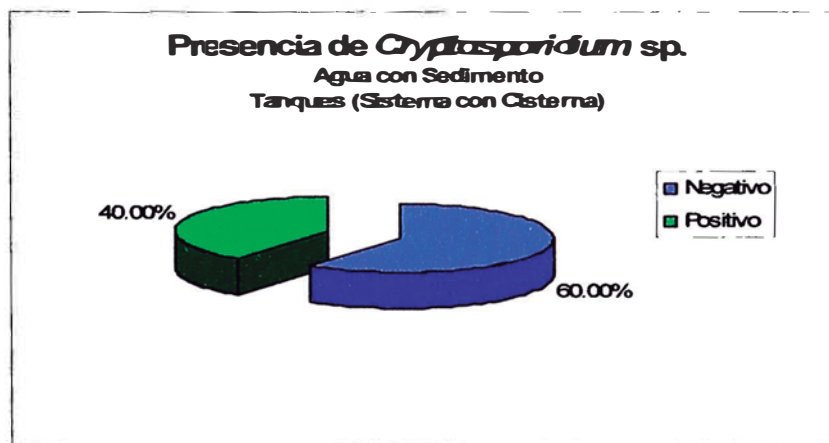
Figura N° 91



### 5.6.4.4 *Cryptosporidium* sp.

La presencia de *Cryptosporidium* sp. en los sedimentos de las unidades del grupo VI se aprecia en la figura N° 92

Figura N° 92





#### **5.6.4.4 *Cyclospora cayetanensis***

En el agua con sedimento de las unidades del grupo VI no hubo presencia de *Cyclospora cayetanensis*.

**ANEXO VIII**

**FICHA DE EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA**

Tabla N° 7

**FICHA DE EVALUACION HIGIENICO SANITARIA**

Nombre del Propietario			
Dirección			
Tipo de Inmueble	Unifamiliar		Multifamiliar
	Número de Personas		Fecha de Evaluación
Tipo de Unidad		Hora de Evaluación	
Número de Unidades		Consumo promedio por mes	
Tanque		Tiempo aproximado sin mantenimiento	
Cisterna			

Tipo de Unidad		Cisterna	Tanque Elevado	
Ubicación				
Acceso				
Material	Asbesto Cemento	Poliétileno	Fibra de Vidrio	Concreto
Tapa Hermética	Si	No	Temperatura	
Tubería de purga	Si	No	Estado de Conservación	
Tubería de Rebose	Si (Crux. Direct.)	No	Cloro Residual	
	Si (Crux. Indirect.)		Número de Muestras	

Estado Físico Sanitario en la Unidad				
Insectos	Sarro	Algas	Excremento Aves	Roedores
Sedimentos				
Otros (Especificar) →				

Observaciones

Tipo de Unidad		Cisterna	Tanque Elevado	
Ubicación				
Acceso				
Material	Asbesto Cemento	Poliétileno	Fibra de Vidrio	Concreto
Tapa Hermética	Si	No	Temperatura	
Tubería de purga	Si	No	Estado de Conservación	
Tubería de Rebose	Si (Crux. Direct.)	No	Cloro Residual	
	Si (Crux. Indirect.)		Número de Muestras	

Estado Físico Sanitario en la Unidad				
Insectos	Sarro	Algas	Excremento Aves	Roedores
Sedimentos				
Otros (Especificar) →				

Observaciones

**ANEXO IX**

**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE ANÁLISIS  
MICROBIOLÓGICO**

Tabla N° 8

**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

<b>Código de Muestra</b>		<b>Fecha</b>	
<b>Punto de Muestreo</b>	Agua Almacenada	<b>Hora</b>	

<b>Grupo Coliforme</b>				
Volumen de Muestra (ml)	Número de Tubos Positivos			
	10	1	0.1	0.01
<b>Prueba Presuntiva</b> Medio de Cultivo: Caldo Lauril Triptosa				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Totales</b> Medio de Cultivo: Caldo Verde Bilis Brillante				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Termotolerantes</b> Medio de Cultivo: Caldo EC				

<b>Recuento Heterotrófico</b>		
Volumen de Muestra (ml)	N° Colonias	Promedio
1		
0.1		
0.01		

<b>Resultados</b>	
Coliformes Totales (NMP/100 ml)	
Coliformes Termotolerantes (NMP/100ml)	
Recuento de Bacterias Heterotróficas (ufc/ml)	
Acanthamoeba Spp. (positivo, negativo)	

<b>Código de Muestra</b>		<b>Fecha</b>	
<b>Punto de Muestreo</b>	Agua que Alimenta a la Unidad	<b>Hora</b>	

<b>Grupo Coliforme</b>				
Volumen de Muestra (ml)	Número de Tubos Positivos			
	10	1	0.1	0.01
<b>Prueba Presuntiva</b> Medio de Cultivo: Caldo Lauril Triptosa				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Totales</b> Medio de Cultivo: Caldo Verde Bilis Brillante				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Termotolerantes</b> Medio de Cultivo: Caldo EC				

<b>Recuento Heterotrófico</b>		
Volumen de Muestra (ml)	N° Colonias	Promedio
1		
0.1		
0.01		

<b>Resultados</b>	
Coliformes Totales (NMP/100 ml)	
Coliformes Termotolerantes (NMP/100ml)	
Recuento de Bacterias Heterotróficas (ufc/ml)	
Acanthamoeba Spp. (positivo, negativo)	

Tabla N° 9

**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

<b>Código de Muestra</b>		<b>Fecha</b>	
<b>Punto de Muestreo</b>	<b>Muestra de Pared</b>	<b>Hora</b>	
<b>Grupo Coliforme</b>			
	<b>Resultado (Positivo, Negativo)</b>		
<b>Prueba Presuntiva</b> Medio de Cultivo: Caldo Lauril Triptosa			
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Totales</b> Medio de Cultivo: Caldo Verde Bilis Brillante			
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Termotolerantes</b> Medio de Cultivo: Caldo EC			
<b>Resultados</b>			
<b>Coliformes Totales</b>			
<b>Coliformes Termotolerantes</b>			
<b>Acanthamoeba Spp. (Positivo, negativo)*</b>			

<b>Código de Muestra</b>		<b>Fecha</b>		
<b>Punto de Muestreo</b>	<b>Agua con Sedimento, Sedimento</b>	<b>Hora</b>		
<b>Grupo Coliforme</b>				
	<b>Número de Tubos Positivos</b>			
<b>Volumen de Muestra (ml)</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>0.1</b>	<b>0.01</b>
<b>Prueba Presuntiva</b> Medio de Cultivo: Caldo Lauril Triptosa				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Totales</b> Medio de Cultivo: Caldo Verde Bilis Brillante				
<b>Prueba Confirmativa Coliformes Termotolerantes</b> Medio de Cultivo: Caldo EC				
<b>Recuento Heterotrófico</b>				
<b>Volumen de Muestra (ml)</b>	<b>N° Colonias</b>		<b>Promedio</b>	
1				
0.1				
0.01				
<b>Resultados</b>				
<b>Coliformes Totales (NMP/100 ml)</b>				
<b>Coliformes Termotolerantes (NMP/100ml)</b>				
<b>Recuento de Bacterias Heterotróficas (ufc/ml)</b>				
<b>Acanthamoeba Spp. (positivo, negativo)</b>				
<b>Cryptosporidium Spp. (positivo, negativo)</b>				
<b>Cyclospora Cayetanensis (positivo, negativo)</b>				
<b>Algas</b>				

<b>Observaciones</b>

## **ANEXO X**

### **MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS**

## MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

### 1) CALDO LAURIL TRIPTOSA

➤ Triptosa	20.00 g
➤ Lactosa	5.00 g
➤ Cloruro de sodio	5.00 g
➤ Fosfato dibásico de potasio	2.75 g
➤ Fosfato monobásico de potasio	2.75 g
➤ Lauril-sulfato de sodio	0.10 g
➤ Agua destilada	1 L

Autoclavar por 15 minutos a 121 ° C

### 2) CALDO LACTOSADO CON BILIS Y VERDE BRILLANTE (BRILA)

➤ Peptona	10.00 g
➤ Lactosa	10.00 g
➤ Bilis bacteriológica de buey (Oxgall)	20.00 g
➤ Verde Brillante	13.30 g
➤ Agua destilada	1 L

Autoclavar por 15 minutos a 121 ° C



### 3) CALDO EC

➤ Peptona de la caseína	20.00 g
➤ Lactosa	5.00 g
➤ Cloruro de sodio	5.00 g
➤ Fosfato dibásico de potasio	4.00 g
➤ Fosfato monobásico de potasio	1.50 g
➤ Sales biliares # 3	1.50 g
➤ Agua destilada	1 L

Autoclavar por 15 minutos a 121 ° C

### 4) AGAR NUTRITIVO

➤ Peptona de la carne	5.00 g
➤ Extracto de carne	3.00 g
➤ Agar-Agar	12.00 g
➤ Agua destilada	1 L

Autoclavar por 15 minutos a 121 ° C

### 5) AGUA DE DILUCIÓN

➤ Peptona	1.00 g
➤ Agua destilada	1 L

Autoclavar por 15 minutos a 121 ° C

## 6) AGAR - AGAR

- |                  |        |
|------------------|--------|
| ➤ Agar-Agar      | 10.0 g |
| ➤ Agua destilada | 1 L    |

Autoclavar por 15 minutos a 121° C.

## 7) CALDO TRIPTICASA DE SOYA (TSB)

- |                               |         |
|-------------------------------|---------|
| ➤ Peptona de la caseína       | 17.00 g |
| ➤ Peptona de la soya          | 3.00 g  |
| ➤ Cloruro de sodio            | 5.00 g  |
| ➤ Fosfato dibásico de potasio | 2.50 g  |
| ➤ Glucosa (Dextrosa)          | 2.50 g  |
| ➤ Agua destilada              | 1 L     |

## 8) SOLUCIÓN DE SHEATHER SUGAR

- |                  |           |
|------------------|-----------|
| ➤ Azúcar blanca  | 500.00 g  |
| ➤ Agua destilada | 320.00 mL |
| ➤ Fenol          | 6.50 mL   |
| ➤ Tween ® 80     | 9.00 mL   |

## 9) FUCSINA FENICADA

- |                           |          |
|---------------------------|----------|
| ➤ Fucsina básica          | 4.00 g   |
| ➤ Fenol                   | 8.00 g   |
| ➤ Alcohol etílico al 95 % | 20.00 mL |

- Tween ® 80 1.00 mL
- Agua destilada 80.00 mL

Se disuelve la fucsina con alcohol, mezclar con fenol y adicionar agua destilada.

#### 10) AZUL DE METILENO

- Azul de metileno 1.40 g
- Agua destilada 100.00 mL

#### 11) SOLUCIÓN DE ALCOHOL ÁCIDO 3%

- Ácido clorhídrico concentrado 3.00 mL
- Etanol al 95% 97.00 mL

#### 12) SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE SODIO 4%

- Hidróxido de sodio 4.00 g
- Agua destilada 100.00 mL

#### 13) ALCOHOL METILICO 99.7%

- Alcohol metílico absoluto 999.70 mL

- Agua destilada 0.30 mL

#### 14) TIOSULFATO DE SODIO AL 10 % (Solución decolorante)

- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$  10.00 g
- Agua destilada 100.00 mL

#### 15) SOLUCIÓN SULFOCRÓMICA

- Bicromato de potasio 100.00 g
- Ácido sulfúrico 100.00 mL
- Agua destilada 1000.00 mL

Disolver el bicromato de potasio en agua destilada sobre un recipiente conteniendo agua de caño para enfriar, añadir el ácido poco a poco y agitar continuamente. Nunca añadir agua al ácido.

## **ANEXO XI**

**NMP Y LÍMITES DE CONFIANZA DEL 95% PARA DIVERSAS  
COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS, CUANDO  
SE USAN TRES TUBOS DE CADA DILUCIÓN CON  
VOLÚMENES DE 10, 1 Y 0.1 ML**

Tabla N° 10

**NMP Y LÍMITES DE CONFIANZA DEL 95% PARA DIVERSAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS, CUANDO SE USAN TRES TUBOS DE CADA DILUCIÓN CON VOLÚMENES DE 10,1 Y 0.1 ML**

Número de tubos positivos de :			NMP por 100 ml	Límites de Confianza 95%	
Tres tubos de 10 ml	Tres Tubos de 1 ml	Tres Tubos de 0.1 ml		Inferior	Superior
0	0	0	< 3	0	0
0	0	1	3	1	9
0	0	2	6	2	24
0	0	3	9	3	36
0	1	0	3	0	13
0	1	1	6.1	2	24
0	1	2	9.2	3	36
0	1	3	12	4	47
0	2	0	6.2	2	24
0	2	1	9.3	3	37
0	2	2	12	4	47
0	2	3	16	5	63
0	3	0	9.4	3	37
0	3	1	13	4	51
0	3	2	16	5	63
0	3	3	19	6	75
1	0	0	3.6	0	20
1	0	1	7.2	1	21
1	0	2	11	3	43
1	0	3	15	5	59
1	1	0	7.3	1	23
1	1	1	11	3	43
1	1	2	15	5	59
1	1	3	19	6	75
1	2	0	11	3	43
1	2	1	15	3	36
1	2	2	20	6	79
1	2	3	24	7	95
1	3	0	16	5	63
1	3	1	20	6	79
1	3	2	24	7	95
1	3	3	29	9	115
2	0	0	9.1	1	36
2	0	1	14	3	37
2	0	2	20	6	79

Tabla N° 11

Número de tubos positivos de :			NMP por 100 ml	Límites de Confianza 95%	
Tres tubos de 10 ml	Tres Tubos de 1 ml	Tres Tubos de 0.1 ml		Inferior	Superior
2	0	3	26		103
2	1	0	15	2.8	44
2	1	1	20	6	79
2	1	2	27	8	107
2	1	3	34	11	134
2	2	0	21	3.5	47
2	2	1	28	9	111
2	2	2	35	11	138
2	2	3	42	13	166
2	3	0	29	9	115
2	3	1	36	11	142
2	3	2	44	14	174
2	3	3	53	16	209
3	0	0	23	3.5	120
3	0	1	39	6.9	130
3	0	2	64	20	253
3	0	3	95	29	375
3	1	0	43	7.1	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	1	3	160	50	632
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	2	3	290	90	1146
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800
3	3	3	>=2400	460	

**ANEXO XII**

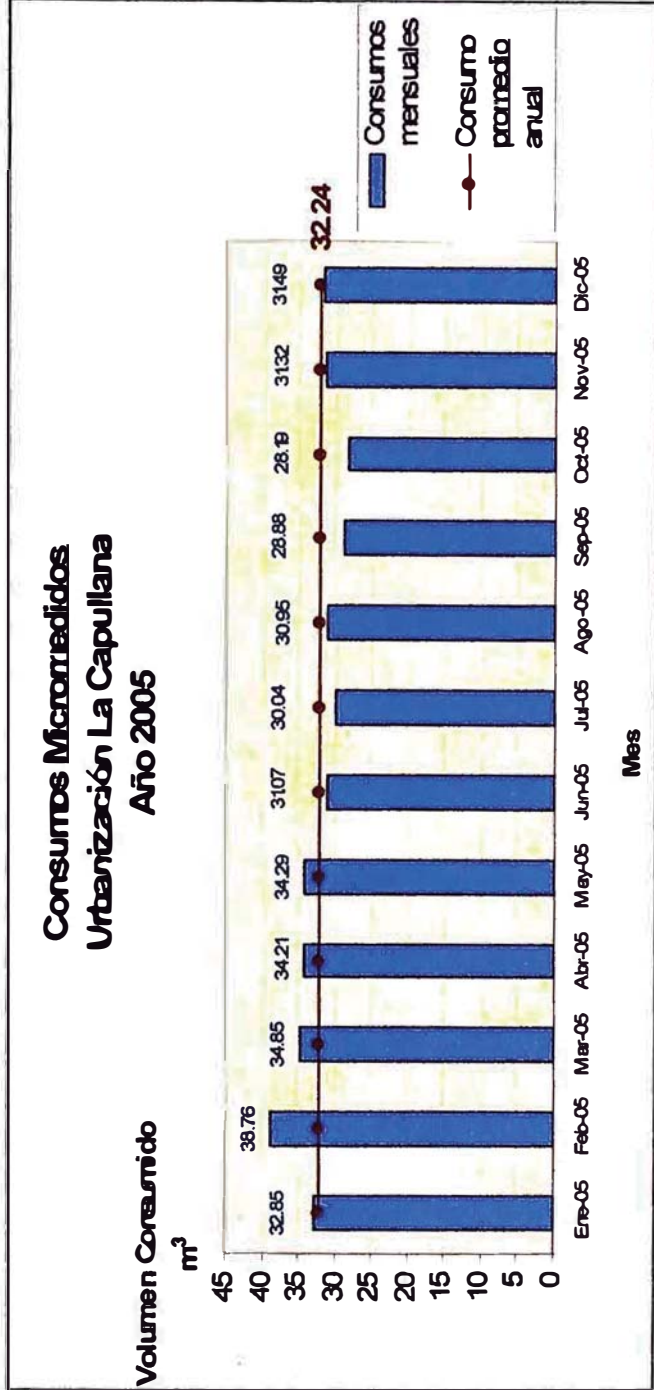
**CONSUMOS MEDIDOS (M3 / MES) URB. LA CAPULLANA –  
DISTRITO DE SANTIAGO DE SURCO.**



**Urbanización La Capullana Distrito de Santiago de Surco  
Consumos Micromedidos m<sup>3</sup>/mes**

	Ene-05	Feb-05	Mar-05	Abr-05	May-05	Jun-05	Jul-05	Ago-05	Sep-05	Oct-05	Nov-05	Dic-05
Consumo m <sup>3</sup> /mes	32.85	38.78	34.85	34.21	34.29	31.07	30.04	30.95	28.88	28.19	31.32	31.49
Promedio mensual												

Fuente : SEDAPAL



## **ANEXO XIII**

### **CÓDIGOS DE MUESTRAS**

## Códigos de Muestra

**Tabla N° 12**

TANQUES DE FIBRA DE VIDRIO				
Número	Dirección	Código de Unidad	Muestras	Código de Muestra
1	Calle Los Faiques Mz H Lote 53	TFV-1	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-1-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-1-2
			3) Muestra de Pared	TFV-1-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-1-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-1-5
2	Av. Ayacucho Mz C Lote 55	TFV-2	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-2-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-2-2
			3) Muestra de Pared	TFV-2-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-2-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-2-5
3	Calle Los Tamarindos Mz B Lote 10	TFV-3	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-3-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-3-2
			3) Muestra de Pared	TFV-3-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-3-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-3-5
4	Calle Los Tamarindos Mz A Lote 30	TFV-4	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-4-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-4-2
			3) Muestra de Pared	TFV-4-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-4-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-4-5
5	Calle Los Faiques Mz H Lote 55	TFV-5	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-5-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-5-2
			3) Muestra de Pared	TFV-5-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-5-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-5-5
6	Calle Los Tamarindos Mz K Lote 45	TFV-6	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-6-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-6-2
			3) Muestra de Pared	TFV-6-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-6-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-6-5
7	Avenida Vicus Mz L Lote 7	TFV-7	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TFV-7-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TFV-7-2
			3) Muestra de Pared	TFV-7-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TFV-7-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TFV-7-5

TFV: Tanque de Fibra de Vidrio

**Tabla N° 13**

TANQUES DE ASBESTO CEMENTO				
Número	Dirección	Código de Unidad	Muestras	Código de Muestra
1	Calle Los Faiques Mz H Lote 76	TAC-1	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-1-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-1-2
			3) Muestra de Pared	TAC-1-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-1-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-1-5
2	Calle Tangarará Mz H Lote 67	TAC-2	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-2-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-2-2
			3) Muestra de Pared	TAC-2-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-2-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-2-5
3	Calle Tangarará Mz F Lote 35	TAC-3	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-3-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-3-2
			3) Muestra de Pared	TAC-3-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-3-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-3-5
4	Calle Los Tamarindos Mz A Lote 28	TAC-4	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-4-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-4-2
			3) Muestra de Pared	TAC-4-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-4-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-4-5
5	Calle Los Tarrindos Mz F Lote 19	TAC-5	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-5-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-5-2
			3) Muestra de Pared	TAC-5-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-5-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-5-5
6	Avenida Vicus Mz I Lote 62	TAC-6	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-6-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-6-2
			3) Muestra de Pared	TAC-6-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-6-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-6-5
7	Calle Los Faiques Mz K Lote 18	TAC-7	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TAC-7-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TAC-7-2
			3) Muestra de Pared	TAC-7-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TAC-7-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TAC-7-5

TAC: Tanque de Asbesto Cemento

**Tablas N° 14 y 15**

TANQUES DE CONCRETO				
Número	Dirección	Código de Unidad	Muestras	Código de Muestra
1	Calle Los Tamarindos Mz C Lote 69	TC-1	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TC-1-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TC-1-2
			3) Muestra de Pared	TC-1-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TC-1-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TC-1-5
2	Calle Los Faiques Mz H Lote 19	TC-2	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TC-2-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TC-2-2
			3) Muestra de Pared	TC-2-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TC-2-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TC-2-5
3	Av. Paseo de La República Mz O Lote 24	TC-3	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TC-3-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TC-3-2
			3) Muestra de Pared	TC-3-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TC-3-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TC-3-5
4	Calle Los Lancones Mz O Lote 28	TC-4	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TC-4-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TC-4-2
			3) Muestra de Pared	TC-4-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TC-4-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TC-4-5

TAC: Tanque de Concreto

TANQUES DE POLIETILENO				
Número	Dirección	Código de Unidad	Muestras	Código de Muestra
1	Calle Los Tamarindos Mz H Lote 42	TP-1	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-1-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-1-2
			3) Muestra de Pared	TP-1-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-1-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-1-5
2	Calle Tangarará Mz F Lote 30	TP-2	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-2-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-2-2
			3) Muestra de Pared	TP-2-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-2-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-2-5
3	Calle Los Faiques Mz K Lote 61	TP-3	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-3-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-3-2
			3) Muestra de Pared	TP-3-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-3-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-3-5
4	Calle Los Tamarindos Mz H Lote 12	TP-4	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-4-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-4-2
			3) Muestra de Pared	TP-4-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-4-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-4-5
5	Av. Los Vicus Mz I Lote 46	TP-5	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-5-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-5-2
			3) Muestra de Pared	TP-5-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-5-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-5-5
6	Calle Tangarará Mz C Lote 66	TP-6	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	TP-6-1
			2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	TP-6-2
			3) Muestra de Pared	TP-6-3
			4) Muestra de Agua con Sedimento	TP-6-4
			5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	TP-6-5

TP: Tanque de Polietileno

Tabla N° 16

CISTERNA - TANQUE					
Número	Dirección	Código de Unidad	Subcódigo	Muestras	Código de Muestra
1	Calle Los Tamarindos Mz C Lote 36	CT-1	CT-1-C (CISTERNA)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-1-C-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-1-C-2
				3) Muestra de Pared	CT-1-C-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-1-C-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-1-C-5
			CT-1-T (TANQUE ELEVADO)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-1-T-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-1-T-2
				3) Muestra de Pared	CT-1-T-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-1-T-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-1-T-5
2	Av. Ayacucho Mz J - 10	CT-2	CT-2-C (CISTERNA)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-2-C-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-2-C-2
				3) Muestra de Pared	CT-2-C-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-2-C-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-2-C-5
			CT-2-T (TANQUE ELEVADO)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-2-T-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-2-T-2
				3) Muestra de Pared	CT-2-T-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-2-T-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-2-T-5
3	Av Los Tallanes Mz L Lote 38	CT-3	CT-3-C (CISTERNA)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-3-C-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-3-C-2
				3) Muestra de Pared	CT-3-C-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-3-C-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-3-C-5
			CT-3-T (TANQUE ELEVADO)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-3-T-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-3-T-2
				3) Muestra de Pared	CT-3-T-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-3-T-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-3-T-5
4	Av. Ayacucho Mz G Lote 7	CT-4	CT-4-C (CISTERNA)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-4-C-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-4-C-2
				3) Muestra de Pared	CT-4-C-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-4-C-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-4-C-5
			CT-4-T (TANQUE ELEVADO)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-4-T-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-4-T-2
				3) Muestra de Pared	CT-4-T-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-4-T-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-4-T-5
5	Av. Ayacucho Mz C Lote 69	CT-5	CT-5-C (CISTERNA)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-5-C-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-5-C-2
				3) Muestra de Pared	CT-5-C-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-5-C-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-5-C-5
			CT-5-T (TANQUE ELEVADO)	1) Muestra de Agua Almacenada (100 ml)	CT-5-T-1
				2) Muestra de Agua que Alimenta a la Unidad (100 ml)	CT-5-T-2
				3) Muestra de Pared	CT-5-T-3
				4) Muestra de Agua con Sedimento	CT-5-T-4
				5) Muestra de Sedimento (Jeringa de 20 ml)	CT-5-T-5

CT: Cisterna - Tanque

**ANEXO XIV**

**PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO**

## CÁLCULO DEL NÚMERO DE MUESTRAS

Para determinar el número de viviendas con reservorios domésticos operativos a muestrear se definió el nivel de confianza  $(1-\alpha)$  que es la probabilidad de observar un valor de la estadística de prueba y que para efectos del presente estudio fue de 95% por lo que el  $z$  que es la abscisa de la distribución normal asociado a dicho valor porcentual de nivel de confianza le corresponde el valor de 1.96. Otro parámetro considerado es el margen de error de la proporción estimada  $P$  que para efectos del presente estudio fue de 5 %, siendo el  $P$  la proporción de viviendas con reservorios sin mantenimiento y desinfección y  $1-P$  la proporción de viviendas con reservorios con mantenimiento y desinfección que se determinó durante la inscripción al sorteo de limpieza al tener una respuesta positiva de los 118 participantes equivalente al 0.85% del total.

Durante los trabajos de estrategia de intervención en lo referente a su inscripción para el sorteo se les preguntó si sus reservorios se encontraban operativos a lo que se tuvo las respuestas que se presentan en cuadro N°

Tabla N° 17

Tipo de Material del Reservorio	Viviendas Participantes del Sorteo	Respuestas Negativas	% Respuestas Negativas del Total
Fibra de Vidrio	33	2	6%
Asbesto Cemento	32	2	6%
Concreto	5	0	0%
Polietileno	11	0	0%
Cisternas	37	6	14%

Teniendo en cuenta los datos del catastro de reservorios en la zona de la Municipalidad de Surco, se estimó que los reservorios operativos eran los que se presentan en el cuadro N° donde además se determinó su distribución porcentual.



Tabla N° 18

Tipo de Material del Reservorio	Viviendas Según Catastro Municipal	Viviendas con Reservorio Operativo	Distribución
Tanque de Fibra de Vidrio	122	115	27%
Tanque de Asbesto Cemento	133	125	30%
Tanques de Concreto	18	18	4%
Tanques de Polietileno	28	28	7%
Cisterna Tanque Elevado	154	133	32%
Total	455	419	100%

De acuerdo a la estructura presentada en los cuadros anteriores el tamaño de la muestra ( $n$ ) se determinó usando proporciones, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{1}{N}(n_0 - 1)}, \text{ considerando que } n_0 = \frac{z^2 PQ}{d^2}$$

Donde:

- P: Proporción de viviendas con reservorios sin mantenimiento y desinfección (99.15 %)
- Q: Proporción de viviendas con reservorios con mantenimiento y desinfección (0.85%)
- N: Número de viviendas de la zona con reservorios operativos.
- d: Margen de error de la proporción estimada P. Considerando como  $d=0.05$  (5%)
- z: Es la abcisa de la distribución normal asociado al 95% de nivel de confianza,  $z=1.96$ .

Reemplazando los valores se obtiene un  $n_0 = 13$  viviendas de la zona en estudio. Dado que se tienen 419 viviendas de la zona con reservorios

operativos, aplicando la fórmula resulta un tamaño de muestra  $n = 13$  viviendas.

Considerando además un 5% de no respuestas durante la inscripción al sorteo se obtiene que el tamaño muestral final de será de 14 viviendas, de las cuales según la distribución porcentual 4 pertenecen al grupo de los tanques de fibra de vidrio, 4 al grupo de los tanques de asbesto cemento, 1 al grupo de los tanques de concreto, 1 al grupo de los tanques de polietileno y 4 al grupo de las cisternas. Cabe recalcar que se llegaron a muestrear un número mayor de unidades lo que garantiza una mayor confiabilidad de los resultados obtenidos. (ver cuadro N° )

**Tabla N° 19**

<b>Tipo de Material del Reservorio</b>	<b>N° Unidades a Muestrear</b>	<b>N° Unidades Muestreadas</b>
Tanque de Fibra de Vidrio	4	7
Tanque de Asbesto Cemento	4	7
Tanques de Concreto	1	4
Tanques de Polietileno	1	6
Cisterna Tanque Elevado	4	5
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>29</b>

**ANEXO XV**

**CALENDARIO DE LA TOMA DE MUESTRAS**

Tabla N° 17

Calendario de Muestreo (Año 2005)

Enero						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31					

Febrero						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28					

Marzo						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		

Abril						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30

Mayo						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

Junio						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30		

Julio						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30

Agosto						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31			

Setiembre						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	

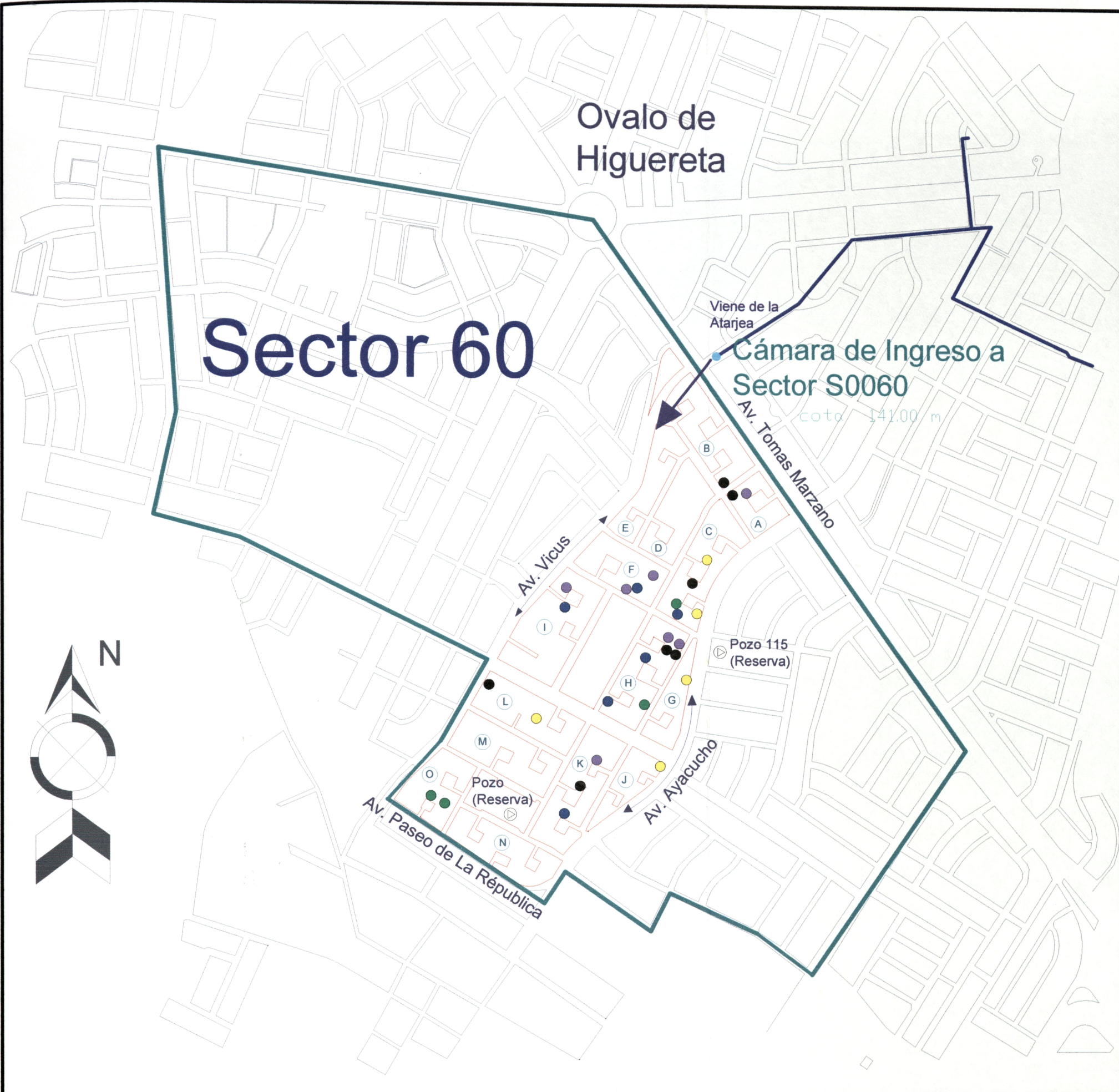
Octubre						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31					

Noviembre						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30			

Diciembre						
Do	Lu	Ma	Mi	Ju	Vi	Sa
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31

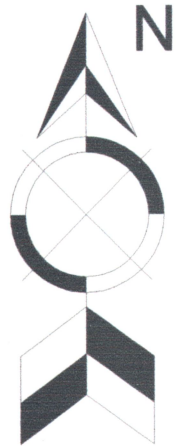
**ANEXO XVI**

**ESQUEMA DEL ÁREA DE INFLUENCIA**



### LEYENDA

- Urbanización La Capullana
- Tubería Matriz Primaria
- Cámara de Ingreso a Sector
- Límite de Sector
- Ⓐ Manzanas de la Urbanización
- Punto de Muestreo de Tanques de Polietileno
- Punto de Muestreo de Tanques de Fibra de Vidrio
- Puntos de Muestreo de Tanques de Asbesto Cemento
- Punto de Muestreo de Tanques Concreto
- Punto de muestreo de Cisternas



Esquema del Área de Influencia del estudio de investigación

**"COLIFORMES, BACTERIAS HETEROTRÓFICAS Y PROTOZOARIOS EMERGENTES EN RESERVORIOS DOMÉSTICOS DE AGUA"**

**ANEXO XVII**

**PANEL FOTOGRÁFICO**

## PANEL FOTOGRÁFICO



Estado fisico interior del tanque elevado  
Se observa gran cantidad de sedimentos  
H-53



Estado fisico interior del tanque elevado.  
Se observa gran cantidad de sedimentos  
F-35



Estado fisico interior del tanque elevado.  
Se observa gran cantidad de Seimentos  
O-24



Estado fisico interior de la cisterna.  
Se observa gran cantidad de sedimentos.  
C-59

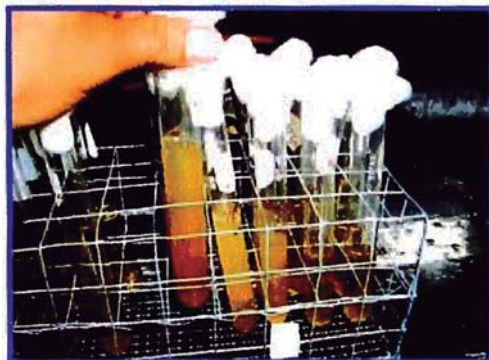


Estado fisico interior de la cisterna.  
Se observa cucarachas Periplaneta americana  
con su defecación y vómito en las paredes  
C-36



Estado fisico interior de la cisterna.  
Se observa gran cantidad de sedimentos  
L-38





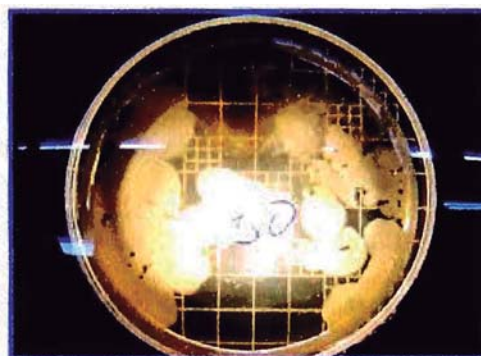
Resultado positivo (fermentación y turbidez) de la muestra de sedimento en la prueba presuntiva para coliforme total es con el método de tubos múltiples.



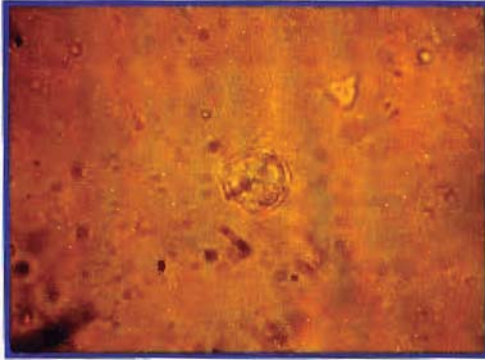
Material este muestreo



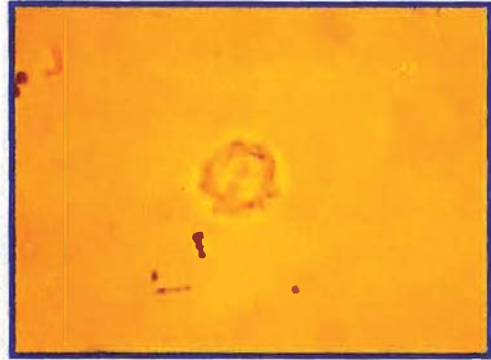
Recuento de coliformo en placa



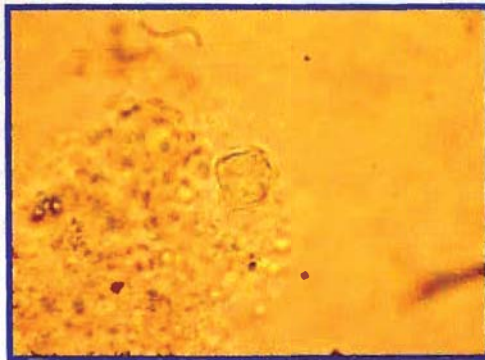
Recuento Heterotrófico placa



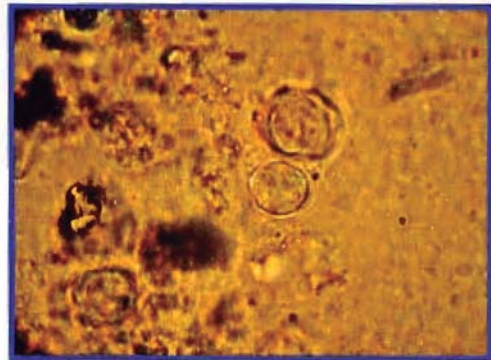
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento del tanque elevado) H-53



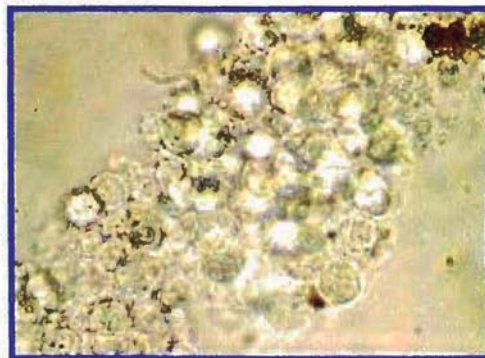
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento del tanque elevado) H-76



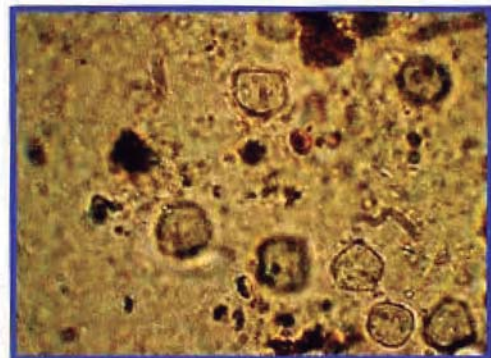
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento del tanque elevado) H-19



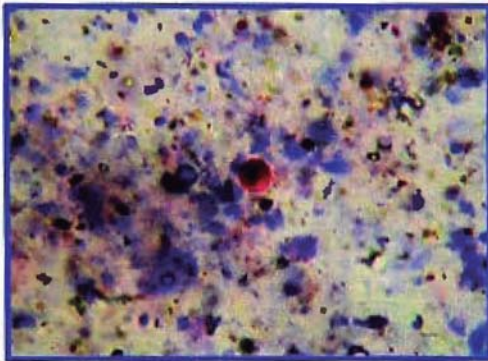
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento de la cisterna) H-19



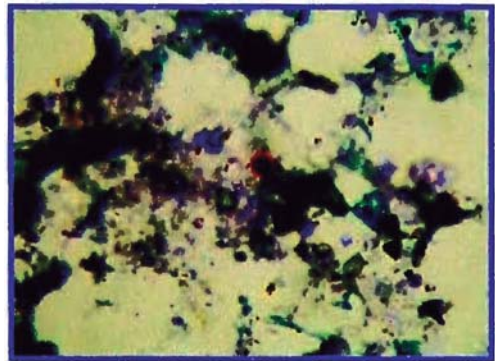
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento del tanque elevado) A-30



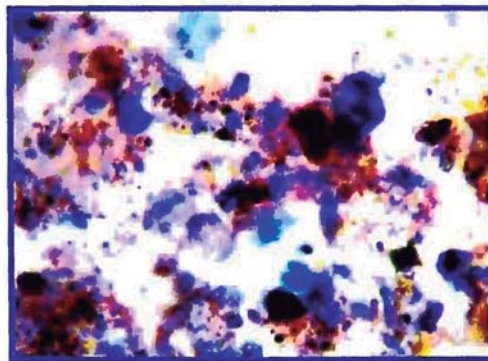
*Acanthamoeba* sp. (cultivo de la muestra de sedimento del tanque elevado) I-62



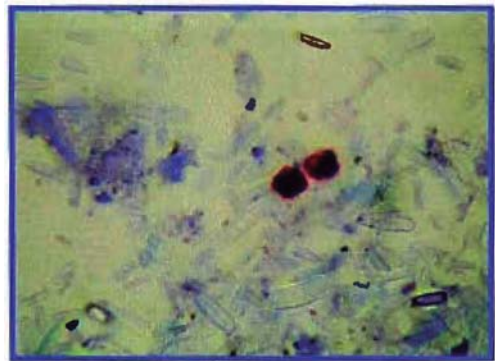
*Cryptosporidium* sp.  
C-55



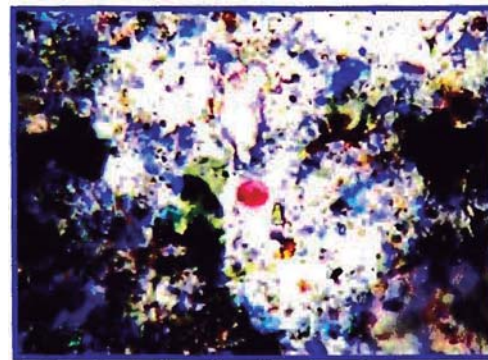
*Cryptosporidium* sp.  
J-10



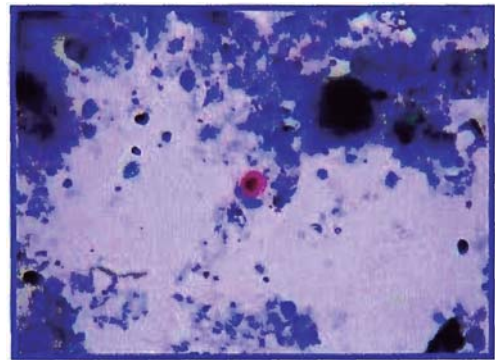
*Cryptosporidium* sp.  
A-28



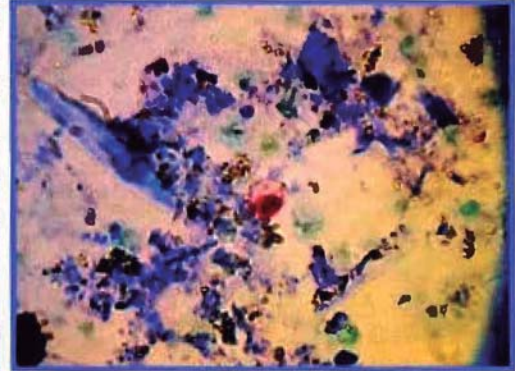
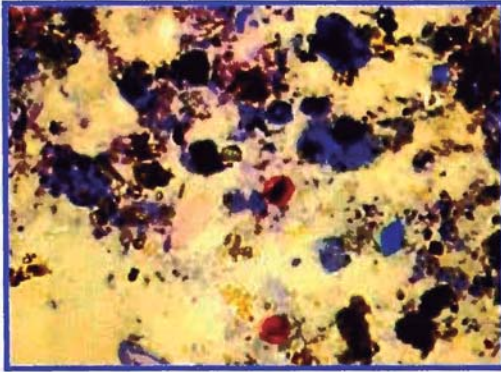
*Cryptosporidium* sp.  
K-45



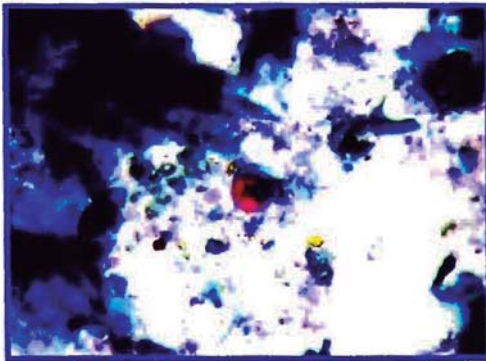
*Cryptosporidium* sp.  
G-7



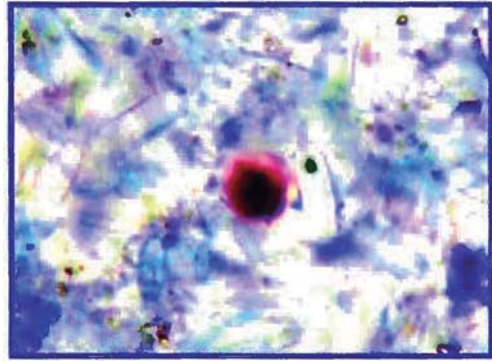
*Cryptosporidium* sp.  
L-38



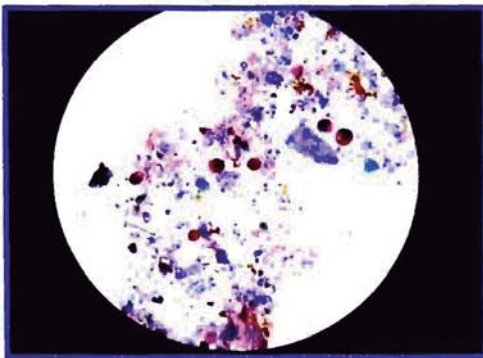
*Cryptosporidium* sp.  
C-55



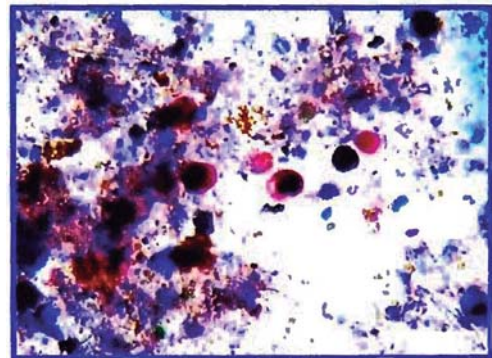
*Cyclospora cayetanensis*  
J-10



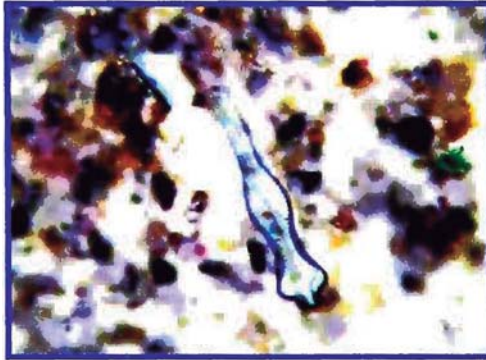
*Cyclospora cayetanensis*  
K-45



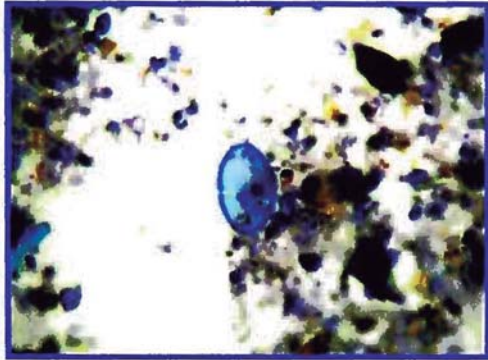
*Cyclospora cayetanensis* O-24



*Cyclospora cayetanensis* O-24



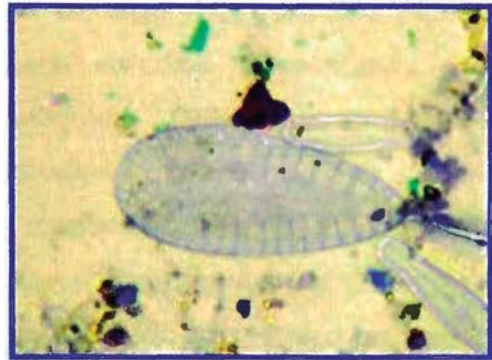
*Gomphonema*. (Sedimento de un tanque elevado) J-10



*Cocconeis* (sedimento de un tanque elevado) F-19



*Cymbella* (sedimento del tanque elevado) F-35



*Surirella* (sedimento del tanque elevado) O-28