



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Calificación de la calidad bacteriológica del agua de
regadío**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Para optar el Grado Académico de Bachiller en Microbiología y
Parasitología

AUTOR

Jackeline Alison RUIZ PALIAN

ASESOR

Jeanne Rossanne ALBA LUNA

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Ruiz, J. (2022). *Calificación de la calidad bacteriológica del agua de regadío*. [Trabajo de investigación de bachiller, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Jackeline Alison Ruiz Palian
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	73150533
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-0136-7336
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jeanne Alba Luna
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09436760
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4304-1403
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Carmen Rosa Méndez Farro
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08800393
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Tito Libio Sánchez Rojas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08550935
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Jorge León Quispe
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06451156
Datos de investigación	

Línea de investigación	A.1.3.3 Calidad Ambiental
Grupo de investigación	RECURSOS NATURALES Y BIOACTIVOS - RENABIO
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Trabajo de Investigación. B20100810a.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Laboratorio: Ecología Microbiana País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.05819 Longitud: -77.01891
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020 - 2021
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01 Ciencias ambientales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#5.07.01



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN)**

Siendo las 10:00 horas del 25 de febrero de 2022, en el Salón de Grados Virtual de la Facultad de Ciencias Biológicas cuya dirección electrónica fue <https://zoom.us/j/91932473236?pwd=RXk0UURZZWUrKytGcmpLczMzVHpTUT09>, y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Grado Académico de Bachiller en Microbiología y Parasitología (Modalidad: Trabajo de Investigación)** de **JACKELINE ALISON RUIZ PALIAN**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° **UNMSM-20220001540**, la graduando expuso su Trabajo de Investigación: **“CALIFICACIÓN DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA DE REGADÍO”**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota **19** calificativo: **APROBADO CON MÁXIMOS HONORES**.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Grado Académico de Bachiller en Microbiología y Parasitología (Modalidad: Trabajo de Investigación)** a **JACKELINE ALISON RUIZ PALIAN** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo grado, conforme a ley.

Siendo las 11:30 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 25 de febrero de 2022.

Blga. JEANNE ROSSANNE ALBA LUNA
(ASESORA)



Firmado digitalmente por MENDEZ FARRO Carmen Rosa FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 25.02.2022 12:14:58 -05:00

Mg. CARMEN ROSA MÉNDEZ FARRO
(PRESIDENTE)

Dr. TITO LIBIO SANCHEZ ROJAS
(MIEMBRO)

Mg. JORGE LEÓN QUISPE
(MIEMBRO)

ÍNDICE

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	3
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	7
2. JUSTIFICACIÓN	7
2.1. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA	7
2.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA	8
II. ESTADO DEL CONOCIMIENTO	9
1. HIPÓTESIS	14
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVOS GENERALES	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
III. METODOLOGÍA	15
1. ÁREA DE ESTUDIO	15
2. POBLACIÓN DE ESTUDIO	15
3. TOMA DE MUESTRA	15
4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	15
5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y CUANTIFICACIÓN DE COLIFORMES	16
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
1. RESULTADOS	16
2. DISCUSIÓN	22
V. CONCLUSIONES	25
VI. RECOMENDACIONES	26
VII. REFERENCIAS	27
ANEXOS	35
ANEXO 1: <i>Mapa del área de muestreo de agua de regadío de Lima-Este.</i>	35

ANEXO 2: <i>Flujograma del análisis de las muestras</i>	36
ANEXO 3: <i>Flujograma para el análisis de las muestras</i>	37
ANEXO 4: <i>Porcentaje de los vegetales cultivados e irrigados en la zona de Lima-Este.</i>	37

Este Trabajo de Investigación se realizó en el Laboratorio de Ecología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con el financiamiento del Programa de Promoción de Trabajo de Investigación para obtener el grado académico de bachiller para los estudiantes de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) (RRN°15156-2020-R/UNMSM; Código: B20100810a).

RESUMEN

La calidad bacteriológica del agua de riego se ve afectada por contaminantes antropogénicos y biológicos como metales pesados y enterobacterias presentes en el agua superficial que puede ser impactada por aguas residuales, principalmente. En este estudio, se evaluó muestras de agua de riego de veintidós (22) puntos de muestro de cuatro (4) zonas de cultivos de vegetales de tallo alto y tallo bajo de la zona de Lima-Este en los meses de octubre a diciembre del 2020. Se utilizó al indicador microbiológico *Escherichia coli* en base al Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua) del Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM. Para la enumeración de *Escherichia coli* se utilizó la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18, que se sustenta en la acción de las enzimas β -D-glucuronidasa y β -D-galactosidasa específicas de *E. coli* sobre el sustrato cromogénico, liberando la molécula indicadora (fluorescente). El resultado del total de las muestras (100%) superaron lo establecido en el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM para este tipo de aguas (Categoría 3: D1: Agua para riego de vegetales). Los resultados indican que estos cultivos irrigados con aguas con alta numeración de *Escherichia coli* son un peligro para la inocuidad alimentaria ya que los productos cultivados en estas zonas son vegetales de tallo corto y mayoritariamente se consumen crudos, generando enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs). En conclusión, esta investigación demuestra que existe una alta contaminación del agua de riego en la zona de Lima - Este. El uso de esta metodología basada en la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) permite obtener resultados confiables y reproducibles, volviéndose una técnica de fácil empleo para la determinación de este indicador, no habiendo reportes de estudios a nivel nacional utilizando esta metodología. Los resultados de este trabajo ponen en evidencia la necesidad de un control de las aguas utilizadas para riego, haciéndolas seguras para contribuir a la salud pública.

Palabras Clave: *Escherichia coli*, agua de riego, ECA-Agua, Colilert®-18, Lima-Este, vegetales de tallo corto.

ABSTRACT

The bacteriological quality of irrigation water is affected by anthropogenic and biological pollutants such as heavy metals and enterobacteria present in surface water that can be impacted by wastewater, mainly. In this study, twenty-two (22) points of four (4) zones of high-stem and low-stem vegetable crops of the Lima-East zone were evaluated in the months of October to December 2020. The microbiological indicator *Escherichia coli* based on the Environmental Quality Standard for Water (ECA-Water) of Supreme Decree N°004-2017-MINAM. For the enumeration of *Escherichia coli*, the Defined Substrate Technology (DST®) Colilert®-18 was used, which is based on the action of the *Escherichia coli*-specific β -D-glucuronidase and β -D-galactosidase enzymes on the substrate chromogenic, releasing the reporter molecule (fluorescent). The result of the total samples (100%) exceeded that established in Supreme Decree N°004-2017-MINAM for this type of water (Category 3: D1: Water for irrigation of vegetables). The results indicate that these crops irrigated with waters with a high number of *Escherichia coli* are a danger for food safety since the products grown in these areas are short-stemmed vegetables and are mostly consumed raw, generating foodborne diseases (ETAs). In conclusion, this research shows that there is high contamination of irrigation water in the Lima - East area. The use of this methodology based on Defined Substrate Technology (DST®) allows to obtain reliable and reproducible results, becoming an easy to use technique for the determination of this indicator, there being no reports of studies at the national level using this methodology. The results of this investigation highlight the need to control the waters used for irrigation, making them safe to contribute to public health.

Key Words: *Escherichia coli*, irrigation water, ECA-Agua, Colilert®-18, Lima-East, short-stemmed vegetables.

I. INTRODUCCIÓN

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua de regadío es utilizada para mitigar las necesidades hídricas de los cultivos, estas provienen de forma natural, ya sea por precipitación, por formar parte de cuerpos de agua cercanos, por la humedad del propio suelo o de forma no natural como el uso de aguas residuales tratadas o no tratadas. Respecto a ello, el último IV Censo Nacional Agropecuario realizado el 2012, menciona que la superficie agrícola cultivada en el Perú es de 7 125 007 hectáreas, de las cuales el 63.8% es por secano, principalmente en la sierra y selva; y el 36.2% es por riego, por lo general en la costa, así mismo, los departamentos que tienen la mayor cantidad de hectáreas cultivadas son San Martín, Junín y Cajamarca (Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), 2013).

En nuestro país se sabe que las técnicas utilizadas para el riego son por superficie, aspersión y riego localizado, donde la primera es la más utilizada. También, se utilizan como fuentes a las aguas superficiales (1 054 hectáreas), aguas subterráneas y aguas superficiales-subterráneas mixta, del mismo modo se usan aguas residuales de forma directa (AQUASTAT - FAO's Global Information System on Water and Agriculture, 2015).

Debido a que nuestro país posee una cantidad razonable de hectáreas para la producción de cultivo, se debe de tomar en cuenta a los indicadores microbiológicos ya que su presencia nos da una noción de la calidad bacteriológica del agua. En base a ello, la presencia de microorganismos en este tipo de agua hoy en día son un problema en la producción primaria de vegetales de tallo alto y tallo bajo en el Perú, teniendo a *Escherichia coli* como el principal parámetro microbiológico a analizar, pues su presencia indica una contaminación fecal reciente, una posible presencia de otros microorganismos patógenos y saneamiento deficiente (Odonkor & Ampofo, 2013). De hecho, la presencia de bacterias coliformes, dentro de ellas *E. coli*, denotan falta o tratamiento deficiente del sistema de almacenamiento y distribución del agua utilizada para los cultivos; ya que por lo general estos microorganismos se suelen encontrar en el intestino de humanos y animales de sangre caliente, además en el suelo y agua fresca (Banciu et al., 2021).

Por otro lado, en el ámbito nacional cada día es más común observar a la población optar por una dieta más saludable y accesible, por ello consumen vegetales y frutas, sin embargo,

muchas veces estos son las principales fuentes de peligro para la salud ya que pueden contener agentes biológicos, químicos o físicos que son perjudiciales. Principalmente, los productos de consumo crudo contaminados son factores importantes que suman a las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs), ya que estos suelen ser portadores de microorganismos patógenos como bacterias, virus, protozoarios y helmintos (Pachepsky et al., 2011; Rusiñol et al., 2020). Por ejemplo, en nuestro país está ocurriendo un incremento de este tipo de enfermedades, teniendo como agentes causales a *Salmonella* sp y *E. coli* en provincias como Lima, Cusco y Cajamarca principalmente; sin embargo, de todos los casos reportados a nivel nacional por alguna sintomatología gastrointestinal, solo se llega a determinar al agente causal en el 40% aproximadamente (Borgoño Espinoza, 2019).

El uso más importante que se da al agua es para la agricultura, principalmente para la generación de cultivos y crianza de animales (Markland et al., 2017). Sin embargo, puede verse afectado por agentes biológicos logrando transmitir microorganismos hacia los productos agrícolas, sobre todo de consumo crudo o semicrudo, ocasionando problemas gastrointestinales, por tanto, el agua no segura es considerada como el principal factor de riesgo en la producción primaria y cosecha de productos agrícolas frescos (Allende & Monaghan, 2015). Debe señalarse que en todo el mundo a lo largo de los años se ha presentado brotes ocasionados por *E. coli* patogénica, entre los años 2006 y 2015, atribuyéndose al consumo de alimentos no cocidos y contaminados (Yang et al., 2017), además se suma la presencia del protozooario parásito *Cyclospora cayetanensis* en agua de regadío (Kahler et al., 2021). Así mismo, una mala gestión del agua y falta de desinfección pueden generar brotes, tal es el caso de lo sucedido en Corea del Sur donde se encontró a jóvenes que presentaban síntomas gastroenterológicos ocasionados por *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteropatógena y *E. coli* enteroagregativa después de la ingesta de alimentos a base de vegetales y bebidas contaminadas (Park et al., 2018).

Cabe resaltar que además del agua de regadío, en los cultivos se utilizan biofertilizantes, debido a sus características nutritivas y no nocivas hacia el medio ambiente, sin embargo, si estos no han sido debidamente tratados podría generar la presencia de microorganismos patógenos ocasionando de esa manera que la tierra, semillas y germinaciones se vean expuestas a estos patógenos e interfieran con la seguridad alimentaria (International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 2011). Por ejemplo, un estudio realizado en Cajamarca hace mención que hortalizas como el perejil, lechuga y rabanito

expendidos en mercados locales de este departamento presentaban recuentos altos de coliformes fecales y *E. coli*, posiblemente a raíz del uso de heces de ganado como fertilizantes y el agua de riego sin tratar (Rivera-Jacinto et al., 2009).

La contaminación de los vegetales de tallo alto y tallo bajo es producto muchas veces del tipo de cultivo, del método de cultivo, del tipo de riego, de la recolección, el empaquetado y la distribución. Igualmente, la microbiota que está presente en la mayoría de estos cultivos va a depender del origen de las semillas, del tipo de suelo y del agua de riego que se está utilizando (ICMSF, 2011). En muchos lugares de Lima-Este y en casi todo el Perú, los cultivos se realizan a campo abierto, exponiendo así a que las semillas y las germinaciones incipientes estén expuestas a contaminantes ambientales, biológicos y antropogénicos.

Uno de los principales problemas que se tiene en el sector agrario en nuestro país es que por lo general durante las operaciones de siembra y cosecha no se hace uso de herramientas de trabajo higienizadas, empleando en algunos casos animales para dichas actividades o uso de mejoradores de suelo no tratados, lo que genera una contaminación adicional a la que podría prevenir del agua de riego. En efecto, el problema con el agua que se utiliza para riego radica en que estas son unas de las principales vías de contaminación, dependiendo del origen o procedencia (Barak & Schroeder, 2012; Gekenidis et al., 2018; Pachepsky et al., 2011). Así mismo, en zonas rurales ya sea en provincias o zonas alejadas de Lima existe un sistema deficiente de alcantarillado y agua potable, además de la poca generación de aguas residuales tratadas para la agricultura, es por ello que los agricultores suelen utilizar aguas superficiales o agua de pozo lo cual nos indica que existiría un riesgo de contaminación por ingreso de microorganismos (García et al., 2015) o cualquier sustancia extraña, debido a que las primeras están expuestas a la presencia de animales menores y mayores; en el caso de las aguas de pozo, por lo general no están tan expuestas como las primeras, pero éstas pueden verse afectadas cuando no se les da un buen tratamiento de desinfección, o cuando exista alguna fuga o deterioro de sus paredes (ICMSF, 2011). En adición, la mayoría de las unidades hidrográficas existentes en nuestro país se ven contaminados por causas naturales como la propia naturaleza y presencia de metales pesados en el suelo de los cauces; y de forma antropogénica, por el mal uso de agroquímicos, la existencia de la minería ilegal, por pasivos ambientales, vertimientos de aguas residuales no tratadas y por el manejo inadecuado de residuos sólidos (Aquino Espinoza, 2017). Se sabe que

en Lima se suelen usar aguas provenientes de ríos como el río Rímac, el cual puede verse afectado por relaves mineros, aguas residuales no tratadas y cualquier otro contaminante, teniendo así la presencia de agentes biológicos patógenos (Romero et al., 2021; Bautista et al., 2018).

Algo similar ocurre con las aguas residuales que también son utilizadas en el riego de cultivos, no solo en nuestro país sino a nivel mundial, ya que muchas veces estas aguas no han pasado por un tratamiento previo que disminuya la carga microbiana generando así un peligro para los agricultores, personas que viven en zonas aledañas y que consumen estos productos sin cocinar; no obstante, la prevalencia y concentración de microorganismos patógenos en este tipo de aguas suele ser menor que los microorganismos indicadores (Pachepsky et al., 2011). Particularmente en nuestro territorio el reúso de las aguas residuales tratadas se utilizan en su gran mayoría (63.61%) para el riego de parques, jardines, pistas, vegetales, entre otros (Aquino Espinoza, 2017).

Con respecto a la situación de Lima-Este se conocen que existen diversas zonas que se dedican a la siembra de hortalizas, entre las cuales tenemos a *Lactuca sativa* (lechuga), *Beta vulgaris* (acelga), *Spinacia oleracea* (espinaca) y *Coriandrum sativum* (cilantro), entre otros que son expendidos en los mercados locales o consumidos por los propios agricultores. Estos cultivos suelen ser irrigados con aguas superficiales o de pozo que muchas veces no tienen una correcta o ninguna desinfección, también se suelen usar aguas provenientes del río Rímac y aguas residuales tratadas, como es el caso de la Asociación de Agricultores de Ate que usan las aguas municipales tratadas de la Planta de Tratamiento de Santa Clara, debido a su cercanía a las áreas de sembrío (Aquino Espinoza, 2017).

En efecto, tener agua para riego de calidad junto con el uso de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) es de suma importancia al momento de controlar la contaminación en la producción primaria (ICMSF, 2011), sin embargo, aún cuesta adecuarse a estas y dar a conocer la existencia y buen manejo de ellos.

En base a ello, con el objetivo de conocer la calidad bacteriológica de las aguas de riego de vegetales se busca indicadores microbiológicos, como *E.coli* en base a métodos tradicionales como los de fermentación de tubos múltiples y la técnica de filtración por membrana (Gianoli et al., 2018; Muñoz Ayala, 2017). La Tecnología del Sustrato Definido (DST®) a diferencia de los primeros, se basa en hidrólisis enzimática con la participación de enzimas como la

β -D-galactosidasa para detectar bacterias coliformes y β -D-glucuronidasa para detectar *E. coli* (ISO 9308-2:2012, 2012). Además, permite analizar aguas que poseen materia orgánica suspendida y con un alto contenido de bacterias heterotróficas. Diferentes estudios plantean el uso de la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) (Colilert®-18) como alternativa a los métodos tradicionales, pues permite obtener recuentos mayores sin necesidad de diluir la muestra problema (Bonadonna et al., 2007; Pitkänen et al., 2007). Utilizar esta tecnología (DST®) en muestras de aguas con alta carga microbiana, como las de este trabajo es de gran ayuda, al ser un método altamente sensible y específico por su sustento técnico permite obtener resultados confiables. Muchas investigaciones reportan que la precisión y selectividad que presenta Colilert®-18 (DST®) gracias a los sustratos presentes en su medio le permiten distinguir fácil y rápidamente a coliformes totales y *E. coli* de otros microorganismos presentes en muestras de aguas superficiales, potables o recreacionales, inclusive de aguas no desinfectadas (Bonadonna et al., 2007; Hörman & Hänninen, 2006; Pitkänen et al., 2007; Tryland & Fiksdal, 1998; Vergine et al., 2017). Colilert®-18/Quanti-Tray para el análisis de aguas, tiene una sensibilidad y especificidad al 100% para coliformes totales y para *E. coli* 99% y 100%, respectivamente (ISO 9308-2:2012, 2012).

1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Será que las aguas de riego para vegetales de tallo alto y tallo bajo utilizadas en cuatro zonas de Lima – Este, no cumplen con el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (Categoría 3, D1: Riego de vegetales) establecido por el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM respecto a la numeración de *Escherichia coli*?

2. JUSTIFICACIÓN

2.1. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

En nuestro país la mayor parte de la demanda de agua es para la actividad agrícola, teniendo a la región del Pacífico (Costa) con la mayor demanda, pese a ser una región con escasos recursos hídricos (Aquino Espinoza, 2017), por ello los agricultores suelen utilizar cuerpos de agua cercanos a sus fundos, principalmente ríos o sistemas de almacenamiento, que por lo general suelen estar contaminados.

Por ello, hacer referencia a la calidad del agua es tomar en cuenta factores físicos, químicos y biológicos asociados al agua y, ver la relación e interacción que éstos tienen con el medio ambiente y sus componentes. Entre los principales microorganismos asociados a la calificación bacteriológica del agua tenemos a los miembros de la familia Enterobacteriaceae, principalmente a los coliformes totales y coliformes termotolerantes como *Escherichia coli*, que suponen contaminación fecal reciente y están asociados con la presencia de microorganismos patógenos (Ríos-Tobón et al., 2017). Por lo general, los coliformes están presentes en la microbiota de los seres humanos y animales y llegan a los cursos de agua a través de las excretas; algunas cepas de *E. coli*, denominadas diarreogénicas ocasionan infecciones en el tracto gastrointestinal (Govindarajan et al., 2020).

Así mismo, la importancia de conocer la carga microbiana que tienen las aguas utilizadas para irrigar alimentos que se consumen especialmente de forma cruda radica en que muchas de ellas transportan microorganismos patógenos que causan las conocidas Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs) producto del empleo de agua de regadío contaminada. Cerca de 420 000 personas mueren anualmente a causa de diferentes agentes como bacterias, virus, parásitos, toxinas o productos químicos asociados a las enfermedades de transmisión alimentaria (World Health Organization (WHO), 2015).

En ese sentido, la presencia de *E. coli* en el agua de regadío es de suma importancia en un país agricultor como el nuestro, debido a las características antes mencionadas, el estar asociado a una calidad sanitaria deficiente del agua y generar enfermedades gastrointestinales importantes de transmisión alimentaria (ETAs); a esto se suma la ausencia de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), el sistema de almacenamiento de agua precario y la falta de tratamiento de estos sistemas.

2.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA

Es conveniente mencionar que los estudios realizados sobre aguas de riego para vegetales de tallo alto y tallo bajo en nuestro país han utilizado los métodos tradicionales como los de membrana filtrante o fermentación en tubos múltiples, sin embargo, estas técnicas suelen necesitar personal capacitado para realizarlo, contar con un amplio ambiente de laboratorio, tener una financiación económica debido a los altos costos de los medios de cultivo y equipos de laboratorio. Por otra parte, las nuevas técnicas como la de Tecnología de Sustrato Definido

(DST®) garantizan resultados pues permiten recuperar microorganismos estresados en una muestra de agua (Julian et al., 2015). Adicionalmente, la ventaja de tener resultados confirmados en solo 18-24 horas. En particular esta tecnología tiene una sensibilidad y especificidad comparables con las metodologías tradicionales, e inclusive pueden ser mejores debido al sustento técnico. La sensibilidad de Colilert®-18/Quanti-Tray es 100% para la detección de coliformes totales y *E. coli*; y la especificidad es de 100% y 99% para coliformes totales y *E. coli*, respectivamente (ISO 9308-2:2012, 2012). Nuestra investigación es pionera en el país empleando la Tecnología del Sustrato Definido (DST®) para la enumeración de *E. coli* en aguas de regadío; este método es sensible, rápido, económico y aprobado por los organismos pertinentes como Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU. (EPA) (IDEXX Laboratories, 2013), Métodos estándares para el análisis de agua y aguas residuales (Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 2018) y la Norma ISO 9308-2: 2012 (ISO 9308-2:2012, 2012).

II. ESTADO DEL CONOCIMIENTO

Es de conocimiento que la mayor actividad productiva que genera demanda en nuestro territorio es el agua consuntiva aprovechado para la agricultura, teniendo un total de 23 165.79 hm³/año cuyo mayor volumen es utilizado en la costa, seguido del consumo poblacional, 2319.74 hm³/año, sin embargo, esta misma actividad produce bajas cantidades de aguas residuales tratadas (1.83 hm³/año o 0.40%) (Aquino Espinoza, 2017).

Inclusive el uso de aguas residuales domésticas, municipales e industriales tratadas son destinadas en su mayoría al riego, teniendo así que 80 657 hm³ (63.61%) de estas son para el riego de especies forestales de tallo alto, áreas verdes y productos agrícolas (Aquino Espinoza, 2017). Por ejemplo, en la Cuenca del Río Rímac se tiene a las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales de Carapongo, San Antonio de Carapongo y Santa Clara en estado actual de operación que suministran por lo general a terrenos agrícolas debido a que están cerca a áreas de sembrío (Observatorio del Agua Chillón Rímac Lurín (OA CHIRILU), 2017). No obstante, el volumen de reúso de aguas residuales se viene reduciendo en aproximadamente 3 hm³/año (Aquino Espinoza, 2017), lo cual es preocupante ya que hay mayor cantidad de vertimiento hacia los cuerpos de agua. En base a este último punto, se ha encontrado virus, bacteriófagos, bacterias patógenas humanas, amebas de vida libre y protozoarios en aguas residuales sin

tratar utilizadas para el riego (Rusiñol et al., 2020).

Una problemática que se tiene en nuestro país hoy en día es la severa contaminación que sufre el río Rímac expuesto a múltiples contaminantes del tipo físico, químico y biológico; estudios recientes han encontrado diversos grupos bacterianos y contaminantes químicos, teniendo a *Arcobacter cryaerophilus*, *Flavobacterium succinicans*, *Prevotella copri* a nivel de especie; *Aeromonas*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Shigella* a nivel de género, además de la presencia de tiodicarb, feniletilamina y ácido-3-indolbutírico (Romero et al., 2021), así como la presencia de quistes de *Giardia duodenalis* y ooquistes de *Cryptosporidium* spp (Bautista et al., 2018).

No obstante, es importante señalar que existen técnicas que se pueden aplicar en este tipo de aguas para reducir la carga microbiana perjudicial para el ser humano y animales, las cuales vienen siendo aplicadas en diversos países, inclusive el nuestro, entre ellas tenemos el uso de productos químicos, radiación ultravioleta, ozono (O₃), filtración y la reutilización de estas aguas en base a sistemas de lodos activados (Allende & Monaghan, 2015; Aquino Espinoza, 2017; Markland et al., 2017).

Actualmente se sabe que los vegetales no contienen microorganismos patógenos por naturaleza propia, muchas veces lo adquieren por contaminación directa o indirecta, entre estas están las bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp y *Shigella* sp; virus como el Virus de la Hepatitis A, Rotavirus y Norovirus; entre los nemátodos están los huevos y adultos de *Ascaris lumbricoides* y *Taenia* spp; por último, están los protozoarios como *Giardia intestinalis*, *Cyclospora cayetanensis* y *Cryptosporidium parvum* (ICMSF, 2011). Cabe resaltar que los patógenos transmitidos utilizan a los vegetales como vectores ya que pueden habitar en diferentes estructuras de las plantas, además el agua utilizada para riego se podría decir que es la principal ruta de la dispersión de patógenos de animales al medioambiente, plantas o campos agrícolas debido a que utilizan mecanismos que les permiten asociarse, replicarse, diseminarse y colonizar a las plantas (Barak & Schroeder, 2012). Sin embargo, el número real de infecciones de transmisión alimentaria puede ser mayor de los reportados, además del desconocimiento de nuevas cepas diferentes o emergentes de patógenos que las ocasionan (Rusiñol et al., 2020).

Uno de los contaminantes patogénicos más comunes que se encuentran en los cultivos es la bacteria gramnegativa *Escherichia coli*, considerada dentro del grupo de coliformes fecales,

formando parte de la microbiota intestinal del ser humano y otros animales de sangre caliente (Garrity et al., 2005). Es miembro de la familia Enterobacteriaceae que incluyen los géneros como *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* (Feng et al., 2017). Actualmente, es considerada una de las principales bacterias indicadoras para determinar la calidad bacteriológica de aguas naturales, potable y residuales (Vergine et al., 2017), su presencia en muestras ambientales indican una contaminación fecal reciente o malas prácticas de saneamiento en las instalaciones de procesamiento de alimentos y cultivos agrícolas. Sin embargo, la presencia de *E. coli* en el agua no indica directamente que haya microorganismos patógenos en la muestra, pero sí sugiere la probabilidad de presencia de microorganismos patógenos y Virus de la Hepatitis A. Por esta razón, *E. coli* se usa ampliamente como microorganismo indicador (Odonkor & Ampofo, 2013).

Cabe resaltar que *E. coli* presenta diferentes patotipos como: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* difusamente adherente (DAEC) y *E. coli* enteroagregativa (EAEC), que al ingresar al huésped suelen causar enfermedades gastrointestinales, en tal sentido *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) están asociadas a la contaminación de verduras a través del agua de riego contaminada y a la diarrea del viajero en niños, respectivamente. *E. coli* (EHEC) es una bacteria comensal que suele colonizar la mucosa intestinal gracias a los mecanismos de adherencia, factores de virulencia y segregación de toxinas (Govindarajan et al., 2020). Por ello, la detección de *E. coli* en los alimentos y agua de riego es muy relevante, ya que pueden estar influenciados por factores como la multiplicación del microorganismo, muerte, inactivación o su adherencia a las partículas del alimento, afectando así la salud del consumidor. Por otra parte, si bien los coliformes totales y termotolerantes como *E. coli* son considerados microorganismos indicadores, existen otros agentes que pueden ser usados como tales, por ejemplo se tiene a *Enterococcus* sp (Jokinen et al., 2020), colifagos somáticos (García et al., 2015), bacteriófagos (Ji et al., 2021) y *Arcobacter* sp (Sciortino et al., 2021).

En cuanto a la problemática actual del agua para riego de vegetales, este es considerado como un factor de riesgo microbiano ya que se encontró en Brasil a *E. coli* genérica en el 84.8% de las aguas analizadas y 38.3% en las lechugas. También *E. coli* O157:H7 (EHEC) estuvo presente en muestras de aguas, lo cual pudo estar influenciado por condiciones climáticas

como las precipitaciones y temperatura, teniendo así más carga de *E. coli* en época cálida (Decol et al., 2017). Castro-Ibáñez et al., (2015) analizaron la prevalencia y distribución de bacterias indicadoras como *E. coli*, *Enterococcus* spp, y otros de la familia Enterobacteriaceae, y cómo estos se asociaban a patógenos transmitidos por alimentos como *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp, teniendo como resultados una alta prevalencia de *E. coli* genérica en agua de riego, en suelo y espinacas, los autores asociaron sus resultados al tipo de riego, al sistema de almacenamiento, factores ambientales y compostaje utilizado, indicando que el agua de riego es un factor de suma importancia al momento de analizar los puntos más relevantes de contaminación.

Respecto al análisis de la presencia y numeración de *E. coli* y coliformes totales, se suelen utilizar métodos como los de membrana filtrante (MF) (García et al., 2015) y fermentación en tubos múltiples (FTM). Muñoz Ayala (2017) analizó hortalizas cultivadas en diferentes fundos de Lima utilizando técnicas tradicionales para el aislamiento y moleculares para la confirmación, determinando la presencia de *E. coli* O157:H7 en cultivos de lechuga y espinaca en 2 fundos de Ñaña; así mismo, Mendoza Ramos (2018) analizó aguas de regadío y cultivos de vegetales para determinar la calidad bacteriológica de estos mediante la técnica de tubos múltiples, logrando detectar y cuantificar a coliformes totales (6.25 %), coliformes fecales (4.17%) y *E. coli* (12.5%) en las aguas de regadío; y para los cultivos de tallo bajo se determinó a coliformes totales (6.82%), coliformes fecales (4.55%) y *E. coli* (4.55%). No obstante, existen estudios que comparan estos métodos tradicionales con los métodos enzimáticos, como es el caso de Buckalew et al., (2006) quienes evaluaron y compararon la numeración de *E. coli* mediante la técnica de Filtración de Membrana (MF) con la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18, obteniendo resultados positivos en ambos casos con una correlación positiva, inclusive mencionan que Colilert®-18 tiene gran capacidad para determinar recuentos bajos y altos de *E. coli* en muestras de aguas superficiales. En base a ello, la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18 puede ser comparada con la fermentación en tubos múltiples (MTF) y la de presencia-ausencia (PA), debido a que se usa el procedimiento de número más probable (MNP), donde se verifica que es equivalente a la prueba de tubos múltiples (Rice et al., 1990).

La ISO 9308-2:2012 valida a Colilert®-18/Quanti-Tray/2000 como un método viable para el recuento de *E. coli* y bacterias coliformes, el cual puede ser aplicado a cualquier tipo de agua, excepto aguas de mar. Permite detectarlos mediante la expresión de las enzimas

β -D-glucuronidasa y β -D-galactosidasa pese a que exista una gran cantidad de bacterias heterotróficas y materia suspendida, sin embargo, no todas las cepas de *E. coli* pueden detectarse en este método, por ejemplo, la *E. coli* enterohemorrágica (*E. coli* O157) debido a que no posee la enzima β -D-glucuronidasa (ISO 9308-2:2012, 2012; Odonkor & Ampofo, 2013). Así mismo, la numeración de *Escherichia coli* mediante la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18 con el sellador Quanti-Tray/2000, usa el medio Colilert®-18 que contiene dos tipos de componentes, tal como el componente 1 que presenta aminoácidos, metales en cantidad de trazas, entre otros; el componente 2 presenta sustratos como el orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG), 4-metilumbeliferil- β -D -glucurónido (MUG), NaCl, vancomicina y demás. El sustrato ONPG es hidrolizado por la enzima β -D-galactosidasa presente en bacterias fermentadoras de lactosa y en algunas bacterias coliformes liberando un cromógeno amarillo (o-nitrofenol); el sustrato MUG es hidrolizado dando una fluorescencia (4-metilumbeliferil) por la enzima β -D-glucuronidasa presente en *Escherichia coli* (Tryland & Fiksdal, 1998). Está basado en el mismo modelo estadístico que la dilución en serie tradicional de 15 tubos, sin embargo, no requiere de tubos de ensayo, ni diluciones, ni tubos Durham, tampoco es necesario contar colonias, ni preparar medios para realizar una confirmación. Junto con Colilert®-18 permiten hacer un recuento de coliformes y *Escherichia coli* en 18 h. Es resaltante que el sellado tiene un nivel de confianza del 95%, además Colilert®-18.

Cabe resaltar que la especificidad de la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) para coliformes totales y *E. coli* obtenidas de muestras de aguas naturales, superficiales y subterráneas se basa en el empleo de sustratos como o-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG), el cual va a ser hidrolizado por coliformes totales liberando un cromógeno amarillo (o-nitrofenol); y 4-metilumbeliferil- β -D-glucurónido (MUG) que se hidrolizará dando una fluorescencia (4-metilumbeliferil) cuando *E. coli* esté presente (ISO 9308-2:2012, 2012; Rice et al., 1990). Esta hidrolisis enzimática de los sustratos fluorogénicos o cromogénicos se da por la acción de las enzimas β -D-galactosidasa y β -D-glucuronidasa (Tryland & Fiksdal, 1998); sin embargo, su acción puede verse interrumpida por altas concentraciones de biomasa de plantas y algas (Davies et al., 1994). En adición, esta técnica se viene usando para analizar la calidad bacteriológica de ríos como el Ganges que tiene una alta presencia de microorganismos patógenos y resistentes (Ali et al., 2021), de igual forma Banciu et al., (2021) encontraron mediante esta técnica que las bacterias coliformes totales y fecales van en aumento teniendo así valores promedio de 30 000 UFC/100ml de coliformes totales y 25 000 UFC/100ml de

coliformes fecales en el 2019, influenciados por el cambio climático.

Con respecto a la sensibilidad y especificidad del método utilizado en este estudio existen referencias como las de Vergine et al., (2017) quienes recuperaron mediante Colilert®-18 el doble del promedio de *E. coli* frente a la filtración por membrana (MF) de muestras procedentes de aguas residuales, además al realizar pruebas de confirmación para saber la cantidad de falsos positivos y falsos negativos, se encontró que el 11% y 4% de falsos positivos pertenecían a la técnica de MF con agar TBX y Colilert®-18, respectivamente; mencionan que Colilert®-18 puede considerarse un método altamente selectivo, debido a que solo emplea sustratos utilizados por enzimas como β -D-galactosidasa y β -D-glucuronidasa específicas de *E. coli*, además de recuperar microorganismos estresados o dañados (Vergine et al., 2017). En adición, Hörman & Hänninen, (2006) indican que Colilert®-18/Quanti-Tray 2000, tuvo una sensibilidad del 97.7% y especificidad del 72.7% y, que el recuento de *E. coli* fue más alto que por el método de referencia usado, LTTC (Agar Lactosa TTC con Tergitol 7). De hecho se ha visto que el uso de Colilert®-18 tiene mayores resultados que con el LTTC para la detección y numeración de *E. coli*, éste último permitió el crecimiento de otros microorganismos como *Klebsiella oxytoca*; a diferencia de Colilert®-18 que detectó exclusivamente *E. coli*, por lo cual no hay necesidad de un procedimiento de confirmación cuando se utiliza Colilert®-18 (Bonadonna et al., 2007).

En definitiva, los estudios mencionados refuerzan el uso de la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18 en diferentes muestras de agua en comparación con otras técnicas.

Actualmente, el uso de aguas residuales por goteo subterráneo puede reducir la prevalencia de coliformes tanto en el suelo como en los cultivos de berenjena y coliflor; también la filtración de estas aguas, previo a su uso reduce la cantidad de *E. coli* y coliformes totales frente a las aguas no filtradas, otro punto a rescatar es que vegetales como la berenjena y coliflor tienen una superficie y textura muy diferente, la cual debe ser tomada en cuenta al momento de hacer el análisis, ya que éste último albergará mayor cantidad de microorganismos (Tripathi et al., 2019).

Existen estándares, normas o límites establecidos por entidades que permiten controlar, mantener, aplicar criterios a microorganismos, elementos químicos, residuos orgánicos e inorgánicos, a un nivel no perjudicial evitando así daños en el ser humano, animales y

ecosistemas. En base a esto, se toma en cuenta a los indicadores ambientales que deben reportar presencia baja o nula, deben ser fácil identificación y enumeración (Ríos-Tobón et al., 2017), además el manejo responsable permitirá obtener agua de calidad adecuada y que satisfaga las necesidades del ser humano para su consumo y/o uso. Sin embargo, los microorganismos en general varían por las condiciones ambientales, y por ello debe considerarse que un microorganismo indicador no podría predecir la presencia de todos los patógenos en los cuerpos de agua (Banciu et al., 2021).

En el Perú tenemos el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM, que establece los Estándares de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua) con parámetros microbiológicos para Coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*. Para el caso del agua para riego de vegetales, si el acceso es no restringido (alimentos que pueden comerse crudos como las hortalizas o vegetales y frutas de tallo bajo o en algunos casos de tallo alto) el ECA-Agua no debe superar los 1 000 NMP/100mL de *E. coli* y coliformes totales; y si es con acceso restringido (alimentos que deben consumirse cocidos como los cultivos de tallo alto) el ECA-Agua no debe superar a 2 000 NMP/100ml para el caso de los coliformes termotolerantes y respecto a *E.coli* no aplica para esta categoría (Ministerio del Ambiente - MINAM, 2017). Por lo tanto, analizar las aguas de regadío en las diferentes zonas de Lima-Este utilizando la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) es de vital importancia para determinar la presencia y numeración de *E. coli* y calificarla según los Estándares establecidos para este tipo de agua (Categoría 3, D1: Riego de vegetales).

1. HIPÓTESIS

El agua de regadío para vegetales en Lima-Este no cumple con el Estándar de Calidad Ambiental para Aguas establecido en el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GENERALES

Enumerar *Escherichia coli* en agua de regadío de vegetales de tallo alto y bajo en 4 zonas de cultivo en Lima-Este y calificar según el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (Categoría 3: D1: Riego de vegetales) establecido en el Decreto Supremo N°004-2017-MINAM, entre octubre a diciembre del 2020.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Enumerar *Escherichia coli* mediante la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) en las aguas de regadío de vegetales de tallo corto y bajo en 4 zonas de cultivo de Lima - Este.

Evaluar la calidad de agua utilizada para el regadío de vegetales de tallo corto y tallo alto de cuatro zonas de cultivo de Lima – Este.

III. METODOLOGÍA

1. ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras fueron tomadas en cuatro (4) zonas de Lima - Este (Carapongo, Ñaña, Chaclacayo y Chosica) (**Anexo 1**) en los canales de regadío de parcelas de cultivos de vegetales de tallo bajo y tallo alto, como espinaca (*Spinacia oleracea*), rabanito (*Raphanus sativus*), lechuga (*Lactuca sativa*), apio (*Apium graveolens*), col (*Brassica oleracea* var. capitata), entre otros. Entre los meses de octubre a diciembre 2020.

El procesamiento de las muestras se ejecutó en el Laboratorio de Ecología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Veintidós (22) puntos de muestreo de agua de regadío de vegetales de tallo corto y tallo alto, localizados en cuatro (4) zonas de Lima-Este (Carapongo, Ñaña, Chaclacayo y Chosica).

3. TOMA DE MUESTRA

La selección de las muestras se realizó a través de un muestreo simple, teniendo en total veintidós (22) parcelas de cultivo ubicadas en cuatro (4) zonas de Lima-Este.

La toma de muestra se realizó bajo criterios de bioseguridad. El transporte de las muestras hacia el laboratorio fue manteniendo la cadena de frío (4°C) en “coolers” provistos con gel refrigerante (gel pack) para ser procesados dentro de las 6 horas después de la toma de muestra, de acuerdo al método de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA, 2015).

4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación es no experimental con alcance descriptivo y diseño longitudinal con enfoque cuantitativo.

5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y ENUMERACIÓN DE COLIFORMES

Las muestras fueron procesadas según las indicaciones del fabricante del kit (**Anexo 3 y 4**). Se colocó 100ml de muestra en un frasco estéril con tiosulfato de sodio, se adicionó el sachet que contenía el medio deshidratado, Colilert®-18, y se aseguró una completa disolución. El contenido de los frascos con el medio disuelto se vertió en las charolas estériles Quanti-Tray/2000 de 97 pocillos que permiten distribuir el contenido de manera eficiente y sellarlas con calor a través del equipo Quanti-Tray. Estas charolas fueron incubadas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 18 h (Incubadora Binder BD 53L). Después del periodo de incubación, se retiraron las charolas de la incubadora y se contaron los pocillos amarillos (indicadores de positividad para coliformes). Haciendo uso de la tabla número más probable (NMP) específico del método, se determinó los coliformes totales (NMP/100mL). Posteriormente, las charolas positivas para coliformes totales (pocillos amarillos) fueron colocadas bajo una lampara ultravioleta (UV) de 365 nm para observar la fluorescencia en los pocillos positivos para *E. coli*. Al igual que la enumeración de coliformes totales, se calculó el número de *E. coli* presentes en las muestras expresando los resultados en NMP/100mL (IDEXX Laboratories, 2013; ISO 9308-2:2012, 2012).

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa GraphPad Prism 9, para analizar los resultados de los veintidós (22) puntos de muestreo de agua de regadío de cultivos, bajo un nivel de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. RESULTADOS

Del análisis de resultados, utilizando Colilert®-18 que reporta simultáneamente coliformes totales y *E. coli*, en el 100% de las muestras tomadas de aguas de regadío superficiales y no tratadas, se determinó la presencia de coliformes totales y *E. coli* que superaron el valor establecido en el ECA-Aguas para Categoría 3 – D1: Riego de vegetales.

De acuerdo con la **Tabla 1**, las siete muestras del agua de regadío obtenidas en las zonas de cultivos del distrito de Carapongo en el mes de octubre superaron lo establecido en el ECA-Aguas para *E. coli*. Para el caso de *E. coli* en los puntos de muestreo 1, 2, 3 y 6 los resultados fueron 2,419.6 NMP/100mL y para los puntos de muestreo 4, 5 y 7 fueron mayores a 2,419.6 NMP/100mL.

Tabla 1. Resultados de la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en las muestras provenientes del distrito Carapongo (octubre 2020).

PUNTO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES (NMP/100mL)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	CULTIVOS
1	> 2,419.6	2,419.6	Apio y huacatay
2	> 2,419.6	2,419.6	Lechuga y rabanito
3	> 2,419.6	2,419.6	Nabo y rabanito
4	> 2,419.6	>2,419.6	Col china y arveja
5	> 2,419.6	>2,419.6	Lechugas y col
6	> 2,419.6	2,419.6	Col y coliflor
7	> 2,419.6	>2,419.6	Lechugas y brócoli
TOTAL DE MUESTRAS		7	

Tabla 2. Resultados de la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en las muestras provenientes del distrito Chaclacayo (noviembre y diciembre 2020).

PUNTO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES (NMP/100mL)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	CULTIVOS
8	> 2,419.6	> 2,419.6*	Culantro y espinaca
9	> 2,419.6	> 2,419.6*	Perejil y col
10	> 2,419.6	1,203.3**	Espinaca y col china
11	> 2,419.6	2,419.6**	Huacatay, culantro y cebolla china
12	> 2,419.6	2,419.6**	Cebolla china y arvejas
TOTAL DE MUESTRAS		5	

Muestras analizadas en el mes de diciembre (*) y noviembre (**).

En la **Tabla 2**, las cinco muestras del agua de regadío obtenidas en las zonas de cultivos del distrito de Chaclacayo entre los meses de noviembre (3 puntos de muestreo) y diciembre (2 puntos de muestreo) superaron lo establecido en el ECA-Agua para *E. coli*. Para el caso de *E. coli* en los puntos de muestreo 8 y 9 fueron mayores a 2,419.6 NMP/100mL.

Tabla 3. Resultados de la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en las muestras provenientes del distrito Chosica (noviembre 2020).

PUNTO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES (NMP/100mL)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	CULTIVOS
13	> 2,419.6	1,553.1	Espinaca, lechuga y col
14	> 2,419.6	>2,419.6	Rabanito, apio y palto
15	> 2,419.6	>2,419.6	Lechuga, berenjena y ají amarillo
16	> 2,419.6	1,203.3	Maíz y col
17	> 2,419.6	>2,419.6	Ají amarillo y espinaca
18	> 2,419.6	>2,419.6	Espinaca y col
TOTAL DE MUESTRAS		6	

Respecto a la **Tabla 3**, de los 6 puntos de muestreo analizados en Chosica en el mes de noviembre todos superaron lo establecido en el ECA-Agua para *E. coli*. Los resultados de los puntos de muestreo 14, 15, 17 y 18 fueron >2419.6 NMP/100mL, y para los puntos de muestreo 13 y 16 los resultados fueron 1,553.1 NMP/100mL y 1,203.3 NMP/100mL, respectivamente.

Por último, en la **Tabla 4** los cuatro puntos de muestreo analizados provenientes de Ñaña en el mes de diciembre superaron el ECA-Agua para *E. coli*. Los resultados de los puntos de muestreo 20 y 21 fueron >2419.6 NMP/100mL y del punto de muestreo 22 fue 1 299.70 NMP/100mL.

Tabla 4. Resultados de la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en las muestras provenientes del distrito Ñaña (diciembre 2020).

PUNTO DE MUESTREO	COLIFORMES TOTALES (NMP/100mL)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	CULTIVOS
19	> 2,419.6	2,419.6	Hierbas aromáticas y lechuga americana
20	> 2,419.6	>2,419.6	Lechugas y espinacas
21	> 2,419.6	>2,419.6	Apio y hierbabuena
22	> 2,419.6	1,299.70	Huacatay
TOTAL DE MUESTRAS		4	

Cabe resaltar que todas las muestras analizadas fueron tomadas de los canales de agua no tratada e impactada por las descargas de aguas domiciliarias que irrigaban los cultivos de vegetales de tallo corto, de consumo crudo y/o cocido, como se ejemplariza en el **Anexo 4**, teniendo lechuga (*Lactuca sativa*) en el 15%; espinaca (*Spinacia oleracea*) y col (*Brassica oleracea* var. capitata) en el 13%; apio (*Apium graveolens*), huacatay (*Tagetes minuta*) y rabanito (*Raphanus sativus*) en el 6%; cebolla china (*Allium fistulosum*), arveja (*Pisum sativum*), col china (*Brassica rapa* subsp. pekinensis), aji amarillo (*Capsicum baccatum*) y culantro (*Coriandrum sativum*) en el 4%; perejil (*Petroselinum crispum*), nabo (*Brassica rapa* subsp. rapa), hierbabuena (*Mentha spicata*), hierba aromática, palto (*Persea americana*), coliflor (*Brassica oleracea* var. botrytis), berenjena (*Solanum melongena*), brócoli (*Brassica oleracea* var. italica) y maíz (*Zea mays*) en el 2% del total de cultivos irrigados de las zonas muestreadas.

Respecto al análisis estadístico mostrado en la **Figura 1** realizado con el programa GraphPad Prism 9 a un nivel de significancia del 5% ($p = 0,05$), donde el gráfico de barras muestra la media e intervalo de confianza del 95% y la línea representa el error de estos valores de cada parámetro y zona analizada. El parámetro microbiológico *E. coli* analizado en el 100% de los puntos de muestreo supera al valor establecido en ECA-Agua para *E. coli* (1000 NMP/100mL) para agua de riego no restringido (Ministerio del Ambiente - MINAM, 2017).

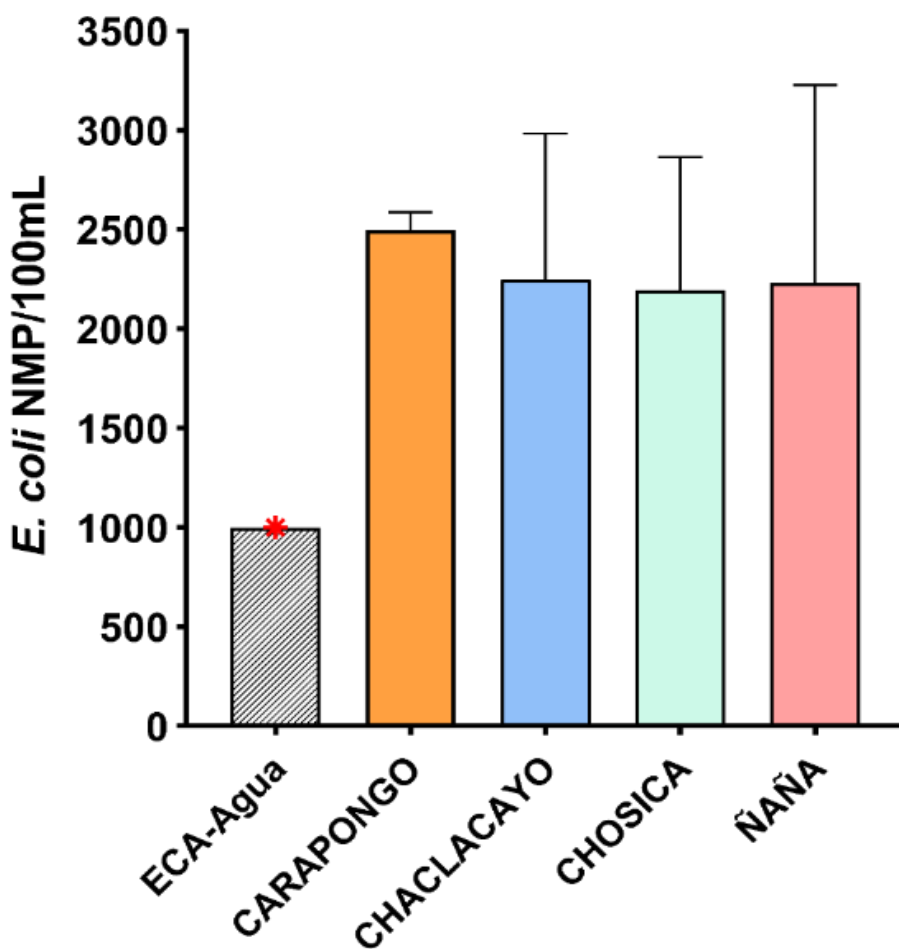


Figura 1. Diagrama de barras de la media de los resultados de la numeración de *E. coli* obtenidos por distrito, donde (*) indica el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua) para el parámetro microbiológico *E. coli* en agua para riego no restringido (1 000 NMP/100mL).

En la **Figura 2** se esquematiza la numeración de *E. coli* por distrito de muestreo, así, se resalta que en los puntos de muestreo 10, 13, 16 y 22 los resultados muestran 1,203.3 NMP/100mL, 1,553.1 NMP/100mL, 1,203.3 NMP/100mL y 1.299.70 NMP/100mL respectivamente.

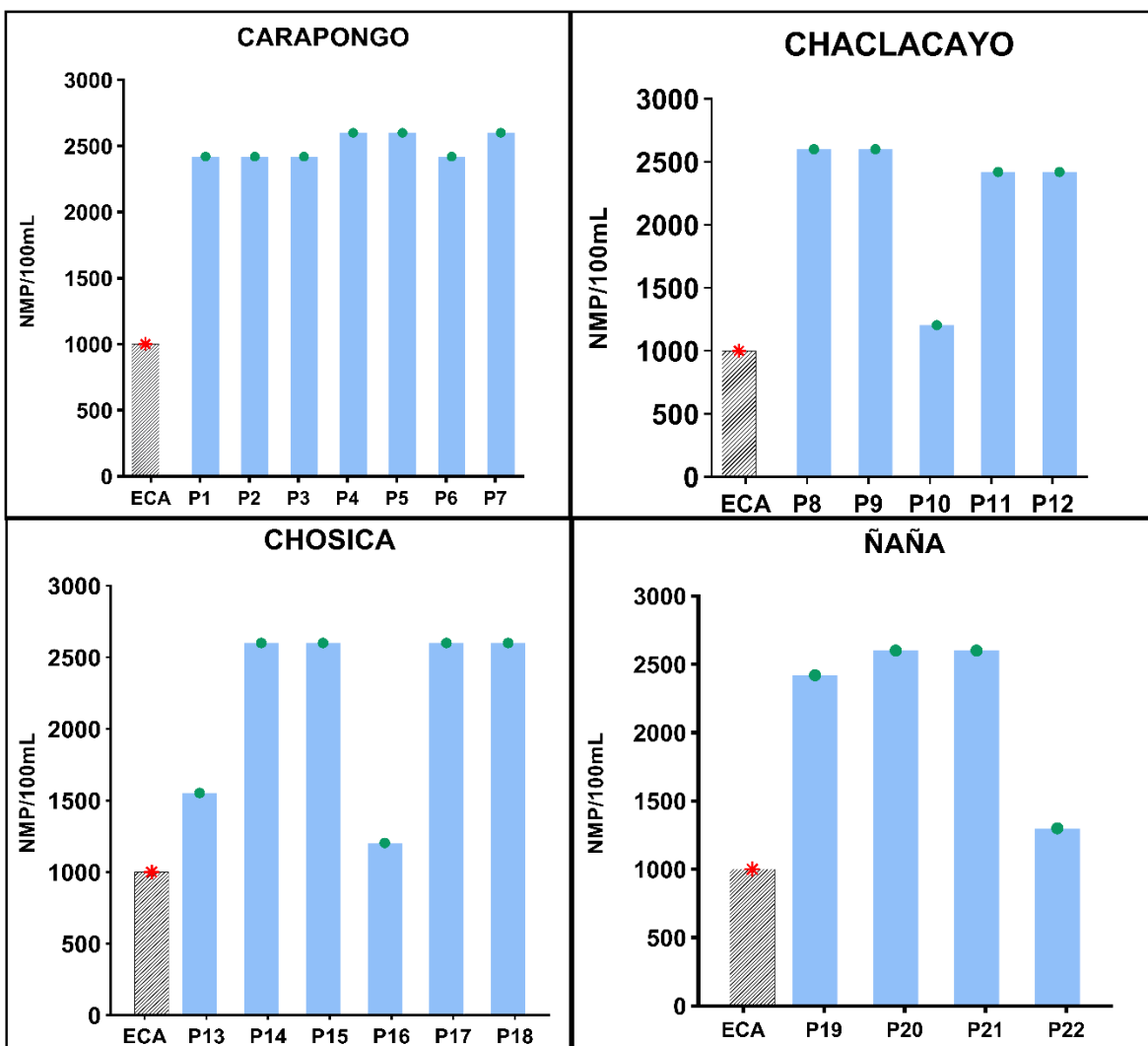


Figura 2. Diagramas de barras que representan la numeración de *E. coli* en agua de regadío en las cuatro zonas muestreadas, donde (*) indica el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua) para *E. coli* en agua para riego no restringido 1 000 NMP/100mL y (●) indica los resultados obtenidos de *E. coli* en cada punto de muestreo.

2. DISCUSIÓN

Nuestros resultados indican que las aguas de regadío en las zonas de Lima-Este muestreadas en este estudio superan lo establecido por el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua Categoría 3, D1:Riego de vegetales), estos resultados denotan preocupación sanitaria debido a que en estas zonas se cultivan hortalizas, vegetales y frutales, las cuales van a destinarse como producto de venta a los mercados locales de la capital, Lima, para ser consumidos de forma crudo y/o cocida generalmente.

Las aguas de regadío utilizadas en las 4 zonas de cultivos muestreadas provienen del río Rímac, generando acequias y canales de distribución en muchos de los cuales se observa descarga doméstica sin tratamiento previo. Existen estudios realizados en esta cuenca que indican la presencia de microorganismos patógenos y potencialmente patógenos como *Arcobacter cryaerophilus*, *Flavobacterium succinicans*, *Prevotella copri* a nivel de especie; *Aeromonas*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Shigella* a nivel de género, quistes de *Giardia duodenalis* y ooquistes de *Cryptosporidium* spp (Bautista et al., 2018; Romero et al., 2021). Por ello, nuestros resultados reafirman la grave contaminación de estas aguas y su impacto en la inocuidad de los productos agrícolas frescos.

La carga microbiana que supera el ECA-Agua reportada en nuestro estudio evidentemente está asociada a las descargas domésticas y presencia de animales observados en la zona de cultivo que coincide con lo reportado por Alarcón Corro, (2019), quien indica que los residuos sólidos provenientes de descargas de origen doméstico de la población aledaña al curso del río Rímac genera un alto nivel de coliformes termotolerantes como *E. coli* aguas abajo.

Evidentemente, el 100% de las muestras de aguas analizadas en nuestro estudio no cumplen con el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA – Agua) (Categoría 3, D1: Riego de vegetales) establecido por el Ministerio del Ambiente (MINAM) (Ministerio del Ambiente - MINAM, 2017). Se han analizado 22 puntos de muestreo por duplicado mediante la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18 en los cuales se supera el parámetro microbiológico *E. coli*, los resultados superan los 2 419.6 NMP/100mL de *E. coli* en el 32% de los puntos de muestreo analizados y el mínimo hallado fue de 1 203.3 NMP/100mL de *E. coli* en el 9% del total. Estos resultados sustentan que los brotes de enfermedades gastrointestinales

son un grave riesgo de salud para nuestro país, como lo menciona Borgoño Espinoza (2019). Castro-Ibáñez et al., (2015) reportó *E. coli* genérica en el 52% de las muestras de agua de regadío de cultivo de espinaca, en comparación a ello nuestro estudio reporta presencia de *E. coli* en el 13% de las aguas de regadío para espinacas. Igualmente, Truchado et al., (2018) analizaron aguas para riego, encontrando *Salmonella* sp en el 43% de las muestras de aguas superficiales analizadas, además, presencia de *E. coli* O157:H7 (12%) y *E. coli* STEC (11%), así mismo la mayor prevalencia de estos patógenos se encontraron en aguas superficiales de zanjas seguidas de canales de drenaje, teniendo valores que no cumplen con la Ley de Modernización de la Inocuidad de los Alimentos (FSMA) tomada como referencia, mostrando así que el uso de aguas superficiales genera un riesgo para el agua de regadío de cultivos de tallo corto, especialmente si se tiene una temperatura ambiental cálida. En este sentido, las muestras analizadas en nuestro estudio son también aguas superficiales, que no cumplen con el ECA-Agua establecido, poniendo en evidencia la necesidad de continuar estudios para la determinación de especies de *E. coli* diarrogénicas en agua de regadío de Lima-Este.

La numeración de *E. coli* utilizando métodos incluidos en el APHA, como la Tecnología de Sustrato Definido (DST®) son útiles para la determinación y calificación del agua de regadío. Decol et al., (2017) encontraron a *E. coli* genérica con una prevalencia del 84.8% en las aguas de regadío y de ellas 38.3% en lechugas, también indican que las aguas de regadío son la principal vía de contaminación de este patógeno en base a su análisis de correlación, por lo tanto, el agua representa un factor de riesgo principal para la diseminación de microorganismos patógenos hacia los cultivos irrigados. En su estudio también determinaron a *E. coli* O157:H7 mediante técnicas moleculares, sumándole a ello las condiciones climáticas favorables presentes hace posible la alta prevalencia de estos microorganismos, no obstante, indican una problemática que presenta su metodología que fue la baja viabilidad de sus células en los medios de cultivos utilizados. A diferencia de ello, por el sustento técnico de la metodología utilizada en nuestro trabajo de investigación, Tecnología de Sustrato Definido (DST®) Colilert®-18, nuestros resultados presentaron una alta sensibilidad y especificidad, a partir del cual se deben ampliar estudios a nivel nacional que permiten tener un mapa de la calidad de agua de regadío, ya que estos al ser cultivos superficiales, es posible que puedan presentar microorganismos patógenos adheridos por contacto del agua de riego contaminado, influyendo también en el grado de extensión de la contaminación, sin embargo, esto depende del tipo de cepa de microorganismo y del cultivo vegetal (Pachepsky *et al.* 2011) y, de los mecanismos que

estos utilicen para colonizarlas (Barak & Schroeder, 2012).

Nuestro trabajo de investigación utilizando la Tecnología del Sustrato Definido (DST) puede ser comparable con el de , Ali *et al.*, (2021) quienes analizaron muestras de aguas procedentes del río Ganges mediante este método y determinaron que todas las muestras analizadas estaban sumamente contaminadas por microorganismos como *E.coli*, teniendo valores desde 213 a 7809 NMP/mL de *E. coli*, además de la presencia de otras bacterias como *S. aureus*, *Campylobacter* sp, *Yersinia* sp, *Proteus* sp, entre otros; todas las bacterias halladas en el estudio presentaban resistencia a más de dos tipos de antibióticos, que sugieren que los nuevos estudios deberían ser ampliados bajo ese aspecto de. Por otro lado, en una zona periurbana de Sudáfrica encontraron que todas las muestras de aguas analizadas de río presentaban altas numeraciones de *E. coli*, usando Colilert®-18 Quanti-Tray 2000, teniendo en algunos de los casos >2 419.6 NMP/100mL y 43,9 NMP/100mL de *E. coli*, además corroboraron que de todas las muestras positivas para *E. coli* solo 1/141 no correspondía a esta cepa, encontrando así que esta tecnología en el presente estudio tuvo 0.7% de falsos positivos, también se detectó la presencia genes de virulencia como *fliCH7* y *stx2* (Abia et al., 2017).

Al ser nuestro objetivo la evaluación de la calidad bacteriológica del agua de regadío con lo establecido en el ECA-Agua para la Categoría 3, D1: Riego de vegetales (*E. coli* <1000 NMP/100mL), nuestros resultados reportan la numeración de coliformes totales y *E. coli* en las muestras, sin la necesidad de realizar procedimiento de dilución de las muestras problema, sustentado en que Colilert®-18 Quanti-Tray 2000 permite el recuento de 0 a 2419.6 NMP/100mL en muestras de agua sin diluir. Si el objetivo del trabajo fuera tener recuento final de *E. coli* en cada muestra de agua, sí sería preciso realizar diluciones a la muestra problema para obtener valores >2419.6 NMP/100mL.

Los resultados de nuestro estudio sugieren la necesidad de ampliar investigaciones, un tópico relevante a mencionar es que se ha encontrado en agua de riego microorganismos indicadores como *E. coli* y *Enterococcus* sp con resistencia a antibióticos, además de la presencia de genes de resistencia como el bla_{CTX-M-1} y bla_{CTX-M-15} (Gekenidis et al., 2018); igualmente se ha reportado a *E. coli* en muestras de agua potable con resistencia a antibióticos como tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol trimetoprima y ácido nalidíxico, además, algunas cepas presentaban resistencia múltiple y el gen CTXM-3 de resistencia extendida (Larson et al., 2019).

Por último, el tratamiento y la desinfección del agua utilizada para riego es de vital importancia, pues permite obtener vegetales con la calidad sanitaria, como indica Castro-Ibáñez et al., (2015) que si se riega cultivos de espinacas con aguas tratadas se tiene una prevalencia de 46.1% de *E. coli* genérica, y si no, se tiene el 100%. Por otro lado, hay estudios que sugieren que una alternativa a los métodos de desinfección química y física, es el sistema de Cultivos Hidropónicos con riego por goteo (Allende & Monaghan, 2015), evitando así un contacto tanto de la parte comestible del vegetal o fruta con el agua de riego, esto principalmente se plantea para aguas cuya concentración de microorganismos excede los límite permisibles o estándares de calidad, es decir, para aguas no seguras. Según los resultados de nuestro estudio, este sistema de hidroponía sería una alternativa viable para el consumo de vegetales seguros.

V. CONCLUSIONES

- I. Nuestros resultados y análisis de la calidad bacteriológica de aguas de riego muestran que en el 100% (22/22) de los puntos de muestreo ubicados en 4 zonas de cultivo de vegetales de tallo corto y tallo alto de Lima-Este, superaron el Estándar de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua Categoría 3, D1: Riego de vegetales) del D.S. N°004-2017-MINAM para el parámetro microbiológico *Escherichia coli*, es decir, no cumplen con el ECA-Agua.
- II. El ECA-Agua indica 1000 NMP/100ML de *E. coli* para este tipo de aguas (Categoría 3, D1: Riego de vegetales) y el método Colilert®-18 Quanti-Tray 2000 utilizado en esta investigación permitió obtener resultados entre 0 a 2419.6 NMP/100mL en muestras de aguas sin diluir; razón por la cual, el intervalo de numeración de *E. coli* se encontraba cubierto y no fue necesario diluir la muestra.
- III. Los cultivos de vegetales de tallo corto en 4 zonas de Lima-Este (Carapongo, Chaclacayo, Chosica y Ñaña) se convierten en un riesgo para la salud de los consumidores pues provienen de cultivos irrigados con aguas no seguras y, el impacto es mayor pues estos productos son consumidos crudos y/o poco cocidos frecuentemente.

VI. RECOMENDACIONES

- I. Si el objetivo del trabajo fuera tener recuento final de *E. coli* en cada muestra de agua de regadío bajo este método Colilert®-18 Quanti-Tray 2000, sería necesario realizar las diluciones correspondientes, por ejemplo, al hacer una dilución (10^{-1}) los resultados estarían en el rango de 10 a 24196 NMP/100mL y así sucesivamente.
- II. Ampliar los estudios, pues la problemática sobre la contaminación del agua no solamente ocurre a nivel de agricultura o por la presencia de patógenos, sino también sobre la resistencia de éstos a ciertos antibióticos y su rápida diseminación, ya que otros estudios señalan la presencia de microorganismos indicadores resistentes a antibióticos en agua de regadío.
- III. Debe realizarse un seguimiento y caracterización molecular de todos los microorganismos patógenos, potencialmente patógenos y zoonóticos que puedan estar presentes en el agua para riego. Analizar y monitorear este tipo de agua a nivel país serviría para minimizar las enfermedades de transmisión alimentaria y sus impactos.
- IV. Se sugiere utilizar en forma conjunta métodos enzimáticos, bioquímicos y/o moleculares para la determinación de indicadores de la calidad del agua de regadío. Lo que permitiría establecer parámetros microbiológicos necesarios para evitar situaciones graves a la salud asociados a inadecuados sistemas de almacenamiento, distribución y procesamiento de productos agrícolas frescos.
- V. Nuestros hallazgos sugieren la necesidad de ampliar el estudio a las diferentes zonas de cultivos adyacentes como Lima-Norte.

VII. REFERENCIAS

- Abia, A., Schaefer, L., Ubomba-Jaswa, E., & Le Roux, W. (2017). Abundance of Pathogenic *Escherichia coli* Virulence-Associated Genes in Well and Borehole Water Used for Domestic Purposes in a Peri-Urban Community of South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(3), 320. <https://doi.org/10.3390/ijerph14030320>
- Alarcón Corro, J. F. (2019). *Aplicación de métodos de Índices de Calidad de Agua (ICA) en el río Rímac* [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Geógrafo]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Ali, S., Babali, Singh, S., Singh, R., Tyagi, M., & Pandey, R. P. (2021). Influence of multidrug resistance bacteria in river Ganges in the stretch of Rishikesh to Haridwar. *Environmental Challenges*, 3, 100068. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100068>
- Allende, A., & Monaghan, J. (2015). Irrigation Water Quality for Leafy Crops: A Perspective of Risks and Potential Solutions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 7457-7477. <https://doi.org/10.3390/ijerph120707457>
- AQUASTAT - FAO's Global Information System on Water and Agriculture. (2015). *Country Profile—Peru* (Versión 2015; p. 21). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). https://storage.googleapis.com/fao-aquastat.appspot.com/countries_regions/factsheets/irrigation_area/es/PER-IRR.pdf
- Aquino Espinoza, P. A. (2017). *Calidad del agua en el Perú: Retos y aportes para una gestión sostenible en aguas residuales* (Primera edición). Derecho, Ambiente y Recursos Naturales (DAR).
- Banciu, A. R., Ionica, D. L., Vaideanu, M. A., Radulescu, D. M., Nita-Lazar, M., & Covaliu, C. I.

- (2021). The Occurrence of Potentially Pathogenic and Antibiotic Resistant Gram-Negative Bacteria Isolated from the Danube Delta Ecosystem. *Sustainability*, 13(7), 3955. <https://doi.org/10.3390/su13073955>
- Barak, J. D., & Schroeder, B. K. (2012). Interrelationships of Food Safety and Plant Pathology: The Life Cycle of Human Pathogens on Plants. *Annual Review of Phytopathology*, 50(1), 241-266. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172936>
- Bautista, M., Bonatti, T. R., Fiuza, V. R. da S., Terashima, A., Canales-Ramos, M., José, J., & Franco, R. M. B. (2018). Occurrence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in raw water samples from the Rímac River, Peru. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(12), 11454-11467. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1423-6>
- Bonadonna, L., Cataldo, C., & Semproni, M. (2007). Comparison of methods and confirmation tests for the recovery *Escherichia coli* in water. *Desalination*, 213(1-3), 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.601>
- Borgoño Espinoza, N. (2019). *Reporte de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en el Perú, 2019* (Boletín Epidemiológico del Perú. N.º 15; pp. 381-383). Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Ministerio de Salud.
- Buckalew, D. W., Hartman, L. J., Grimsley, G. A., Martin, A. E., & Register, K. M. (2006). A long-term study comparing membrane filtration with Colilert® defined substrates in detecting fecal coliforms and *Escherichia coli* in natural waters. *Journal of Environmental Management*, 80(3), 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2005.08.024>
- Castro-Ibáñez, I., Gil, M. I., Tudela, J. A., Ivanek, R., & Allende, A. (2015). Assessment of microbial risk factors and impact of meteorological conditions during production of baby spinach in the Southeast of Spain. *Food Microbiology*, 49, 173-181.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.02.004>

Davies, C. M., Apte, S. C., Peterson, S. M., & Stauber, J. L. (1994). Plant and Algal Interference in Bacterial β -D-Galactosidase and β -D-Glucuronidase Assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(11), 6.

<https://doi.org/10.1128/AEM.60.11.3959-3964.1994>

Decol, L. T., Casarin, L. S., Hessel, C. T., Batista, A. C. F., Allende, A., & Tondo, E. C. (2017). Microbial quality of irrigation water used in leafy green production in Southern Brazil and its relationship with produce safety. *Food Microbiology*, 65, 105-113.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.02.003>

Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). (2015). *Protocolo de procedimientos para la toma de muestras, preservación, conservación, transporte, almacenamiento y recepción de agua para consumo humano.*

http://www.digesa.minsa.gob.pe/NormasLegales/Normas/RD_160_2015_DIGESA.pdf

Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., & Burkhardt, W. (2017). *Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the coliform bacteria.* Bacteriological analytical manual (BAM). <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>

Garcia, B. C. B., Dimasupil, MA. A. Z., Vital, P. G., Widmer, K. W., & Rivera, W. L. (2015). Fecal contamination in irrigation water and microbial quality of vegetable primary production in urban farms of Metro Manila, Philippines. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 50(10), 734-743. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1048107>

Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., & Staley, J. T. (2005). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Second edition. Volume two: The Proteobacteria, Part B: Gammaproteobacteria. En *Springer-Verlag New York Inc.* (Vol. 2).

- Gekenidis, M.-T., Qi, W., Hummerjohann, J., Zbinden, R., Walsh, F., & Drissner, D. (2018). Antibiotic-resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *PLOS ONE*, 13(11), e0207857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207857>
- Gianoli, A., Hung, A., & Shiva, C. (2018). Relación entre coliformes totales y termotolerantes con factores fisicoquímicos del agua en seis playas de la bahía de Sechura-Piura 2016-2017. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 2, 62-71. <https://doi.org/10.20453/stv.v6i2.3460>
- Govindarajan, D. K., Viswalingam, N., Meganathan, Y., & Kandaswamy, K. (2020). Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis. *Medicine in Microecology*, 5, 100025. <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2020.100025>
- Hörman, A., & Hänninen, M.-L. (2006). Evaluation of the lactose Tergitol-7, m-Endo LES, Colilert 18, ReadyCult Coliforms 100, Water-Check-100, 3M Petrifilm EC and DryCult Coliform test methods for detection of total coliforms and *Escherichia coli* in water samples. *Water Research*, 40(17), 3249-3256. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.024>
- IDEXX Laboratories. (2013). *Sistema Quanti-Tray—IDEXX Spain*. Sistema Quanti-Tray. <https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/quant-tray-system/>
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). (2013). *IV Censo Nacional Agropecuario (IV CENAGRO)* (p. 63) [Censo]. Ministerio de Agricultura (MINAGRI).
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). (2011). Chapter 12: Vegetables and Vegetable Products. En *Microorganisms in Foods 8* (First edition, pp. 147-176). Springer Science+Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9374-8>
- Water quality—Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria—Part 2: Most probable

- number method, ISO 9308-2:2012E 54 (2012).
- Ji, M., Liu, Z., Sun, K., Li, Z., Fan, X., & Li, Q. (2021). Bacteriophages in water pollution control: Advantages and limitations. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(5), 84. <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1378-y>
- Jokinen, C. C., Cook, S. R., Reuter, T., & Tymensen, L. (2020). Assessing enterococci as an alternative fecal indicator for irrigation water quality. *Agricultural Water Management*, 233, 106098. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106098>
- Julian, T. R., Islam, M. A., Pickering, A. J., Roy, S., Fuhrmeister, E. R., Ercumen, A., Harris, A., Bishai, J., & Schwab, K. J. (2015). Genotypic and Phenotypic Characterization of Escherichia coli Isolates from Feces, Hands, and Soils in Rural Bangladesh via the Colilert Quanti-Tray System. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(5), 1735-1743. <https://doi.org/10.1128/AEM.03214-14>
- Kahler, A. M., Mattioli, M. C., da Silva, A. J., & Hill, V. (2021). Detection of Cyclospora cayetanensis in produce irrigation and wash water using large-volume sampling techniques. *Food and Waterborne Parasitology*, 22, 8. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2021.e00110>
- Larson, A., Hartinger, S. M., Riveros, M., Salmon-Mulanovich, G., Hattendorf, J., Verastegui, H., Huaylinos, M. L., & Mäusezahl, D. (2019). Antibiotic-Resistant Escherichia coli in Drinking Water Samples from Rural Andean Households in Cajamarca, Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(6), 1363-1368. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0776>
- Markland, S. M., Ingram, D., Kniel, K. E., & Sharma, M. (2017). *Water for Agriculture: The Convergence of Sustainability and Safety*. 5(3), 11. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.PFS-0014-2016>

- Mayca Zegarra, G.-C. G. (2019). *Calidad de agua del Río Rímac sector Chicla, Provincia de Huarochiri, departamento de Lima* (Repositorio Institucional UNFV) [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental, Universidad Nacional Federico Villareal]. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/3607>
- Mendoza Ramos, J. L. (2018). *"Determinación de la calidad bacteriológica en aguas de regadío y cultivos de vegetales de tallo bajo ubicados al margen izquierdo del río Yura durante los meses de julio—Setiembre, Arequipa 2018"* (Repositorio Institucional UNSA) [Para Optar el Título Profesional de Biólogo, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/7668>
- Ministerio del Ambiente - MINAM. (2017). *Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM*. <https://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-004-2017-minam/>
- Muñoz Ayala, M. D. (2017). *Escherichia coli O157:H7 en hortalizas de fundos agrícolas en la periferia de la ciudad de Lima—Perú* (Repositorio institucional de tesis y trabajos de Titulación de la UNMSM) [Tesis Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/6621>
- Observatorio del Agua Chillón Rímac Lurín (OA CHIRILU). (2017). *Análisis geoespacial de canales de riego en relación a las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) y áreas verdes en el ámbito de Lima Metropolitana*. Repositorio ANA. <https://hdl.handle.net/20.500.12543/2958>
- Odonkor, S. T., & Ampofo, J. K. (2013). *Escherichia coli as an indicator of bacteriological quality of water: An overview. Microbiology Research, 4(2), 7.* <https://doi.org/10.4081/mr.2013.e2>
- Pachepsky, Y., Shelton, D. R., McLain, J. E. T., Patel, J., & Mandrell, R. E. (2011). Chapter two:

- Irrigation Waters as a Source of Pathogenic Microorganisms in Produce: A Review. En *Advances in Agronomy* (Vol. 113, pp. 75-141). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386473-4.00002-6>
- Park, J., Kim, J. S., Kim, S., Shin, E., Oh, K.-H., Kim, Y., Kim, C. H., Hwang, M. A., Jin, C. M., Na, K., Lee, J., Cho, E., Kang, B.-H., Kwak, H.-S., Seong, W. K., & Kim, J. (2018). A waterborne outbreak of multiple diarrhoeagenic *Escherichia coli* infections associated with drinking water at a school camp. *International Journal of Infectious Diseases*, 66, 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.09.021>
- Pitkänen, T., Paakkari, P., Miettinen, I. T., Heinonen-Tanski, H., Paulin, L., & Hänninen, M.-L. (2007). Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* in non-disinfected water. *Journal of Microbiological Methods*, 68(3), 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.10.007>
- Rice, E. W., Allen, M. J., & Edberg, S. C. (1990). Efficacy of 1-Glucuronidase Assay for Identification of *Escherichia coli* by the Defined-Substrate Technology. *American Society for Microbiology*, 56(5), 3. <https://doi.org/10.1128/AEM.56.5.1203-1205.1990>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rivera-Jacinto, M., Rodríguez-Ulloa, C., & López-Orbegoso, John. (2009). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26(1), 45-48.
- Romero, P. E., Calla-Quispe, E., Castillo-Vilcahuaman, C., Yokoo, M., Fuentes-Rivera, H. L., Ramirez, J. L., Ampuero, A., Ibáñez, A. J., & Wong, P. (2021). From the Andes to the

- desert: 16S rRNA metabarcoding characterization of aquatic bacterial communities in the Rimac river, the main source of water for Lima, Peru. *PLOS ONE*, *16*(4), e0250401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250401>
- Rusiñol, M., Martínez-Puchol, S., Timoneda, N., Fernández-Cassi, X., Pérez-Cataluña, A., Fernández-Bravo, A., Moreno-Mesonero, L., Moreno, Y., Alonso, J. L., Figueras, M. J., Abril, J. F., Bofill-Mas, S., & Girones, R. (2020). Metagenomic analysis of viruses, bacteria and protozoa in irrigation water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *224*, 113440. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113440>
- Sciortino, S., Arculeo, P., Alio, V., Cardamone, C., Nicastro, L., Arculeo, M., Alduina, R., & Costa, A. (2021). Occurrence and Antimicrobial Resistance of *Arcobacter* spp. Recovered from Aquatic Environments. *Antibiotics*, *10*(3), 288. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030288>
- Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. (2018, enero 1). 9223 *Enzyme Substrate Coliform Test*. Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.194>
- Tripathi, V. K., Rajput, T. B. S., Patel, N., & Nain, L. (2019). Impact of municipal wastewater reuse through micro-irrigation system on the incidence of coliforms in selected vegetable crops. *Journal of Environmental Management*, *251*, 109532. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109532>
- Truchado, P., Hernandez, N., Gil, M. I., Ivanek, R., & Allende, A. (2018). Correlation between *E. coli* levels and the presence of foodborne pathogens in surface irrigation water: Establishment of a sampling program. *Water Research*, *128*, 226-233. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.041>
- Tryland, I., & Fiksdal, L. (1998). Enzyme Characteristics of β -D-Galactosidase-and

β -D-Glucuronidase- Positive Bacteria and Their Interference in Rapid Methods for Detection of Waterborne Coliforms and Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 6.

Vergine, P., Salerno, C., Barca, E., Berardi, G., & Pollice, A. (2017). Identification of the faecal indicator Escherichia coli in wastewater through the β -D-glucuronidase activity: Comparison between two enumeration methods, membrane filtration with TBX agar, and Colilert®-18. *Journal of Water and Health*, 15(2), 209-217. <https://doi.org/10.2166/wh.2016.119>

World Health Organization (WHO). (2015, diciembre 3). *WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths*. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. <https://www.who.int/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>

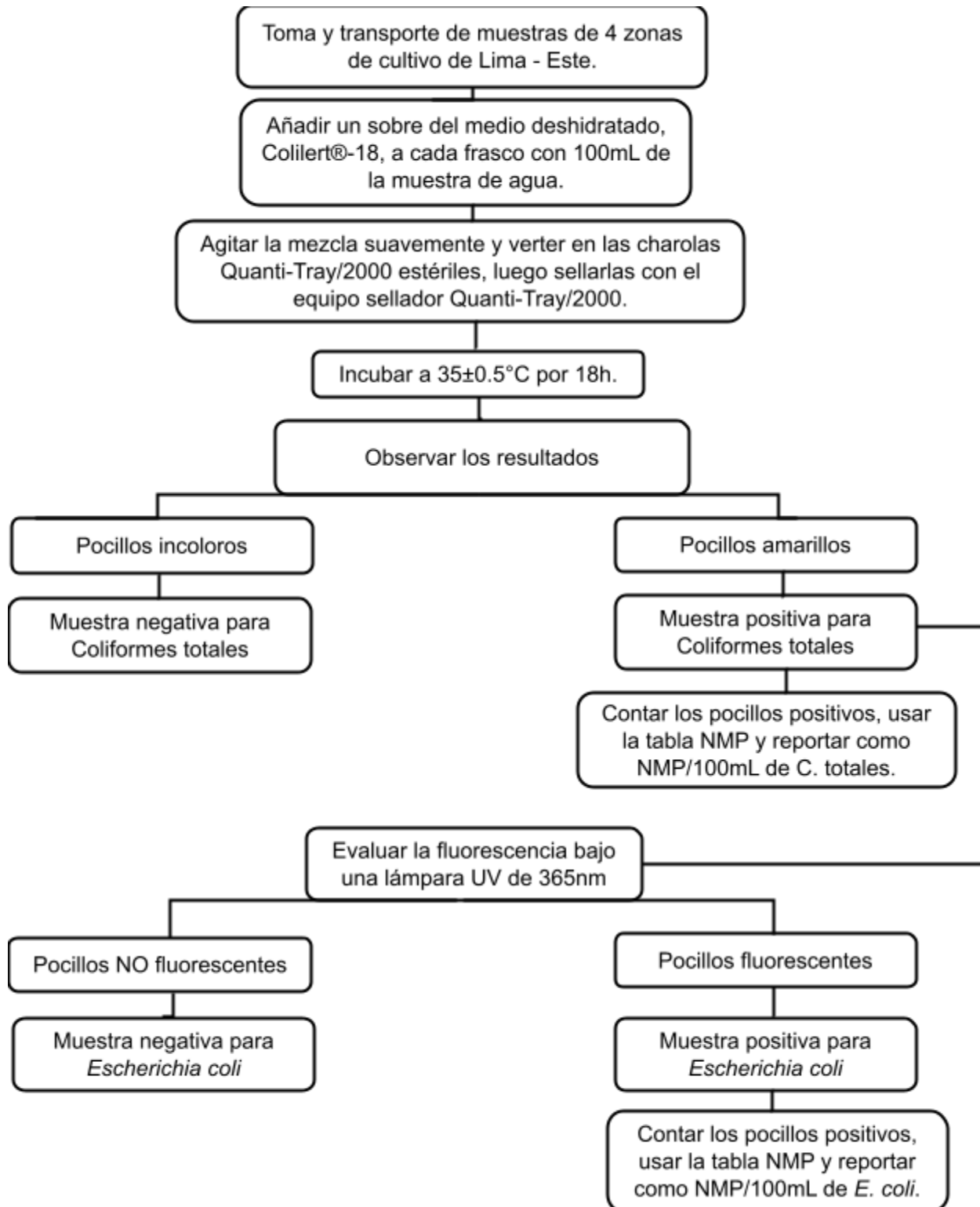
Yang, S.-C., Lin, C.-H., Aljuffali, I. A., & Fang, J.-Y. (2017). Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, 199(6), 811-825. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1393-y>

ANEXOS

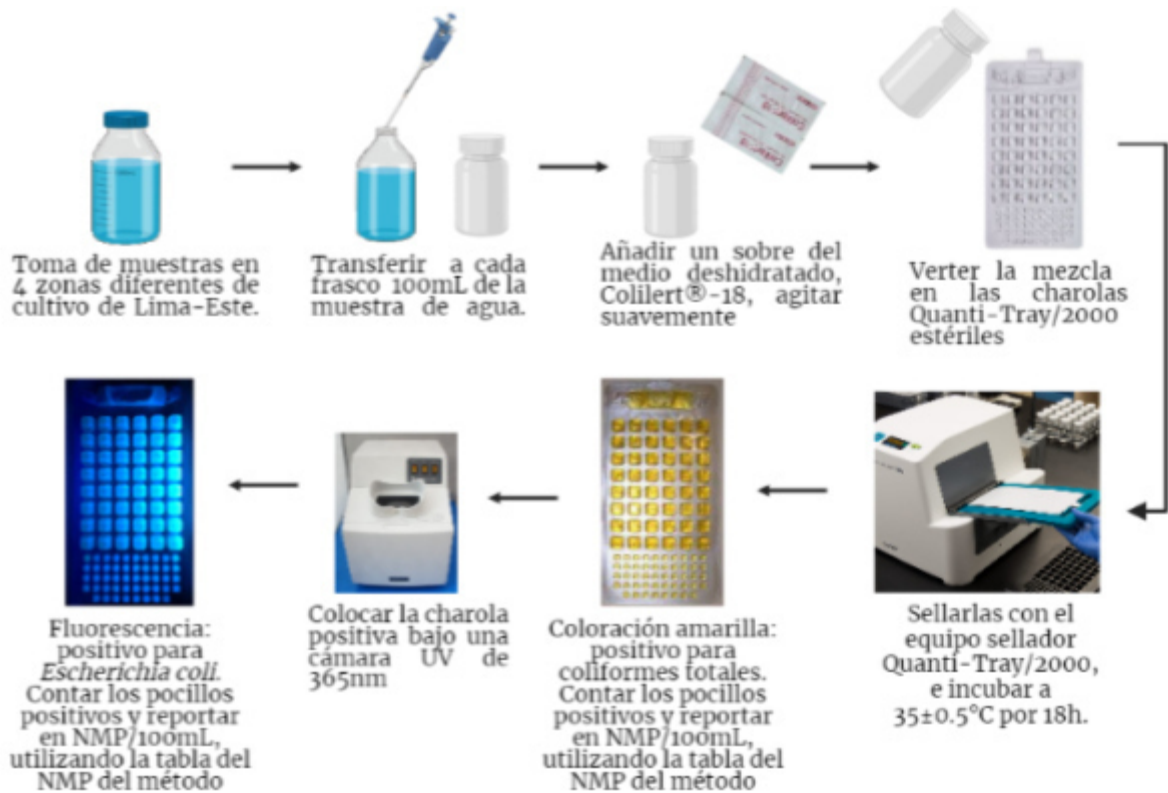
ANEXO 1: *Mapa del área de muestreo de agua de riego de Lima-Este.*



ANEXO 2: Flujograma del análisis de las muestras



ANEXO 3: Flujograma para el análisis de las muestras



ANEXO 4: Porcentaje de los vegetales cultivados e irrigados en la zona de Lima-Este.

VEGETALES	CULTIVOS	PORCENTAJE
LECHUGA	7	15%
ESPINACA	6	13%
COL	6	13%
APIO	3	6%
HUACATAY	3	6%
RABANITO	3	6%
CEBOLLA CHINA	2	4%
ARVEJA	2	4%
COL CHINA	2	4%
AJÍ AMARILLO	2	4%
CULANTRO	2	4%
PEREJIL	1	2%
NABO	1	2%
HIERBA BUENA	1	2%
HIERBAS AROMÁTICAS	1	2%
PALTO	1	2%
COLIFLOR	1	2%
BERENJENA	1	2%
BRÓCOLI	1	2%
MAÍZ	1	2%
TOTAL	47	