



**Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas**  
**Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**“DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES  
TOTALES, MESÓFILOS, MOHOS Y LEVADURAS EN AGUA DE  
BEBEDEROS DE ESTABLOS VACUNOS LECHEROS EN EL  
DISTRITO DE LURÍN”**

Tesis para Optar el Título Profesional de:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

EIRIAN SUSANA ROWLANDS SIRVAS  
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

LIMA - PERU

2019

UNIVERSIDAD  
**CIENTÍFICA**  
DEL SUR

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Lima, 19 de noviembre de 2019

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: <b>DR. Manuel Efraín Rosemberg Barròn</b>
Miembro: <b>M.V. Milena Paola Montenegro Vega</b>
Miembro: <b>M.V. Dante Alfredo Meza Ruiz</b>

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**"DETERMINACIÓN DE LA CARGA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES, MESÓFILOS, MOHOS Y LEVADURAS EN AGUA DE BEBEDEROS DE ESTABLOS VACUNOS LECHEROS EN EL DISTRITO DE LURÍN"**

Presentada por la Bachiller:

- **Rowlands Sirvas Eirian Susana**

Para optar al Título Profesional de **Médico Veterinario Zootecnista**

Asesorada por:

- **MG. Siever Miguel Morales Cauti**

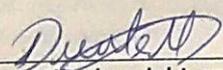
Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes en la sustentación, concluyen de manera unánime ( ) por mayoría simple ( ) calificar a:

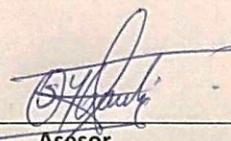
<b>Rowlands Sirvas Eirian Susana</b>			Nota (escrito): <i>Diecisiete</i>
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.

  
 Presidente del Jurado  
**DR. Manuel Efraín  
 Rosemberg Barròn**

  
 Miembro del Jurado  
**M.V. Milena Paola  
 Montenegro Vega**

  
 Miembro del Jurado  
**M.V. Dante Alfredo Meza  
 Ruiz**

  
 Asesor  
**MG. Siever Miguel  
 Morales Cauti**

## DEDICATORIA

*A mi mamá, por su apoyo incondicional.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Siever Morales, mi director de tesis y profesor, por sus enseñanzas y apoyo en la realización de la presente.*

*Al personal técnico del laboratorio de Microbiología y Microscopía, por su paciencia y colaboración.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IV</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Ganado vacuno lechero.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Generalidades.....	3
2.1.2 Parámetros productivos.....	4
<b>2.2 Producción de leche.....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Sistemas de producción.....	7
2.2.2 Producción nacional.....	8
<b>2.3 El agua.....</b>	<b>10</b>
2.3.1 Consumo y requerimientos.....	11
2.3.2 Sistemas de abastecimiento, infraestructura y manejo.....	12
<b>2.4 Calidad del agua.....</b>	<b>14</b>
2.4.1 Calidad y productividad.....	15
2.4.2 Microorganismos contaminantes.....	15
2.4.2.1 Coliformes totales.....	16
2.4.2.2 Mesófilos.....	19
2.4.2.3 Mohos y levaduras.....	20
2.4.3 Patologías asociadas a microorganismos en el agua.....	21
2.4.4 Regulación vigente en el Perú.....	23
2.4.4.1 Parámetros microbiológicos para consumo animal.....	23

<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
	3.1 Localización y ambiente.....	24
	3.2 Población y muestra.....	24
	3.3 Diseño experimental.....	25
	3.4 Materiales.....	26
	3.5 Procedimiento metodológico.....	26
	3.5.1 Recolección y transporte de muestras.....	27
	3.5.2 Preparación y esterilización de materiales.....	27
	3.5.3 Procesamiento y ensayos microbiológicos.....	28
	3.5.3.1 Microorganismos mesófilos, mohos y levaduras.....	28
	3.5.3.2 Microorganismos coliformes.....	28
	3.5.4 Lectura e interpretación de resultados.....	29
	3.5.5 Análisis de datos.....	29
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>36</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>49</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1	Desviación estándar de microorganismos coliformes totales.....	31
Tabla 4.1a	Análisis de varianza de microorganismos coliformes totales.....	31
Tabla 4.2	Desviación estándar de microorganismos mesófilos.....	33
Tabla 4.2a	Prueba de Kruskal - Wallis para microorganismos mesófilos.....	33
Tabla 4.3	Desviación estándar de mohos y levaduras.....	35
Tabla 4.3a	Prueba de Kruskal - Wallis para mohos y levaduras.....	35

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la carga de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras en el agua de bebederos de establos vacunos lecheros en el distrito de Lurín (Lima, Perú) y determinar su calidad microbiológica. Para el muestreo, se eligieron 5 establos. En cada establo se seleccionaron 3 bebederos de manera aleatoria, y cada uno se evaluó en 3 días diferentes, a partir del día de su limpieza. Los resultados fueron comparados con los parámetros microbiológicos que determinan los límites máximos permitidos para los estándares de calidad ambiental del agua de bebida de animales en la normativa peruana vigente, que establece como valor máximo permitido para coliformes totales 50 NMP / mL. Se realizó un análisis estadístico para determinar diferencias significativas entre los días de muestreo. Los resultados del día 1, mostraron una media de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras de 674.6 NMP / mL, 1, 732.8 UFC / mL y 672.8 UFC / mL, respectivamente. Los resultados del día 4 mostraron una media de 672 NMP / mL, 9,203.4 UFC / mL y 1,500 UFC / mL, respectivamente y los resultados del día 7 mostraron una media de 811.4 NMP / mL, 29,866.6 UFC / mL y 6,522.4 UFC / mL, respectivamente. No hubo diferencias significativas entre días, para recuento de microorganismos coliformes totales ni para mohos y levaduras, a diferencia del recuento de mesófilos, que sí mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El estudio concluyó que el agua en los bebederos evaluados no es apta para el consumo animal, según lo establecido por la normativa para coliformes totales debido a que los valores obtenidos superan los límites máximos permitidos desde el día 1. Asimismo, concluye que el agua de los bebederos también estaba contaminada con microorganismos mesófilos, mohos y levaduras. Se recomienda limpiar los bebederos dos veces a la semana, contar con un control de plagas, restringir el ingreso de otros animales a los corrales, y verificar la calidad del agua, periódicamente y cada que se presenten cambios en la salud de los animales y/o en los parámetros productivos.

**Palabras clave:** *Calidad del agua, establos lecheros, bebederos, coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras.*

## ABSTRACT

The purpose of this investigation was to determine the microbiological load of total coliform and mesophilic bacteria, as well as the occurrence of molds and yeasts in water troughs of dairy farms located in the district of Lurin (Lima, Peru) and establish the microbiological quality of the water. To this end, 5 farms were chosen for sampling. In each farm, 3 water troughs were randomly chosen, and each water trough was assessed on 3 different days, starting from the day that they were cleaned. Results were compared to the maximum permissible value for total coliforms established by Peruvian guidelines for drinking water quality for animals (50 NMP / mL) and statistically analyzed to establish significant differences between sampling days. On day 1, the mean count of total coliform bacteria, mesophilic bacteria, molds and yeasts was 674.6 NMP / mL, 1,732.8 CFU / mL and 672.8 CFU / mL, respectively. On day 4, the mean count was 672 NMP / mL, 9,203.4 CFU / mL and 1,500 CFU / mL, respectively, and on day 7, the mean count was 811.4 NMP / mL, 29,866.6 CFU / mL and 6,522.4 CFU / mL. No significant differences were found between sampling days for total coliforms nor molds and yeasts, contrary to mesophilic bacteria ( $p < 0.05$ ). The present study concluded that water troughs of the evaluated dairy farms were not suitable for animal consumption, according to Peruvian regulations for total coliforms. Moreover it concludes that water troughs were also contaminated with mesophilic bacteria, molds and yeasts. It is recommended that water troughs should be cleaned twice a week, a plague control system be implemented, the access of other animals be restricted from cow pens, and the water quality be tested periodically and when changes in animal health or productive parameters are detected.

**Key words:** *Water quality, dairy farms, water troughs, total coliforms, mesophilic bacteria, molds and yeasts.*

## I. INTRODUCCIÓN

El agua es un nutriente esencial en los procesos fisiológicos básicos del organismo. Constituye del 60 al 70 por ciento de la masa corporal de una vaca. Actúa como termorregulador y es un componente fundamental en la digestión, excreción y absorción de otros nutrientes (Looper *et al.*, 2007).

Para mantener la homeostasis y sobrevivir, la mayoría de animales debe beber agua con frecuencia, sin embargo, aquellos criados con el propósito de ser altamente productivos, requieren de manera especial un abundante suministro de agua limpia y fresca diariamente. Este requerimiento, específicamente por parte del ganado vacuno lechero, varía ampliamente dependiendo principalmente de factores relacionados al ambiente, al tipo de alimento consumido y características inherentes al individuo como la edad, el peso y estados fisiológicos, como la frecuencia respiratoria y el estatus reproductivo (Duarte, 2011).

Para satisfacer adecuadamente el requerimiento de agua del ganado en producción, es fundamental tener en cuenta la calidad de la misma, ya que existe una relación directa entre la cantidad y calidad del agua consumida y la productividad del animal. El agua de mala calidad, además de generar enfermedades, ocasiona disminución en su consumo por falta de palatabilidad, y por consecuencia disminución rápida y significativa en la producción de leche. Para determinar la calidad del agua, tanto de consumo humano como animal, se consideran propiedades organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, además de la presencia de compuestos tóxicos y el exceso de minerales (Looper *et al.*, 2007).

Las propiedades microbiológicas son especialmente importantes, ya que microorganismos como las bacterias coliformes representan indicadores valiosos en la determinación de la calidad del agua. A nivel internacional, muchos países cuentan con parámetros microbiológicos de calidad de agua para el ganado vacuno, además de guías y manuales publicados por entidades públicas y privadas con el objetivo de mejorar los sistemas de producción lecheros de manera integral; ya que en la actualidad, el sector pecuario debe ser capaz de combinar la rentabilidad del establo con la responsabilidad de proteger la salud humana, la salud y el bienestar animal y el cuidado del medio ambiente (FAO, 2011).

En el Perú, se cuenta con el Decreto Supremo N°015-2015-MINAM de Estándares Nacionales de Calidad Ambiental, en el cual se detallan los parámetros de calidad del agua para el consumo de animales y se establecen los límites microbiológicos máximos permisibles a los cuales los productores deben ceñirse (El Peruano, 2015).

La región de Lima, capital del Perú, se ubica en el segundo lugar con mayor producción de leche a nivel nacional (MINAM, 2017). Una de sus principales zonas de producción es el distrito de Lurín, el cual cuenta con la mayor cantidad de unidades agropecuarias y población de ganado vacuno (INEI, 2012). Es primordial conocer la calidad microbiológica actual del agua de los bebederos en los establos de Lurín, ya que, de ser necesario, se deberán implementar medidas que garanticen la inocuidad del agua, la salud de los animales y el continuo crecimiento en la producción. Actualmente, la industria pecuaria ha mantenido la misma tendencia desde el año 2017, registrando en Julio del 2018 un incremento en la producción de leche de 1.95 por ciento (INEI, 2018).

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Ganado vacuno lechero

#### 2.1.1 Generalidades

El ganado vacuno (*Bos indicus* y *Bos taurus*) representa la especie de rumiantes más común, con mayor distribución a nivel mundial y criada principalmente para la producción de leche. Juegan un rol importante en el reciclaje de nutrientes y la conversión de materia vegetal no comestible por el hombre, a proteína.

A diferencia de otras especies destinadas para la producción lechera, el ganado vacuno posee ciertas ventajas en cuanto al proceso de ordeño, esto se debe a la gran capacidad de almacenamiento de leche dado por el tamaño de la ubre. Esta característica tiene una influencia positiva sobre el rendimiento lechero, haciendo posible que el ganado vacuno produzca alrededor del 82 por ciento de la producción mundial de leche.

Las razas lecheras especializadas (*Bos taurus*) como la Holstein, raza bovina presente en más de 150 naciones, se crían casi exclusivamente en países templados, a diferencia de los países con clima húmedo, en donde el ganado suele ser de tipo cebú (*Bos indicus*), como la raza Gyr (FAO, 2019).

En la región costera del Perú, principalmente se cría ganado lechero especializado en sistemas de producción intensivos. Una de las razas predominantes es la Holstein, procedente de Holanda y caracterizada por su color de pelaje blanco y negro o blanco y rojo (MINAGRI, 2015).

### 2.1.2 Parámetros productivos

La productividad de una vaca es la suma del valor de la leche que produce, el valor de su descendencia y su valor individual en el mercado cuando abandona el establo. La producción de leche está asociada a la etapa de lactancia y aumenta significativa y rápidamente después del parto, alcanzando un pico alrededor de los 40 a 60 días posteriores al mismo. Los periodos no productivos incluyen el periodo desde el nacimiento hasta el primer parto y el periodo de seca antes del siguiente parto. Las vaquillas deben alcanzar un tamaño óptimo para la reproducción alrededor de los 13 a 15 meses de edad para poder maximizar su producción. Un manejo reproductivo adecuado asegura que la mayor parte de la producción de leche en la vida de una vaca sea durante los periodos tempranos de alta producción en vez de periodos tardíos de baja producción. La producción de leche aumenta con la edad y la cantidad de servicios hasta aproximadamente el sexto parto; estas vacas pueden llegar a producir un 25 por ciento más que aquellas de primer parto.

En la mayoría de establos lecheros, el manejo nutricional es uno de los factores más importantes que determina la productividad de los animales. El sistema de alimentación debe proveer los nutrientes necesarios para cada vaca en cada fase de la lactancia con el objetivo de mantener un nivel de producción adecuado. Asimismo, garantiza el continuo crecimiento para alcanzar el tamaño y peso ideal para el primer parto, evitando distocias y maximizando el desarrollo de la glándula mamaria en el periodo de lactancia. La inseminación artificial con semen de toros genéticamente superiores es otro factor importante que aumenta el rendimiento en la industria lechera.

La productividad de un establo lechero puede verse afectada en gran medida en función al éxito que tenga el programa de reemplazo. El costo de crianza de una vaquilla representa una proporción significativa del costo total de producción, ya que un animal de reemplazo no genera ganancias hasta la mitad de su segundo periodo de lactancia. La productividad también se ve afectada negativamente si el primer parto no se da entre los 23 y 25 meses de edad. Asimismo, las enfermedades, los problemas de salud y el mal manejo integral del establo, reducen la longevidad y tienen un efecto negativo en la productividad. (Dinsmore, 2019).

En un estudio realizado en el año 2009, se determinaron los parámetros productivos y reproductivos en la cuenca lechera de Lima. Se analizaron los registros de 4 establos lecheros con un sistema de producción intensivo. Los principales parámetros estudiados fueron la edad al primer servicio, la edad al primer parto, el intervalo del parto al primer servicio, el intervalo del parto a la concepción, el intervalo entre partos, el número de servicios por concepción, la tasa de concepción al primer servicio y la tasa de concepción global. La edad al primer servicio fue de  $17.5 \pm 0.1$  meses, la edad al primer parto fue de  $7.2 \pm 0.2$  meses, el intervalo del parto al primer servicio fue de  $109.2 \pm 1.5$  días, el intervalo del parto a la concepción fue de  $181.1 \pm 3.4$  días, el intervalo entre partos fue de  $15.2 \pm 0.1$  meses, el número de servicios por concepción fue de 2.41, la tasa de concepción al primer servicio fue de 46.1 por ciento en promedio entre vaquillas y vacas, y la tasa de concepción global fue de 41.5 por ciento. También se halló que las multíparas tuvieron un mejor comportamiento reproductivo que las primíparas (Ortiz *et al.*, 2009).

Con respecto a vacas en ordeño, en el año 2007 se reportó un total de 753, 189 unidades, alcanzando un pico máximo de 895, 716 8 en el año 2016 y disminuyendo ligeramente en el año 2017 a 889, 114 vacas en ordeño (MINAGRI, 2017).

## 2.2 Producción de leche

Existen más vacas en ordeño en países en desarrollo que en países desarrollados. Sin embargo, en los países en desarrollo, el rendimiento lechero es menor y los períodos de lactancia son más cortos. El bajo rendimiento en estos países, es el resultado de factores como la elevada temperatura ambiental y la humedad, la mala calidad del alimento, los bajos niveles de suplementación, el bajo potencial genético para la producción de leche, y la alta incidencia de enfermedades. Un tercio de su producción proviene de búfalos, cabras, camellos y ovejas, mientras que en países desarrollados, casi toda la leche es producida por el ganado vacuno.

El ganado vacuno produce cerca de tres cuartos de la producción total de leche en África Subsahariana, Asia y casi toda la leche en América Latina. La leche proveniente de otras especies, representa el 40 por ciento de la producción total de leche en Asia, 25 por ciento en África, 3 por ciento en Europa, 0.5 por ciento en América y es casi no existente en Oceanía.

Los factores principales que determinan la crianza de una especie son el alimento que consume y el clima en el cual es productiva. Otro factor importante es la demanda del mercado, la cual es determinada por las costumbres alimenticias y las características socio económicas de los consumidores. En países en desarrollo, los animales que producen leche, usualmente son criados en sistemas de producción pequeños y de subsistencia. Estos animales crecen y producen leche con mínimo manejo y en ambientes hostiles. Se suelen adaptar bien a condiciones locales, sin embargo, en muchos casos poseen un potencial genético bajo para producción de leche. En países desarrollados, la tendencia actual es la disminución del número de establos lecheros y vacas en ordeño, sin embargo, la productividad por vaca tiende a aumentar. Por el contrario, en los países en desarrollo, la producción de leche aumenta junto con la cantidad de vacas en ordeño.

El rendimiento promedio por vaca varía ampliamente entre países, esto se debe principalmente a la diferencia de recursos disponibles y los distintos sistemas de producción. En países como Afganistán, Bangladesh, Etiopía y Nigeria, el promedio anual de producción de leche de vaca se encuentra alrededor de 500 kilogramos. En países con zonas lecheras en desarrollo como Irán, Perú y Vietnam, el promedio anual suele ser mayor a 2, 000 kilogramos. Los principales productores de leche de vaca a nivel mundial son Estados Unidos, India y China.

En cuanto a las diferentes razas y su producción, las razas criollas se adaptan bien a condiciones locales como el clima, recursos disponibles de alimento y agua, y enfermedades endémicas, pero tienen un nivel bajo de producción y generalmente deben ser ordeñadas en presencia de los terneros. Razas lecheras especializadas como Holstein y Jersey tienen un alto rendimiento lechero pero un nivel bajo de adaptación y requieren un buen programa de manejo, de lo contrario no pueden expresar su máximo potencial genético. Actualmente, y desde hace varios años, se utilizan toros de razas especializadas en producción de leche para cruces con vacas criollas. De esta manera, es posible obtener ganado de alto rendimiento lechero y fácil adaptación (FAO, 2019).

Hoy en día, el potencial genético de las vacas para la producción de leche es significativamente mayor al rendimiento real de la mayoría de establos a nivel internacional (Dinsmore, 2019).

### 2.2.1 Producción nacional

En la actualidad, la industria dedicada a la fabricación de lácteos representa aproximadamente el 54 por ciento de la producción a nivel nacional. La producción de leche fresca tiene un crecimiento lento pero constante y es de gran importancia económica para el país. En el Perú, la raza Holstein es la principal encargada de la producción de leche, ya que representa el 60 por ciento de la población del ganado vacuno en condiciones de estabulación. Estas vacas pueden llegar a producir hasta 6,000 litros de leche por campaña en condiciones óptimas de crianza y libres de enfermedades (MINAGRI, 2015).

En el año 2017 se registró la producción, el rendimiento y los precios recibidos según las principales especies y productos pecuarios. Para el sector de vacunos de leche, se reportó un total de 2, 010, 985 toneladas de leche anuales, provenientes de 889, 114 vacas en ordeño a nivel nacional. El rendimiento promedio nacional fue de 2, 262 kilogramos de leche por vaca por año. El precio promedio nacional por litro fue de 1.29 Nuevos Soles, registrándose un alza continua desde el año 2007 con un precio por litro inicial de 0.86 Nuevos Soles por cada litro vendido; el rendimiento promedio ese mismo año fue de 1,933 kilogramos de leche por vaca por año.

De las 2, 010, 985 toneladas de leche producidas en el año 2017, la región con mayor producción fue Cajamarca con 360, 200 toneladas de leche, seguida por la región de Lima con 354, 148 toneladas y Arequipa con 353, 749 toneladas. Detrás se ubicaron La Libertad, Puno y Cusco. Tumbes fue la región con menor producción de leche, registrando un total de 412 toneladas anuales.

En cuanto al rendimiento de producción por región, en la región de Ica se registró el mejor rendimiento con 5, 647 kilogramos por vaca por año, seguida por la región de Arequipa con 4, 715 kilogramos por vaca por año y Lima con 4, 656 kilogramos por vaca por año. Detrás de ellas se ubican Tacna, La Libertad, Lambayeque y Cajamarca. La región con menor rendimiento fue Apurímac con 1, 001 kilogramos por vaca por año.

Los meses de mayor producción de leche de vaca en el año 2017 fueron Marzo, Abril, Mayo y Junio, registrándose en Mayo un pico de producción de 183, 218 toneladas (MINAGRI, 2017).

### 2.2.2 Sistemas de producción

Los sistemas de producción del ganado vacuno lechero son todos aquellos procesos comerciales cuyo propósito es la crianza, la reproducción y el manejo del ganado vacuno con el objetivo final de producir leche. Sus características dependen principalmente del capital de inversión y el grado de especialización que se pretenda manejar (OIE, 2019).

Internacionalmente, existen distintos sistemas de producción, los más comunes son el sistema intensivo, semi - intensivo, extensivo a libre pastoreo y mixto. En el Perú, se pueden reconocer tres de estos sistemas: El sistema extensivo, predominante en las regiones de la sierra y selva, el sistema intensivo, predominante en los valles de la costa y el sistema semi - intensivo, practicado principalmente en los valles interandinos.

El sistema de producción extensivo, se caracteriza por tener bajos costos de producción, ya que la mano de obra es usualmente familiar y no requiere de instalaciones o infraestructura especial (comederos, mangas de manejo, salas de ordeño, etc.). La alimentación del ganado es a través del libre pastoreo, los animales consumen pastos naturales y cultivados como alfalfa, *Rye grass*, trébol blanco y trébol rojo. El pastoreo suele ser junto con otras especies como ovinos, caprinos y equinos. La producción de leche tiende a ser baja, generando alrededor de 1, 000 litros de leche por vaca, por campaña. Este sistema de producción representa el 15.4 por ciento del total nacional y en el predomina el método reproductivo de monta natural.

En el sistema de producción intensivo se requieren de más recursos y capital económico, ya que los costos son más elevados debido al uso de concentrados en la alimentación, la implementación y aplicación de programas de sanidad y el uso de instalaciones e infraestructura especial para la estabulación y el ordeño. Asimismo, se requiere de personal capacitado y mayor mano de obra. Este tipo de sistema de producción representa, aproximadamente, el 46.2 por ciento del total nacional. Los establos lecheros de este tipo se localizan principalmente en las regiones costeras, registrándose un 17.2 por ciento en Lima, 24.3 por ciento en La Libertad y 8.9 por ciento en Piura. El rendimiento en estos sistemas puede alcanzar los 6,000 litros por vaca por campaña y el método de reproducción predominante es la inseminación artificial.

Finalmente, el sistema de producción de tipo semi - intensivo, es un sistema basado en la alimentación del ganado a través del libre pastoreo complementado con concentrados elaborados con insumos provenientes de la agroindustria. El confinamiento de los animales es parcial, durante el día suelen pastar y en la noche son puestos en corrales. Este sistema representa el 38.4 por ciento del total a nivel nacional. Suelen tener una capacidad intermedia de producción lechera, acopiando aproximadamente 3, 500 litros por vaca por campaña. Gran parte de la leche que producen es destinada a la elaboración de quesos. Este sistema utiliza ambos métodos de reproducción, tanto la monta natural como la inseminación artificial (MINAGRI, 2015).

La mayor producción de leche a nivel nacional se obtiene a través de sistemas de producción intensivos y extensivos. En las principales regiones productoras de leche fresca, como Arequipa, Cajamarca y Lima, el sistema más utilizado es el sistema intensivo, en el cual la materia prima es enviada a las plantas industriales de manufactura para el procesamiento y elaboración del producto final. El sistema de tipo extensivo está principalmente dirigido al mercado local y zonal, en donde los establos productores no están asociados a la industria a gran escala (MINAGRI, 2017).

### **2.3 El agua**

El agua constituye aproximadamente el 87 por ciento de la leche y del 60 al 70 por ciento de la composición corporal de una vaca. El agua es necesaria para el mantenimiento de fluidos corporales y el balance adecuado de iones, la digestión, absorción y metabolismo de nutrientes, la excreción de desechos y exceso de calor, la provisión de un medio líquido para el feto, y el transporte de nutrientes de y hacia tejidos corporales (Schroeder, 2015; Linn, *et al.*, 2010).

El agua es obtenida a través del agua de bebida, el alimento consumido y el agua metabólica proveniente de la oxidación de nutrientes. La pérdida de agua ocurre a través de la salivación, la excreción en forma de orina y heces, la producción de leche, la transpiración y la evaporación de superficies corporales y el tracto respiratorio. La cantidad de agua corporal que pierde una vaca está determinada por los mismos factores que determinan el requerimiento de cada individuo (Looper *et al.*, 2007).

### 2.3.1 Consumo y requerimientos

Como se menciona anteriormente, la mayoría de animales debe beber agua frecuentemente para mantener la homeostasis y sobrevivir, sin embargo, aquellos que además son criados con el propósito de ser altamente productivos, requieren de manera especial un abundante suministro de agua. Estas dos circunstancias se distinguen en necesidades de mantenimiento y necesidades de producción y juntas determinan el requerimiento total de agua de un individuo.

El requerimiento diario del ganado vacuno lechero varía significativamente de acuerdo a distintos factores como la edad, la tasa de crecimiento, el peso, la temperatura ambiental y la humedad y factores inherentes al individuo y al manejo en general del establo como la productividad del animal y el periodo reproductivo (preñez, lactancia, transición, etc.). Asimismo, el tipo de alimento (forrajes, ensilados, heno y/o concentrados) y su contenido de humedad también influencia el hábito de consumo de agua. Alimentos altamente húmedos, generan una disminución en el requerimiento de agua (Duarte, 2011).

Es importante mencionar que la mala calidad del agua, determinada por características como salinidad, temperatura y contaminantes que afectan el sabor y el olor de la misma, genera disminución en el consumo, más no en el requerimiento (Looper *et al.*, 2007).

Debido a la suma de estos factores existe un amplio rango de variación en el requerimiento de agua. Mientras que un animal en crecimiento de 270 kg de peso vivo, a una temperatura ambiental media de 16 °C, bebe aproximadamente 20 litros de agua diariamente, una vaca adulta que produce alrededor de 27 litros de leche al día, a la misma temperatura, puede beber cerca de 100 litros de agua diarios. (Looper *et al.*, 2007) En promedio, una vaca lechera consume 25 galones de agua a diario, equivalentes a aproximadamente 95 litros (Linn *et al.*, 2010).

El agua es un nutriente particularmente importante durante periodos prolongados de estrés. El pico de consumo de agua de las vacas generalmente ocurre durante las horas de consumo de alimento y ordeño. Del 30 al 50 por ciento del consumo de agua diario total puede darse dentro de los 60 minutos posteriores al ordeño. En vacas en producción, el consumo de agua a libre a disposición satisface del 80 al 90 por ciento del requerimiento diario de agua.

En vacas que no se encuentran en producción o vacas secas, los principales factores que afectan el consumo libre de agua son la concentración de materia seca y la cantidad de proteína en la dieta. En el caso de vaquillas y terneros, durante el periodo de alimentación líquida, los terneros reciben la mayor parte de agua a través de la leche o sustituto de leche. Sin embargo, investigaciones demuestran que a aquellos terneros a los que se les ofrece agua adicionalmente a la leche, ganan peso más rápidamente y consumen alimento seco a más temprana edad que los terneros que solo consumen agua a través de la leche. Las vaquillas que han sido destetadas, consumen aproximadamente de 3 a 5 litros de agua por cada 45 kilogramos de peso vivo (Schroeder, 2015).

Como con cualquier especie en cualquier actividad ganadera, el agua suministrada debe ser fresca, limpia y estar siempre disponible. El consumo a libre disposición en los bebederos ubicados dentro de los corrales es la principal fuente de agua. El consumo de agua puede verse afectado negativamente y disminuir si la calidad del agua ofrecida es mala. Es importante evitar la reducción en el consumo de agua relacionado a cualquier factor, ya que limita la producción de leche, pone en riesgo la salud de los animales y disminuye la rentabilidad del establo (Linn *et al.*, 2010).

### **2.3.2 Sistemas de abastecimiento e infraestructura**

Es esencial para el buen manejo del ganado, entender los requerimientos de los animales cuando se pretende diseñar instalaciones para un sistema de producción. Se debe proveer suficiente agua limpia, fresca y de buena calidad en todo momento. Es usual que los productores permitan el acceso libre al agua, la cual puede encontrarse en bebederos, abrevaderos o cuerpos de agua naturales, dependiendo del sistema de producción (Schroeder, 2015; Andersen 2012).

En el caso de un sistema de producción intensivo, los bebederos deben limpiarse al menos una vez por semana. Debido a la gran cantidad de agua que beben las vacas, estas deben tener acceso a bebederos largos ubicados en todos los corrales del establo (Andersen, 2012). El largo de un bebedero eficiente debe ser de aproximadamente 5 centímetros por vaca con una altura óptima de 60 a 80 centímetros. Se puede reducir la altura si se cuenta con animales más pequeños como las vacas de raza Jersey. La profundidad del agua debe ser al menos de 7 centímetros, para permitir que el animal sumerja el hocico cómodamente. Debe haber por lo menos 1 bebedero por cada 15 a 20 vacas y para operaciones en confinamiento, como el ordeño, los bebederos deben ser ubicados a la salida del área y permitir el consumo *ad libitum* (Schroeder, 2015).

La velocidad del llenado de los bebederos es importante y está determinada por el diámetro de las tuberías y la presión de agua. Para establecer el diámetro de las tuberías, es necesario conocer la demanda y el requerimiento de agua en una unidad de tiempo. Esto se mide considerando la cantidad de animales, su estatus productivo y todos los otros factores que influyen el consumo de agua. En promedio, las tuberías deben tener entre 65mm y 75 mm de diámetro para permitir el paso del agua rápidamente y la presión de agua debe ser la adecuada. Si alguna parte del sistema es deficiente, los animales se agruparán a esperar el llenado del bebedero. Esto podría ocasionar peleas, daños a las instalaciones, y que los animales subordinados beban menos agua de la que requieren (Duarte, 2011).

En cuanto a la temperatura del agua de bebida, Schroeder (2015) menciona que esta tiene un efecto muy leve sobre el comportamiento en el consumo de agua y el rendimiento de los animales, y no justifica el costo adicional de mantener el agua fría. Dada la opción, las vacas prefieren beber agua a temperatura moderada (22°C aproximadamente) en vez de agua muy fría o agua caliente. Se debe evitar el uso de tuberías negras para prevenir que el agua que discorra en ellas se caliente.

Con respecto a los bebederos, estos deben ser construidos con ladrillo, ser cubiertos con cemento liso y deben estar asociados a un techo. Sus principales objetivos son el almacenamiento de agua para el consumo de los animales y proporcionar sombra para mantener el agua a temperatura ambiente y libre de contaminación. Para construir un bebedero se deben tener en cuenta la cantidad de animales, el requerimiento de agua y la ubicación (SAGARPA, 2017).

La fuente principal de agua para los bebederos del establo debe ser analizada por lo menos cada tres años según la ordenanza de leche pasteurizada en Estados Unidos. Dependiendo del país y localidad, la frecuencia puede variar. Asimismo, de presentarse cualquier problema de salud con el ganado, deberá realizarse el análisis con mayor frecuencia a la establecida (Iowa State University, 2018). Es importante asegurarse de que la fuente de agua que abastece los bebederos, suministre agua de buena calidad y que los bebederos se encuentren limpios y libres de desperdicios.

Todas las características del diseño de la infraestructura del sistema de abastecimiento de agua son importantes y deben ser las adecuadas según los requerimientos del establo (Duarte, 2011). En el año 2005, en el distrito de Lurín se contabilizaron 529 pozos, de los cuales, 427 se encontraron funcionales y de ellos, 45 fueron identificados como pozos de uso pecuario (MINAGRI, 2005).

## 2.4 Calidad del agua

La calidad del agua es un factor importante en la producción y salud del ganado vacuno lechero. Las cinco propiedades consideradas en la evaluación de la calidad del agua, tanto para humanos como para animales, son las propiedades organolépticas (sabor, color, olor), propiedades fisicoquímicas (pH, dureza, solutos totales), la presencia de compuestos tóxicos (metales pesados, compuestos organofosforados, hidrocarburos), la presencia y cantidad de minerales (nitratos, sulfato sódico, hierro) y las propiedades microbiológicas (bacterias, algas y parásitos). Los problemas más comunes de calidad que afectan el agua de bebida del ganado vacuno lechero, incluyen el exceso de salinidad, el contenido elevado de nitrógeno, la contaminación bacteriana, el crecimiento de algas y la contaminación accidental con petróleo, pesticidas o fertilizantes (Looper, *et al.*, 2007).

Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos son las pruebas más seguras y confiables para estimar la calidad del agua (OMS, 1995).

### 2.4.1 Calidad y productividad

Evaluar la calidad del agua de bebida del ganado lechero es un componente muy importante en el proceso de identificación de factores de riesgo que conlleven a enfermedades que podrían afectar la productividad y rentabilidad del establo. Es de gran importancia económica, tanto para los pequeños como para los grandes productores pecuarios, que el ganado consuma agua de buena calidad y se mantenga saludable (The Pennsylvania State University, 2018).

Un adecuado suministro de agua es esencial en la actividad ganadera. Los productores deben tener en cuenta la cantidad y calidad del agua que le ofrecen al ganado. El crecimiento y el rendimiento de los animales pueden verse afectado negativamente si consumen agua con niveles altos de contaminantes. Asimismo, el ganado suele beber menor cantidad de agua que se encuentra contaminada, lo cual conlleva a un menor consumo de alimento y mayor vulnerabilidad frente al estrés durante la preñez, lactancia o estrés por calor (Higgins *et al.*, 2008).

Las guías del Consejo de Conservación y Ambiente de Australia y Nueva Zelanda (ANZECC, 2000) establecen que el ganado no debería consumir agua que contenga valores mayores a 100 coliformes fecales por cada 100 mL de agua. El ganado evita beber agua que esté contaminada con heces (0.05 mg/g de agua) y cuando se les da la elección entre agua limpia y agua contaminada, el ganado prefiere beber agua limpia. Cuando no se les da la opción de beber agua limpia, el consumo de agua y alimento disminuye (Willms *et al.* 2002). Se halló resultados similares en un estudio realizado por Holechek (1980), quien reportó una disminución en el consumo de agua y en la ganancia de peso por parte del ganado cuando este bebía agua contaminada con heces y orina.

El agua de mala calidad puede causar una disminución en la producción y/o enfermedades no específicas y debe ser un aspecto puesto a prueba cuando existen problemas de producción y salud de los animales en el establo (Looper *et al.*, 2007).

## 2.4.2 Microorganismos contaminantes

El mayor riesgo microbiológico está asociado a la ingesta de agua contaminada con heces de origen humano o animal, ya que estas son fuente de microorganismos patógenos como enterobacterias y parásitos intestinales. La presencia de microorganismos fecales es un indicador sensible de contaminación (OMS, 2011).

El análisis microbiológico para la detección de microorganismos coliformes y otras bacterias, es necesario para determinar la calidad sanitaria del agua presente en los bebederos. En aves, Carr *et al.* (1988) citado por Amaral L.A. (2004), menciona que el tipo de bebedero es un factor determinante en la calidad microbiológica del agua. Los bebederos abiertos, como los que se utilizan para el ganado vacuno, pueden presentar niveles altos de contaminación de hasta  $10^7$  y  $10^4$  UFC/ mL para microorganismos coliformes y mesófilos.

El recuento de coliformes totales y fecales debe ser menor a 1 UFC / 100 mL para el agua de bebida del ganado, especialmente terneros y animales en crecimiento. Para animales adultos, el recuento de coliformes totales y fecales debe ser menor a 15 UFC / 100 mL y 10 UFC / 100 mL, respectivamente. Se recomienda que el recuento de estreptococos fecales no supere de 3 UFC / 100 mL a 30 UFC / 100 mL para terneros y adultos, respectivamente (Looper *et al.*, 2007).

El recuento bacteriano total mide todos los patógenos y bacterias no infecciosas que utilizan nutrientes orgánicos para su crecimiento. Un recuento bacteriano total mayor a 500 UFC / 100 mL sugiere problemas de calidad de agua. Agua que contenga un recuento bacteriano mayor a 1, 000,000 UFC / 100 mL debe ser descartada para el suministro al ganado (Looper *et al.*, 2007).

Es necesario analizar todas las fuentes de agua presentes en el sistema de producción, ya que los niveles de contaminantes pueden variar dentro de un mismo establo (Higgins *et al.*, 2008).

#### 2.4.2.1 Coliformes totales

El análisis microbiológico del agua en busca de microorganismos coliformes es necesario para determinar su calidad sanitaria. Este análisis es importante para establecer el grado de contaminación del agua y evaluar el riesgo de exposición del ganado a organismos patógenos (Looper *et al.*, 2007).

Existen tres grupos de microorganismos coliformes totales; coliformes fecales, no fecales y coliformes termotolerantes. Cada uno de estos grupos es un indicador de calidad de agua y representa diferentes niveles de riesgo. Los microorganismos coliformes totales son el conjunto que comprende el total de bacterias gram negativas, fermentadoras de lactosa, que producen gas y que no esporulan. Un microorganismo coliforme fecal es aquel de origen intestinal que se encuentra en las heces tanto de humanos como de animales. Los coliformes termotolerantes son aquellos capaces de fermentar lactosa a temperaturas elevadas de alrededor de 44°C (Iowa State University, 2018).

Los contaminantes más comunes del agua son los microorganismos coliformes fecales como la bacteria *Escherichia coli* (FAO; FIL 2012). Esta bacteria se encuentra de manera natural en las heces de humanos y animales, alcanzando concentraciones altas en deposiciones frescas. También se encuentra en aguas residuales, en efluentes tratados y en aguas y suelos naturales que han sido contaminados con heces. Debido a su potencial de patogenicidad por concentraciones elevadas o por cepas específicas, siempre debe tenerse en cuenta el hallazgo de *Escherichia coli* o cualquier microorganismo coliforme (OMS, 1995).

El primer análisis que se debe realizar en una muestra, es el análisis para la identificación de microorganismos coliformes totales como grupo en general. Si se detectan coliformes presentes en la muestra, se debe realizar un análisis específico para la identificación de *Escherichia coli*. Si se encuentra únicamente microorganismos coliformes totales, la fuente de contaminación suele ser ambiental y la contaminación fecal es poco probable. Sin embargo, también deben tenerse consideraciones en este caso y corregir la causa de la contaminación (Swistock, 2015; DOH, 2016).

A pesar de que la mayoría de estas bacterias no son nocivas y existen de manera natural en el intestino de humanos y animales, algunas cepas pueden resultar dañinas. La presencia de *Escherichia coli* en una muestra de agua de bebida, indica que se ha producido una contaminación fecal reciente y que existe un riesgo mayor a encontrar microorganismos patógenos. Su hallazgo es mucho más frecuente que la de otros coliformes y se recomienda que esta bacteria o cualquier otro microorganismo coliforme fecal esté ausente en el agua de bebida del ganado vacuno lechero (Swistock, 2015).

Los microorganismos coliformes también pueden ser encontrados en aguas de superficie y aguas subterráneas. Su concentración está relacionada al lugar de donde se colecta el agua. Comparar las muestras de agua obtenidas directamente de los bebederos y las muestras obtenidas de la fuente de abastecimiento de agua es importante para determinar la implementación de mejores medidas sanitarias. Es común que las muestras de agua de los bebederos tengan una mayor concentración bacteriana si son limpiados con poca frecuencia (Swistock, 2015).

A pesar de que la fuente principal de agua en el establo también es susceptible a contaminarse, la contaminación bacteriana ocurre principalmente en los bebederos debido al contacto cercano con el ambiente y los animales. En un estudio realizado por LeJeune *et al.* (2001), se tomaron muestras de 473 bebederos, de los cuales se logró aislar *Salmonella spp.* en el 0.8 por ciento y *E. coli* 0157 en el 1.3 por ciento y se determinó que la contaminación por *Escherichia coli* aumentaba a medida que la distancia entre los bebederos y los comederos disminuía (Linn *et al.*, 2010). Se recomienda que el agua de bebida del ganado vacuno lechero contenga menos de 1 UFC / 100 mL para terneros y hasta 10 UFC / 100 mL para el ganado adulto. Sin embargo, estos valores pueden ser difíciles de alcanzar en presencia de los animales (Higgins *et al.*, 2008). La ley peruana establece un máximo de 50 NMP / mL para coliformes totales.

Analizar el agua de bebida del ganado vacuno lechero para todos los posibles contaminantes es complejo, lento y suele ser costoso. La presencia de otros patógenos se infiere a través de microorganismos indicadores como los coliformes. El análisis de coliformes totales, fecales y termotolerantes es fácil, económico y brinda una noción clara de la calidad microbiológica del agua evaluada.

#### 2.4.2.2 Mesófilos

Los microorganismos mesófilos son aquellos que proliferan en condiciones ambientales intermedias, a temperaturas entre los 15°C y 37°C, aproximadamente. Pueden encontrarse tanto en el suelo como en cuerpos de agua. Muchas especies pertenecientes a este grupo de bacterias están involucradas en procesos de biodegradación como la digestión y descomposición de materia orgánica. Este grupo de microorganismos comprende a la mayoría de bacterias y por ello se le considera un indicador de calidad de alimentos y agua para consumo humano y animal (Schiraldi & De Rosa, 2014).

Dentro del grupo de los microorganismos mesófilos se encuentran bacterias como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Clostridium kluyveri*, *Leptospira*, entre otros. A una temperatura, pH y salinidad óptima, estas bacterias pueden multiplicarse y doblar su población en menos de 30 minutos (Schiraldi & De Rosa, 2014).

Según Andersen (2012), el recuento total de mesófilos para establecer la buena calidad microbiológica del agua de bebida del ganado vacuno lechero debe ser inferior a 10, 000 UFC / mL.

Lamka *et al.*, (1980) citado por Amaral L.A. (2004) describe que una abundante carga de microorganismos mesófilos puede interferir en la detección de coliformes y resultar en falsos negativos. Por lo tanto, la evaluación rutinaria de la calidad microbiológica del agua debe incluir el análisis de coliformes totales, coliformes fecales y microorganismos mesófilos.

#### 2.4.2.3 Mohos y levaduras

Los mohos y las levaduras son microorganismos pertenecientes al reino Fungi y son comúnmente llamados hongos. Los hongos se clasifican como mohos si poseen filamentos que se ramifican y tienen la capacidad de proliferar en superficies secas, y como levaduras si son organismos unicelulares que se reproducen a través de gemación y requieren agua para crecer (EPA, 2002).

Los hongos son contaminantes importantes que pueden tener efectos negativos en la salud humana y animal, ya que algunos producen naturalmente metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas. Existe una gran cantidad de micotoxinas reconocidas pero pocas han sido investigadas. Los géneros de hongos más comunes que producen micotoxinas son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Whitlow & Hagler, 2013).

Los hongos son ubicuos y pueden encontrarse en distintas superficies como pasturas, suelo, granos, bebederos, camas de paja, etc. Las micotoxinas producidas pueden permanecer latentes incluso si los hongos ya no están presentes. Diversos estudios reportan que los hongos filamentosos o mohos y las levaduras, son comúnmente hallados en superficies de tuberías de sistemas de distribución de agua, y usualmente, si el flujo de agua es lento, se favorece el desarrollo de un *biofilm* o tapiz bacteriano. A pesar de ello, estos hallazgos no han sido asociados a enfermedades transmitidas por el agua. De las especies detectadas, algunas como *Aspergillus flavus* representan un alto riesgo para la salud de humanos y animales, asimismo, *Candida albicans* es una levadura que puede potencialmente establecerse en el tracto gastrointestinal y diseminarse por vía oro - fecal. Por lo tanto, el potencial de transmisión de enfermedades causadas por hongos a través del agua existe, sin embargo, se desconoce su importancia (EPA, 2002).

Asimismo, Al-Gabr *et al.* (2014) menciona que una amplia variedad de hongos ha sido aislada del agua de bebida. Algunos de ellos son altamente alergénicos, provocan irritación en la piel e inmunosupresión en individuos inmunocomprometidos. La exposición de humanos y animales puede ocurrir a través de la ingesta de agua y alimentos contaminados y por inhalación.

El diagnóstico y la identificación de micotoxicosis es difícil, esto se debe a distintos factores como las diferencias de sensibilidad entre especies e individuos de una misma especie, la imprecisión en el análisis, la gran cantidad de micotoxinas, entre otros. Estos factores también contribuyen a la dificultad de establecer niveles seguros y límites máximos de ingesta de hongos (Whitlow & Hagler, 2013). Es importante considerar la contaminación del agua de bebida del ganado con mohos y levaduras, ya que a pesar del riesgo que suponen, existen escasos estudios acerca de estos microorganismos como contaminantes del agua y los límites aceptables para su consumo (EPA, 2002).

### 2.4.3 Patologías asociadas a microorganismos en el agua

La calidad microbiológica del agua es un factor determinante en la salud animal. Uno de los problemas que se presenta con mayor frecuencia y que afecta la producción de leche, es la contaminación bacteriana del agua, la cual puede ocasionar enfermedades no específicas y debe ser un aspecto a investigar cuando existen cambios en la salud en un estable lechero (Looper *et al.*, 2002).

Los bebederos representan una fuente de exposición constante a bacterias entéricas dañinas para el ganado (LeJeune *et al.*, 2001). Los microorganismos coliformes, por ejemplo, pueden establecerse y multiplicarse en el organismo ocasionando diarrea, dolor abdominal, vómitos, náuseas, fiebre y pérdida de peso (Palomo *et al.*, 2014). Un recuento de microorganismos coliformes mayor a 1 UFC / 100 mL puede ocasionar diarrea en terneros. En vacas adultas, un recuento de 10 UFC a 20 UFC / 100 mL puede provocar diarrea y pérdida de apetito (Swistock, 2015; Looper *et al.*, 2007). Debido a que los microorganismos coliformes tienen la capacidad de persistir en el agua por más tiempo que la mayoría de microorganismos causantes de patologías, su ausencia es un buen indicador para establecer la inocuidad del agua de bebida (Swistock & Sharpe, 2016).

Actualmente, se sabe que los bebederos de establos vacunos son una fuente de diseminación de *Escherichia coli* O157:H7. A pesar de que esta cepa no causa enfermedades en el ganado, *E. coli* O157 es altamente patogénica en humanos. Su ingesta a través de cualquier materia contaminada representa un gran riesgo para la salud humana. Desafortunadamente, el ganado vacuno es un hospedero común de *E. coli* O157, y su constante diseminación genera un alto riesgo ocupacional en los productores y encargados del estable (Beauvais *et al.*, 2018).

En cuanto a patologías asociadas a microorganismos mesófilos, algunas de las bacterias que suponen mayor riesgo para el ganado vacuno lechero son *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira* y *Salmonella sp.*, y algunas cepas de *Escherichia coli* responsables de desórdenes reproductivos, enfermedades del sistema respiratorio, sistema digestivo, y tracto urinario, entre otras (Schiraldi & De Rosa, 2014). En el caso de infecciones por *Salmonella sp.*, por ejemplo, estas ocurren cuando un animal susceptible ingiere la bacteria por medio del alimento o agua contaminada con heces de animales infectados. La salmonelosis tiene un amplio espectro de signos clínicos en el ganado vacuno. Los animales infectados pueden ser asintomáticos, sintomáticos leves con signos como diarrea, pérdida del apetito y baja producción, o presentar septicemia fulminante. En un establo lechero, el origen de la infección suelen ser las heces de vacas infectadas. Otras fuentes de infección pueden ser los roedores, las aves, moscas, gatos y perros. La transmisión es oro - fecal, por aerosoles, a través de saliva y secreciones nasales, especialmente en bebederos compartidos en situaciones de confinamiento, y por medio del calostro y la leche (McGuirk & Peek, 2003).

Por otro lado, las micotoxinas producidas por los hongos tienen diversos efectos de patogenicidad sobre los animales como toxicidad al hígado, riñones y al sistema nervioso central. Ciertas micotoxinas como Aflatoxina, producida por el hongo *Aspergillus flavus*, han probado ser carcinogénicas en animales de laboratorio. En el ganado vacuno, la micotoxicosis reduce la tasa de crecimiento, el rendimiento lechero, afecta negativamente los parámetros reproductivos y reduce la inmunidad. En algunos casos, las micotoxinas alcanzan niveles de concentración bastante elevados y generan grandes pérdidas en la salud y el rendimiento de los animales. Sin embargo, es muy importante resaltar que las micotoxinas producen patologías con mayor frecuencia cuando interactúan con otros organismos o factores desencadenantes de enfermedad, ya que los hongos suelen colonizar individuos inmunocomprometidos. Cuando esta interacción ocurre, se generan cuadros clínicos y subclínicos que resultan en el aumento de enfermedades y disminución en la eficiencia de los animales. Algunos signos clínicos de micotoxicosis son los desórdenes gastrointestinales, la reducción en el consumo de agua y alimento, baja productividad, pelaje áspero y desnutrición, entre otros. Para los productores, las pérdidas subclínicas son de mayor importancia económica que las pérdidas por efectos agudos (Whitlow & Hagler, 2013).

La investigación de contaminantes en el agua de bebida y su efecto en la salud del ganado vacuno lechero es escasa. Sin embargo, es importante contar con medidas preventivas (Looper *et al.*, 2002; Swistock, 2015). La identificación y detección de contaminantes en el agua de bebida de los animales y el conocimiento de los diversos problemas de salud asociados a su presencia, es imprescindible para la prevención y el manejo eficiente de los inconvenientes que puedan presentarse en el establo lechero. Es fundamental reconocer cambios sutiles en la tasa de crecimiento, la conversión alimenticia, el éxito reproductivo, la producción de leche y la calidad del producto final. Cualquier problema debe ser identificado lo antes posible, previniendo la aparición de manifestaciones clínicas en los animales (Olkowski, 2009).

#### **2.4.4 Regulación vigente en el Perú**

Según la Guía de Buenas Prácticas Ganaderas, publicada por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria, los productores y encargados de los establos lecheros deben asegurarse de que los animales consuman agua de buena calidad, teniendo en cuenta los parámetros químicos, físicos y microbiológicos establecidos por las autoridades competentes. Asimismo, los pozos de agua deben mantenerse limpios, cubiertos y libres de contaminación. Para la limpieza, deben utilizarse productos adecuados sin dejar residuos en el agua. La guía recomienda evitar la contaminación directa del agua a través de efluentes humanos y animales (SENASA, 2013).

##### **2.4.4.1 Parámetros microbiológicos del agua para consumo animal**

Dentro del marco legal para la calidad del agua destinada para el consumo animal, en el Decreto Supremo de la legislación peruana N° 015-2015-MINAM, categoría 3: Riego de Vegetales y Bebida de Animales, subcategoría D2: Bebida de Animales, se establecen los parámetros microbiológicos que determinan los límites máximos para los estándares de la calidad ambiental del agua. En cuanto a coliformes totales se admite un recuento máximo de 5000 NMP / 100 mL de agua, en el caso de coliformes termotolerantes 1000 NMP / 100 mL, para enterococos intestinales 20 NMP/ 100 mL y para la bacteria intestinal *Escherichia coli* se admite un límite máximo de 100 NMP / 100 mL (El Peruano, 2015).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización y ambiente**

El muestreo se realizó en 5 establos vacunos lecheros ubicados en el distrito de Lurín, provincia de Lima, departamento de Lima, Perú. Lurín, se encuentra al sur de Lima entre las coordenadas 12°16'45"S 76°52'30"O y tiene una temperatura promedio de 18°C. El muestreo se realizó durante los meses de verano con una temperatura máxima aproximada de 28°C. La evaluación microbiológica se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Microscopía de la Universidad Científica del Sur, ubicada en el Km 19 de la carretera Panamericana Sur.

#### **3.2 Población y muestra**

La unidad estudiada fue bebedero / día y la muestra elegida fue 500 mL de agua de bebedero. Se seleccionaron 5 establos vacunos lecheros. En cada establo se eligieron 3 bebederos de manera aleatoria, y cada bebedero fue evaluado en 3 días diferentes. Adicionalmente, se contó con 5 muestras obtenidas directamente de los grifos que abastecen a los bebederos. En total, se evaluaron 50 muestras. Los establos y bebederos escogidos fueron seleccionados de manera aleatoria, teniendo en cuenta criterios de inclusión relevantes como ubicación, sistema de producción e infraestructura. Todos los establos contaron con 5 o 6 corrales al aire libre y 1 bebedero de cemento por cada corral. Cada corral albergó de 15 a 20 animales. La cantidad de vacas en ordeño en cada establo fue de 80 a 100 individuos, aproximadamente. Todos los bebederos seleccionados fueron abastecidos con agua proveniente de pozos locales.

### 3.3 Diseño experimental

Se trabajó en 5 establos vacunos lecheros. En cada establo se seleccionaron 3 bebederos de manera aleatoria y cada bebedero fue muestreado en 3 días diferentes. El día de muestreo fue determinado por el régimen de limpieza de los bebederos en cada establo, el cual fue de aproximadamente cada 7 días. Así, se seleccionó el día 1 a partir del cambio de agua en los bebederos, el día 4 como un día intermedio y el día 7, antes de la siguiente limpieza del bebedero, como el último día de muestreo. Asimismo, por cada establo se tomó 1 muestra del agua proveniente de los pozos obtenida directamente de los grifos, con la finalidad de evaluarla antes de entrar en contacto con los bebederos y los animales (Anexo 3).

Adicionalmente a la determinación de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras, se realizó el aislamiento e identificación de bacterias, mediante pruebas bioquímicas (Anexo 4).

La figura 1 muestra el diseño experimental en función a los días de muestreo y las unidades de muestra.

Fig. 1 Esquema del diseño experimental de la toma de muestras por días y establos. a. Bebederos. b. Grifos.

Días	Establos				
	A	B	C	D	E
1	a 				
4	a 				
7	a 				
	b 				

### 3.4 Materiales

Las muestras fueron tomadas en frascos de vidrio de 500 mL de capacidad y transportadas en condiciones de refrigeración.

El recuento de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras, fue realizado en agar Plate Count y agar Sabouraud, respectivamente. Ambos vertidos en placas Petri. El agar Sabouraud fue suplementado con cloranfenicol para evitar un crecimiento bacteriano previo al crecimiento de mohos y levaduras. El recuento se realizó con un contador de colonias digital.

La identificación y recuento de microorganismos coliformes totales fue realizada en caldo Lauril Sulfato vertido en tubos de ensayo conteniendo campanas de Durham para la detección de la formación de gas como indicador de reacciones positivas. La detección presuntiva de coliformes termotolerantes y *Escherichia coli* en el agua, fue realizada utilizando caldo Bilis Verde Brillante 2% y caldo EC en tubos de ensayo con campanas de Durham.

Adicionalmente, se realizó el aislamiento e identificación de bacterias mediante pruebas bioquímicas. Para ello, se trabajó con agar MacConkey, tinción Gram, caldo Ureasa, SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad), TSI (*Triple Sugar Iron*), Citrato de Simmons y LIA (*Lysine Iron Agar*) (Anexo 3).

### 3.5 Procedimiento metodológico

Los ensayos fueron realizados según la técnica microbiológica de recuento en placa (RENALOA, 2014) y el método de Número Más Probable (NMP) establecido por la Asociación Americana de Salud Pública (2001) para microorganismos coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*, citado por Da Silva *et al.* (2013) en el Manual de Laboratorio de Métodos Microbiológicos para la Evaluación de Agua y Alimentos.

La precisión de los resultados de los análisis microbiológicos puede variar dependiendo del medio de cultivo, el tiempo y temperatura de incubación y el periodo de almacenamiento de la muestra (OMS, 2011).

### **3.5.1 Recolección y transporte de muestras**

Cada muestra fue envasada en un frasco de 500 mL de capacidad, refrigerada a 4°C aproximadamente y llevada al laboratorio de Microbiología y Microscopía de la Universidad Científica del Sur donde fue procesada inmediatamente después del muestreo. Los frascos fueron sumergidos totalmente en el bebedero, llenados de manera horizontal y luego vertical, en forma de “L”. Se evitó recolectar sedimento del fondo del bebedero y/o material adherido a las paredes del mismo. Todas las muestras fueron rotuladas para su identificación y procesamiento.

### **3.5.2 Preparación y esterilización de materiales**

Se organizó y preparó el material necesario para el trabajo en el laboratorio y los medios de cultivo para cada modelo microbiológico. Todo el material de vidrio fue previamente lavado y esterilizado. Se utilizó caldo Lauril Sulfato, agar Plate Count y Sabouraud para el cultivo de microorganismos coliformes, mesófilos, mohos y levaduras, respectivamente. Asimismo, se utilizó caldo Bilis Verde Brillante 2% y caldo EC para la identificación de microorganismos coliformes totales y termotolerantes. Además, se utilizó aproximadamente 1 litro de agua peptonada para la preparación de diluciones seriadas y agua destilada para la preparación de medios de cultivo.

Una vez preparados los materiales en las cantidades necesarias, fueron puestos en el horno microondas para su homogenización y finalmente esterilizados en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos para su uso posterior.

### 3.5.3 Procesamiento y ensayos microbiológicos

#### 3.5.3.1 Microorganismos coliformes totales

Para realizar las pruebas de identificación de microorganismos coliformes totales, se incubaron 9 tubos de vidrio por muestra con 9mL de caldo Lauril Sulfato, 1mL de muestra y 1 campana de Durham por tubo. Previo a ello, los tubos fueron puestos a incubar sin la muestra para verificar la esterilidad del material y del caldo de cultivo. Una vez pasada la prueba de inocuidad, todos los tubos fueron inoculados con la muestra y puestos a incubar durante 24h a 37°C. Luego, se realizó la lectura de tubos, identificándose aquellos con reacciones positivas, los cuales principalmente presentaron formación de gas dentro de las campanas, además de opacidad y/o sedimentación.

De cada tubo con reacción positiva, se tomó 4 mL y se distribuyó en 3 tubos con caldo EC y 1 tubo con caldo Bilis Verde Brillante 2%, todos con campanas de Durham. Se incubaron durante 24h-48h a 37 °C. La formación de gas dentro de la campana determinó la presencia de microorganismos coliformes totales y *Escherichia coli*.

#### 3.5.3.2 Microorganismos mesófilos, mohos y levaduras

Se procedió a realizar 5 diluciones de las muestras iniciales con agua peptonada en tubos de ensayo, los cuales fueron agitados para homogenizar la muestra utilizando un *shaker* o agitador de tubos. De cada dilución, se tomó 1 mL y se sembró por duplicado en placas Petri previamente rotuladas de acuerdo a cada microorganismo y medio de cultivo correspondiente. Luego, se vertió agar Plate Count y agar Sabouraud en las placas correspondientes, se homogenizó y dejó solidificar realizando movimientos en cruz. Finalmente, se selló con una capa adicional del mismo agar. El tiempo y la temperatura de incubación fueron de 24h y 48h a 37°C, para cada modelo microbiológico.

### 3.5.4 Lectura e interpretación de resultados

Pasado el tiempo de incubación, se procedió a realizar la lectura e interpretación de resultados.

La lectura de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras, se realizó utilizando un equipo digital de conteo de unidades formadoras de colonias para muestras contenidas en placas Petri. La lectura de microorganismos coliformes fue realizada mediante observación de la formación de gas en las campanas de Durham, como principal indicador de reacción positiva. La cantidad de tubos con reacciones positivas se comparó con la tabla de valores para el método de Número Más Probable del Manual Analítico Bacteriológico (Bodgett, 2010) (Anexo 5), citada por Da Silva *et al.* (2013) en el Manual de Laboratorio de Métodos Microbiológicos para la Evaluación de Agua y Alimentos.

En el caso de microorganismos coliformes, se realizó la interpretación de resultados comparando los valores obtenidos con los parámetros y límites máximos establecidos para el agua de bebida de animales en el Decreto Supremo N° 015 - 2015 - MINAM.

Los resultados fueron reportados como UFC / mL y NMP / mL.

### 3.6 Análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente. Los resultados fueron tratados mediante la prueba de Shapiro - Wilk para determinar la normalidad de la distribución de los datos. Se utilizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA) para valores con una distribución normal y la prueba de Kruskal - Walis para valores con distribución no normal. Se utilizaron ambas pruebas para determinar diferencias significativas entre días y por cada modelo microbiológico. La variable Tiempo, de tipo cualitativa y politómica, fue considerada de carácter independiente según el día muestreado.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Microorganismos coliformes totales

Los resultados de todos los bebederos en todo los establos evaluados mostraron un valor promedio mayor al límite máximo permisible desde el día 1 y no se hallaron diferencias significativas entre los 3 días muestreados ( $p > 0.05$ ).

El día 1 se halló una media de 674.6 NMP / mL, el día 4 una media de 672 NMP / mL y el día 7 una media de 811.4 NMP / mL, sobrepasando el límite máximo permitido por la normativa vigente, todos los días evaluados.

De manera individual, en los 5 establos, a partir del día 4, se encontró un recuento mayor al normado en el Decreto Supremo N° 015-215-MINAM como límite máximo permisible dentro del parámetro establecido para bebida de animales (50 NMP/mL). En el día 1, se determinó un recuento promedio de 48 NMP / mL y 25 NMP / mL, en 2 de los 5 establos. Sin embargo, a partir del día 4 se halló un recuento promedio de 165 NMP / mL en ambos establos. En los 3 establos restantes, se obtuvieron resultados por encima del límite máximo permitido, alcanzando un recuento de 1, 100 NMP / mL en todos los días muestreados (Anexo 2).

La diferencia entre los resultados de los establos, se vio reflejada en la media de cada día muestreado (Tabla 4.1). En la tabla 4.1 también se muestra el número de repeticiones por día, las cuales corresponden al total de establos muestreados. La prueba de Shapiro - Wilk mostró que los datos presentaban una distribución normal (0.41).

El análisis de varianza (ANOVA de un factor) determinó que no hay diferencias estadísticamente significativas en el recuento de coliformes totales entre los días muestreados en los 5 establos ( $p > 0.05$ ) (Tabla 4.1a).

**Tabla 4.1.** - Desviación estándar del recuento de microorganismos coliformes totales en bebederos de 5 establos vacunos lecheros en 3 días diferentes de toma de muestra.

Días	Media	Desviación estándar	Mediana	N° de repeticiones
1	674.6	1,165.1	1,100	5
4	672	951.5	830	5
7	811.4	807.1	1,100	5

**Tabla 4.1a.** - ANOVA de un factor aplicado al recuento de microorganismos coliformes totales para la determinación de diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	63589	2	31794	0.13	0.88	3.89
Dentro de los grupos	2914288	12	242857			
Total	2977877	14				

## 4.2 Microorganismos mesófilos

Se obtuvo valores elevados desde el día 1 y se halló diferencias significativas entre los 3 días muestreados ( $p \leq 0.05$ ).

El día 1 de toma de muestras, el recuento de microorganismos mesófilos fue mayor a 1, 000 UFC / mL en todos los establos, con excepción del establo B, donde se halló un recuento de 463 UFC / mL. El promedio de todos los establos el día 1 fue de 1, 732.8 UFC / mL. Los días 4 y 7, se halló un promedio de 9, 203.4 UFC / mL y 29, 866.6 UFC / mL, respectivamente (Tabla 4.2). En la tabla 4.2 también se muestra el número de repeticiones por día, las cuales corresponden al total de establos muestreados. La prueba de Shapiro - Wilk estableció que no había una distribución normal de los datos (0.02).

Se realizó la prueba estadística Kruskal - Wallis para determinar diferencias significativas, comparar los resultados entre días e identificar aquellos donde el recuento de microorganismos mesófilos fuera diferente al resto. Se determinó que sí había diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los resultados del día 1 y aquellos del día 7 ( $p = 0.0002$ ), evidenciando el incremento de microorganismos mesófilos durante el período de evaluación (Tabla 4.2a).

**Tabla 4.2.** - Desviación estándar del recuento de microorganismos mesófilos en bebederos de 5 establos vacunos lecheros en 3 días de toma de muestra.

Días	Media	Desviación estándar	Mediana	N° de repeticiones
1	1,732.8	1,592.4	1,317	5
4	9,203.4	6,055	10,017	5
7	29,866.6	17,351.1	34,500	5

**Tabla 4.2a.** - Prueba de Kruskal - Walis aplicada al recuento de microorganismos mesófilos para la identificación de diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Chi cuadrado	12.500 con 2 d.f.
Probabilidad	0.0019
Chi cuadrado ( <i>with ties</i> )	12.522 con 2 d.f.
Probabilidad	0.0019

Comparación entre días	Probabilidad	Valor ajustado de p
1 - 4	0.0385	0.0083
1 - 7	0.0002 *	
4 - 7	0.0385	

\*Significativamente diferentes

### 4.3 Mohos y levaduras

La presencia de mohos y levaduras fue detectada desde el día 1 y no se halló diferencias significativas entre todos los días muestreados ( $p > 0.05$ ).

El día 1 de muestreo, el recuento de mohos y levaduras fue menor a 1, 000 UFC / mL en 4 de los 5 establos evaluados, uno de los cuales mostró un recuento de 130 UFC / mL. El quinto establo mostró un recuento de 1,584 UFC / mL. El promedio para el día 1 fue de 672.8 UFC / mL. Los días 4 y 7 se evidenció un comportamiento similar, donde el recuento de uno de los establos (250 UFC / mL y 413 UFC/mL, para los días 4 y 7 respectivamente) se encontró muy por debajo de la media (1, 500 UFC / mL y 6,522.4 UFC / mL, para los días 4 y 7 respectivamente) (Tabla 4.3). En la tabla 4.3 también se muestra el número de repeticiones por día, las cuales corresponden al total de establos muestreados. La prueba de Shapiro - Wilk determinó que los datos no estaban normalmente distribuidos (0.001).

La prueba de Kruskal - Wallis determinó que no había diferencias significativas ( $p = 0.06$ ) entre los resultados de los días muestreados para el recuento de mohos y levaduras en los 5 establos evaluados (Tabla 4.3a).

**Tabla 4.3** - Desviación estándar del promedio del recuento de mohos y levaduras en bebederos de 5 establos vacunos lecheros en 3 días de recolección de muestra.

Días	Media	Desviación estándar	Mediana	N° de repeticiones
1	672.8	504.8	505	5
4	1,500	760.6	1,550	5
7	6,522.4	9,532.7	7,900	5

**Tabla 4.3a.** - Prueba de Kruskal - Wallis aplicada al recuento de mohos y levaduras para la identificación de diferencias significativas.

Chi cuadrado	5.580 con 2 d.f.	Valor de p
Probabilidad	0.0614	0.0614
Chi cuadrado ( <i>with ties</i> )	5.580 con 2 d.f.	
Probabilidad	0.0614	

## V. DISCUSIÓN

El agua de bebederos de los establos vacunos lecheros evaluados en Lurín, mostró niveles de microorganismos coliformes totales mayores a los permitidos (50 NMP / mL) y presencia de microorganismos mesófilos, así como de mohos y levaduras desde el día 1 de limpieza. Los resultados obtenidos se sustentan principalmente con argumentos relacionados a la limpieza, la infraestructura y el manejo integral de los establos.

Los resultados obtenidos podrían reflejar un insuficiente conocimiento de la norma y de buenas prácticas de manejo por parte de los productores y encargados. A ello se sumaría un escaso control del cumplimiento de la norma por parte de las autoridades competentes del sector pecuario. Es importante que además de los especialistas en calidad del agua y médicos veterinarios, los productores y encargados del cuidado de los animales cuenten con conocimientos básicos sobre la calidad del agua y su efecto sobre la salud y producción animal (Olkowski, 2009).

El recuento de microorganismos **coliformes totales**, determinó un valor promedio mayor al admisible según la norma desde el día 1 y no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de los días 1, 4 y 7. La insuficiente limpieza de los bebederos podría ser una de las causas principales que explicarían los resultados obtenidos. Si los bebederos no son limpiados frecuentemente y sus superficies se mantienen sucias, el agua nueva que se vierta en ellos, se contaminará rápidamente, ya que la cantidad de bacterias presentes en los bebederos está relacionada a la frecuencia de limpieza y saneamiento (The Pennsylvania State University, 2018).

En la evaluación de los establos de manera individual, se observó que en tres de ellos la práctica habitual fue el llenado constante de los bebederos con agua, sin haber desinfectado previamente las superficies de contacto con el agua. Mientras que en los otros dos establos, se utilizó cal para la desinfección obteniéndose niveles de microorganismos coliformes totales menores. Por lo tanto, los valores elevados obtenidos podrían ser atribuidos a una práctica de limpieza deficiente.

A pesar de que los resultados de dos establos no excedieron el límite máximo permitido en el día 1, estos fueron lo suficientemente elevados como para considerar sus efectos (25 NMP / mL; 48 NMP / mL) sobre la salud y producción animal. Olkowski (2009) reportó que el efecto de los contaminantes presentes en el agua no puede ser evaluado de manera individual. Debe considerarse dentro de un contexto de interacciones con otros factores nutricionales y/o variables ambientales, con énfasis en el posible efecto adverso resultante de factores acumulativos o sinérgicos. El riesgo asociado a cualquier microorganismo hallado en el agua no debe ser descartado basado exclusivamente en resultados aparentemente seguros, ya que el mismo microorganismo puede encontrarse en el alimento o en el ambiente. El contenido acumulado de microorganismos al cual los animales se encuentran expuestos, podría sobrepasar el límite máximo permitido y generar efectos negativos sobre la salud y producción animal.

Los resultados obtenidos en el presente estudio han mostrado que limpiar los bebederos de vacas lecheras con una frecuencia de una vez por semana no sería adecuada para mantener los niveles de microorganismos coliformes totales por debajo de los límites máximos establecidos en la norma. Los resultados de los días 4 y 7 mostraron que todos los establos presentaban niveles mayores al límite máximo permitido. Swistock (2015) recomienda limpiar los bebederos una vez al día para disminuir la carga microbiológica.

Asimismo, es posible atribuir los resultados a problemas de infraestructura. Swistock (2015) también sugiere posicionar los bebederos en una base elevada del suelo para prevenir su contaminación. La mayoría de bebederos de los establos evaluados no se encontraban en superficies elevadas, techados o con algún tipo de protección del ambiente.

De igual manera, es importante considerar la distancia entre los bebederos y comederos para evitar la contaminación cruzada entre ambos recipientes. Los comederos también deben estar libres de contaminantes, ya que comer y beber agua son actividades que las vacas realizan secuencialmente. LeJeune *et al.* (2001) determinaron que la contaminación por *Escherichia coli* aumenta a medida que la distancia entre los bebederos y los comederos disminuye. En uno de los establos evaluados se observó bebederos y comederos contiguos.

Adicionalmente, la estructura de algunos bebederos observados en el presente estudio se encontraba dañada, lo cual dificultaría una limpieza adecuada, generándose acumulación de contaminantes en ranuras y superficies no lisas.

Otro factor a tener en cuenta, es la presencia de otras especies animales en el establo. En todos los establos se observó otros animales como perros, gatos, caballos y aves domésticas y silvestres. Todos ellos con excepción de los caballos, tenían libre acceso a todas las áreas del establo. En uno de los establos se observó que los caballos compartían el corral con las vacas. La variedad de animales y su libre desplazamiento dentro y fuera de las instalaciones del establo, podría ser una causa adicional de contaminación del agua con microorganismos coliformes y mesófilos. Según las observaciones realizadas, las aves y los gatos acceden fácilmente a los bebederos, pudiendo contaminar el agua con heces y otras secreciones corporales como sangre, saliva, orina e incluso pelos o plumas.

El control de plagas es un factor importante que también debería ser considerado, ya que los roedores e insectos son vectores de bacterias patógenas contaminantes del agua como, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella sp.*, y *Leptospira*. En los establos evaluados en el presente estudio, se observó la presencia de pequeños roedores e insectos.

Es probable que la principal fuente de contaminación por microorganismos coliformes, haya provenido directamente de las heces de las vacas. En la mayoría de establos evaluados, se observó que el piso de los corrales se encontraba cubierto por heces en su totalidad, las cuales cubrían aproximadamente un tercio de las patas de las vacas.

En el recuento de **microorganismos mesófilos**, todos los establos obtuvieron resultados similares para el mismo día de la evaluación, sin embargo se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre días. En el día 1 se obtuvo una media de 1,733 UFC / mL, mientras que en el día 7, se obtuvo una media de 29, 867 UFC / mL. A diferencia de los microorganismos coliformes totales, donde los niveles de contaminación fueron similares entre días, en este caso los niveles de contaminación bacteriana fueron diferentes para cada día, mostrando un incremento progresivo en todos los establos.

En el Decreto Supremo N° 015-2015 - MINAM no se establecen los límites máximos específicamente para microorganismos mesófilos, sin embargo, se contemplan microorganismos fecales que crecen a temperaturas consideradas dentro del rango para bacterias mesófilas, como enterococos intestinales y *Escherichia coli*, siendo el límite máximo permitido para estos dos últimos microorganismos de 20 NMP / 100 mL y 100 NMP / 100 mL, respectivamente. Adicionalmente a los parámetros normados en el Perú, Andersen (2012) reporta que el recuento total de microorganismos mesófilos para obtener una buena calidad bacteriológica del agua de bebida del ganado vacuno lechero, debe ser menor a 10, 000 UFC / mL. Si se considera este valor, entonces la media de todos los establos en los días 1 y 4 (1, 733 UFC / mL; 9,203.4 UFC / mL), se encontraría por debajo de ese límite máximo permitido. Sin embargo, en este caso también es importante considerar el efecto acumulativo a partir del día 4, ya que a pesar de haber obtenido una media favorable, es un valor elevado, cercano al límite máximo establecido por Andersen (2012).

Al tener la capacidad de proliferar en un rango de temperatura bastante amplio, estas bacterias crecen fácilmente en diversos lugares como en el suelo, el alimento, el agua, el sistema digestivo, sistema respiratorio y sistema reproductivo de organismos vivos. Esta característica incrementa la probabilidad de contaminación cruzada del agua de los bebederos de las vacas, ya que los animales podrían trasladar microorganismos de cualquier superficie al bebedero. Otra posibilidad de contaminación del agua podría ser a través de secreciones oculares, nasales y bucales. LeJeune *et al.* (2001) mencionan que los niveles de contaminación bacteriana, aumentan significativamente en el agua de los bebederos debido al contacto con los animales.

El recuento de **mohos y levaduras** mostró un valor promedio de 1,732.8 UFC / mL desde el día 1, que aumentó progresivamente hasta el día 7. A pesar de que no se cuenta con parámetros que establezcan los límites máximos para hongos en el agua de bebida de los animales, es necesario cuestionar la calidad del agua de los bebederos en base a los resultados obtenidos y considerar el riesgo que implica para los animales la simple presencia de estos microorganismos en el agua y la posibilidad de producción de micotoxinas que afectan los parámetros reproductivos y reducen la inmunidad (Whitlow & Hagler, 2013).

La contaminación del agua con hongos es bastante probable, ya que los hongos son ubicuos y pueden encontrarse en distintas superficies como pasturas, suelo, granos, bebederos y camas de paja (EPA, 2002). Cualquier material que tenga contacto con el agua, puede representar una potencial fuente de contaminación.

El análisis estadístico evidenció que las diferencias entre todos los días fueron no significativas, sin embargo, la amplia diferencia observada entre los días 1 y 7 puede ser explicada por el tiempo de exposición del agua al ambiente y a los animales durante 7 días, ya que los hongos requieren de varios días para proliferar. De igual manera, si los bebederos son llenados sin ser limpiados previamente con una frecuencia adecuada, es posible que los hongos formen tapices en las paredes y la base de los bebederos, generando una fuente persistente de contaminación fúngica en el agua.

**El agua obtenida directamente de los grifos que abastecen los bebederos**, y que provino de pozos locales fue analizada con la finalidad de verificar que la contaminación del agua se producía en los bebederos. El recuento de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras mostró resultados favorables en todos los establos, con valores por debajo del límite máximo permitido y de lo recomendado por otros autores (Anexo 3). La calidad microbiológica del agua fue adecuada para el consumo animal. Estos resultados, muestran que la contaminación se produce cuando el agua entra en contacto con los bebederos, los animales y el ambiente.

Sin embargo, en uno de los grifos se halló un valor relativamente elevado de microorganismos coliformes totales (21 NMP / mL), lo cual indica cierto grado de contaminación proveniente directamente del pozo o de las tuberías que debe ser evaluado y corregido, ya que el efecto acumulativo podría hacer que el agua alcance niveles inadecuados rápidamente una vez vertida en los bebederos. Por lo tanto, es necesario realizar pruebas periódicas para garantizar que el agua que abastece el establo se mantenga libre de contaminantes.

Según la Agencia de Protección al Ambiente de Estados Unidos (EPA, 2002), una causa común de contaminación del agua antes de entrar en contacto con los bebederos, es la baja presión de agua en las tuberías. El flujo de agua lento puede favorecer el desarrollo de un *biofilm* o tapiz bacteriano. Olkowski (2009) menciona que la calidad del agua puede cambiar con el tiempo, por lo tanto, no se debe confiar en resultados de análisis pasados. Deben realizarse exámenes periódicos, de preferencia anualmente o por lo menos cada dos años bajo circunstancias normales. De acuerdo al país, la frecuencia con la cual se realizan los análisis puede variar. Según la ordenanza de leche pasteurizada en Estados Unidos, la fuente de agua debe ser analizada por lo menos cada tres años (Iowa State University, 2018). Olkowski (2009) también recomienda que en situaciones inusuales, donde el olor y/o apariencia del agua sea diferente, existan cambios en el comportamiento de los animales con respecto al consumo de agua o alimento, se genere una disminución en el rendimiento o se presenten cambios en la salud, se debe realizar un análisis adicional al rutinario.

Es imprescindible mantener absolutamente todas las instalaciones de los sistemas de producción lo más limpias posible, para así evitar la contaminación del agua de bebida y preservar la salud de los animales.

## VI. CONCLUSIONES

- » El agua de bebederos de los establos vacunos lecheros evaluados en Lurín, estaba contaminada con microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras, y superó los límites máximos permitidos para consumo animal, en el caso de coliformes totales.
- » Se halló niveles por debajo del límite máximo permitido del agua obtenida de los grifos que abastecen los bebederos para coliformes totales.
- » Se halló niveles bajos de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras en relación a aquellos hallados en el agua de los bebederos.

## VII. RECOMENDACIONES

A partir de las conclusiones del estudio realizado se recomienda lo siguiente:

- » Limpiar los bebederos por lo menos dos veces a la semana.
- » Techar todos los bebederos y retirar materiales y objetos que se encuentren dentro de ellos.
- » Contar con un control de plagas para evitar la contaminación del agua con heces y orina de roedores y aves silvestres.
- » Restringir el ingreso de otros animales como perros, gatos y caballos a los corrales de las vacas para prevenir la contaminación del agua con heces, orina y otras secreciones corporales.
- » Realizar periódicamente un análisis de laboratorio para determinar la calidad del agua, tanto de los bebederos como de la fuente de abastecimiento.
- » Realizar un análisis de laboratorio para determinar la calidad del agua cada que se presenten cambios en la salud de los animales y/o en los parámetros productivos.
- » Replicar esta investigación durante los meses de invierno para determinar si las condiciones ambientales como temperatura y humedad influyen en la proliferación de microorganismos en el agua de bebederos en establos vacunos lecheros.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Gabr H.M., Zheng T., Yu X. (2014). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Fungi Contamination of Drinking Water. 228:121-39. China.
2. Amaral L.A. (2004). Drinking Water as a Risk Factor to Poultry Health. Brazilian Journal of Poultry Science. v.6 n.4. Brasil.
3. Andersen H. (2012). Nutrición y Alimentación de la Vaca. Perulactea. [Internet] Disponible en: <http://handresen.perulactea.com/2009/03/30/capitulo-5-nutricion-y-alimentacion-de-la-vaca/>.
4. Australian and New Zealand Environment and Conservation Council, Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand (2000). Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality. v.1 Australia. Disponible en: <https://www.waterquality.gov.au/sites/default/files/documents/anzecc-armcanz-2000-guidelines-vol1.pdf>
5. Beauvais W. Gart E. Bean M. Blanco A. Wilsey J. McWhinney K. Bryan L. Krath M. Yang C. Manriquez D. Paudyal S. Bryan K. Stewart S. Cook P. Lahodny G. Baumgarten K. Gautam R. Nightingale K. Lawhon S. Pinedo P. Ivanek R. (2018). The Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 Fecal Shedding in Feedlot Pens is affected by the Water-to-Cattle Ratio: A Randomized Controlled Trial. PLOS ONE Journal. Estados Unidos. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article/authors?id=10.1371/journal.pone.0192149>
6. Da Silva N., Taniwaki M., Amstalden V., Ferraz N., Da Silva M., Abeilar R. (2013). Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. Institute of Food Technology of Brasil. 2ª edición. Reino Unido.
7. Dinsmore P. (2019). Animal and Herd Productivity in Dairy Cattle. MSD Veterinary Manual. Disponible en: <https://www.msdsvetmanual.com/management-and-nutrition/health-management-interaction-dairy-cattle/animal-and-herd-productivity-in-dairy-cattle>

8. Duarte E. (2011). Uso del Agua en Establecimientos Agropecuarios: Planificación del Sistema de Abrevadero: Parte I y II. Plan Agropecuario N° 140. Artículo técnico. Uruguay. [Revista online] Disponible en: [https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R139/R\\_139\\_52.pdf](https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R139/R_139_52.pdf); [https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R140/R\\_140\\_38.pdf](https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R140/R_140_38.pdf)
9. Environmental Protection Agency - EPA (2002). Health Risks from Microbial Growth and Biofilms in Drinking Water Distribution Systems. Office of Ground Water and Drinking Water Standards and Risk Management Division. Estados Unidos. Disponible en: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/2007\\_05\\_18\\_disinfection\\_tcr\\_whitepaper\\_tcr\\_biofilms.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/2007_05_18_disinfection_tcr_whitepaper_tcr_biofilms.pdf)
10. Higgins S., Agouridis C., Gumbert A. (2008). Drinking Water Quality Guidelines for Cattle. College of Agriculture. University of Kentucky. Estados Unidos. Disponible en: <http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/id/id170/id170.pdf>
11. Iowa State University (2018). Water Quality for Dairy Cattle. The Center for Food Security and Public Health. Estados Unidos. Disponible en: [http://www.cfsph.iastate.edu/Infection\\_Control/Routes/Water\\_Quality\\_Dairy\\_Cattle.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Infection_Control/Routes/Water_Quality_Dairy_Cattle.pdf)
12. Instituto Nacional de Estadística e Informática - INEI (2018). Informe Técnico de la Producción Nacional N° 09. Perú.
13. Instituto Nacional de Estadística e Informática - INEI (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. Perú.
14. LeJeune J., Besser T., Merrill N., Rice D., Hancock D. (2001). Livestock Drinking Water Microbiology and the Factors Influencing the Quality of Drinking Water Offered to Cattle. Journal of Dairy Sciences. Estados Unidos. 84; 8. Págs. 1856-1862.
15. El Peruano (2015). Ley General del Ambiente N° 28611, artículo 31°. Decreto Supremo N° 015-2015-MINAM. Perú.
16. Linn J., Raeth-Knight M. (2010). Water Quality and Quantity for Dairy Cattle. Department of Animal Science. University of Minnesota. Estados Unidos. Disponible en: <https://manitowoc.extension.wisc.edu/files/2010/05/Water-Quality-and-Quantity-for-Dairy-Cattle.pdf>
17. Looper M.L., Waldner D. N. (2007). Water for Dairy Cattle. College of Agriculture and Home Economics. New Mexico State University. Estados Unidos. Disponible en: [https://aces.nmsu.edu/pubs/\\_d/D107.pdf](https://aces.nmsu.edu/pubs/_d/D107.pdf)

18. McGuirk S. Peek S. (2003). Salmonellosis in Cattle: A Review. Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies. American Association of Bovine Practitioners. Estados Unidos. Disponible en: <https://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/7health/Salmorev.pdf>
19. Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2017). Anuario Estadístico de la Producción Pecuaria y Avícola. Perú.
20. Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2017). Estudio de la Ganadería Lechera en el Perú: Análisis de su Estructura, Dinámica y Propuestas de Desarrollo.
21. Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2005). Inventario de Fuentes de Agua Subterránea en el Valle Lurín: Informe Final. Perú.
22. Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2015). Situación de las Actividades de Crianza y Producción: Vacunos Lecheros. Perú.
23. Olkowski A. (2009). Livestock Water Quality: A Field Guide for Cattle, Horses, Poultry, and Swine. University of Saskatchewan. Canadá. Disponible en: [http://www5.agr.gc.ca/resources/prod/doc/terr/pdf/lwq\\_guide\\_e.pdf](http://www5.agr.gc.ca/resources/prod/doc/terr/pdf/lwq_guide_e.pdf)
24. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO (2019). Gateway to Dairy Production and Products: Dairy Animals.
25. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - FAO, Federación Internacional de Lechería - FIL (2012). Guía de Buenas Prácticas en Explotaciones Lecheras. Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ba0027s/ba0027s00.pdf>
26. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO, International Dairy Federation - IDF (2011). Guide to Good Dairy Farming Practice: Animal Production and Health Guidelines. Italia. n.8. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ba0027e/ba0027e00.pdf>
27. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO (2019). Livestock Systems: Cattle.
28. Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE (2019). Código Sanitario para los Animales Terrestres: Bienestar Animal y Sistemas de Producción de Ganado Vacuno de Leche. Disponible en: <https://www.oie.int/es/normas/codigo-terrestre/acceso-en-linea/>
29. Organización Mundial de la Salud - OMS (1995). Guías para la Calidad del Agua Potable. 2ª edición. Suiza. Disponible en: [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf)
30. Organización Mundial de la Salud - OMS (2011). Guías para la Calidad del Agua de Consumo Humano 4ª edición. Suiza. Disponible en: [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3\\_es\\_full\\_lowres.pdf](https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf)

31. Ortiz D., Camacho J., Echevarría L. (2009). Parámetros Reproductivos del Ganado Vacuno en la Cuenca Lechera de Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. v.20 n.2.
32. Palomo-Rodríguez M., Barrera R. Faz R., Bueno P., Maconetzin L., Reyes I. (2014). Presencia de Microorganismos Patógenos en Agua de Bebederos que Consume el Ganado Caprino de La Comarca Lagunera. México. 14; 3.
33. Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos - RENALOA (2014). Microorganismo Indicadores. Argentina. v.3. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_Vol\\_III.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf)
34. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - SAGARPA (2017). Diseño y Construcción de Bebederos Pecuarios. 2ª edición. México. Disponible en: <https://es.slideshare.net/demetriofernandez313/diseo-y-construccin-de-bebederos-pecuarios-2da-ed>
35. Schiraldi C. De Rosa M. (2014). Encyclopedia of Membranes (Drioli *et al.*, 2014): Mesophilic Organisms. Italia. Disponible en: [https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-642-40872-4\\_1610-2.pdf](https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-642-40872-4_1610-2.pdf)
36. Schroeder, J.W. (2015). Water Needs and Quality Guidelines for Dairy Cattle. North Dakota State University. Estados Unidos. Disponible en: <https://www.ag.ndsu.edu/publications/livestock/water-needs-and-quality-guidelines-for-dairy-cattle>
37. Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA, Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2013). Guía de Buenas Prácticas Ganaderas. Perú.
38. Swistock B. (2015). Interpreting Drinking Water Tests for Dairy Cows. The Pennsylvania State University. Estados Unidos. Disponible en: <https://extension.psu.edu/interpreting-drinking-water-tests-for-dairy-cows>
39. Swistock B. Sharpe W. (2016). Coliform Bacteria. The Pennsylvania State University. Estados Unidos. Disponible en: <https://extension.psu.edu/coliform-bacteria>
40. The Pennsylvania State University (2018). Livestock Drinking Water. College of Agricultural Sciences. Estados Unidos. Disponible en: <https://agsci.psu.edu/aasl/water-testing/livestock-drinking-water>
41. The Pennsylvania State University (2018). How to Collect a Livestock Drinking Water Sample. College of Agricultural Sciences. Estados Unidos. Disponible en: <https://agsci.psu.edu/aasl/water-testing/livestock-drinking-water/how-to-collect-a-livestock-drinking-water-sample>

42. Washington State Department of Health - DOH (2016). Coliform Bacteria and Drinking Water. Estados Unidos. Disponible en: <https://www.doh.wa.gov/Portals/1/Documents/Pubs/331-181.pdf>
43. Willms WD. (2002). University of Calgary. Effects of Water Quality on Cattle Performance. Journal of Range Management. Canadá. (55) Págs. 452-460.
44. Whitlow L.W. Hagler W.M. (2013). Mycotoxin Contamination of Feedstuffs - An Additional Stress Factor for Dairy Cattle. North Carolina State University. Estados Unidos. Disponible en: [https://projects.ncsu.edu/cals/an\\_sci/extension/dairy/mycoto~1.pdf](https://projects.ncsu.edu/cals/an_sci/extension/dairy/mycoto~1.pdf)

## IX. ANEXOS

**Anexo 1.** Recuento total de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras en bebederos por establo.

		Coliformes Totales				
Días	Bebederos	A	B	C	D	E
1	1	35 NMP/ mL	20 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	2	35 NMP/ mL	20 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	3	75 NMP/ mL	35 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
4	1	75 NMP/ mL	75 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	2	210 NMP/ mL	210 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	3	210 NMP/ mL	210 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	290 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
7	1	93 NMP/ mL	210 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	2	290 NMP/ mL	290 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL
	3	1,100 NMP/ mL	290 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL	> 1,100 NMP/ mL

		Mesófilos				
Días	Bebederos	A	B	C	D	E
1	1	34 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	10 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	33 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	12 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	13 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	2	20 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	21 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	14 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	16 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	15.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	3	35 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	18 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	31 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	11.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	11 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
4	1	16 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	39 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	48 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	10.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	21 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	2	10.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	83 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	36 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	18 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	11 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL
	3	11.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	20 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	31 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	15.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	11.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
7	1	23 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	22 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	23.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	31 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	41 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL
	2	28 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	13 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	20.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	32.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	32.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL
	3	21 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	18 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	23.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	40 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	31 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL

		Mohos y Levaduras				
Días	Bebederos	A	B	C	D	E
1	1	45.5 x 10 UFC/ mL	3 x 10 UFC/ mL	14 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	11 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	10.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	2	45 x 10 UFC/ mL	27 x 10 UFC/ mL	11 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	21 x 10 UFC/ mL	11.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	3	14 x 10 UFC/ mL	9 x 10 UFC/ mL	22.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	20.5 x 10 UFC/ mL	19 x 10 UFC/ mL
4	1	14 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	47.5 x 10 UFC/ mL	22 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	18 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	12 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	2	17 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	13 x 10 UFC/ mL	26 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	80 x 10 UFC/ mL	13 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	3	16 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	14.5 x 10 UFC/ mL	31.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	18.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	21.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
7	1	12 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	30 x 10 UFC/ mL	68.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	12 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	22 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL
	2	21 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	34 x 10 UFC/ mL	23 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	16.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	11 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL
	3	10 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	60 x 10 UFC/ mL	11.5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ mL	10 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL	10.5 x 10 <sup>3</sup> UFC/ mL

### Anexo 2. Promedios por estable y por día.

Coliformes					
Días	A	B	C	D	E
1	48 NMP / mL	25 NMP / mL	1,100 NMP / mL	1,100 NMP / mL	1,100 NMP / mL
4	165 NMP / mL	165 NMP / mL	1,100 NMP / mL	830 NMP / mL	1,100 NMP / mL
7	494 NMP / mL	263 NMP / mL	1,100 NMP / mL	1,100 NMP / mL	1,100 NMP / mL

Mesófilos					
Días	A	B	C	D	E
1	2,967 UFC/ mL	463 UFC/ mL	2,600 UFC/ mL	1,317 UFC/ mL	1,317 UFC/ mL
4	12,667 UFC/ mL	10,733 UFC/ mL	7,850 UFC/ mL	10,017 UFC/ mL	4,750 UFC/ mL
7	24,000 UFC/ mL	17,667 UFC/ mL	38,333 UFC/ mL	34,500 UFC/ mL	34,833 UFC/ mL

Mohos y Levaduras					
Días	A	B	C	D	E
1	348 UFC/ mL	130 UFC/ mL	1,584 UFC/ mL	505 UFC/ mL	797 UFC/ mL
4	1,567 UFC/ mL	250 UFC/ mL	2,650 UFC/ mL	1,483 UFC/ mL	1,550 UFC/ mL
7	8,033 UFC/ mL	413 UFC/ mL	3,433 UFC/ mL	12,833 UFC/ mL	7,900 UFC/ mL

**Anexo 3.** Recuento de microorganismos coliformes totales, mesófilos, mohos y levaduras en muestras tomadas directamente de los grifos antes del contacto con los bebederos en cada establo.

Establos					
Microorganismos	A	B	C	D	E
Coliformes Totales	3.6 NMP / mL	< 3.0 NMP / mL	11 NMP / mL	< 3.0 NMP / mL	21 NMP / mL
Mesófilos	1, 150 UFC / mL	210 UFC / mL	1, 900 UFC / mL	1, 750 UFC / mL	1, 350 UFC / mL
Mohos y Levaduras	180 UFC / mL	85 UFC / mL	115 UFC / mL	165 UFC / mL	120 UFC / mL

**Anexo 4.** Resultados de pruebas bioquímicas de aislamiento e identificación bacteriana realizadas adicionalmente al objetivo de la investigación. Prueba realizada por duplicado con 2 tubos por cada medio de cultivo.

Pruebas bioquímicas	Resultado	Observaciones
Citrato de Simmons	+	Ambos tubos con cambio en coloración. De verde a azul en la zona superior. Consistente con <i>Salmonella enterica</i> y <i>Klebsiella spp.</i>
Ureasa	-	Ambos tubos sin cambio en coloración. Consistente con <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella spp.</i>
LIA ( <i>Lysine Iron Agar</i> )	-	Ambos tubos sin cambio en coloración. Negativos a H <sub>2</sub> S. Consistente con <i>Escherichia coli</i> .
SIM (Sulfuro, Indol, Motilidad)	+ ; - ; +	Ambos tubos positivos a H <sub>2</sub> S y motilidad y negativos a Indol. Color negro con crecimiento difuso. Consistente con <i>Salmonella enterica</i> .
TSI ( <i>Triple Sugar Iron</i> )	+	Tubo 1: Color amarillo y con crecimiento, consistente con <i>Escherichia coli</i> . Tubo 2: Color amarillo, fondo negro y con crecimiento, consistente con <i>Salmonella enterica</i> .

**Anexo 5.** Tabla de valores de comparación para el método de Número Más Probable del Manual Analítico Bacteriológico (Bodgett, 2010) citada por Da Silva *et al.* (2013) en el Manual de Laboratorio de Métodos Microbiológicos para la Evaluación de Agua y Alimentos.

Tubos positivos	NMP / mL	Tubos positivos	NMP / mL
0-0-0	< 3.0	2-2-0	21
0-0-1	3.0	2-2-1	28
0-1-0	3.0	2-2-2	35
0-1-1	6.1	2-3-0	29
0-2-0	6.2	2-3-1	36
0-3-0	9.4	3-0-0	23
1-0-0	3.6	3-0-1	38
1-0-1	7.2	3-0-2	64
1-0-2	11	3-1-0	43
1-1-0	7.4	3-1-1	75
1-1-1	11	3-1-2	120
1-2-0	11	3-1-3	160
1-2-1	15	3-2-0	93
1-3-0	16	3-2-1	150
2-0-0	9.2	3-2-2	210
2-0-1	14	3-2-3	290
2-0-2	20	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	460
2-1-1	20	3-3-2	1, 100
2.-1-2	27	3-3-3	> 1, 100