



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUÍZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA
Y PARASITOLOGÍA**

**“Identificación de especies del Género *Vibrio* de aguas
subterráneas de los pozos del Distrito de Mórrope, Lambayeque –
Perú 2017”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Manuel Eduardo Chepe Pinglo

Bach. Jiuliana Elizabeth Silva Pérez

LAMBAYEQUE – PERÚ

2018

“Identificación de especies del Género *Vibrio* de aguas subterráneas de los pozos del Distrito de Mórrope, Lambayeque – Perú 2017”

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

APROBADO POR:

Dra. Olga Francia Arana

PRESIDENTA

Dra. Elsa Angulo Plasencia

SECRETARIA

Lic. Teresa Silva García

VOCAL

Dra. Graciela Albino Cornejo

PATROCINADORA

LAMBAYEQUE, PERÚ

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUÍZ GALLO”
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DECANATO**

CIUDAD UNIVERSITARIA – LAMBAYEQUE - PERÚ
TELÉFONO: 283610 – FAX: 074-283146



TESIS

TITULO:

Identificación de especies del Género *Vibrio* de aguas subterráneas de los pozos del Distrito de Mórrope, Lambayeque – Perú 2017.

AUTORES:

Br. CHEPE PINGLO MANUEL EDUARDO

Br. SILVA PÉREZ JIULIANA ELIZABETH

PATROCINADOR:

Prof. Graciela Olga Albino Cornejo

APROBADO POR:

PRESIDENTE DEL JURADO

MIEMBRO SECRETARIO

MIEMBRO VOCAL

JEFE CENTRO INVESTIGACION

JEFE DEPARTAMENTO

DECANATO

LAMBAYEQUE, DE.....DEL.....

DEDICATORIA

A mi padre Manuel Chepe y hermana Rosa por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

Manuel E. Chepe Pinglo.

A mis padres Eduardo Silva Pérez por el apoyo incondicional en este largo camino, por enseñarme que nada es imposible, a mi madre Blanca Pérez Colchado por su dedicación y amor, por enseñarme a ser paciente y perseverante en la vida.

Jiuliana E. Silva Pérez.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos primero a **Dios** por permitirnos ejecutar y culminar esta investigación, con el fin de aportar mejoras para la ciudadanía.

Agradecemos a nuestra asesora **Graciela Albino Cornejo**, por no solo brindarnos los conocimientos académicos para esta investigación, sino también por ser un buen modelo de calidad humana a seguir, gracias por acompañarnos y respaldar nuestra investigación.

Agradecemos a la Licenciada **Liliana Alvarado Pineda** jefa del área de enteropatógenos del Laboratorio Referencial Regional de Lambayeque, por el apoyo brindado todo este tiempo y también por depositar su confianza en nosotros

Agradecemos al **Lic. Rubén Eneque** en cargo del Laboratorio del Centro de Salud Mórrope y al Personal de la Junta Administrativa de Saneamiento Sanitaria al igual que a la Municipalidad de Mórrope por el apoyo brindado en la ejecución de la tesis.

RESUMEN

Con el objetivo de aislar e identificación especies del género *Vibrio* en aguas de pozo subterráneos del distrito de Mórrope-Lambayeque, durante julio de 2017 a febrero de 2018 se recolectaron muestras de aguas de 21 pozos subterráneos en el distrito de Mórrope - Lambayeque, cada muestra fue procesada siguiendo el procedimiento que señala el Standard Methods (2012). De los 21 pozos 4(19%) artesanales y 17 (81%) tubulares, se tomaron tres muestras consecutivas obteniéndose un total de 63 muestras; de los 21 pozos muestreados, se aisló especies del Género *Vibrio* de 5(24%) y 16 (76%) fueron negativos y de las 63 muestras de agua de pozos subterráneos, se aisló *Vibrio* de 9 muestras, las especies identificadas fueron *Vibrio cholerae no O1*, 5 cepas (14%) y *Vibrio fluvialis* 4 cepas (11%). Además se identificaron otros géneros y especies bacterianas como *Aeromonas caviae* 6 (17%) cepas, 11(30%) cepas de *Plesiomonas spp* y 10(28%) cepas de *Enterobacter*.

Del estudio realizado se concluye que el agua de consumo humano proveniente de pozos del distrito de Mórrope representa un reservorio potencial para bacterias como *Aeromonas caviae*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, *Vibrio fluvialis* y *Vibrio cholerae no O1*, resaltando la importancia de estas dos últimas; de allí la necesidad de realizar la desinfección correspondiente de ésta antes de su consumo.

ABSTRACT

With the objective of isolating and identifying species of the genus *Vibrio* in underground well waters of the district of Mórrope-Lambayeque, from July 2017 to February 2018 water samples were collected from 21 underground wells in the district of Mórrope - Lambayeque, each sample was processed following the procedure indicated by Standard Methods (2012). Of the 21 wells 4 (19%) artisan and 17 (81%) tubular, three consecutive samples were taken obtaining a total of 63 samples; of the 21 sampled wells, *Vibrio* Genus species of 5 (24%) were isolated and 16 (76%) were negative and of the 63 samples of water from underground wells, *Vibrio* was isolated from 9 samples, the species identified were *Vibrio cholerae no O1*, 5 strains (14%) and *Vibrio fluvialis* 4 strains (11%). In addition, other genera and bacterial species were identified, such as *Aeromonas caviae* 6 (17%) strains, 11 (30%) strains of *Plesiomonas spp* and 10 (28%) strains of *Enterobacter*.

From the study carried out it is concluded that the water for human consumption from wells in the district of Mórrope represents a potential reservoir for bacteria such as *Aeromonas caviae*, *Plesiomonas*, *Enterobacter*, *Vibrio fluvialis* and *Vibrio cholerae not O1*, highlighting the importance of the latter two; hence the need to perform the corresponding disinfection of it before consumption

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCION.....	1
II.	REVISION DE LITERATURA	
	2.1. MARCO TEÓRICO.....	3
	2.2. MARCO CONCEPTUAL.....	6
	2.3. ANTECEDENTES.....	7
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	3.1. MATERIALES	
	3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	16
	3.1.2. POBLACION Y MUESTRA.....	16
	3.2. METODOLOGÍA	
	3.2.1. TIPO DE ESTUDIO.....	17
	3.2.2. AREA DE ESTUDIO.....	17
	3.2.3. TOMA DE MUESTRA.....	18
	3.2.4. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.....	18
	i. ENRIQUECIMIENTO DE VIBRIO	19
	ii. AISLAMIENTO DE VIBRIO.....	19
	iii. IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA.....	19
	iv. PRUEBAS DIFERENCIALES.....	19

v.	IDENTIFICACIÓN CROMOGENICA.....	21
vi.	PRUEBAS SEROLÓGICAS.....	21
vii.	PRUEBAS MOLECULARES.....	22
	3.2.5. MÉTODO ESTADÍSTICO.....	22
IV.	RESULTADOS.....	24
V.	DISCUSIÓN.....	30
VI.	CONCLUSIONES.....	34
VII.	RECOMENDACIONES.....	35
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	36
IX.	ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Porcentaje de pozos positivos y negativos al aislamiento de especies del género Vibrio del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.....</i>	24
Tabla 2. <i>Porcentaje de pozos tubulares y artesanales del distrito de Mórrope con presencia de bacterias del género Vibrio. Lambayeque, 2017.....</i>	24
Tabla 3. <i>Porcentaje de bacterias del género Vibrio aisladas de las 63 muestras de agua subterráneas de pozos del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.....</i>	25
Tabla 4. <i>Porcentaje de especies del genero Vibrio aisladas de 63 muestras de los 21 pozos de aguas subterráneas del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.....</i>	25
Tabla 5. <i>Porcentaje de especies de Vibrio según el tipo de pozo subterráneo del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.....</i>	27
Tabla 6. <i>Porcentaje de especies del genero Vibrio aisladas de los 21 pozos de aguas subterráneas del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.....</i>	27
Tabla 7. <i>Géneros y especies de microorganismos aislados de 63 muestras de agua de pozos del distrito Mórrope- Lambayeque, 2017.....</i>	28
Tabla 8. <i>Parámetros físicos y químicos de las aguas de pozos subterráneas positivos a especies de Vibrio, distrito de Mórrope- Lambayeque.....</i>	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la ubicación del distrito de Mórrope.	17
Figura 2. Mapa de Ubicación del Laboratorio Referencial Regional de Lambayeque (LARESA).....	18
Figura 3. Diagrama del método de aislamiento e identificación de especies del género Vibrio en aguas de pozo para consumo humano.....	23
Figura 12. Porcentaje de especies del géneros Vibrio aislados de 63 muestras de agua subterránea de los pozos del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.....	26
Figura 13. Porcentaje de géneros microbianos aislados de 63 muestras de agua subterráneas de los pozo del distrito de Mórrope - Lambayeque, 2017.....	28

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1:

Presencia de sistema de cloración según el tipo de pozo de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.....	41
---	-----------

ANEXO N°2:

Tabla de descripción Física de los pozos artesanales de aguas subterráneas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque. 2017.....	41
--	-----------

ANEXO N°3:

Tabla de descripción Física de los pozos tubulares de aguas subterráneas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque. 2017.....	43
--	-----------

ANEXO N°4:

Límites Máximos Permisibles de calidad física y química de agua para consumo humano.	49
---	-----------

ANEXO N°5:

Metodología que se siguió para la toma y procesamiento de las muestras recolectadas de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

Figura 4. Toma de Muestra.....	49
Figura 5. Rotulación de Muestra.....	50
Figura 6. Enriquecimiento para Vibrio.....	50
Figura 7. Siembra en placas con Agar TCBS de las muestras enriquecidas.....	51
Figura 8. Pruebas Bioquímicas positivas para Vibrio.....	51
Figura 9. Prueba de Vibriostático O129 positiva.....	52

Figura 10. Prueba de Vibriostático O129 negativa..... 52

Figura 11. Placa de Chromagar para Vibrio..... 53

ANEXO N°6:

Tabla A: *Codificación de pozos* de agua subterráneas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017. 54

Tabla B: Codificación de cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017..... 55

ANEXO N°7:

Tabla de Registro de Pruebas Bioquímicas realizadas a las cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017..... 56

ANEXO N°8:

Tabla de Registro de Pruebas Diferenciales realizadas a las cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017..... 57

ANEXO N°9:

Tabla de Registro de Promedios de Temperatura, pH y Concentración de cloro de los pozo del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017..... 58

ANEXO N°10:

Pozos con presencia de dos especies bacterianas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017..... 59

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el 98% del agua se encuentra en océanos y mares, mientras que el 2% es agua dulce. De este 2% el 79% está en la cresta de los glaciares, 20% son aguas subterráneas y solo el 1% se encuentra en las superficies accesibles. El agua subterránea representa una fracción importante de la masa de agua presente en los continentes, y se aloja en los acuíferos bajo la superficie de la Tierra siendo los pozos su principal forma de acceso, en nuestro país el agua que los pobladores consumen son de dos tipos, una es el agua localizada en superficies y la segunda opción son las aguas subterráneas. En el departamento de Lambayeque, específicamente en la parte norte y occidental se ubica el distrito de Mórrope que cuenta con una extensión territorial de 1,041 Km² y un total de 46,046 habitantes (Según Censo al 30 de junio del 2015), cuenta con 36 caseríos, 70 anexos y Población Dispersa, siendo en su mayoría población rural que, poseen pozos con sistemas de cloración dirigidos por la junta administradora de servicios de saneamiento (JASS).

Los pozos pueden ser artesanales o tubulares y solo algunos presentan sistemas de cloración que en su mayoría resulta ser deficiente o algunos pozos simplemente no presentan el sistema de cloración; esto sumado a las condiciones en las que se encuentran como, estar expuestos al aire libre, estar a ras del suelo, la falta de limpieza periódica, además la extracción del agua es artesanalmente o mediante motobombas en pozos abiertos cuyas mangueras quedan expuestas a la contaminación y en pozos tubulares se utilizan motobombas a presión que impiden su limpieza. Por otro lado, el agua es salobre por la proximidad a las minas de sal y su proximidad al mar, tienen una temperatura entre 22°C y 23°C, un pH ligeramente alcalino; condiciones que pueden predisponer el crecimiento de bacterias halófilas y dentro de estos microorganismos se encuentra uno de los más importantes *Vibrio*. Las especies de *Vibrio* tienen una amplia distribución geográfica, poseen capacidad mutagénica y de adaptación a distintos ambientes; gracias a ello *Vibrio* ha sido aislado con frecuencia a nivel nacional de ambientes acuáticos, tales como bahías, ríos, canales, zanjas y aguas subterráneas. Borroto (2010)

Existen parámetros físicos que favorecen el desarrollo de *Vibrio* en aguas cálidas durante un período considerable de tiempo como la temperatura, la salinidad de 0,25–3,0 ‰ y un pH de 8,0, parámetros que están presentes en Bangladesh y en el sur este de los Estados Unidos como lo demuestra Miller. y cols. (1985).

Vibrio cholerae, es el agente responsable del cólera; por ello la vigilancia sanitaria de aguas es importante para impedir posibles enfermedades gastrointestinales, entre ellos el cólera; que puede ser transmitido por ingesta de aguas o alimentos contaminados con materia fecal. Aunque la frecuencia de aparición de *V. cholerae no O1* y su amplia distribución en el tiempo y en el espacio no permiten hablar de una contaminación accidental, más bien se trata de una adaptación al ambiente, de manera que pueden coexistir junto a determinadas especies de la fauna acuícola.

Durante el periodo de lluvias causadas por el Fenómeno del Niño Costero, a principio del año (2017); se presentaron numerosos cuadros diarreicos en el distrito de Mórrope tras dicho suceso, uno en particular es el caso del caserío de Arbolsol, de donde se aisló *Vibrio cholerae no O1*, de agua de pozos reportado por la Msc. Liliana Alvarado Pinedo encargada del área de enteropatógenos de la Gerencia Regional de salud Lambayeque. Por esta razón, el presente trabajo se orientó a investigar las especies del género *Vibrio* que habitan las aguas subterráneas de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEÓRICO

Las especies del género *Vibrio* son bacilos curvos gramnegativos no entéricos, de vida libre y rápido crecimiento. No producen esporas, se mueven de forma errática gracias a un único flagelo, son aerobios y anaerobios facultativos, fermentadores de glucosa y oxidasa positivos. Toleran pH alcalinos y algunas especies necesitan medios de alta salinidad para crecer (halófilos). Tiene un antígeno flagelar H que no distingue entre vibriones patógenos y no patógenos, y un antígeno somático O que sí permite esta distinción. Son ubicuos en la naturaleza en ambientes acuáticos, capaces de mantenerse virulentos, sin multiplicarse, en el agua dulce y en el agua de mar durante largo tiempo.

Son más frecuentes en aguas templadas y pueden aislarse de mariscos y pescados, donde pueden alcanzar concentraciones elevadas. Se han identificado más de 35 especies del género *Vibrio*, de las que 12 son “vibriones marinos”, gérmenes ambientales que no se han asociado a una patología humana. El resto de las especies (*V. cholerae*, *V. parahemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. damsela*, *V. hollisae*, *V. mimicus*, entre otros), producen gastroenteritis, infección de heridas y tejidos blandos y sepsis/bacteriemia. No obstante, la especie más destacable es el *V. cholerae*, que incluye 140 serogrupos de los que clásicamente sólo el serogrupo 0:1 causaba clínica de cólera. El resto de los serogrupos se denominaban genéricamente *V. cholerae no 01*. Existen 2 biotipos de *V. cholerae 01*, el biotipo clásico y el biotipo el *Tor*, y éstos a su vez se dividen antigénicamente en los serotipos *Ogawa* e *Inaba* y rara vez el *Hikojima*.

El Distrito de Mórrope y sus caseríos aledaños en su mayoría cuentan con sistemas de cloración dirigidos por La junta administradora de servicios de saneamiento (JASS)(ANEXO 1), este método presenta ciertas deficiencias. El punto crítico de este método es que estas máquinas son dirigidas por encargados de cada caserío y no cuentan con una capacitación previa adecuada, por ello que cuando uno de estos se malogra puede tardar días o semanas a que llegue un ingeniero a arreglarlo.

Esto sumado a las condiciones de precariedad en las que se encuentran los pozos, y la falta de una limpieza adecuada conlleva a que estos pozos se conviertan un foco infeccioso. Las aguas superficiales presentan una mayor variabilidad en sus características físicas, químicas y microbiológicas que las aguas subterráneas, sin embargo el agua subterránea de estos pozos presenta ciertas características resaltantes como tener un sabor salobre, esto debido a ser un pueblo costero puede presentar intrusiones de aguas marinas en el subsuelo y también por su proximidad a las minas de sal. Otros puntos importante son su temperatura la cual oscila entre 20°C a 25°C, y su pH ligeramente alcalino (7 a 7.5), su conductividad sobre pasa los 1500 mS permitidos y su salinidad fluctúa entre 0.2 -0.5; condiciones que pueden predisponer el crecimiento del genero *Vibrio*.

Según Borroto (2008), nos dice que en situaciones de estrés ambiental, como cuando disminuyen la disponibilidad de nutrientes y la salinidad, *V. cholerae* 01 toxígeno adopta un estado viable que le permite realizar funciones metabólicas, también denominado periodo de latencia, lo cual podría explicar por qué no se genera un brote aun con la presencia de la bacteria.

Existe otro factor importante el folklore del pueblo ya que ciertos caseríos se rehúsan a consumir esta agua potabilizada debido a que ellos aluden a que se siente el cloro y que es mucho las cantidades que cloro que usan, por ello que algunas caseríos dejan de clorar a pedido de los pobladores, sin presagiar que esto favorece al crecimiento de diversos microorganismos siendo uno de los más importantes *Vibrio cholerae*.

El cólera es una enfermedad infectocontagiosa, producida por el agente infeccioso *Vibrio cholerae*. El carácter endémico y estacional del cólera depende de la supervivencia de *Vibrio cholerae* serogrupo 01 en estado viable, pero no necesariamente cultivable, en nichos ecológicos localizados en ambientes acuáticos durante períodos interepidémicos. Para comprender la ecología de *V. cholerae* es preciso conocer los ecosistemas acuáticos que pudieran albergarlo y contribuir a la presencia de dicha bacteria. La ecología de *V. cholerae* 01 organizada según los factores abióticos y bióticos que desempeñan funciones relevantes en la supervivencia del microbio en ambientes acuáticos. Este agente patógeno encuentra condiciones favorables en aguas caracterizadas por niveles moderados de salinidad, un alto contenido de nutrientes, temperaturas cálidas, un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de macrófitas acuáticas, fitoplancton, zooplancton, peces, moluscos

y crustáceos. Estas condiciones ecológicas son propias de los ecosistemas acuáticos de estuarios y pantanos costeros, de cuya flora microbiana *V. cholerae* 01 toxígeno se considera actualmente un miembro autóctono. Este microorganismo también se ha mostrado capaz de colonizar ecosistemas de agua dulce en su forma viable, aunque no necesariamente cultivable, si encuentra sustratos orgánicos e inorgánicos que favorezcan su supervivencia, Borroto (2010).

Aunque tradicionalmente se venía considerando que el único reservorio de *Vibrio cholerae* es el individuo enfermo o portador asintomático, ya no es admisible seguir manteniendo la idea de que la aparición de un brote de cólera se deba exclusivamente a esta causa. Según Madrazo.; Ramos., et al., (1994) Sugieren que el nuevo reservorio de *Vibrio cholerae* es el medio acuático, habiéndose aislado estirpes tanto de la serovariedad no 01 como de la 01, en agua dulce o en ambientes más o menos salinos, sin que coincidan en tiempo y lugar con la aparición de un brote de la enfermedad. Trabajos realizados en Australia, Italia y EE.UU. sugieren que, bajo ciertas circunstancias, el *Vibrio cholerae* 01 puede mantener una reserva o depósito acuático; así mismo se indica que los vibriones de aguas naturales están asociados a sedimentos del fondo y a la fauna quitinosa de estas aguas, Afirmación que nosotros compartimos.

Debido a que existe un reporte en la zona de Mórrope donde se logró aislar e identificar *V. cholerae* no 01 de aguas de pozo del caserío de Arbolsol, durante el periodo de lluvias causadas por el Fenómeno del Niño Costero, es que la presente investigación tiene como objetivo el aislamiento e identificación de bacterias del género *Vibrio* en las aguas subterránea de 21 pozos del distrito de Mórrope.

2.2. MARCO CONCEPTUAL

Bacterias heterotróficas: Las bacterias heterótrofas abundan en el ambiente, especialmente en el agua, incluyendo agua tratada y del grifo, debido a su capacidad de adaptarse a un entorno desnutrido de sistemas de agua, las bacterias heterótrofas son capaces de vivir más tiempo que otros microorganismos en agua (Reynolds, 2002).

Bacterias halófilas: La palabra está formada con los términos griegos halos (sal), y filo (amante), por lo que literalmente significa ‘amante de la sales, este adjetivo que se aplica a los organismos que viven en ambientes con presencia de gran cantidad de sales.

Bacterias halotolerantes: La halotolerancia es la adaptación por osmorregulación de los organismos vivos a condiciones de alta salinidad.

Bacterias Alcalofilas: Los alcalófilos son microorganismos extremófilos que se desarrollan en ambientes con valores de pH comprendidos entre 8,5 y 11. Los hábitats donde viven son muy básicos, como lagos sódicos o suelos muy carbonatados.

Calidad: Característica de un producto o servicio que le proporcionan aptitud para satisfacer las necesidades del cliente (OMS, 2003).

Vigilancia se entiende como la observación sistemática y continuada de la frecuencia, la distribución y los determinantes de los eventos de salud y sus tendencias en la población. Todo sistema de vigilancia debe estar amparado por un marco legal propio del Estado que garantice la operación eficiente de dicho sistema. (MOPECE, 2011).

Contaminación: Son agentes físicos, químicos y biológicos, extraña a la composición natural del producto (OMS, 2003).

2.3. ANTECEDENTES

En su informe sobre la séptima pandemia del cólera, **Candau, (1971)** indica la posibilidad de supervivencia del *Vibrio cholerae* en aguas salinas y además menciona fuente de contaminación. Dicha pandemia de cólera ha provocado morbilidad, mortalidad y letalidad altas en algunos países, debidas en gran medida a factores fundamentales socioeconómicos y climáticos. La reemergencia de esta enfermedad y la diversidad de factores relacionados con los compartimientos de sus brotes ameritan el desarrollo y el fortalecimiento de estrategias regionales de prevención y control en los países, junto con estudios de los determinantes que influyen en la emergencia y reemergencia de las enfermedades infecciosas.

Otros autores reportan el aislamiento casi frecuente de *V. cholerae* en 01 de ambientes marinos, especialmente bahías, estuarios y aguas salobres cercanas al continente. Los aislamientos no fueron aleatorios, sino que siguieron un patrón distinto en el que la salinidad parecía ser un factor de control en la distribución de *V. cholerae*. La salinidad del agua en las estaciones que producen *V. cholerae* (13 de 21 estaciones) fue de 4 a 17 ‰, mientras que la salinidad del agua en las estaciones de las que no se aisló *V. cholerae* fue menor de 4 ‰ o mayor que 17 ‰, entre ellas tenemos a: **Colwell y cols, (1977)**.

Existen factores secundarios que permiten el crecimiento de microorganismos en el agua dentro de los sistemas de distribución y almacenamiento como: cantidad y tipo de nutrientes, oxígeno, temperatura, pH, concentración de desinfectante y material de las tuberías. Debido a que en Lima hay una elevada prevalencia de enfermedades infectocontagiosas producidas por microorganismos que son viabilizados por el agua de consumo humano, es necesario proteger y controlar su calidad mediante la aplicación de requisitos eficaces. Por ello se considera de especial importancia evaluar el estándar nacional de aceptabilidad del agua de consumo humano y proponer criterios para el perfeccionamiento de los mismos. Estos microorganismos deben cumplir diferentes

requisitos como: ser inofensivos para humanos, permanecer más tiempo que los microorganismos patógenos y con su ausencia demostrar un agua segura libre de microorganismos. **Galarrraga, (1984).**

En el trabajo de **García, (2006)** Incluyeron 308 muestras de agua para consumo humano en ambos distritos, Santa y Coishco (201 de pozos con bomba manuable y 107 con reservorio). Se realizó el aislamiento en 70(22,7%) muestras: *Aeromonas caviae* 34(11,0%), *Aeromonas hydrophyla* 17(5,5%) y *Vibrio cholerae* no O1 19(6,2%), no encontró *V. cholerae* del serotipo O139. El *Vibrio cholerae* no O1 se aisló en 11(5,5%) muestras de pozos con bomba manuable y en 8(7,4%) pozos con reservorio, respectivamente. Al comparar los valores promedio de cloro residual, pH y temperatura en muestras con (+) y sin (-) aislamiento, se encontró diferencia significativa sólo en el nivel de temperatura, aproximadamente 1 °C más en las que se aisló algún agente. De la misma manera, al comparar estas características según tipo de pozo de procedencia, se observó diferencias significativas sólo en el nivel de cloro residual, que fue superior en los pozos con reservorio.

Según **Goya, (1997)** Los defectos en la construcción o en las estructuras de pozos, depósitos, ausencia o irregular mantenimiento de dichas instalaciones son causas que predisponen el ingreso y proliferación de microorganismos desde distintas fuentes. La deficiencia más común observada en tanques y cisternas fue la acumulación de sedimento en el fondo (tierra) y paredes internas sucias, esto debido a que en dichos inmuebles no se realiza la limpieza y desinfección de los depósitos de agua periódicamente.

Guerrera. y col., (1984), reportan una incidencia de 2% de *Vibrio cholerae*. No O1 de un total de 3 754 casos de diarrea que además estuvo acompañada de *Aeromonas hydrophila.*, *Shigella sonnei.*, rotavirus y parásitos, pero que en 7 casos fue el agente etiológico único. Estas cepas fueron capaces de producir más de un tipo de toxina a diferencia de *Vibrio cholerae-01*. Generalmente no son patogénicos o producen un cuadro gastrointestinal leve con diarrea acuosa autolimitada, dolor abdominal, fiebre, náuseas y

vómitos, aunque se han descrito cuadros más graves. Algunas cepas sí producen la toxina colérica (por ejemplo, de los serogrupos O75 y O141) y pueden causar casos esporádicos de enfermedad colérica o pequeños brotes. Otras cepas producen otros tipos de toxinas, como una enterotoxina similar a la del *E. coli* enterotoxigénico.

Por estudios de caracterización molecular de cepas ambientales de *Vibrio cholerae*. Concluye que los *V. cholerae* no 01 casi siempre tienen ausentes los genes que codifican la toxina colérica aunque inducen enfermedad diarreica. En este estudio, se usó la huella digital de ADN genómico de alta resolución, polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) para caracterizar la diversidad genética temporal y espacial de 67 cepas de *V. cholerae* aisladas de la Bahía de Chesapeake durante abril a julio de 1998, en cuatro sitios de muestreo diferentes. . El aislamiento de *V. cholerae* durante los meses de invierno (enero a marzo) no tuvo éxito, como se observó en estudios anteriores **Kaper. y colbs., (1981)**

Existe la hipótesis que en las regiones donde el cólera es endémico, el *V. cholerae*., O1 puede subsistir en ambientes estuarinos, aún más si la temperatura es caliente y con una salinidad de 0,25 – 3,0 ‰ y un pH de 8.0 de un periodo considerablemente considerado, como ocurre en Bangladesh y en el sur este de los Estados Unidos. Estudios recientes revelan que *V. cholerae* O1 puede sobrevivir en aguas cálidas con una salinidad de 0.25-3.0‰ y un pH de 8.0 durante un período considerable de tiempo. Los ambientes estuarinos pueden ser adecuados para la supervivencia del organismo. Además, se ha planteado la hipótesis de que los brotes de casos primarios en ambientes estuarinos pueden precipitarse al comer ciertos tipos de plantas o animales estuarinos crudos o cocinados de manera inadecuada, tal vez por temporadas. En áreas donde el saneamiento es pobre, la enfermedad se transmitirá a casos secundarios, y en áreas donde el saneamiento es bueno, los casos secundarios serán raros. **Miller. y colbs., (1985).**

Según **Mindy, (2004)**, “los aislamientos de *V. cholerae*. serogrupo O1 están clasificados en dos biotipos: El Tor y el clásico, con base en varias características fenotípicas. Por lo regular, el biotipo El Tor causa virtualmente todos los casos de cólera

en el mundo; los aislamientos del biotipo clásico no se encuentran fuera de la India o Bangladesh. Además, las cepas de V. cholerae. O1 se clasifican en dos serotipos (Inaba y Ogawa) con base en la aglutinación con antisueros. Se ha descrito un posible tercer serotipo, Hikojima, que se presenta rara vez. Durante un brote o una epidemia, es valioso documentar el biotipo y serotipo del aislamiento, aunque no es necesario conocer esta información para responder apropiadamente a la epidemia”.

El agua de calidad apta para consumo humano cuando entra al sistema de distribución, puede contaminarse a través de conexiones cruzadas, retrosifonaje, rotura de las tuberías del sistema de distribución, conexiones domiciliarias, cisternas y reservorios defectuosos, grifos con trancendios dañados y durante el tendido de nuevas tuberías o reparaciones realizadas sin las mínimas medidas de seguridad. Esto significa que el agua sirve como un instrumento esencial para la difusión rápida y precisa de información epidemiológica sobre casos y brotes de enfermedades según el Reglamento Sanitario Internacional y otras enfermedades transmisibles de importancia para la salud pública, incluidas las infecciones emergentes o reemergentes. **OMS, (1995 - 1996).**

Tamplim. y Col., (1990). *“Reportan que Vibrio cholerae serogrupo O1, agente causal del cólera, es capaz de sobrevivir en medios ambientes acuáticos por periodos extensos y es considerado como una especie autóctona de agua de estuarios los que contienen numerosos elementos que pueden afectar su ecología. Los estudios reportan las interacciones entre V. cholerae y las poblaciones de plancton de una región geográfica que Bangladesh donde el cólera es una enfermedad endémica demostraron que las cepas clínicas de Vibrio cholerae O1 se unieron preferiblemente a las mudas de zooplancton (exuviae) en lugar de especímenes enteros.”*

Torres, (1982). *“Determina la presencia de Vibrio parahaemolyticus. en el mes de abril en la zona de Parachique, con una temperatura del agua de 24°C y en el mes de Diciembre en la zona de Mataballo y Minero-Perú (Piura), registrando la temperatura del agua en 19° y 20°C respectivamente; estableciendo que la presencia de estos microorganismos no guardo relación con la temperatura del agua dentro del rango térmico observado”.*

En aguas *V. cholerae*., incluidas sus cepas toxígenas, ha sido aislado con frecuencia de ambientes acuáticos, tales como bahías, ríos, canales, zanjas y aguas subterráneas. Su transmisión ocurre fundamentalmente por la ingestión de aguas contaminadas con las heces o el vómito de pacientes o, aunque en menor medida, con las heces de portadores. *V. cholerae* serogrupo 0139 también ha sido aislado de ambientes acuáticos y se cree que los vibriones de este serogrupo se transmiten predominantemente por la vía hídrica.

Borroto, (2010)

Según datos oficiales de la OMS, de 2013, se notificaron sólo un total de 129.064 casos en 47 países, con un total de 2102 muertes. La discrepancia entre estas cifras y la carga estimada de la enfermedad se debe al hecho de que muchos casos no se registran debido a las limitaciones en los sistemas de vigilancia y al temor de repercusiones socioeconómicas que esta enfermedad puede tener para un país afectado. En el año 2011, sólo el 32% de los casos se registraron en África (entre 2001 y 2009 se registraron en este continente más del 90% de los casos mundiales totales), habiéndose notificado más del 60% de los casos en América, fundamentalmente en Haití, donde la situación es epidémica desde el terremoto de 2010, aunque ya en 2014 el 55% de los casos se registraron en África, el 30% de Asia y el 15% de las Américas. **Copyright, (2017)**

En situaciones de estrés ambiental, como cuando disminuyen la disponibilidad de nutrientes y la salinidad, *V. cholerae*, 01 toxígeno adopta un estado viable que le permite realizar funciones metabólicas y formar colonias, sin ser cultivable. En ese estado viable pero no cultivable se concentra, por adherencia, en las superficies de especies de plantas macrófitas acuáticas, fitoplancton y zooplancton. Mediante estas asociaciones ecológicas puede sobrevivir durante períodos interepidémicos sin perder su toxigenicidad, incluso en ecosistemas de agua dulce, fenómeno que contribuye al carácter endémico del cólera. Por lo general, las concentraciones de *V. cholerae* 01 en aguas sin contaminación fecal humana son mucho menores que las necesarias para producir cólera. No obstante, es posible que durante los brotes estacionales de fitoplancton y zooplancton se incrementen en el agua las concentraciones de *V. cholerae* 01 asociado con estos sustratos hasta producir enfermedad.

En el futuro se necesitarán investigaciones adicionales para determinar si *V. cholerae* serogrupo 0139 también se asocia con especies de plancton, plantas macrófitas y la macrofauna acuática como estrategia de supervivencia. **Borroto, (2008)**

La infección se transmite a través del agua y de alimentos poco cocinados, muchas infecciones cursan sin síntomas o como diarrea leve, pero el cuadro característico es la diarrea acuosa brusca, grave, no enteroinvasiva, con rápida e intensa deshidratación. *V. cholerae* no-O1 produce diarrea, infección de tejidos blandos y heridas, bacteriemia y sepsis. *V. parahemolyticus* produce gastroenteritis que puede ser enteroinvasiva, tras ingerir moluscos poco cocinados, infección de heridas y bacteriemias en pacientes con enfermedad de base, *V. vulnificus* tiene similar espectro clínico, elevada mortalidad y lesiones cutáneas características. Cólera y otras infecciones del género *Vibrio* **García et al., (2006).**

Por otro lado, pese a la promoción del consumo de agua segura por parte del sector salud, hasta el año 2003 el Laboratorio de Microbiología de dicha UTES ha reportado muestras de agua no cloradas con un alto número de coliformes totales, las cuales en su mayoría provienen de los distritos Santa y Coishco. En estos distritos algunas localidades se proveen de agua para consumo humano a través de pozos tubulares, que son abastecidos por las aguas subterráneas que contienen cierto grado de salinidad, necesaria para el crecimiento de algunas especies de *Vibrio cholerae*. **García y Huapaya, (2004).**

Son ubicuos en la naturaleza en ambientes acuáticos, capaces de mantenerse virulentos, sin multiplicarse, en el agua dulce y en el agua de mar durante largo tiempo. Son más frecuentes en aguas templadas y pueden aislarse en mariscos y pescados, donde pueden alcanzar concentraciones elevadas. Cólera y otras infecciones del género *Vibrio* **García y Torres, (2003).**

De julio de 2003 a junio de 2004 se realizó la colecta de muestras de agua en siete pozos con bomba manuable y en seis con reservorio; al tercer mes de seguimiento, una localidad inauguró un pozo con reservorio y clausuró su bomba manuable. Fueron tomadas 389 muestras de agua para consumo humano en ambos distritos. De ellas 76 fueron excluidas por presentar cloro residual $\geq 0,05$ mg/L y otras cinco por no contar con tal medición; todas provinieron de pozos con reservorio. De las 308 muestras finalmente incluidas, 201 correspondieron a pozos tubulares con bomba manuable y 107 a pozos tubulares con reservorio (Tabla 1), los resultados microbiológicos mostraron aislamiento en 70 (22,7%) muestras: *Aeromonas caviae*. en 34(11,0%), *Aeromonas hydrophyla* en 17(5,5%) y *Vibrio cholerae*, no O1 en 19 (6,2%), no se identificaron *V. cholerae* del serotipo O139. Se realizó el aislamiento en 47(23,4%) muestras de pozos con bomba manuable y en 23(21,5%) de pozos con reservorio. El *Vibrio cholerae* no O1 se aisló en 11 (5,5%) muestras de pozos con bomba manuable y en ocho (7,4%) muestras de pozos con reservorio, respectivamente. Al comparar los valores promedio de cloro residual, pH y temperatura en muestras con (+) y sin (-) aislamiento, se encontró diferencia significativa sólo en el nivel de temperatura, aproximadamente 1 °C más en las que se aisló algún agente. De la misma manera, al comparar estas características según tipo de pozo de procedencia, se observó diferencias significativas sólo en el nivel de cloro residual, que fue superior en los pozos con reservorio. **García y Huapaya, (2004).**

En el año 2011 se registró mayor número de análisis con resultados positivos para *Vibrio cholerae*. El porcentaje de positividad de las muestras de agua fue de 6.6% (167/2549), 2% (101/5139) en las Tómulas de Moore y 0.3% (5/1561) en alimentos. De las muestras de aguas con detección de *Vibrio cholerae*., el 59.9% (100/167) corresponde a canales de regadío y el 19.2% (32/167) a aguas superficiales continentales; mientras que el 51.5% (52/101) de las muestras, analizadas a partir de Tómulas de Moore, con detección de *Vibrio cholerae* corresponden a afluentes de plantas de tratamiento de aguas servidas y el 28.7% (29/101) a la red de alcantarillado. En 5 muestras de alimentos se detectó la bacteria, 2 hortalizas y 3 moluscos de producción primaria. **Ministerio de salud de Chile, (2010 - 2012)**

Aunque tradicionalmente se venía considerando que el único reservorio de *Vibrio cholerae*. es el individuo enfermo o portador asintomático, ya no es admisible seguir manteniendo la idea de que la aparición de un brote de cólera se deba exclusivamente a esta causa. Numerosas referencias bibliográficas recopiladas por FEACHEM et al. sugieren un reservorio de *Vibrio cholerae* en el medio acuático, habiéndose aislado estirpes tanto de la serovariedad no 01 como de la 01, en agua dulce o en ambientes más o menos salinos, sin que coincidan en tiempo y lugar con la aparición de un brote de la enfermedad, se estudia la presencia y distribución de *Vibrio cholerae* en el medio ambiente; según ella, trabajos realizados en Australia, Italia y EE.UU. sugieren que, bajo ciertas circunstancias, el *Vibrio cholerae*. 01 puede mantener una reserva o depósito acuático; asimismo se indica que los vibriones de aguas naturales están asociados a sedimentos del fondo y a la fauna quitinosa de estas aguas. **Jiménez et al, (2008)**

El carácter endémico y estacional del cólera depende de la supervivencia de *Vibrio cholerae*. serogrupo 01 en estado viable, pero no necesariamente cultivable, en nichos ecológicos localizados en ambientes acuáticos durante períodos interepidémicos. Para comprender la ecología de *V. cholerae*. es preciso conocer los ecosistemas acuáticos que pudieran albergarlo y contribuir a la presencia endémica del cólera en América Latina. El presente artículo tiene por objetivo presentar, en términos resumidos, la ecología de *V. cholerae*. 01 organizada según los factores abióticos y bióticos que desempeñan funciones relevantes en la supervivencia del microbio en ambientes acuáticos. Este agente patógeno encuentra condiciones favorables en aguas caracterizadas por niveles moderados de salinidad, un alto contenido de nutrientes, temperaturas cálidas, un pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de macrófitas acuáticas, fitoplancton, zooplancton, peces, moluscos y crustáceos. Estas condiciones ecológicas son propias de los ecosistemas acuáticos de estuarios y pantanos costeros, de cuya flora microbiana *V. cholerae*. 01 toxígeno se considera actualmente un miembro autóctono. Este microorganismo también se ha mostrado capaz de colonizar ecosistemas de agua dulce en su forma viable, aunque no necesariamente cultivable, si encuentra sustratos orgánicos e inorgánicos que favorezcan su supervivencia. **Borroto, (2008)**

El agua es un vehículo importante de agentes patógenos causales de enfermedades diversas en el humano, dentro de los que destacan bacterias como el *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica.*, virus como el de la hepatitis A y de *Norwalk*, protozoos importantes como *Giardia lamblia.*, *Entamoeba histolytica.* y *Criptosporidium parvum.* **Baypoli, Aguilar y Montenegro, (2010).**

El aislamiento de *Vibrio* se realizó con un enriquecimiento selectivo de las muestras, sembrando volúmenes iguales de Agua Peptonada Alcalina (APA) 2X (pH 8.5) y agua de mar y se incubó a 30 °C por 18 – 24 horas. Posteriormente se sembró por el método de estriado en placas con Agar TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares, sacarosa), luego se seleccionó de cada placa una colonia sacarosa positiva y/o sacarosa negativas de manera que se asegure la pureza de las cepas características de las especies de *Vibrio*. Se realizó la identificación bioquímica tradicional según **Orozco et al., (2010).**

El aislamiento de *V. cholerae* mediante métodos de cultivo a partir de muestras tomadas en ambientes acuáticos, y su detección mediante microscopía directa, métodos inmunológicos o técnicas de biología molecular, son caros y de aplicación limitada en países en desarrollo. Para poder realizar muestreos eficientes y adecuados, sería útil determinar primero qué cuerpos de agua presentan las condiciones ecológicas más favorables para la supervivencia del microorganismo durante períodos interepidémicos. Debido a que el agua dulce superficial se bebe con frecuencia, especialmente entre quienes carecen de acceso a servicios de agua potable, se cree que puede desempeñar una función importante como vehículo transmisor del agente causal en la aparición de casos primarios de cólera o de sus portadores asintomáticos. Los mejores puntos de muestreo para aislar o detectar este microorganismo en ambientes acuáticos suelen ubicarse en zonas de gran contaminación fecal humana. Sin embargo, *V. cholerae* O1 toxígeno biotipo El Tor puede sobrevivir durante períodos interepidémicos en ausencia de contaminación fecal humana, tanto en aguas de estuarios como en aguas dulces. Por tal motivo también es necesario tomar muestras en lugares sin contaminación fecal humana, bien sean aguas saladas, medianamente salinas, o dulces. **Borroto, (2010).**

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Estuvo constituido por las especies del género *Vibrio* que se encuentran en los 21 pozos de aguas subterráneas del Distrito de Mórrope, Lambayeque-Perú, recolectada según el protocolo del Standar Métodos (2012).

3.1.2. POBLACION Y MUESTRA

La población estuvo constituida por las especies del género *Vibrio* de los 33 pozos de aguas subterráneas que abastecen a los 56 caseríos del distrito de Mórrope.

La muestra de estudio estadística estuvo constituida por las especies del género *Vibrio* aisladas de 63 muestras de aguas de los 21 pozos analizados, de estos 4 son artesanales y 17 son tubulares ubicados en los siguientes caseríos del distrito de Mórrope:

Pozos Artesanales, son construidos de manera rudimentaria y muchas veces no presentan una estructura adecuada pues no recubren las paredes con piedras pequeñas ni con cemento, quedando el agua en continuo contacto con la tierra habiendo así un lavado permanente de residuos presentes en las capas freáticas, otros pozos artesanales son circulados con ladrillos y cemento haciendo que en sus paredes rugosas crezcan hongos y plantas acuáticas; otro de los problemas de los pozos artesanales es que no presentan tapas adecuadas y la extracción es mediante motobombas con mangueras que quedan expuestas a la intemperie y otros se recolecta con baldes originando así un persistente y continuo riesgo de contaminación. (ANEXO 2), se encuentran ubicados en los caseríos Grande I, Monte Grande II, Monte Grande III, Monte Grande IV, del Distrito de Mórrope, Lambayeque-Perú.

Pozos Tubulares en su mayoría presentan sistemas de cloración y han sido construido por medio de perforaciones profundas y posteriormente ampliados mediante la inserción de piedras pequeñas que son extraídas de las playas cercanas, luego se procede a ensanchar el hoyo reforzando las paredes con capas de material de cemento, por estas razones que es

probable que mediante su construcción los pozos, puedan haberse contaminado accidentalmente, y que por las características que presentan las aguas, se hayan adaptado, creando así su nuevo hábitat (ANEXO 3), se encuentran ubicados en los caseríos Chepito Bajo, Chepito Lagunas, Lagunas Centro, Arbolsol, Quemazón, Cruce Zenaida, Las Delicias, Carrizal, Las Tortolitas, Los Valdera, Los Laureles, Dos palos, Cruz del Medano, Paredones, Cruz de Mediania, Nuevo San Isidro y Puente la Piedra del Distrito de Mórrope, Lambayeque-Perú.

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. TIPO DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación es básico y descriptivo de acuerdo al fin que persigue.

3.2.2. AREA DE ESTUDIO

El presente estudio se desarrolló en Distrito de Mórrope – Lambayeque (Figura 1); y las muestras recolectadas fueron procesadas en los laboratorios de la UNPRG en conjunto con los de la Gerencia Regional de Salud (GERESA) (Figura 2). Así mismo las cepas identificadas bioquímicamente se enviaron al INS para su posterior confirmación, por pruebas moleculares para detectar presencia de toxina colérica.

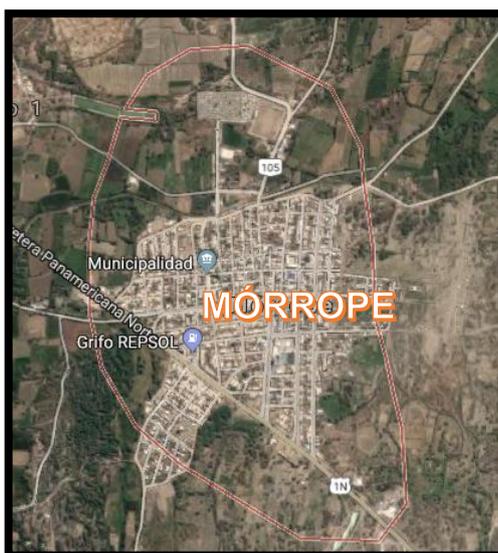


Figura 1: Mapa de la ubicación del distrito de Mórrope.



Figura 2: Mapa de ubicación del Laboratorio Referencial Regional de Lambayeque (LARES)

3.2.3. TOMA DE MUESTRA

Para la toma de muestra se utilizó el método de muestreo aleatorio y sistemático; porque se eligieron pozos al azar y Sistemático porque se realizaron tres tomas recogiendo una muestra de agua en cada toma, con intervalos constantes en tiempo y espacio.

Las muestras se recogieron en condiciones asépticas, de manera directa en un frasco estéril, haciéndose tres vaciados seguidos con la finalidad de obtener una muestra homogénea y significativa (Figura 4). Posteriormente se rotularon, anotándose el lugar, fecha y hora (Figura 5). También se analizaron algunos parámetros de campo como T° , pH, color, aspecto. Luego las muestras fueron colocadas en un cooler en cadena de frío (con bolsas de material refrigerante congeladas para evitar el probable sobrecalentamiento) para ser transportadas al laboratorio.

En el laboratorio de alimentos SINVIOL se analizaron conductividad y salinidad. Todos los parámetros físico químicos anteriores fueron comparados con los valores asignados por DIGESA (2011), (ANEXO 4).

3.2.4. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Para el análisis de las muestras de agua se siguió el proceso del Diagrama de la Figura 3.

i. Enriquecimiento de Vibrio

Para el enriquecimiento de Vibrio se tomaron 450ml de la muestra, los cuales se vertieron en 50 ml de agua peptonada alcalina (APA, doble concentrado, pH 8.5); enseguida se incubó a 37°C durante 24 horas. (Adaptación del Método original del Stándar Métodos (2012) que recomienda 8 – 10h) (Figura 6).

ii. Aislamiento de Vibrio

Se sembró una asada del medio de enriquecimiento en placas Petri conteniendo Agar TCBS. Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Luego se seleccionaron las colonias teniendo en cuenta la fermentación de la sacarosa, morfología de la colonia (ligeramente convexas, de 2-4 mm de diámetro, amarillo brillante y bordes translúcidos). Las mismas que fueron conservadas en cepas para su identificación. (Figura 7)

iii. Identificación Bioquímica

En la identificación bioquímica se utilizó la metodología recomendada por el Instituto Nacional de Salud (INS, 2017) Medios para la determinación de Fermentación de Carbohidratos, descarboxilación de Lisina, producción de Indol, Nitratos, utilización de citratos y ureasas. Se incubaron los tubos a 37°C de 18-24h, transcurrido dicho tiempo se procedió a la lectura e identificación de la bacteria haciendo uso de las tablas de identificación. Luego las bacterias identificadas se sembraron en Agar Trypticase de Soja (TSA) durante 24 horas a 37°C, para realizar las pruebas diferenciales. (Figura 8)

iv. Pruebas diferenciales

A partir de los cultivos en TSA se realizaron las siguientes pruebas: oxidasa y desoxicolato de Sodio.

➤ Prueba de tira reactiva de oxidasa

Prueba utilizada para la detección de la enzima citocromo-c-oxidasa, presente en los géneros Pseudomonas, Neisseria, Moraxella, Vibrio, Aeromonas, entre otros. Las tiras o discos contienen oxalato de dimetil-para-fenilendiamina, el cual es el sustrato de la enzima oxidasa. Los microorganismos que producen la enzima oxidasa se evidencian porque en presencia de oxígeno atmosférico y citocromo c, se oxida el sustrato presente

en las tiras o discos a un compuesto de color oscuro. Para los microorganismos oxidasa positivos, el papel se tornará púrpura oscuro o azul en 5 segundos. Las especies del género *Vibrio* son oxidasas positivas, excepto el *V. metschnikovii*. (Feeley., 1965).

➤ **Prueba de desoxicolato de Sodio o String test**

También llamada Prueba de la cadena, “cuerda o hilo”. (STRING TEST)

La prueba de la cadena es muy útil como prueba presuntiva para sospechar de *V. cholerae*, debido a que todos los biotipos dan la prueba positiva y por añadidura, para excluir las especies que no son *Vibrio*, particularmente las cepas de *Aeromonas*, que por lo general son negativas. Otras especies de *Vibrio* pueden dar una reacción positiva o débil a la prueba de la cuerda.

A partir de un cultivo fresco proveniente de un agar no selectivo como lo es el agar TSA, sobre un portaobjetos emulsionar una porción del cultivo en una pequeña gota de desoxicolato de sodio al 0,5%. Al cabo de 60 segundos las células se lisan (pérdida de la turbidez) y el DNA forma una especie de rosario cuando se levanta con un asa en aro, preferiblemente de material plástico, (hasta 2 o 3 cm) del portaobjetos. (Food and Drug Administration 2003)

➤ **Prueba de vibriostato O129**

Los discos O129 se utilizaron para la diferenciación de *Vibrios* de otras bacterias gram negativas. Shewan y Hodgkiss reconocieron la sensibilidad de *Vibrios* al agente vibriostático 0129 (2,4-diamino-6,7-di-isopropil-pteridina fosfato) en 1995, para diferenciar vibriones (sensibles) de otros fermentadores de la glucosa oxidasa positivos (resistentes). Resultó ser útil en la diferenciación de *Vibrio* de otras bacterias gramnegativas especialmente *Aeromonas*, cual son característicamente resistente a 0129. Entre los géneros, diferentes especies del género *Vibrio* muestran diferentes sensibilidades a 0129; esto se puede usar como una función-diagnóstico con discos antimicrobianos de diferentes concentraciones, la cual se pueden utilizar para determinar su grado de sensibilidad, lo cual se ofrecen a dos concentraciones: 10µg y 150-µg. Métodos para prueba estandarizada de susceptibilidad antimicrobiana en disco en gramos

están empleados, con cualquier zona de inhibición alrededor 0129 discos considerados como sensibles. Medios que contienen sal (0,5%) se deben utilizar para procedimiento de prueba, ya que los iones de sodio estimulan el crecimiento de todas las especies de *Vibrio* y son requeridas por más. Cuando es sensible se conservara un halo de 10 a 15 ml, a diferencia que si resulta ser resistente no se conservará halo, sino un crecimiento uniforme. Shewan y Hodgkiss (1992). (Figura 9 y 10)

v. **Identificación Cromogénica**

➤ **Siembra en ChromAgar**

Es un medio Cromogénico no selectivo para el aislamiento, la identificación directa, la diferenciación y recuento de microorganismos como el género *Vibrio*. Contiene peptona especialmente seleccionada que suministran los nutrientes necesarios a dicho microorganismo. La mezcla de cromógenos está formada por sustratos artificiales (cromógenos) que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas microbianas específicas, por lo que se asegura la diferenciación directa de determinadas especies o la detección de ciertos grupos de organismos, con solo un mínimo de pruebas de confirmación, es este caso nos referimos al género *Vibrio*. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2016). (Figura 11)

vi. **Pruebas serológicas**

➤ **Antígeno Polivalente de *V. cholerae* O1**

En una placa de vidrio limpia se colocó una gota del antisuero polivalente de *V. cholerae* O1, luego se tomó una asada de un cultivo fresco proveniente de un agar no selectivo como lo es el agar TSA, se realizaron pequeños movimientos en círculos con la finalidad que los antígenos entren en contacto con los anticuerpos, en este caso si la bacteria presenta los receptores específicos para dicho antígeno; si se produce una aglutinación la prueba es positiva, pero si no se observa aglutinación, (esto quiere decir que la bacteria no presenta receptores específicos para dicho antígeno) la prueba es negativa.

Todas las cepas de *Vibrio cholerae* como *Vibrio cholerae no O1*; *Vibrio cholerae no-O139*, existen en ambientes acuáticos, y su importancia epidemiológica es distinta a la que poseen los serogrupos *O1 Y O139*, ya que generalmente se ven implicado como causantes de cuadros de diarreas humanas en muchos países.

vii. Pruebas moleculares

➤ PCR para gen *ctxA* y Toxina colérica.

Esta prueba fue realizada por el Instituto Nacional de Salud (INS).

La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR, en contraste con la caracterización fenotípica, permite una detección específica y sensible, y por tanto, una caracterización genotípica de las células bacterianas. Este método ha sido utilizado con éxito ampliamente para detectar cepas de *V. cholerae* toxigénicas presentes en muestras clínicas o ambientales, así como en preparados vacunales.

El PCR específico tiene como objetivo detectar los genes de la toxina del cólera (*ctxAB*).

Las cepas ya identificadas fueron enviadas al instituto nacional para su confirmación y estudio Moleculares.

3.2.5 MÉTODO ESTADÍSTICO

Análisis de datos el análisis e interpretación de datos fueron del tipo descriptivo unidimensional (estadística descriptiva) (Zea, 2001).

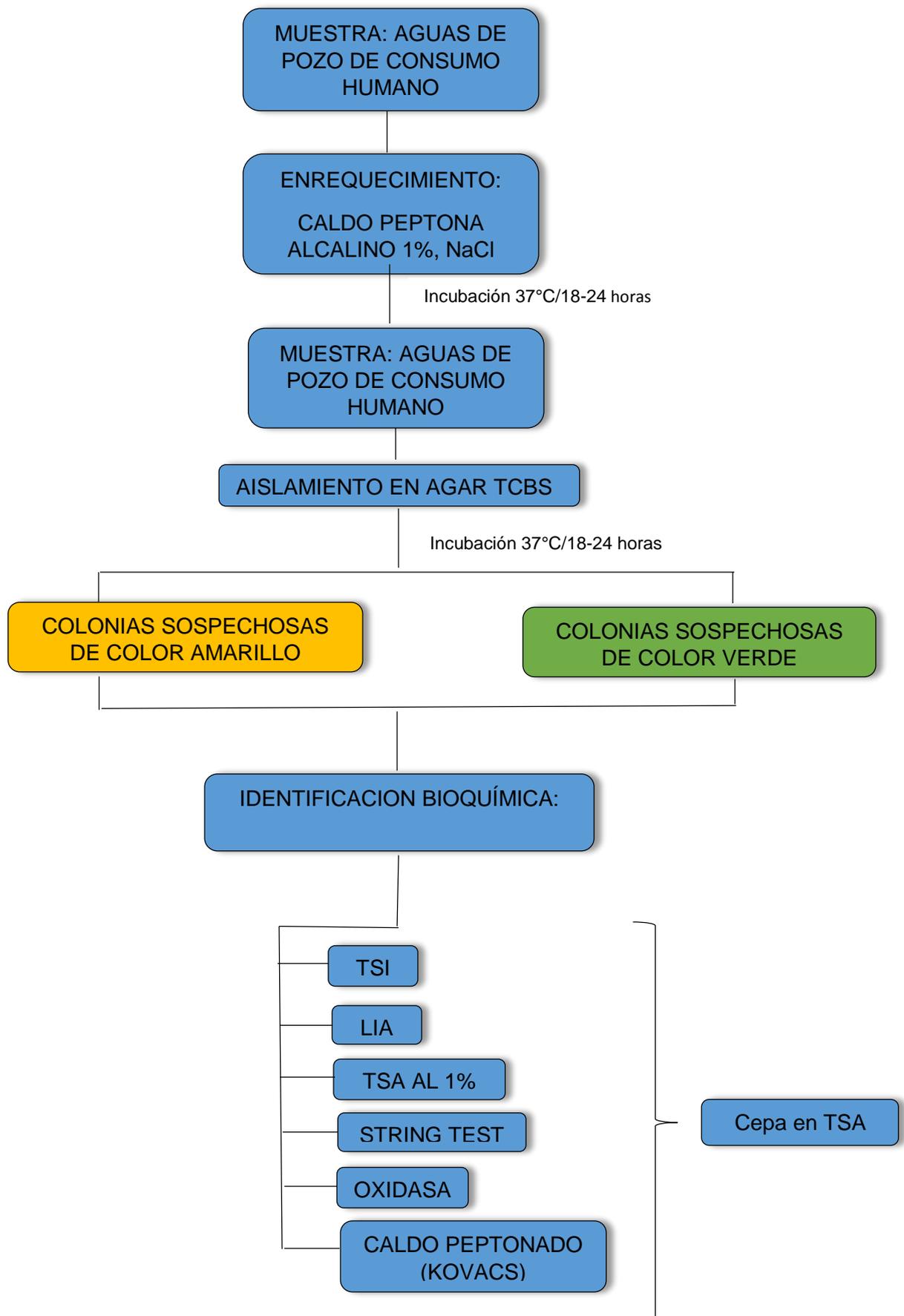


FIGURA 3.

Diagrama del método de aislamiento e identificación de especies del género *Vibrio* en aguas de pozo para consumo humano.

IV. RESULTADOS

➤ **Presencia de especies del género *Vibrio* en pozos del distrito de Mórrope.**

Durante los meses de julio del año 2017 a febrero del 2018, de la investigación microbiológica de especies del género *Vibrio* en aguas de pozos del distrito de Mórrope; se aisló especies del género *Vibrio*, en 5 pozos de los 21 analizados representando el 24% del total de pozos muestreados, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. *Porcentaje de pozos positivos y negativos al aislamiento de especies del género *Vibrio* del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.*

Pozos	N° de pozos	Porcentaje
Positivos	5	24%
Negativos	16	76%
Total	21	100%

De los 21 pozos subterráneos analizados en la investigación 4 fueron artesanales y 17 tubulares que representa el 19% y el 81% respectivamente, de ellos se aisló bacterias del género *Vibrio* en 2 artesanales 9.5% y 3 tubulares 14.3%. Ver Tabla 2.

Tabla 2. *Porcentaje de pozos artesanales y tubulares del distrito de Mórrope con presencia de bacterias del género *Vibrio*. Lambayeque, 2017.*

Tipo de Pozos	Positivos		Negativos		Total	
	n°	%	n°	%	n°	%
Artesanales	2	9.5	2	9.5	4	19
Tubulares	3	14.3	14	66.7	17	81
21	5	24	16	76	21	100

➤ **Determinación de especies del genero Vibrio**

Cabe resaltar que en el presente estudio se realizó un muestreo seriado, de tres muestras por pozo, las cuales fueron recolectadas en diferentes tiempos (días), lo que constituye un total de 63 muestras; de ellas en 36 se aislaron microorganismos; identificándose especies del género Vibrio de 9 muestras que constituye el 14.3 % como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de bacterias del género Vibrio aisladas de las 63 muestras de agua subterráneas de pozos del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.

Muestras	N° de muestras	%
Positivo	9	14.3
Negativo	54	85.7
Total	63	100

De las 9 cepas positivas para Vibrio se identificaron 2 especies, 5 para *Vibrio cholerae* no O1, que representa el 14% y 4 *Vibrio fluvialis*, que representa el 11%, lo que constituye el 25% de especies del género Vibrio aisladas de las 63 muestras de los 21 pozos del distrito de Mórrope, como se aprecia en la Tabla 4.

Tabla 4. Porcentaje de especies del género Vibrio aisladas de 63 muestras de los 21 pozos de aguas subterráneas del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.

Especies del género Vibrio	N°	%
<i>Vibrio cholerae</i> no O1	5	14
<i>Vibrio fluvialis</i>	4	11
Total	9	25

En la Figura 4 observamos que el género *Vibrio* representa el 25% del total de especies aisladas, de este porcentaje *Vibrio cholerae no O1* representa un 14% y *Vibrio fluvialis* un 11%.

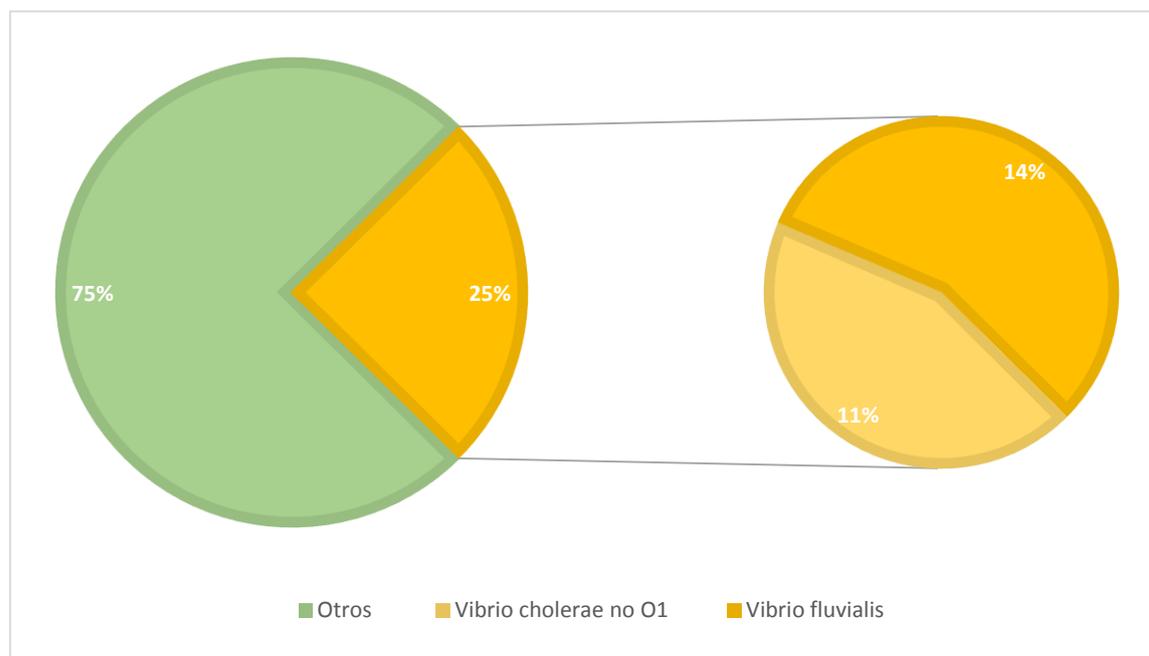


FIGURA 12. Porcentaje de especies del género *Vibrio* aislados de 63 muestras de agua subterránea de los pozos del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.

Tomando en cuenta el tipo de pozo podemos decir que, en pozos tubulares *Vibrio cholerae no O1* representa el 11.2% y *Vibrio fluvialis* representa un 5.5%, mientras que en los pozos artesanales *Vibrio cholerae no O1* representa un 2.8% y *Vibrio fluvialis* un 5.5%, es decir *Vibrio cholerae no O1* presenta mayor porcentaje en pozos tubulares que artesanales a diferencia de *Vibrio fluvialis* que representa un mismo porcentaje en ambos tipos de pozos, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Porcentaje de especies de *Vibrio* según el tipo de pozo subterráneo del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

Tipo de pozos	Especies de vibrio	N°	%
Tubulares	<i>Vibrio cholerae no O1</i>	4	11.2
	<i>Vibrio fluvialis</i>	2	5.5
Artesanales	<i>Vibrio cholerae no O1</i>	1	2.8
	<i>Vibrio fluvialis</i>	2	5.5

En la Tabla 6 se muestra las especies aisladas del género *Vibrio* teniendo en cuenta el caserío; observándose que *Vibrio fluvialis* se aisló en Chepito Lagunas y Laguna Centro, 1 cepa en cada lugar (2.5 %) respectivamente y 2 cepas (5.5%) en Monte Grande IV; y *Vibrio cholerae no O1* se aisló en Chepito Lagunas, Cruce de Zenaida, 2 cepas en los pozos de cada lugar (5.6%) y en Monte Grande I se aisló 1 cepa de *Vibrio cholerae no O1* que representa el 2.8% .

Tabla 6. Porcentaje de especies del género *Vibrio* aisladas de pozos de agua subterránea de los caseríos del distrito de Mórrope-Lambayeque, 2017.

Caseríos	Pozos	Especies	N° de cepas	%
Chepito Lagunas	PM2	<i>Vibrio fluvialis</i>	CM3	2.75
		<i>Vibrio cholerae no O1</i>	CM4 CM5	5.6
Laguna Centro	PM3	<i>Vibrio fluvialis</i>	CM6	2.75
Cruce de Zenaida	PM6	<i>Vibrio cholerae no O1</i>	CM11 CM12	5.6
Monte Grande I	PM16	<i>Vibrio cholerae no O1</i>	CM27	2.8
Monte Grande IV	PM19	<i>Vibrio fluvialis</i>	CM33 CM34	5.5
Total			9	25

Siguiendo con la metodología del Estándar Métodos 2012, se lograron aislar otros géneros y especies como: *Aeromonas caviae*, *Plesiomonas sp* y *Enterobacter sp* las cuales representan un 17%, 30% y 28% respectivamente del total de especies aisladas como lo demuestra y grafica la Tabla 7 y la Figura 4.

Tabla 7. Géneros y especies de microorganismos aislados de 63 muestras de agua de pozos del distrito Mórrope- Lambayeque, 2017.

Géneros y especies	N° de especies	%
<i>Aeromonas caviae</i>	6	17
<i>Plesiomonas sp</i>	11	30
<i>Enterobacter sp</i>	10	28
Total	36	100

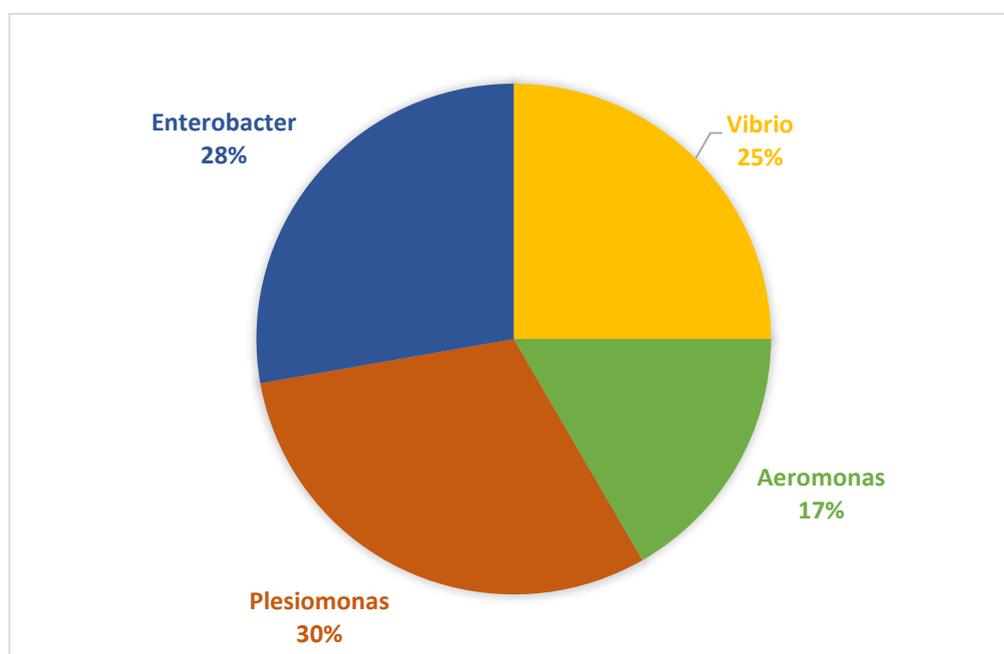


Figura 13. Porcentaje de géneros microbianos aislados de 63 muestras de agua subterráneas de los pozos del distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.

➤ **Determinación de parámetros físicos y químicos de las aguas de pozos subterráneos.**

Asimismo en la presente investigación se tomaron en cuenta algunos parámetros físicos y químicos en las aguas de pozos subterráneos de los caseríos del distrito de Mórrope como se muestra en la Tabla 9, los pozos tubulares presentaron una temperatura entre 22.5°C y 23°C, una conductividad de 2660 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 2760 $\mu\text{S}/\text{cm}$, un pH de 7 a 7.5 y una salinidad de 1.8 a 1.9/100, mientras que en los pozos artesanales presentaron una temperatura de 22°C, una conductividad de 1559 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 2980 $\mu\text{S}/\text{cm}$, un pH de 7.5 y una salinidad de 1.9/1000.

Tabla 8. *Parámetros físicos y químicos de las aguas de pozos subterráneos positivos a especies de Vibrio, distrito de Mórrope- Lambayeque, 2017.*

Pozos	Caseríos	T° (°C)	Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	pH	Salinidad 0/00
Pozos Tubulares	Chepito Lagunas	22.5	2660	7	1.8
	Laguna Centro	22.5	2660	7	1.8
	Cruce de Zenaida	23	2760	7.5	1.9
Pozos Artesanales	Monte Grande I	22	1559	7.5	1.9
	Monte Grande IV	22	2980	7.5	1.9

❖ Decreto Supremo DS N°031-2010-SA. (DIGESA 2011) valores normales para agua de consumos humano conductividad 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$; temperatura °C. (ANEXO 3).

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio realizado en Julio de 2017 a Febrero de 2018, donde se muestrearon 21 pozos de aguas subterráneos (4 artesanales y 17 tubulares) del distrito de Mórrope - Lambayeque, se aislaron e identificaron especies de *Vibrio*, 9 cepas (25 %) a partir de pozos subterráneos del distrito de Mórrope, el hallazgo encontrado en este tipo de ambiente es uno de los primeros en la Región Lambayeque por lo tanto no podemos compararlo ya que no se cuenta con referencias de otros estudios semejantes al tema en mención. El resultado obtenido es alto dado que en otras zonas cuyos ambientes acuáticos son diferentes se han obtenido promedios menores como el estudio realizado en la ciudad Ancash por García, (2006) en las localidades de Santa y Coishco en donde se encontró en muestras de aguas subterráneas 6.2% de *Vibrio cholerae* no 01 en 19 muestras; el alto porcentaje encontrado en el presente estudio posiblemente se deba a las características físico-químicas que presentan estas aguas subterráneas, de manera adicional al agua de estos pozos se les midió T°, pH, salinidad 0/00, conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) obteniéndose parámetros muy propicios para el desarrollo de este género, en pozos tubulares una temperatura entre 22.5°C y 23°C, una conductividad de 2660 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 2760 $\mu\text{S}/\text{cm}$, un pH de 7 a 7.5 y una salinidad de 1.8 a 1.9/100, mientras que en los pozos artesanales presentaron una temperatura de 22°C, una conductividad de 1559 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 2980 $\mu\text{S}/\text{cm}$, un pH de 7.5 y una salinidad de 1.9/1000 (ANEXO 9), en comparación con lo obtenido por Borroto (2010), quien indica que un medio favorable para *Vibrio* presentan, conductividad de 2.76 mS/cm - 2.98 mS/cm, T° 22-23, un pH de 7 a 7,5 y un promedio de salinidad de 1.8/1000 - 1.9/1000, estos resultados concuerdan con los obtenidos en las aguas subterráneas de los pozos de los caseríos del distrito de Mórrope, dichos resultados son propicios para el desarrollo de especies del género *Vibrio*. Así mismo el alto porcentaje de aislamiento de *Vibrio* también podría deberse a que las muestras utilizadas en el presente estudio se recolectaron a pocos meses después del fenómeno del Niño Costero que había ocurrido en el Norte del país, siendo esta zona la más afectada ya que hubo inundaciones, desborde de ríos y predominio de altas temperaturas.

Los aislamientos e identificaciones de este género indicaría que en nuestro país hay especies del género *Vibrio* en aguas dulces; por lo tanto es importante la vigilancia epidemiológica y microbiológica periódica en este tipo de aguas como lo afirma la OMS y Gonzales, M (2009) en la investigación realizada en Cuba.

De las especies aisladas e identificadas se determinó 5 cepas de *Vibrio cholerae* no O1 y 4 cepas de *Vibrio fluvialis* representando 14% y 11% respectivamente. De los 4 pozos artesanales muestreados se aislaron 1 cepa de *Vibrio cholerae* no O1 y 2 cepas de *Vibrio fluvialis*; mientras que en los 17 pozos tubulares muestreados se aislaron 4 cepas de *Vibrio cholerae* no O1 y 2 cepas de *Vibrio fluvialis*. En el pozo PM2 se aisló *Vibrio fluvialis* y *Vibrio cholerae* no O1, en el pozo PM3 se aisló *Vibrio fluvialis* y *Plesiomonas*, en el pozo PM7 se aisló *Enterobacter* y *Plesiomonas*, en el pozo PM12 se aisló *Aeromonas caviae* y *Enterobacter*, en el pozo PM15 se aisló *Enterobacter* y *Plesiomonas* y por último en el pozo PM16 se aisló *Vibrio cholerae* no O1 y *Plesiomonas* (ANEXO 10) ;los hallazgos encontrados nos permiten determinar que existe cierta asociación de especies denominada coagregación, esto puede deberse a factores que contribuyan a la convivencia y desarrollo de las especies en un mismo hábitat (aguas subterráneas). Las especies aisladas correspondientes a: *Vibrio cholerae* no O1 y *Vibrio fluvialis*, las cuales fueron identificadas por el área de Enteropatógenos del Laboratorio Referencial Regional de Salud Pública de Lambayeque (LARESA), y confirmadas posteriormente por el Instituto Nacional de Salud (INS) (Sistema netlab).

Otros estudios similares en donde se ha determinado especies del género *Vibrio* en el Perú aislados a partir de aguas subterráneas sólo tenemos el de García (2006) que aisló especies del género *Vibrio* en aguas no cloradas encontrando un 6,2% de *V. cholerae* no O1 en los pozos de las localidades de Santa y Coishco, resultado que difiere con el presente donde se encontró un 14% de *Vibrio cholerae* no O1; además se aisló *Vibrio fluvialis* en un 11%, este hallazgo permite afirmar que las condiciones de las agua de pozos subterráneos en el distrito de Mórrope son propicias para el desarrollo de estos microorganismos.

En Perú, en estos últimos años se han identificado varias especies del género *Vibrio*, en el litoral de la ciudad de Piura, Sechura y Pisco (Orozco. et al, 2016) y en la ciudad de Lima, en los humedales de Ventanilla (Rodríguez. et al, 2017) donde se aisló *Vibrio cholerae* en todos los puntos de muestreo; en todos los trabajos mencionados se obtienen porcentajes considerables. Todos estos estudios citados, muestra que tenemos presencia de especies del género *Vibrio* en aguas continentales, así mismo en el presente estudio la mayoría son *Vibrio cholerae* no O1, es decir no presentan toxina colérica, si bien es cierto en el presente trabajo no se aisló *V. cholerae* O1 ni el *V. cholerae* O139 las cepas encontradas podrían tomar en algún momento los plásmidos que determinan la presencia de la enterotoxina, volverse virulentos y por ende ser toxígenicos para el humano. En investigaciones realizadas por (Mekalano et al., 2012) demostraron que los genes que codificaban para la toxina colérica son portados por un profago replicado como un plásmido en la especie *Vibrio cholerae*, esto enfatiza la convulsión genética de estos elementos mediante la transferencia de genes de virulencia hacia especies de bacterias no patógenas que ellos pueden infectar En este caso el hábitat natural del profago y el microorganismo patógeno (*Vibrio cholerae* no O1) influyen mucho en este proceso, es decir que las especies no patógenas de *V. cholerae* pueden adquirir y/o intercambiar fácilmente genes de antígeno Reyes., et al., (2009)

Vibrio cholerae O1 es el agente causal del cólera, enfermedad bacteriana intestinal aguda que está caracterizada por su rápida propagación; su penoso paso por Perú y su propagación rápida a toda América, nos hace reflexionar y pensar en lo peligrosa que puede llegar hacer esta bacteria. Si bien es cierto, *Vibrio cholerae* toxígeno es causante de grandes pandemias, otros serogrupos o especies son responsables de cuadros gastrointestinales diarreicos como es el caso de *Vibrio cholerae* no O1 y *Vibrio fluvialis*, ambos en común causan cuadros diarreicos. García, (2010)

También se lograron aislar otros microorganismos en 16 pozos utilizando la metodología del Stándar Métodos (2012) que propone para *Vibrio*, destacando que estas pertenecen al mismo grupo donde se encuentra el género *Vibrio*. Las cuales son: *Aeromonas caviae* 6 (17%) y *Plesiomonas* con 11(30%). Además se aisló cepas del género *Enterobacter* con un total de 10(28%) cepas. El género *Aeromonas*, es autóctono de ecosistemas acuáticos

dulceacúcolas y en los últimos años se han reportado como agentes etiológicos en infecciones intestinales y extra intestinales. En el estudio de González (2010), “*Aeromonas sp*, patógenos emergentes a considerar en aguas”, se analizaron 169 muestras de aguas subterráneas obteniéndose 144(85.2%) muestras positivas para el género *Aeromonas*. El género *Plesiomonas* pertenece al grupo de bacterias Oxidasa positivas al igual que *Aeromonas* y *Vibrio*, sensible a la prueba de Vibriostato O139 y también son responsables de enfermedades intestinales, a diferencia del género *Enterobacter* que no pertenece al grupo de bacterias oxidasa positiva pero si comparte grupo con *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* en el grupo de Bacilos gram negativos con fermentación acida o ácido-alcalina de la glucosa en TSI, este género no se considera enteropatógeno. Vay (2009).

VI. CONCLUSIONES

- De los 21 pozos de agua subterráneas de los caseríos del distrito de Mórrope, en 24% de ellos se aisló 2 especies del género *Vibrio*, en los pozos Chepito Laguna, Cruce de Zenaida y Monte grande I se aisló *Vibrio cholerae* no O1 (14%) y en los pozos Chepito Laguna, Laguna Centro y Monte Grande IV, se aisló *Vibrio fluvialis* (11%) del total de los pozos.
- En los pozos de los caseríos de Arbolsol, Dos Palos, Monte Grande III, se aisló *Aeromonas caviae* (17%); en los pozos de Laguna Centro, Las Delicias, Carrizal, Los Laureles, Cruz de Medianía, Monte Grande III, se aisló el género *Plesiomonas* (30%) y en los pozos de Chepito Bajo, Quemazón, Las Delicias, Dos Palos, Cruz del Médano, Paredones, Cruz de Medianía, Nuevo San Isidro y Puente la Piedra, se aisló *Enterobacter* (28%).
- El agua de consumo humano proveniente de los pozos tubulares y artesanales de los caseríos del distrito de Mórrope, representan un reservorio potencial para bacterias como *Vibrio cholerae* no O1, *Vibrio fluvialis*, *Aeromonas caviae*, *Plesiomonas* y *Enterobacter*.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios tendientes a determinar el Número más probable (NMP) de coliformes fecales en aguas de pozos del distrito de Mórrope.
- Evaluación de sensibilidad y resistencia frente al cloro de las bacterias del género *Vibrio* aisladas de los Pozos Tubulares y Artesanales del Distrito de Mórrope.
- Hacer de conocimientos los resultados a las autoridades respectivas, para que tomen las medidas tendientes a investigar nuevos métodos de potabilización del agua subterránea de los pozos del distrito de Mórrope y de esa manera entreguen a la población agua de mejor calidad.
- Ejecutar charlas de prevención y de concientización a la población para prevenir posibles infecciones por este microorganismo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Aurazo, M. (2004). “Manual para análisis básicos de calidad del agua. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del ambiente”. Lima-Perú. OPS/OMS/CEPIS/PUB. 2004: 04.103.
2. Baypoli, N., Montenegro M., Fuentes, F. y Aguilar A. (2010).”Calidad microbiológica del agua de consumo humano de tres comunidades rurales del sur de sonora México 2010”.Departamento de biotecnología y ciencias alimentarias, pág.1.
3. Borroto, R. (2008) “Supervivencia de *Vibrio cholerae* O1 en agua dulce superficial y cólera endémico: una hipótesis geoecológica”, Cuba, pág. 4.
4. Borroto, R. (2010). “La ecología de *Vibrio cholerae. serogrupo O1* en ambientes acuáticos”, Cuba, pág. 3.
5. Bravo, N. y Gillen, A. (2011). “Reporte histórico: Primer Aislamiento de *Vibrio cholera* serogrupo o1 biovar el TOR serovar inaba durante la epidemia de cólera en el Perú – 1991”, pág. 2.
6. Candau, M. (1971). La séptima pandemia de cólera. Organización Mundial de Salud - OMS 25: 171.
7. Calsín, K. (2016). “Calidad Física, Química y Bacteriológica de aguas subterráneas de consumo humano en el sector de Taparachi III de la ciudad de Juliaca, Puno - 2016”, pág. 33.
8. Jiménez C., Haro R., Lázaro L. y Montes J. (2011). “Aislamiento ambiental de *Vibrio cholerae. O1* en aguas continentales de la provincia de Sevilla”; pág. 188.
9. Colwell, R. y cols (1977). *V. cholerae, V. parahaemolyticus* and other *Vibrios*: occurrence and distribution in Chesapeake bay. Science 198: 394- 396.
10. Copyright (2017). “Asociación de Médicos de Sanidad Exterior”, España, pág. 7.

11. Dueñas, T. (2008). “Recuento de *Vibrio parahaemolyticus* Kanagawa positivo en especies marinas de consumo en Lima Metropolitana y Callao”. pág. 13.
12. Fuentes, A., Campas, O., Aguilar, G., y Meza, M. (2007). “Calidad Microbiológica del agua de consumo humano de tres comunidades rurales del Sur de Sonora – México”, pág. 9.
13. Gavilán, R., Martínez, J. (2011). “Factores Ambientales vinculados con la aparición y dispersión de las Epidemias de *Vibrio* en América del Sur”, pág. 111.
14. García, A. (2006). “Identificar la presencia de *Vibrio cholerae* en muestras de agua no cloradas para consumo humano en las localidades de Santa y Coishco”. Hospital de Apoyo La Caleta. Dirección Regional de Salud Ancash. Chimbote, Perú., pág. 168.
15. González, M. (2009). “Sistema de Vigilancia de *Vibrio cholerae* en aguas del Puerto Quintana Conrado, (1988-1994) Cuba”; pág. 4.
16. González, M. y Leyva, V. (2010). “Identificación de especies del género *Vibrio* aisladas de aguas costeras de Cuba” (1994-1996), pág. 4.
17. Guerra, E. y Bradford, A. (1984). Dos especies de *Vibrio parahaemolyticus*. Urea positiva en Lima – Perú. Res. VI Cong. Per. Microbiol. y Parasitol., cusco, pág. 40.
18. Instituto de salud pública de Chile (2012). “Informe de resultados de vigilancia de laboratorio *Vibrio cholerae*. en muestras ambientales 2010 -2012 ministerio de salud de Chile”.
19. Kaper, J., Lockman, H., Colwell R, y Joseph, S. (1979). Ecology, serology and enterotoxins productions of *V. cholerae* in Chesapeake bay. APPL. Environ. Microbiol. 37: 91-103.
20. Lewis, W., Foster, S. y Drasar, B. (1988). “Análisis de contaminación de las aguas subterráneas por sistemas de saneamiento básico”, pág. 3-7.
21. Marchand, O. (2002). Microorganismos indicadores de la calidad de agua de Lima metropolitana, Perú, Pág. 7.
22. Mekalanos (2012). “ Genomic diversity of *Vibrio cholerae*”. proceedings of the national academy of sciences of the United States of America (PNAS), pág. 6.
23. Miller, C. y Drasar, B. (1985). Cholera Epidemiology in developed and developing countries: new thoughts on transmission, seasonality and control. Pág. 261 – 263.
24. García, M., Almodóvar, M., Rivero, A. y Torre, J. (2011). “Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas”. Hospital Reina Sofía. Córdoba-España, pág. 1.

25. Mindy, J. (2004). Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo.
26. Ministerio de Salud y Población de Haití / EE.UU – MSPH (2011). Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades - CCPE. Manual de Capacitación para el Cólera de Haití: Curso Completo para Proveedores de Salud. (Ed.2). pág. 124.
27. Munn, C. (2004). Marine Microbiology: ecology and applications. New York: BIOS Scientific Publisher.
28. Orozco, R., Quispe, Y., Lorenzo, A. y Zamudio M. (2017). Asociación de floraciones de algas nocivas y *Vibrio* spp. en áreas de pesca y acuicultura de bivalvos de moluscos en las bahías de Sechura y Pisco, Perú. *Revista peruana de biología* 24(1).
29. Organización mundial de la Salud – OMS. (1991). Cólera: epidemic in Perú – part I. *weekly epidemiological record*, 56(9): 61 – 63.
30. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD OMS (2003). Total dissolved solids in drinking-water. Documento de referencia para la elaboración de las Guías de la OMS para la calidad del agua potable. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud. (WHO/SDE/WSH/03.04/16).
31. Organización Mundial de la Salud - OMS (2014). Actualización Epidemiológica Cólera, pág. 3.
32. Organización Panamericana de Salud. (2012). Alerta Epidemiológica cólera actualización de la situación, pág. 2.
33. Reynolds, J. (2002). “Manejo integrado de aguas subterráneas, Un reto para el futuro. Editorial Universidad Estatal a Distancia”. San José. pág. 348
34. Reyes, R., Ramírez, H., Solís, M. y Coria, R. (2009). “Mecanismos involucrados en la variabilidad del antígeno O de bacterias Gram negativas”, pág. 33.
35. Rodríguez, R., Retamozo, R., Aponte, H. y Valdivia, E. (2017). “Evaluación microbiológica de un cuerpo de agua del ACR Humedales de Ventanilla (Callao, Perú) y su importancia para la salud pública local-Perú”, pág. 5.
36. Secretaría de salud - Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). “Manual de Técnicas y Procedimientos para la Detección de *Vibrio cholerae* en Agua y Alimentos”.

37. Tapmplin, M. (1991). Informe de la visita del doctor M. Tamplin, Programa del control del cólera, lima (PE) marzo 1991, pág. 8.
38. Terán, P. Comparación de métodos para determinación de perímetros de protección de pozos y su aplicabilidad en algunos pozos del sistema de abastecimiento de agua potable en la ciudad de El Vigia. Mérida- Venezuela. 2003.
39. Torres, D. (1982). “Variación estacional de *vibrio parahaemolyticus*. En agua de mar”. Resumen VII Congreso Nacional de Biología. Lima–Perú

Anexos

ANEXO 1. *Presencia de sistema de cloración según el tipo de pozo.*

Agua potable	CON SISTEMAS DE CLORACION	SIN SISTEMA DE CLORACION
POZOS ARTESANALES	-	4
POZOS TUBULARES	14	3

ANEXO 2. *Descripción Física de los pozos artesanales de agua subterránea de los caseríos del distrito de Mórrope, Lambayeque 2017.*

Pozos Artesanales	Descripción
<p>MONTE GRANDE I PM16 Ubicación: 6040228 / 8025399 UTM WGS 84 Altitud: 21 (msnm) Profundidad: 10 m Pozo que no cuenta con una infraestructura. Carece de sistema de cloración. Carece de sistema de motobomba. Su recolección es mediante baldes. No cuenta con una tapa, está a la intemperie. Está expuesto a la continua contaminación.</p>	
<p>MONTE GRANDE II PM17 Ubicación: 6040228 / 8025399 UTM WGS 84 Altitud: 21 (msnm) Profundidad: 15 m Pozo que no cuenta con una infraestructura, pero el pozo esta lucido con concreto. Carece de sistema de cloración (sin motobomba). Su recolección es mediante baldes. Cuenta con una tapa, pero no es la apropiada. Está ubicada cerca de los criaderos de animales (cerdos).</p>	

MONTE GRANDE III PM18**Ubicación:** 6040228 / 8025399 UTM WGS 84**Altitud:** 21 (msnm) **Profundidad:** 10 m

Pozo que no cuenta con una infraestructura, se encuentra rodeado de ladrillos.

Carece de sistema de cloración.

Carece de sistema de motobomba.

Su recolección es mediante baldes.

No cuenta con una tapa, está a la intemperie.

No cuenta con una limpieza continua.

**MONTE GRANDE IV PM19****Ubicación:** 6040228 / 8025399 UTM WGS 84**Altitud:** 21 (msnm) **Profundidad:** 10 m

Pozo que no cuenta con una infraestructura, se encuentra lucido con concreto.

Carece de sistema de cloración.

Cuenta de sistema de motobomba, pero es muy básica y precaria.

No cuenta con una tapa, está a la intemperie.

No cuenta con una limpieza continua.



ANEXO 3. Descripción Física de los pozos tubulares de agua subterránea de los caseríos del distrito de Mórrope, Lambayeque 2017.

CASERÍOS	DESCRIPCION FÍSICA
<p>CHEPITO BAJO PM1 Ubicación: 616822/9278949 UTM WGS 84 Altitud: 32 (msnm) Profundidad: 80m Presenta una bomba dosificadora de cloro por pulsaciones. No tiene tapa adecuada, está a ras de suelo y sus paredes del pozo son lucidas. La extracción es mediante motobomba</p>	
<p>CHEPITO LAGUNAS PM2 Ubicación: 616822/9278949 UTM WGS 84 Altitud: 32 (msnm) Profundidad: 80 No Presenta sistema de cloración No Cuenta con una tapa adecuada y se encuentra casi al ras del suelo. Pozo tubular rodeado de concreto La extracción es mediante motobomba Cuentan con un sistema de saneamiento óptimo</p>	
<p>LAGUNAS CENTRO PM3 Ubicación: 616323/9278706 UTM WGS 84 Altitud: 32 (msnm) Profundidad: 26 Presenta una bomba dosificadora de cloro por pulsaciones La extracción es mediante motobomba.</p>	

<p>ARBOLSOL PM4</p> <p>Ubicación: 614328/9276903 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 26 (msnm) Profundidad: 10 m</p> <p>Este caserío cuenta con un sistema de coloración óptimo, un bomba dosificadora de cloro por pulsaciones</p> <p>Cuenta con una infraestructura propia para el pozo.</p> <p>La extracción e mediante motobomba.</p> <p>Su cloración del agua no es continua, debido que los pobladores no toleran este tipo de agua.</p>	
<p>2 PALOS PM12</p> <p>Ubicación: 605662/9271813 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 10 (msnm) Profundidad: 10 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>Presenta sistema de cloración pero inoperativo.</p> <p>Su construcción es precaria, sus paredes no están lucidas y su tapa es inadecuada.</p>	
<p>QUEMAZON PM5</p> <p>Ubicación: 613274/9279341 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 25 (msnm) Profundidad: 28 m</p> <p>Este pozo con una infraestructura adecuada para la cloración del agua.</p> <p>Cuentan con bomba dosificadora de cloro por pulsaciones.</p> <p>El porcentaje de cloro que vierten al agua por parte del operario encargado no es el adecuado.</p>	

<p>CRUCE ZENAIDA PM6</p> <p>Ubicación: 616597/9279602 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 35 (msnm) Profundidad: 6 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>Cuentan con un pozo que no cuenta con una buena infraestructura.</p> <p>Cuentan con un sistema de bomba antigua y desgastada.</p> <p>La puerta de entrada en pésimas condiciones, por lo que dicho pozo se encuentra expuesto a la contaminación.</p> <p>La limpieza del pozo es precaria.</p>	
<p>LAS DELICIAS PM7</p> <p>Ubicación: 614231/9278168 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 21 (msnm) Profundidad: 15 m</p> <p>Este pozo se encuentra aislado de la población, su infraestructura no es muy buena.</p> <p>Posee su sistema de motobomba.</p> <p>El operario encargado no realiza la limpieza continua del pozo.</p> <p>El porcentaje de cloro que vierten al agua no es el adecuado.</p>	
<p>CARRIZAL PM8</p> <p>Ubicación: 611920/9280770 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 16 (msnm) Profundidad: 12.77</p> <p>Cuenta con su propia infraestructura.</p> <p>Su extracción es mediante motobomba.</p>	

<p>LOS LAURELES PM11</p> <p>Ubicación: 616505/9266047 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 10 (msnm) Profundidad: 9 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>Se encuentra retirado de la ciudad cerca a la costa, no cuenta con tapa adecuada.</p> <p>Presenta paredes lucidas, pero carece de sistema de cloración.</p>	
<p>LOS VALDERA PM10</p> <p>Ubicación: 613598/9284354 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 22 (msnm) Profundidad: 6.66 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>Es un pozo que a diferencia de los demás, su agua es dulce, debido a que está muy alejado de las minas de sal y de la costa.</p> <p>No cuenta con sistema de cloración. Pero si cuenta con buena infraestructura.</p> <p>Cuenta con tapa de madera muy pesada pero que predispone a la invasión de hormigas.</p> <p>No se realiza una limpieza continua.</p>	
<p>CRUZ DEL MEDANO PM13</p> <p>Ubicación: 615219/9280702 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 33 (msnm) Profundidad: 43 m</p> <p>Presenta una estructura óptima ya que está dentro de una caseta.</p> <p>Cuenta con sistema de cloración con cloro a gas. Tiene un sistema de motobomba fijo, que cubre toda la superficie del pozo, pero no permite su limpieza.</p>	

<p>PAREDONES PM14</p> <p>Ubicación: 616505/9266047 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 11 (msnm) Profundidad: 6 m</p> <p>Este pozo se encuentra al otro extremo de la población.</p> <p>Es un pozo tubular abierto. No presenta sistema de cloración.</p> <p>No cuenta con una tapa apropiada. (Palos de madera), quedando expuesta a la contaminación del medio ambiente, como caída de hoja secas, entre otros contaminantes.</p>	
<p>CRUZ DE MEDIANIA PM15</p> <p>Ubicación: 614533/9270129 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 22 (msnm) Profundidad: 70 m</p> <p>Este pozo cuenta con su sistema de cloración, pero el operario no administra el porcentaje adecuado.</p> <p>Cuenta con su sistema de motobomba, pero no cuenta con una tapa apropiada, por ello queda expuesta a la contaminación.</p>	
<p>LA TORTOLITA PM9</p> <p>Ubicación: 615833/9280668 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 27 (msnm) Profundidad: 43 m</p> <p>Este pozo se encuentra alejado de la población</p> <p>Con un sistema cloración con cloro en gas.</p> <p>Este es uno de los pozos con una buena infraestructura.</p>	

<p>NUEVO SAN ISIDRO PM20</p> <p>Ubicación: 611831/9275497 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 18 (msnm) Profundidad: 12 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>No cuentan con sistema de cloración adecuada, no hay una vigilancia continua.</p> <p>Tampoco posee una tapa adecuada, que permite la limpieza de dicho pozo. (tapa de madera)</p>	
<p>PUENTE LA PIEDRA PM21</p> <p>Ubicación: 6037050/ 8012841 UTM WGS 84</p> <p>Altitud: 21 (msnm) Profundidad: 20 m</p> <p>Pozo tubular abierto.</p> <p>Este es uno de los pozos a ras de suelo, aun estando dentro de un establecimiento buen construido, no presenta tapa adecuada.</p> <p>No presenta sistema de cloración.</p> <p>Su extracción es mediante motobomba en cuyas mangueras quedan expuestas.</p>	

ANEXO 4. *Límites Máximos Permisibles de calidad física y química de agua para consumo humano.*

Parámetros	Unidades de medida	L.M.P
Turbiedad	NTU	5
pH	Valor de pH	6.5 – 8.5
Conductividad	uS/cm	1500
Sólidos totales disueltos	mg/l	1000
Cloruros	mg/ct	250
Sulfatos	mg/SO ₄	250
Dureza atotal	mg/CaCO ₃	500
Nitratos	mg/NO ₃	50

Fuente: (DIGESA, 2011)

ANEXO 5. *Metodología que se siguió para la toma y procesamiento de las muestras recolectadas de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.*



Figura 4: *Toma de muestra Directa.*

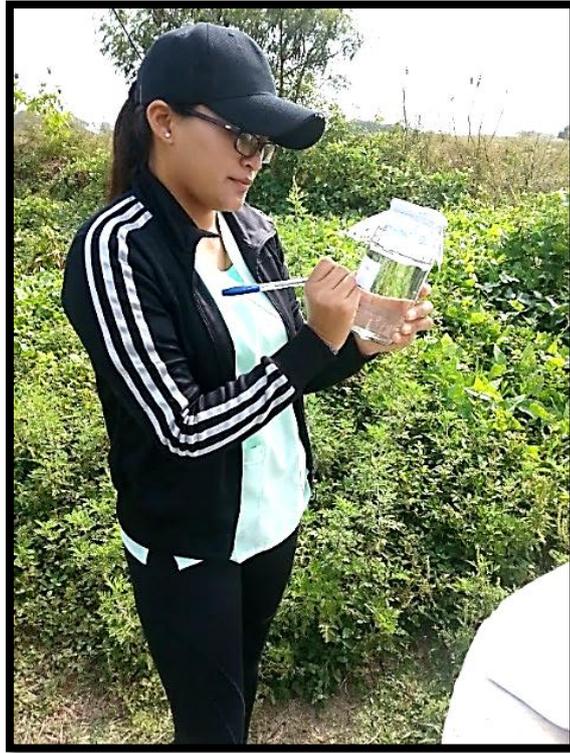


Figura 5: *Rotulación de muestras.*



Figura 6: *Enriquecimiento de las muestras para Vibrio en medio APA.*



Figura 7: Siembra en placas con Agar TCBS de muestras enriquecidas.

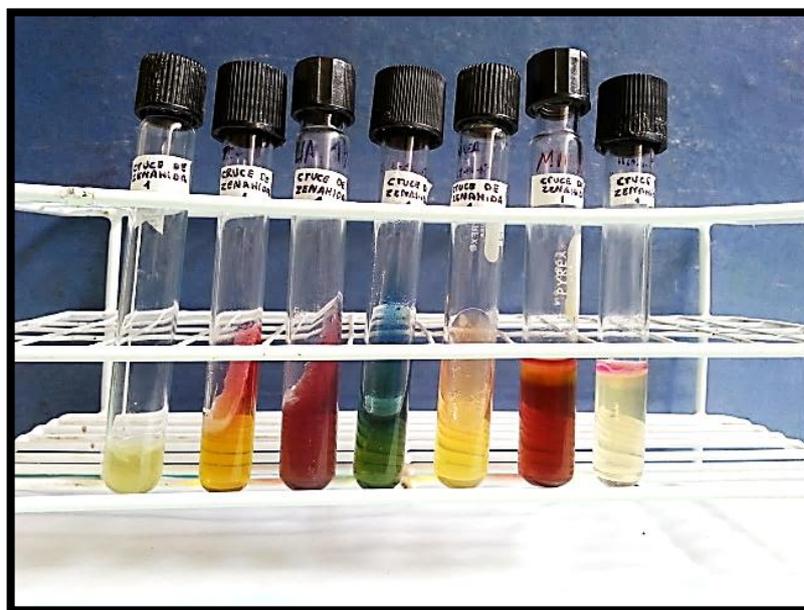


Figura 8: Pruebas Bioquímicas positivas para *Vibrio*.



Figura 9: Prueba de Vibriostático O129 positiva.

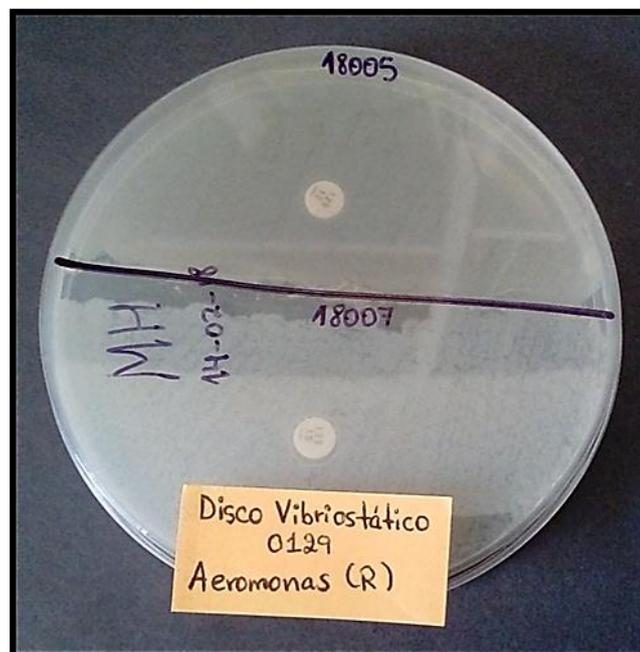


Figura 10: Prueba de Vibriostático O129 negativa.



Figura 11: Placa de Chromagar para Vibrio.

ANEXO 6.**TABLA A.**

Cuadro de codificación de pozos de agua subterráneas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

N°	Pozos	CÓDIGOS
1	CHEPITO BAJO	PM1
2	CHEPITO LAGUNAS	PM2
3	LAGUNAS CENTRO	PM3
4	ARBOLSOL	PM4
5	QUEMAZON	PM5
6	CRUCE ZENAIDA	PM6
7	LAS DELICIAS	PM7
8	CARRIZAL	PM8
9	LAS TORTOLITAS	PM9
10	LOS VALDERA	PM10
11	LOS LAURELES	PM11
12	DOS PALOS	PM12
13	CRUZ DEL MEDANO	PM13
14	PAREDONES	PM14
15	CRUZ DE MEDIANIA	PM15
16	MONTE GRANDE I	PM16
17	MONTE GRANDE II	PM17
18	MONTE GRANDE III	PM18
19	MONTE GRANDE IV	PM19
20	NUEVO SAN ISIDRO	PM20
21	PUENTE LA PIEDRA	PM21

TABLA B.

Cuadro de codificación de cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

Pozos	Cepas	Géneros y Especies
CHEPITO BAJO	CM1	<i>Enterobacter</i>
	CM2	<i>Enterobacter</i>
CHEPITO LAGUNAS	CM3	<i>Vibrio fluvialis</i>
	CM4	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
	CM5	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
LAGUNAS CENTRO	CM6	<i>Vibrio fluvialis</i>
	CM7	<i>Plesiomonas</i>
ARBOLSOL	CM8	<i>Aeromona caviae</i>
	CM9	<i>Aeromona caviae</i>
QUEMAZON	CM10	<i>Enterobacter</i>
CRUCE ZENAIDA	CM11	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
	CM12	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
LAS DELICIAS	CM13	<i>enterobacter</i>
	CM14	<i>Plesiomonas</i>
CARRIZAL	CM15	<i>Plesiomonas</i>
	CM16	<i>Plesiomonas</i>
LOS LAURELES	CM17	<i>Plesiomonas</i>
	CM18	<i>Plesiomonas</i>
DOS PALOS	CM19	<i>A. caviae</i>
	CM20	<i>A. caviae</i>
	CM21	<i>Enterobacter</i>
CRUZ DEL MEDANO	CM22	<i>Enterobacter</i>
	CM23	<i>Enterobacter</i>
PAREDONES	CM24	<i>Enterobacter</i>
CRUZ DE MEDIANIA	CM25	<i>Enterobacter</i>
	CM26	<i>Plesiomonas</i>
MONTE GRANDE I	CM27	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
	CM28	<i>Plesiomonas</i>
MONTE GRANDE II	CM29	<i>Aeromonas</i>
	CM30	<i>Aeromonas</i>
MONTE GRANDE III	CM31	<i>Plesiomonas</i>
	CM32	<i>Plesiomonas</i>
MONTE GRANDE IV	CM33	<i>Vibrio fluvialis</i>
	CM34	<i>Vibrio fluvialis</i>
NUEVO SAN ISIDRO	CM35	<i>Enterobacter</i>
PUENTE LA PIEDRA	CM36	<i>Enterobacter</i>

ANEXO 7. Registro de Pruebas Bioquímicas realizadas a las cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

Pruebas Bioquímicas									Especies	
Caserios/Pozos	TSI	LIA	SIM/MIO	UREASA	CITRATO	OXIDASA	Prub. Filamento	Antg. O1		
1	CHEPITO BAJO	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(-)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
	CHEPITO BAJO	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
2	CHEPITO LAGUNAS	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(+)	O+	D+	(-)	<i>Vibrio fluvialis</i>
	CHEPITO LAGUNAS	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+) S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(+)	O+	D+	(-)	<i>V. cholerae</i> no O1 <i>V. cholerae</i> no O1
3	LAGUNAS CENTRO	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(+)	O+	D+		<i>Vibrio fluvialis</i>
	LAGUNAS CENTRO	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
4	ARBOLSOL	K/A,+	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(-)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
	ARBOLSOL	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(-)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
5	QUEMAZON	A/A,-,-	K/K,+	M(-)(-)(+)O(+)	(-)	(+)				<i>Enterobacter</i>
6	CRUCE ZENAIDA I	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(+)	O+	D+	(-)	<i>V. cholerae</i> no O1
	CRUCE ZENAIDA II	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(+)	O+	D+	(-)	<i>V. cholerae</i> no O1
7	LAS DELICIAS	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
	LAS DELICIAS	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
8	CARRIZAL	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
	CARRIZAL	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
9	LAS TORTOLITAS									
10	LOS VALDERA									
11	LOS LAURELES 1	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
	LOS LAURELES 2	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
12	DOS PALOS 1	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+) S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(+)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
	DOS PALOS 2	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+) S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(+)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
	DOS PALOS 3	A/A,-,-	K/K,+	M(-)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
13	CRUZ DEL MEDANO	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
	CRUZ DEL MEDANO	A/A,-,-	K/K,+	M(-)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
14	PAREDONES	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
15	CRUZ DE MEDIANIA 1	A/A,-,-	K/K,+	M(-)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
	CRUZ DE MEDIANIA 2	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
16	MONTE GRANDE I	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(+)	O+	D+	(-)	<i>V. cholerae</i> no O1
	MONTE GRANDE I	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(+)	O+			<i>Plesiomonas</i>
17	MONTE GRANDE II	K/A,-,-	K/K,+ gas	M(+)(-)(-)O(-)	(-)	(-)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
	MONTE GRANDE II	K/A,+,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(-)	O+			<i>Aeromonas caviae</i>
18	MONTE GRANDE III	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(+)O(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
	MONTE GRANDE III	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(+)(+)M(+)	(-)	(-)	O+			<i>Plesiomonas</i>
19	MONTE GRANDE IV	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(+)	O+		(-)	<i>Vibrio fluvialis</i>
	MONTE GRANDE IV	K/A,-,-	K/K,+	M(+)(+)(-)O(-)	(-)	(+)	O+		(-)	<i>Vibrio fluvialis</i>
20	NUEVO SAN ISIDRO	A/A,-,-	K/K,+	S(-)(-)(-)M(+) M(-)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>
21	PUNTE LA PIEDRA	A/A,-,-	K/K,+	M(+)(-)(-)O(+)	(-)	(+)	O-			<i>Enterobacter</i>

ANEXO 8. Registro de Pruebas Diferenciales realizadas a las cepas aisladas de las 63 muestras de agua de los 21 pozos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

Pruebas Diferenciales				
	Caseríos/Pozos	OXIDASA	DESOXICOLATO DE SODIO	Ant. Polivalente O1
1.	CHEPITO BAJO	O-	-	-
2.	CHEPITO LAGUNAS	O+	D+	-
	CHEPITO LAGUNAS	O+	D+	-
3.	LAGUNAS CENTRO	O+	D'+	-
	LAGUNA CENTRO	O+	D+	
4.	ARBOLSOL	O+	-	
5.	QUEMAZON	O-	-	
6.	CRUCE ZENAIDA I	O+	D+	-
	CRUCE ZENAIDA II	O+	D+	-
7.	LAS DELICIAS I	O-	-	-
	LAS DELICIAS II	O+	D-	-
8.	CARRIZAL	O+	-	-
11.	LOS LAURELES I	O+	D-	-
	LOS LAURELES II	O+	D-	-
12.	DOS PALOS I	O+	D-	-
	DOS PALOS II	O+	D-	-
13.	CRUZ DEL MEDANO I	O-	-	-
14.	PAREDONES	O-	-	-
15.	CRUZ DE MEDIANIA	O-	-	-
16.	MONTE GRANDE I	O+	D+	
17.	MONTE GRANDE II	O+	-	
18.	MONTE GRANDE III	O+	-	
19.	MONTE GRANDE IV	O+	D+	-
	MONTE GRANDE IV	O+	D+	
20.	NUEVO SAN ISIDRO	O-	D-	-
21.	PUENTE LA PIEDRA	O-	-	-

ANEXO 9. Registro de Promedios de Temperatura, pH y Concentración de cloro de cada pozo.

N°	Pozos	T°	pH	[] Cloro
1	CHEPITO BAJO	20	7	0.1
2	CHEPITO LAGUNAS	20	7	2.0
3	LAGUNAS CENTRO	22	7	0.3
4	ARBOLSOL	20	7	1.0
5	QUEMAZON	20.5	7,5	0.7
6	CRUCE ZENAIDA	21	7,5	0.8
7	LAS DELICIAS	22	7	1.5
8	CARRIZAL	22	7	0.2
9	LAS TORTOLITAS	23	7	0.0
10	LOS VALDERA	20	7,5	0.0
11	LOS LAURELES	22	7	0.0
12	DOS PALOS	22	7	0.0
13	CRUZ DEL MEDANO	22.5	7	0.0
14	PAREDONES	23	7,5	0.2
15	CRUZ DE MEDIANIA	21	7	0.4
16	MONTE GRANDE I	21	7,5	0.0
17	MONTE GRANDE II	24	7	0.0
18	MONTE GRANDE III	24	7,5	0.0
19	MONTE GRANDE IV	23	7	0.0
20	NUEVO SAN ISIDRO	24	7,5	0.0
21	PUENTE LA PIEDRA	25	7	0.0

ANEXO 10. Pozos con presencia de dos especies bacterianas de los caseríos del distrito de Mórrope – Lambayeque, 2017.

CASERIOS	POZOS	GENEROS Y ESPECIES
CHEPITO LAGUNA	PM2	<i>Vibrio fluvialis</i>
		<i>Vibrio cholerae no O1</i>
LAGUNA CENTRO	PM3	<i>Vibrio fluvialis</i>
		Plesiomonas
LAS DELICIAS	PM7	Enterobacter
		Plesiomonas
DOS PALOS	PM12	<i>Aeromonas caviae</i>
		Enterobacter
CRUZ DE MEDIANIA	PM15	Enterobacter
		Plesiomonas
MONTE GRABDE I	PM16	<i>Vibrio cholerae no O1</i>
		Plesiomonas