

# Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



## DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES DEL AGUA POTABLE, DEL DISTRITO DE CHUQUIBAMBA, PROVINCIA DE CONDESUYOS, AREQUIPA, ENTRE ABRIL Y JUNIO DEL 2018

Tesis presentada por el Bachiller

**Aza Paredes, Mauro Enrique**

Para optar por el título profesional de:

**Químico Farmacéutico**

Asesor:

**Mg. Paredes Fuentes, Julitza**

**AREQUIPA- PERU**

**2019**

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas  
y Biotecnológicas  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20160000047415

N° Trámite en Fac. 1688-2016

Fecha 09-11-2016

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: AZA PAREDES, Mauro Enrique

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"DETERMINACION DE LA CALIDAD BACTERIOLOGICA DEL AGUA DESTINADA PARA CONSUMO HUMANO DEL DISTRITO DE CHUQUIBAMBA, PROVINCIA DE AREQUIPA, ENTRE LOS MESES DE ENERO 2017-MARZO 2017"

DICTAMINADORES: 1) Dr. Jaime Cárdenas García 2) Q. F. Juan Ramírez Orellana

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por el recurrente, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: "DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES DEL AGUA POTABLE DEL DISTRITO DE CHUQUIBAMBA, REGION AREQUIPA, ENTRE ABRIL Y JUNIO DEL 2018", y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad  
Atentamente

Firmas:

Fecha 24/11/16

ASESOR: Mgter. Julitza Paredes Fuentes

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesora en el presente Trabajo de Investigación, cumpla con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.  
Atentamente

Firma

Fecha 25/01/19

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dr. Jaime Cárdenas García 3) Q. F. Juan Ramírez Orellana  
2) Dra. Gaby Velasco Lozano

DICTAMEN FINAL: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por la recurrente, debiendo cambiar el título a: "DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES DEL AGUA POTABLE, DEL DISTRITO DE CHUQUIBAMBA, PROVINCIA DE CONDESUYOS, AREQUIPA, ENTRE ABRIL Y JUNIO DEL 2018", y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente trabajo de investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.  
Atentamente

Firma

Fecha 28/04/19

JURADOS: Presidente DR. JAIME CARDENAS GARCIA  
Vocal DRA. GABY VELASCO LOZANO  
Secretario Q. F. JUAN RAMIREZ ORELLANA

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 17/6/19 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)

DECANO



## DEDICATORIA

A mis padres Lupe y Mauro por su inagotable y sostenido apoyo, por su inmarcesible cariño por mí y mis hermanos, por el buen humor y el sosiego cuando todo era complicado, por su paciencia y comprensión, cuando se falla constantemente y por la convicción y el ejemplo hacia la verdad y el trabajo.

### **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco con profunda gratitud a mi asesora Mg Julitza Paredes Fuentes por las pautas, consejos y enseñanzas para el desarrollo del presente trabajo.

A los miembros del jurado Dra. Gaby Velasco Lozano, Dr. Jaime Cárdenas García y Dr. Juan Ramírez Orellana por su guía en las correcciones del presente trabajo

De manera muy especial al QF Ricardo Abril, por la disposición a responder a interrogantes, por permitirme elaborar este trabajo en las instalaciones del laboratorio responsabilidad suya y sobre todo por la camaradería.

A los pobladores de Chuquibamba que me abrieron las puertas de sus casas reiteradas veces para llevar a cabo este trabajo.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
LISTADO DE ABREVIATURAS .....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS .....	2
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEORICO .....</b>	<b>3</b>
1. Agua.....	3
1.1. Agua de rios, lagos y manantiales .....	4
1.2. Características organolépticas.....	4
1.3. Características bióticas .....	4
1.4. Tratamiento de aguas naturales .....	5
1.5. Desinfección con cloro .....	8
1.6. Flora microbiana en el agua.....	9
1.7. Enfermedades y contaminación del agua .....	19
1.8. Protección de aguas .....	20
1.8.1. Indicadores de calidad bacteriológica .....	21
1.8.2. Indicadores secundarios .....	21
1.8.3. Distrito de chuquibamba .....	22
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>23</b>
<b>MATERIALES Y METODO .....</b>	<b>23</b>
2.1. Diseño del estudio .....	23
2.2. Área de estudio.....	23
2.3. Material utilizado en el muestreo .....	24
2.4. Metodología para la toma de muestra .....	26
2.5. Metodología para el análisis microbiológico .....	27

2.6. Técnica de fermentación por tubos múltiples.....	27
<b>CAPITULO III</b> .....	31
<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	31
1. Pruebas de contraste.....	47
CONCLUSIONES .....	51
RECOMENDACIONES.....	52
BIBLOGRAFIA.....	53
<b>ANEXOS</b> .....	59
ANEXO 01: Formato para la etiqueta en el muestreo .....	60
ANEXO 02: Tabla de resultados para agua potable (Standard Methods, 2017) .....	61
ANEXO 03: Composición y preparación de medios de cultivo (Hi media 2016) .....	62
ANEXO 04: Formas bacteriológicas de las aguas según sus usos .....	70
ANEXO 05: Flujoograma para la identificación de <i>E.coli</i> y <i>klebsiella</i> .....	71
ANEXO 06: Puntos de muestreos en la planta de tratamiento de agua.....	72
ANEXO 07: Muestreo en domicilios, materiales y medios de cultivo.....	75
ANEXO 08: Control de calidad de medios, fase presuntiva y confirmatoria de bacterias coliformes .....	78

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1: Distribución del agua.....	3
TABLA 1.2: Agentes patógenos y organismos productores de toxinas en aguas superficiales.....	5
TABLA 1.3: Supervivencia de algunos microorganismos patógenos .....	20
TABLA 2.4: Control de calidad de los medios .....	25
TABLA 2.5: Elaboracion del agente neutralizador del cloro libre.....	27
TABLA 2.6: Preparacion del caldo lauril sulfato triptosa.....	28
TABLA 3.7: Resultados para Coliformes totales en el reservorio R1 de la planta de Chuquibamba .....	33
TABLA 3.8: Resultados para Coliformes fecales del Reservorio R1 de Chuquibamba .....	33
TABLA 3.9: Resultados para Coliformes totales en el Reservorio R2 de la planta de Chuquibamba .....	34
TABLA 3.10: Resultados para Coliformes fecales en el Reservorio R2 de la planta de Chuquibamba .....	34
TABLA 3.11: Resultados para Coliformes totales en el Reservorio R3 de la planta de Chuquibamba .....	35
TABLA 3.12: Resultados para Coliformes fecales en el Reservorio R3 de la planta de Chuquibamba .....	35
TABLA 3.13: Resultados para Coliformes totales en el Domicilio 1 de la planta de Chuquibamba .....	36
TABLA 3.14: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 1 de la planta de Chuquibamba .....	36
TABLA 3.15: Resultados para Coliformes totales en el Domicilio 2 de la planta de Chuquibamba .....	37
TABLA 3.16: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 2 de la planta de Chuquibamba .....	37
TABLA 3.17: Resultados para Coliformes totales en el Domicilio 3 de la planta de Chuquibamba .....	38
TABLA 3.18: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 3 de la planta de Chuquibamba .....	38

TABLA 3.19: Resultados para Coliformes totales en Domicilio 4 de la planta de Chuquibamba .....	39
TABLA 3.20: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 4 de la planta de Chuquibamba .....	39
TABLA 3.21: Resultados para Coliformes totales en el Domicilio 5 de la planta de Chuquibamba .....	40
TABLA 3.22: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 5 de la planta de Chuquibamba .....	40
TABLA 3.23: Resultados para Coliformes totales en el Domicilio 6 de la planta de Chuquibamba .....	41
TABLA 3.24: Resultados para Coliformes fecales en el Domicilio 6 de la planta de Chuquibamba .....	41
TABLA 3.25: Pruebas de identificación de especies halladas .....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1: Diferencias entre coagulación y floculación.....	6
FIGURA 1.2: Decantador de lecho de fangos, tipo pulsador .....	7
FIGURA 1.3: Filtro abierto de arena tipo aquazur .....	7
FIGURA 1.4: Proceso del tratamiento de aguas naturales .....	9
FIGURA 1.5: Morfología bacteriana.....	10
FIGURA 1.6: Estructura celular bacteriana.....	13
FIGURA 1.7: Bacilo gram (-) visto por microscopia electronica.....	14
FIGURA 1.8: Crecimiento en agar EMB, de colonias de <i>E.coli</i> , con su característico brillo metálico.....	15
FIGURA 1.9: Crecimiento de colonias de <i>klebsiella pneumoniae</i> en agar EMB.....	18
FIGURA 1.10: Crecimiento de colonias de <i>Enterobacter aerogenes</i> en agar EMB.....	18
FIGURA 1.11: Crecimiento de colonias de <i>Citrobacter freundii</i> en agar EMB. ....	19
FIGURA 1.12: Provincia de Condesuyos, Región de Arequipa.....	22
FIGURA 3.13: Procedimiento para la determinacion cuantitativa de Coliformes totales y Coliformes fecales .....	31

FIGURA 3.14: Comparacion de los limites maximos permisibles según D.S. 031-2010, con los valores obtenidos para el reservorio R1 .....	33
FIGURA 3.15: Comparacion de los limites maximo permisibles segun D.S. 031-2010, con los valores obtenidos para el Reservorio R2 .....	34
FIGURA 3.16: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S. 031-2010, con los valores obtenidos para el reservorio R3 de .....	35
FIGURA 3.17: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S.031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 1 .....	36
FIGURA 3.18: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S.031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 2.....	37
FIGURA 3.19: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S.031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 3.....	38
FIGURA 3.20: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S.031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 4.....	39
FIGURA 3.21: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S. 031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 5.....	40
FIGURA 3.22: Comparacion de los limites maximos permisibles segun D.S.031-2010 con los valores obtenidos para el Domicilio 6.....	41
FIGURA 3.23: Frecuencia de hallazgos positivos de <i>E.coli</i> y <i>klebsiella pneumoniae</i> ..	46

## LISTADO DE ABREVIATURAS

**A:** Acido

**CF:** Coliformes fecales

**CLST:** Caldo Lauril Sulfato Triptosa

**CT:** Coliformes Totales

**CVB:** Caldo Verde Brillante

**D.S.:** Decreto Supremo

**EC:** Escherichia coli

**EDA:** Enfermedad Diarreica Aguda

**K:** Alcalino

**LIA:** Lisina Hierro Agar

**LMP:** Limite Máximos Permisibles

**NMP:** Numero Más Probable

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**pH:** Concentración de protones de Hidrogeno

**SMEWW:** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

**UFC:** Unidad Formadora de Colonias

## RESUMEN

El agua es una fuente para la transmisión de enfermedades muy graves que han marcado trágicamente sociedades enteras. Este trabajo tiene como objetivo principal corroborar la existencia de Coliformes totales y fecales del agua potable de Chuquibamba en la región de Arequipa, también cuantificar y comparar los resultados obtenidos para Coliformes totales y fecales con los límites máximos permisibles de la normativa vigente e identificar a las Coliformes fecales resultantes.

El diseño del estudio es descriptivo, observacional, prospectivo y longitudinal. El método utilizado fue el de tubos de fermentación múltiple del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEWW). Para la identificación bacteriana se utilizó Agar EMB, y pruebas bioquímicas como TSI, LIA, Citrato según Simmons e Indol. Se analizaron 54 muestras de nueve puntos de muestreo entre reservorios y domicilios.

Los resultados mostraron la existencia de Coliformes totales en los reservorios y domicilios, teniendo como valor máximo 2.7 NMP (Numero Más Probable) /100 ml y mínimo de 2.4 NMP/100 ml, y para las Coliformes fecales que también se encontraron en reservorios y domicilios el valor máximo fue de 2.5 NMP/100 ml y el mínimo de 1.1 NMP/100 ml.

Se concluyó que en el agua potable analizada sobreviven bacterias Coliformes totales y fecales, residentes básicamente en los reservorios, con valores superiores a los establecidos por la norma (DS 031-2010 SA), por otro lado las bacterias termotolerantes sobrevivientes en el agua domiciliaria poseen valores disminuidos y permanecen el margen de lo aceptable, la cual establece un límite máximo permisible de <math><1.8\text{NMP}/100\text{ ml}</math>, para ambos grupos, también se logró identificar dos bacterias de origen fecal, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Todos los resultados obtenidos en cada punto de muestreo (promedios) excluyendo a las bacterias termotolerantes de los domicilios poseen valores superiores a los límites máximos permisibles.

**PALABRAS CLAVE:** Agua, Coliformes totales, Coliformes fecales, SMEWW

## ABSTRACT

Water is a source for the transmission of very serious diseases that have tragically marked entire societies. The main objective of this work is to corroborate the existence of total and fecal coliforms of drinking water of Chuquibamba in the region of Arequipa, also to quantify and compare the results obtained for total and fecal coliforms with the maximum permissible limits of the current regulations and to identify the Resulting fecal coliforms.

The design of the study is descriptive, observational, prospective and longitudinal. The method used was that of multiple fermentation tubes of the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEWW). For bacterial identification, EMB agar was used, and biochemical tests such as TSI, LIA, Citrate according to Simmons and Indol. We analyzed 54 samples from nine sampling points between reservoirs and domiciles.

The results showed the existence of total coliforms in the reservoirs and domiciles, with a maximum value of 2.7 MPN (Most Probable Number) / 100 ml and a minimum of 2.4 MPN / 100 ml, and for Fecal Coliforms that were also found in reservoirs and homes the maximum value was 2.5 NMP / 100 ml and the minimum was 1.1 NMP / 100 ml.

It was concluded that in the drinking water analyzed, total and fecal Coliform bacteria survive, basically resident in the reservoirs, with values higher than those established by the norm (DS 031-2010 SA), on the other hand the thermotolerant surviving bacteria in the domiciliary water possess values decreased and the acceptable margin remains, which establishes a maximum permissible limit of  $<1.8\text{NMP} / 100 \text{ ml}$ , for both groups, it was also possible to identify two bacteria of fecal origin, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. All results obtained at each sampling point (averages) excluding thermotolerant bacteria from households have values above the maximum permissible limits.

**KEY WORDS:** Water, Total Coliforms, Fecal Coliforms, SMEWW

## INTRODUCCION

El análisis del agua potable en el distrito Arequipeño de Chuquibamba por medio de bacterias indicadoras como son las Coliformes totales y fecales establecen lineamientos y soluciones integradas para el desarrollo de un adecuado proceso de potabilización.

El objetivo principal es determinar, la presencia de bacterias Coliformes totales y fecales en el agua potable de Chuquibamba, además de cuantificar la presencia de estas bacterias y contrastar los resultados con la normativa vigente. En el Perú de los ochenta, las Enfermedades Diarreicas Agudas fueron la causa de 13,500 defunciones, el agua es un factor crítico y modificable, hace 10 o 15 años atrás los sherpas estos personajes adaptados y curtidos a la altitud y a la vida dura de la cordillera del Himalaya, recomendaban y daban por hecho el libre acceso y consumo del agua de estos rocosos nevados, a los alpinistas principalmente europeos sin embargo ahora aquella agua limpia y cristalina ya no lo es más pues la personas foráneas comienzan a tener cuadros infecciosos gastrointestinales, que antes no existían. En las diferentes latitudes, provincias y pueblos las entidades prestadoras de salud y los profesionales de salud tratan infecciones estomacales a personas de la tercera edad, niños, personas con alguna enfermedad crónica, a turistas y en menor medida a personas en la mitad de su vida.

En el capítulo I concordante al marco teórico se abordan conceptos básicos sobre el agua, se desarrolla el proceso de potabilización del agua dulce superficial, también se describe las características biológicas del grupo de Coliformes y los cuadros clínicos de las enfermedades que causan estas bacterias, también sus opciones terapéuticas.

En el capítulo II se describe el diseño del estudio, el área geográfica del trabajo, el método del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, también se identifican las bacterias resultantes del proceso de aislamiento y se compara los valores encontrados con la legislación vigente.

En el capítulo III se establecen los resultados encontrados y se contrastan estadísticamente, además establece la discusión e interpretación de los resultados y se presentan las conclusiones y recomendaciones de esta tesis.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Determinar la presencia de bacterias Coliformes totales y fecales, del agua potable de Chuquibamba.

### Objetivos Específico

- Determinar el número más probable de Coliformes totales del agua potable de Chuquibamba.
- Determinar el número más probable de Coliformes fecales del agua potable de Chuquibamba.
- Identificar las bacterias indicadoras de contaminación fecal en el agua potable de Chuquibamba.

## CAPITULO I

## MARCO TEORICO

## 1. AGUA

Se puede decir que el agua es un sistema vivo y ecológicamente en equilibrio adherida a ella propiedades físicas, químicas y biológicas íntimamente relacionadas, formando toda la base de las comunidades vivas<sup>1</sup>.

Se ha calculado el volumen total de agua en el planeta tierra y es de 1,360 millones de kilómetros cúbicos del cual, la mayor parte reposa en los mares y océanos con un 97.2 % del total, además de esto se ha calculado, que el agua dulce en el planeta está alrededor de 46,000 kilómetros cúbicos. En la tabla 1 se describe la distribución en porcentaje del agua, en el planeta<sup>1,2</sup>.

TABLA 1.1: DISTRIBUCIÓN DEL AGUA

COMPARTIMENTO	% DEL TOTAL
Océanos y mares	97.2
Aguas continentales superficiales	0.017
Casquetes polares y glaciares	2.15
Agua subterránea	0.62
Atmósfera	0.001

Fuente:(Orozco B. Carmen, 2011)

**Agua potable:** es el agua que puede ser consumida sin ningún tipo de restricción, para beber o preparar alimentos<sup>2</sup>.

**Agua dulce:** es el agua que se encuentra naturalmente en la superficie terrestre en forma de hielo, humedales, lagunas, lagos, ríos y arroyos, y bajo la superficie en condición de acuíferos y corrientes de agua subterránea. La característica principal es que posee poca concentración de sales disueltas. El termino agua dulce surgió del contraste iónico con el agua salada que posee concentraciones de más de 10,000 mg/l de sales disueltas<sup>3,4</sup>.

**Agua salobre:** Agua que contiene sal en una proporción significativamente menor que el agua marina. La concentración del total de sales disueltas está generalmente

comprendida entre 1000 - 10 000 mg/l. Este tipo de agua no está contenida entre las categorías de agua salada y agua dulce<sup>3</sup>.

**Agua residual:** es cualquier tipo de agua cuya calidad se vio afectada negativamente por influencia antropogénica. Por ejemplo, cabe destacar aguas usadas y desechadas de la actividad doméstica, urbanas, residuos líquidos industriales o mineros<sup>4</sup>.

### 1.1. AGUA DE RIOS, LAGOS Y MANANTIALES

El Agua proveniente del mar es de una salinidad constante, pero el agua subterránea y el agua continental superficial tienen una composición variable, debido a su exposición con diferentes formaciones geológicas. Excluyendo las aguas de lagos salados, las aguas de ríos, lagos de agua dulce y manantiales, que no son salados, se les llama: aguas naturales<sup>5,6</sup>.

Los gases más abundantes en este tipo de agua son: CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>. Los iones que resaltan por la concentración que poseen, estas aguas provienen de la disolución y meteorización de los materiales de la corteza terrestre, cationes como: calcio, sodio, magnesio, potasio y hierro, también presenta ácidos húmicos de la descomposición de materia orgánica, también aniones de bicarbonato y sulfatos, además de materia en suspensión como la arcilla y microorganismos<sup>7,8</sup>.

### 1.2. CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS

**Color:** en las aguas naturales las sustancias húmicas, los ácidos tánicos, las hojas y la turba generan coloraciones marrones, el fitoplancton y las clorofíceas dan lugar a coloraciones verdes, las estructuras calcáreas y no calcáreas por donde discurre el agua provocan colores verdosos y amarillentos respectivamente<sup>9</sup>.

**Olor y Sabor:** los compuestos orgánicos producen tanto olores como sabores, dichos compuestos son los fenoles, mercaptanos, alquitranes, aldehídos y ácidos grasos<sup>10</sup>.

### 1.3. CARACTERÍSTICAS BIOTICAS

Las bacterias, virus y algunas algas como las azulverdosas, son la biomasa más importante que se encuentra en diferentes tipos de agua, cuando existe una

contaminación biológica es debido principalmente a los desechos humanos, las bacterias son indicadores importantes de contaminación del agua, ya que estas habitan los diferentes cuerpos de agua. Estos agentes patógenos no sobreviven por mucho tiempo. Su análisis debe ser rutinario por el corto tiempo de vida, además por estar relativamente en un número reducido. En la tabla 1.2 se establecen algunos patógenos importantes, residentes más comunes en el agua<sup>11</sup>.

Parásitos , virus y bacterias principalmente se establecen en el agua, convirtiendo a este recurso en un caldo de cultivo para el desarrollo de diferentes clases de patógenos, los cuales pueden desarrollar enfermedades muy complejas, esto sumado a la temperatura, debido al calentamiento global, han favorecido brotes raros de como la *Naegleria fowleri*, habitante usual de sistemas de agua dulce puede infectar al hombre y ocasionar un cuadro de encefalitis amebiana cada vez más usual en todo el mundo, con un pronóstico devastador para el portador de este cuadro, con una mortalidad del 98% y si hay recuperación. el daño cerebral es irreversible<sup>1,11,12</sup>.

**TABLA 1.2: AGENTES PATÓGENOS Y ORGANISMOS  
PRODUCTORES DE TOXINAS EN AGUAS SUPERFICIALES**

MICROORGANISMO	ESPECIES
Bacterias	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella thyphi</i> , <i>Shigella dysenterae</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersina enterocolitica</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>
Virus	<i>Enterovirus</i> , <i>Rotavirus</i> , <i>Adenovirus</i>
Protozoos	<i>Giardia lambia</i> , <i>Cryptosporium parvum</i> , <i>Entamoeba hystolitica</i> , <i>Balantidium coli</i>
Helmintos	<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichura</i> , <i>Taenia solium</i> , <i>Taenia saginata</i>
Cianobacterias	<i>Anabaena circinalis</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>

**Fuente:** CEPIS 2004. Tratamiento de agua para consumo humano: Plantas de filtración rápida.

#### 1.4. TRATAMIENTO DE AGUAS NATURALES

La etapa del tratamiento de aguas naturales puede variar, de acuerdo al estado microbiológico de las fuentes acuíferas. El proceso completo consta de seis pasos<sup>1</sup>.

**Desbaste:** esta etapa se direcciona, a la eliminación de sólidos mediante rejillas y tamices<sup>1,13</sup>.

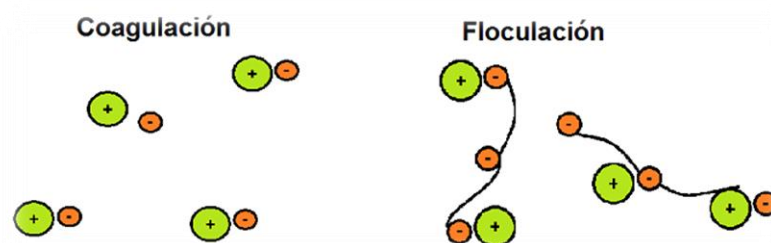
**Aireación/Preoxidación:** esta etapa permite la eliminación de sustancias oxidables, esto permite mejorar el sabor y olor del agua, la oxidación está dado por un factor físico (aireación) o por un proceso químico (preoxidación)<sup>1,13</sup>.

**Coagulación-floculación:** la clarificación engloba a los procesos de coagulación-floculación, decantación y filtración<sup>13,14</sup>.

Hay una gran variedad de partículas que no sedimentan por procesos físicos, partículas de alrededor de 0.0001 mm que podrían demorar hasta 2 años en sedimentar. No existe un consenso en las interpretaciones de coagulación y floculación. Pero de acuerdo a la bibliografía sobre estos temas podríamos decir que la coagulación se utilizara para el fenómeno de desestabilización de los sistemas coloidales y floculación para la aglomeración de las partículas coloidales desestabilizadas<sup>1</sup>.

La coagulación se consigue por la adición de iones polivalentes, los principales compuestos de origen químico, utilizados como coagulantes son:  $Al^{+3}$  y  $Fe^{+3}$ . Los floculantes son compuestos químicos polielectrolíticos orgánicos, sintéticos con cargas eléctricas y/o grupos ionizables, estos compuestos favorecen la agrupación de las partículas por tanto la gravedad para que precipiten y de esta forma el agua se clarifique<sup>15</sup>.

**FIGURA 1.1: DIFERENCIAS ENTRE COAGULACIÓN Y FLOCULACIÓN**



Fuente: ENEXIO 2H water technologies, 2015

**Decantación:** la extracción de los fangos o lodos precipitados en un decantador se llama sedimentación o decantación. Los floculos dan lugar a lodos o fangos, el agua decantada que está libre de floculos se recoge de la superficie<sup>1,16</sup>.

**FIGURA 1.2: DECANTADOR DE LECHO DE FANGOS, TIPO PULSADOR**



Fuente: <http://www.elaguapotable.com/decantacion.htm>, 2016

**Filtración:** es un proceso por el cual un líquido en este caso el agua pasa por lechos filtrantes. Este filtro puede estar constituido mayoritariamente por arena, antracita y también por carbón activado, la filtración es importante porque el agua aún posee pequeñas partículas que no pudieron ser decantadas entonces estos filtros retienen esas partículas diminutas<sup>16,17</sup>.

**FIGURA 1.3: FILTRO ABIERTO DE ARENA TIPO AQUAZUR**



Fuente: <http://www.elaguapotable.com/filtracion.htm>, 2016

**Desinfección:** es el proceso que tiene como fin la eliminación de los organismos patógenos del agua, cabe mencionar que son muy diferentes los conceptos de esterilización y desinfección. La esterilización es el proceso por el cual se elimina toda la carga patógena como no patógena.

La desinfección es importante ya que el agua es un vehículo perfecto para transmitir muchas y peligrosas enfermedades que pueden ser de origen bacteriano, viral y parasitario. Algunos ejemplos son<sup>1,18</sup>.

- Bacteriano: cólera, fiebre tifoidea, Fiebres paratíficas, disentería bacilar, diarrea infantil, tuberculosis
- Virus: poliomeilitis, hepatitis A, conjuntivitis, gastroentritis
- Parasitario: protozoos: amebas, cryptosporium y guardia
- Helmintos: helmintiasis y distomatosis<sup>18,19</sup>.

#### **ASPECTOS A TENER EN CUENTA:**

Un buen desinfectante, debe cumplir con un conjunto de condiciones, los cuales son los siguientes<sup>20</sup>.

- Elevada capacidad para la destrucción de microorganismos
- Ser inocuo y no producir olor ni sabor desagradable
- Permanencia en el agua
- Rapidez de actuación
- Independiente a las fluctuaciones de pH, temperatura, concentración, y variación de condiciones físicas
- Facilidad de manipulación, almacenamiento, determinación y precio asequible<sup>20,21</sup>.

#### **1.5. DESINFECCION CON CLORO (sales y cloro gaseoso)**

El cloro sigue siendo el desinfectante más usado para los microorganismos patógenos, tiene una actividad destructiva con las enzimas, indispensables para la vida de los patógenos. El cloro es barato, fácil de transportar y fácil de verter directamente al agua, el hipoclorito de sodio tiene una elevada solubilidad en agua y el residuo en disolución, continúa destruyendo patógenos después de haber salido de la planta de tratamiento y conforme circula por la red de suministro, Se puede usar en forma pura, líquida o gaseosa. Derivados como: hipoclorito de sodio o calcio, ácido hipocloroso y clorhídrico también son muy usados. Las bacterias como las del grupo Coliforme y la Salmonella son las que menos resistencia presentan a la desinfección<sup>20,22</sup>.

#### **Ventajas de la cloración:**

Podríamos resumir las ventajas de la utilización del cloro en el proceso de desinfección del agua, y que explicarían el uso mayoritario del mismo<sup>23,24</sup>.

- Alto poder desinfectante y oxidante del cloro y derivados.
- Importante acción desinfectante residual.
- Buen conocimiento de los procesos en los que interviene el cloro en el agua.
- Costes relativamente bajos del proceso de cloración<sup>1,23,24</sup>.

**FIGURA 1.4: PROCESO DEL TRATAMIENTO DE AGUAS NATURALES**



## 1.6. FLORA MICROBIANA EN EL AGUA

En las aguas superficiales se encuentran una amplia gama de microorganismos como bacterias, virus, algas verde azules y parásitos<sup>25</sup>.

### BACTERIAS

Las Bacterias son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de algunos micrómetros de largo (entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$ , por lo general) y diversas formas incluyendo esferas, barras y hélices. Las bacterias son procariotas, y por lo tanto a diferencia de las células eucariotas de los animales y plantas, no tienen núcleo ni orgánulos internos<sup>25</sup>.

Son los microorganismos más abundantes de la tierra se estima que en un gramo de tierra hay 40 millones de células bacterianas, y en un mililitro de agua hay un millón de bacterias. Sin duda hablamos de los seres vivos más abundantes de la tierra y los más arcaicos también. Desde un incipiente comienzo en 1683, con la primera observación registrada de las bacterias por el holandés Anton Van Leeuwenhoek pasando por la teoría germinal de las enfermedades infecciosas de los científicos Louis Pasteur y Robert Koch, la ciencia microbiológica se ha ido innovando y evolucionado a gran escala. En el mundo microscópico y microbiológico de hoy en día, se puede establecer y desarrollar nuevos métodos, más precisos, de identificación bacteriana, también podemos usar a las bacterias para la producción industrial de medicamentos, para descontaminar aguas,

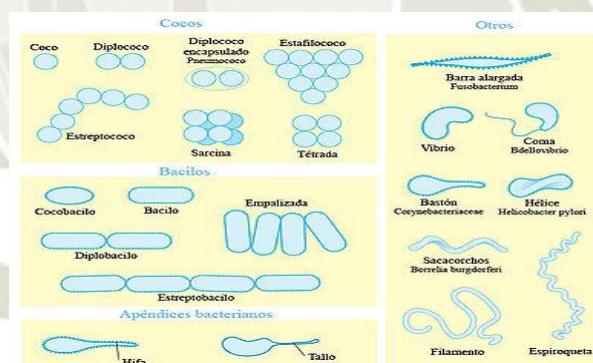
inclusive para la extracción de cobre por medio de bacterias extremófilas modificadas genéticamente, y finalmente para el propósito de esta tesis, investigar y determinar la presencia de contaminación fecal<sup>26,27</sup>.

Filogenéticamente las bacterias se clasifican en tres dominios: Archea, Bacteria y Eukarya. Los dominios Archea y Bacteria incluyen los organismos procariontes, estos son aquellos cuyas células no tienen un núcleo celular diferenciado, mientras que el dominio Eukarya se incluyen formas de vida más conocidas y complejas (protista, animales, hongos y plantas)<sup>28</sup>.

### FORMA

La forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular, básicamente se diferencian unas de otras, porque tienen forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral). En la figura 1.5. Se puede observar, la variedad en las formas bacterianas<sup>27</sup>.

**FIGURA 1.5: MORFOLOGÍA BACTERIANA**



Fuente: M. Motta, 2012

Macroscópicamente, la mayoría de las bacterias se multiplican rápidamente y son visibles en medios sólidos como colonias, después de un proceso de incubación por lo general de 37 °C y un tiempo de 18 a 24 horas, naturalmente existen excepciones como el *Mycobacterium tuberculosis* que requiere de dos a ocho semanas de incubación. Una colonia está constituida por los descendientes de unas pocas células. El tamaño de una colonia puede variar desde 0.5 mm a más grandes como las Enterobacterias. Su forma puede ser circular, irregular o filamentosa, los bordes pueden ser ondulados, en sierra o dentados y por último lisos. La superficie también es orientada y puede ser plana, convexa, mamelonada, umbilicada. En

relación al pigmento que adquieren este puede ser verde (*Pseudomona aureginosa*), amarillo (*Staphylococcus aureus*), grisáceo (*Neisseria meningitidis*), incluso pueden presentar olores como frutal o el putrefacto típico de los anaerobios. Por ultimo hay que destacar la consistencia: mucoide, lisa o rugosa<sup>27,28,29</sup>.

### **ESTRUCTURA BACTERIANA**

Se pueden dividir en permanentes o variables, entre las permanentes destacan: pared celular, membrana celular, ribosomas y el material genético Las estructuras variables son: los flagelos, las fimbrias o pilis, la capsula y las esporas<sup>29,30</sup>.

### **ESTRUCTURAS INTERNAS O CITOPLASMATICAS**

Están inmersas en el citoplasma de la célula bacteriana<sup>29</sup>.

**Material genético:** las bacterias no poseen membrana nuclear, nucléolo ni aparato mitótico y nunca configuran una masa cromosómica definida. Aunque no existe núcleo delimitado, hay una zona nuclear o nucleoide. Su material genético está constituido por una molécula de ADN circular enrollado sobre si, asociado a proteínas básicas que no constituyen verdaderas histonas<sup>29,30</sup>.

**Plásmidos:** están constituidos por secuencias cortas de ADN circular bicatenario que puede existir y replicarse independientemente del ADN cromosómico y son heredados por las células hijas, los plásmidos son importantes porque le dan una ventaja evolutiva a la bacteria ya que estas transmiten de bacteria a bacteria la información genética necesaria para formar y establecer resistencia a los antibióticos<sup>30</sup>.

**Ribosomas:** están compuestos por proteína y ácido ribonucleico (ARN), su coeficiente de sedimentación es de 70S con subunidades 50S y 30S, su función es la síntesis proteica y su cantidad aumenta cuando la bacteria crece en medios ricos en nutrientes<sup>30</sup>.

**Cuerpos de inclusión:** son gránulos de material orgánico o inorgánico, en general funcionan como almacenamiento de compuestos energéticos, que son usados como fuente de energía (polisacáridos, lípidos, polifosfatos). El glucógeno es el principal elemento almacenado por las enterobacterias (40% de su peso)<sup>30,31,32</sup>.

## ESTRUCTURAS EXTERNAS O DE ENVOLTURA CELULAR

**Membrana celular:** representa una barrera que separa el interior del exterior celular, la membrana celular cumple la función de barrera osmótica, tiene permeabilidad selectiva y permite el ingreso de nutrientes y salida de desechos por transporte activo y pasivo, en ella se da el transporte de electrones para la producción de energía, además posee enzimas necesarias para la síntesis de lípidos de la pared celular (bactoprenol) de la cápsula, etc. Y por último también posee receptores para detectar y responder a sustancias químicas del medio externo<sup>32</sup>.

**Pared celular:** después de que Christian Gram en 1884, desarrollase la tinción que lleva su nombre se comprobó que las bacterias podían clasificarse en dos grupos principales, Gram positivas y bacterias Gram negativas. La pared celular está ubicada por fuera de la membrana plasmática es una estructura vital para las bacterias que la poseen los fármacos que bloquean su formación, producen lisis y muerte de las bacterias susceptibles. Excepto por los *Mycoplasmas*, todas las bacterias poseen una pared celular que les da forma y protege de la lisis osmótica. La pared celular puede proteger a la célula de sustancias tóxicas como los antibióticos<sup>32</sup>.

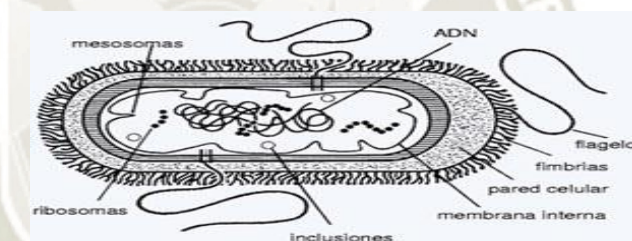
**Capsula:** se ubica por fuera de la pared celular, si su adherencia es débil y el grosor variable se conoce como limo, generalmente la capsula es de naturaleza polisacárida excepto el (*Bacillus anthracis*), que es peptídica, la capsula se relaciona con su capacidad de virulencia y con la morfología colonial en medios sólidos, además la capsula, protege a la bacteria del proceso de fagocitosis. En los medios sólidos las bacterias capsulares forman colonias acuosas, mucoides o lisas<sup>27</sup>.

**Fimbrias o pilis:** son estructuras filamentosas, proteicas que se diferencian de los flagelos por su diámetro menor a 8nm y por no poseer estructura helicoidal, los pilis no cumplen función de movilidad, su función es la de adherencia a receptores específicos y de superficie, esto es importante ya que esta selectividad juega un rol importante en la adherencia de las bacterias a determinados epitelios, siendo fundamental para su colonización. Los pilis sexuales son largos y escasos, intervienen en el intercambio genético de bacteria a bacteria<sup>27,28</sup>.

**Flagelos o filamentos axiales:** los flagelos son filamentos de proteína helicoidales, delgados y rígidos. De longitud y diámetro uniforme, los flagelos son tan delgados que no se observan al microscopio óptico, se debe de hacer tinciones especiales para que se puedan observar. El flagelo tiene la función de darle movilidad a la bacteria<sup>27</sup>.

**Esporos:** las bacterias Gram positivas puede formar una estructura de resistencia denominada espora o endoespora de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, esta estructura son resistentes al calor, la desecación, radiación ultravioleta, ácidos y desinfectantes químicos, debido a sus resistencia tienen gran importancia en temas alimentarios, industriales y médicos, su conocimiento es esencial para el desarrollo de los métodos eficaces de esterilización de medicamentos, alimentos, medios de cultivo, etc. en el medio ambiente permite la supervivencia de las bacterias cuando las condiciones son desfavorables<sup>29</sup>.

**FIGURA 1.6: ESTRUCTURA CELULAR BACTERIANA**



Fuente: M. Motta, 2012

Las bacterias que se encuentran con mayor frecuencia en las aguas, son bacterias provenientes del intestino de animales homeotermicos. Estas bacterias una vez en este medio cambian sus habilidades de supervivencia<sup>32</sup>.

### Enterobacterias:

- |  |                   |
|--|-------------------|
| • <b>Dominio</b> : Bacteria              | • <b>Géneros:</b> |
| • <b>Phylum</b> : Proteobacteria         | 1. Escherichia    |
| • <b>Clase</b> : Gamma<br>Proteobacteria | 2. Klebsiella     |
| • <b>Orden</b> : Enterobacterales        | 3. Enterobacter   |
| • <b>Familia</b> : Enterobacteriaceae    | 4. Citrobacter    |

## COLIFORMES TOTALES

Las Enterobacterias lactosa positivas, es un grupo de bacterias que, se caracterizan por fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápido, en un periodo de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C.<sup>33</sup> La figura 1.7 muestra un conglomerado de bacilos Gram negativos vistos a través de microscopía electrónica<sup>25,26</sup>.

**FIGURA 1.7: BACILO GRAM (-) VISTO POR MICROSCOPIA ELECTRONICA**



Fuente: Bioquell Group Sities, 2017

Son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, están presentes en el intestino del hombre y animales, pero también en el suelo, plantas, cáscara de huevo, etc<sup>28</sup>.

Las Coliformes totales constituyen el 10% de los microorganismos intestinales en humanos y animales, son considerados como degradadores de cuerpos de agua, estas bacterias funcionan como alerta de contaminación, sin identificar el origen, indican que hubo fallas en el tratamiento de desinfección<sup>25,33</sup>.

## COLIFORMES FECALES

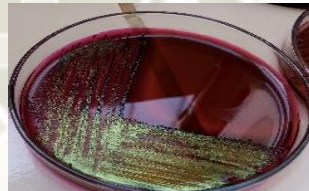
Las Coliformes fecales, son las que tienen significado sanitario, por lo tanto, son las más importantes, en los análisis de alimentos y agua. Se considera a la *Escherichia coli*, como la más importante dentro del grupo de Coliformes fecales, entre sus principales características tenemos<sup>25,34,35</sup>.

- Capacidad para desarrollarse entre 43.5-45.5°C
- Capacidad para crecer en presencia de sales biliares
- Facultad para producir indol
- Las Coliformes fecales o termotolerantes indican la calidad del agua tratada y la posible contaminación fecal<sup>35,36</sup>.

## ESCHERICHIA COLI

Es el huésped constante del intestino delgado del hombre y animales de sangre caliente. Por su especificidad está considerado como un buen índice de contaminación fecal, pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es un germen de forma bacilar, casi siempre móvil, gramnegativo. Posee estructura antigénica. La mayoría de las bacterias pertenecientes a la especie *E. coli*, forman parte de la microflora intestinal normal del hombre y de animales homeotermicos, la mayor parte de las cepas son inocuas, pero existen algunas que son patógenas<sup>37</sup>.

**FIGURA 1.8: CRECIMIENTO EN AGAR EMB, DE COLONIAS DE E.COLI, CON SU CARACTERÍSTICO BRILLO METÁLICO.**



## ENFERMEDADES DIARREICAS CAUSADAS POR ESCHERICHIA COLI

La *E.coli* es causante de diarrea del viajero la cual es muy común en todo el mundo. Esta bacteria se clasifica por las características de sus propiedades de virulencia además se debe considerar que cada grupo de esta causa una enfermedad por un mecanismo diferente. Las propiedades de adherencia a las células de los intestinos delgado y grueso además de las toxinas, son codificados por genes situados en los plásmidos<sup>38</sup>.

### CEPAS ENTEROTOXIGENICAS

Estas cepas producen dos toxinas, una lábil y la otra termoestable causante de la denominada diarrea de los turistas, y pueden estar presentes en portadores asintomáticos. La toxina lábil provoca síntomas parecidos al cuadro clínico del cólera, los brotes por la toxina termoestable son menos frecuentes<sup>33</sup>.

Los síntomas producidos por este tipo de cepa se inician entre las 8 y 48 horas, hay diarrea acuosa, no sanguinolenta, retortijones, dolor abdominal, malestar general, náuseas, vómitos, y si se origina fiebre esta es leve, los síntomas son por un máximo de 9 días, las cepas enterotoxigenicas son importantes ya que se

propagan en países o comunidades con escaso desarrollo higiénico, las poblaciones más afectadas son la infantil y adultos mayores. Se debe ser prolijo con la limpieza de guarderías y residencias para personas mayores ya que el contacto con estas cepas suele ser peligroso<sup>36,39,40</sup>.

### **CEPAS ENTEROINVASIVAS**

Poseen propiedades atípicas respecto a las demás cepas de *E.coli* ya que sus propiedades se relacionan con las de la *Shigella*, inmovilidad, similitud bioquímica y algunas no producen gas. Estas cepas invaden el tejido epitelial del colon y produce su muerte, esto da lugar a ulceraciones y consecuentemente una diarrea sanguinolenta, los síntomas aparecen entre las 8 y 24 horas hay escalofríos, malestar general, dolor de cabeza, mialgia, fiebre y retortijones abdominales como es muy parecida a la *Shigella* en la identificación no es raro confundirse con ella, la enfermedad puede durar hasta un par de semanas, no se conoce la existencia de portadores asintomáticos, la contaminación es principalmente por deficiencia en la higiene<sup>36,41</sup>.

### **CEPAS ENTEROPATOGENAS**

Destruyen las vellosidades intestinales, pero no invaden los tejidos, se manifiestan con dolor abdominal, vómitos, fiebre, diarrea acuosa con abundante moco, pero sin sangre, la enfermedad dura entre 7 y 72 horas, estas cepas pueden estar presentes en agua, queso, carne y otros<sup>36</sup>.

El cuadro clínico es parecido al de las cepas enterotoxigenicas, pero más fuerte, la población más vulnerable es sin dudas la infantil ya que esta cepa va disminuyendo su virulencia en adultos, por una probable adquisición de inmunidad a lo largo de una constante exposición por años<sup>43,44</sup>.

### **CEPAS ENTEROHEMORRAGICAS**

Serovar O157:H7, son las más importantes entre el grupo de cepas de *E.coli*. La toxina involucrada es denominada verotoxina, su presencia provoca varias formas de manifestación clínica como:

- Colitis hemorrágica
- Síndrome hemolítico urémico (Hemolytic Uremic Syndrome: HUS)

- Púrpura trombótica trombocitopénica (Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: TTP)<sup>43,44</sup>.

La Colitis hemorrágica produce dolor abdominal, a veces vómitos, diarrea acuosa sanguinolenta y poco o ninguna fiebre. Los síntomas aparecen a los 3 a 9 días después de la ingestión del germen, la enfermedad dura hasta 9 días <sup>44,45</sup>.

En el síndrome hemolítico urémico, hay diarrea sanguinolenta y sobre todo en personas en riesgo, es frecuente el fallo renal agudo, que puede desencadenar en muerte, en este cuadro no se manifiesta fiebre. La purpura trombótica trombocitopénica es en cierto modo parecido al síndrome hemolítico urémico, no hay fiebre, hay hemorragia gastrointestinal, también puede ser comprometido el sistema nervioso central. Algunos pacientes con este cuadro se les puede formar coágulos en el cerebro y esto puede ser potencialmente mortal<sup>46,47,48,49</sup>.

### **CEPAS ENTEROAGRESIVAS**

Causa diarrea por más de 14 días, el desarrollo y cuadro clínico es parecido al que causa las cepas enterotóxicas, de la toxina termoestable con cuadros diarreicos no sanguinolentos, pero agudos<sup>50</sup>.

### **SEPSIS**

En pacientes inmunodeficientes, la bacteria *E. coli* puede alcanzar el torrente sanguíneo y provocar una infección generalizada, los recién nacidos son susceptibles a esta infección ya que carecen de IgM. La sepsis también puede desarrollarse a partir de infecciones del aparato urinario<sup>50,51</sup>.

### **MENINGITIS**

Junto con el grupo de *Streptococcus agalactiae*, son los principales causantes de meningitis en lactantes<sup>27</sup>.

### **KLEBSIELLA**

Son microorganismos Gram negativos, inmóviles, sin esporas, presentan cápsula, indol negativo. En medios sólidos de placa Petri esta bacteria presenta un crecimiento de colonias viscosas, voluminosas, dando un aspecto húmedo y mucoide, Como se muestra en la figura 1.9 las más importantes son *klebsiella oxytoca* y *klebsiella pneumoniae*. Este germen está presente en el 5% de personas

sanas tanto en vías aéreas y tracto gastrointestinal, alrededor del 1% de las neumonías bacterianas son causadas por *klebsiella pneumoniae*<sup>52</sup>.

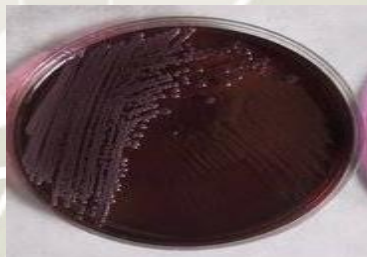
### FIGURA 1.9: CRECIMIENTO DE COLONIAS DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE EN AGAR EMB



### ENTEROBACTER

Son microorganismos Gram negativos, sin esporas, con movilidad y con capsula pequeña, puede vivir libremente y también en el intestino, las especies de este género desarrollan infecciones oportunistas y otras son descomponedoras de materia orgánica, en el hombre causan infecciones de las vías urinarias y sepsis. Algunas especies importantes son: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter agglomerans*<sup>53</sup>.

### FIGURA 1.10: CRECIMIENTO DE COLONIAS DE ENTEROBACTER AEROGENES EN AGAR EMB.

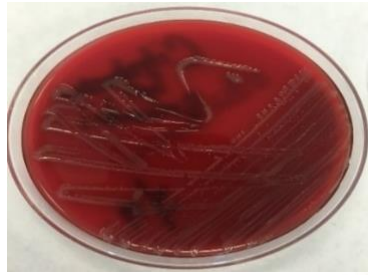


Fuente: Bacteria in photos, 2015

### CITROBACTER

Microorganismos lactosa positivos, anaerobio facultativo, Gram negativo, no esporulado, móvil, indol negativo. Está presente en la materia fecal de hombres y animales. En cuanto a su patología puede infectar el aparato urinario y producir sepsis en pacientes inmunodeficientes. Algunas especies importantes son: *Citrobacter freundii*, y *Citrobacter diversus*<sup>54</sup>.

### FIGURA 1.11: CRECIMIENTO DE COLONIAS DE CITROBACTER FREUNDII EN AGAR EMB.



Fuente: Bacteria in photos Dennis, 2015

#### 1.7. ENFERMEDADES Y CONTAMINACION DEL AGUA

El hombre es el principal reservorio de agentes infecciosos, causales de enfermedades. Dichos agentes son eliminados con las excretas como son las heces y la orina. La transmisión es directa o indirecta. Hace muchos años sabios como Hipócrates, en el año 420 a.c. recomendaba la ingestión de agua hervida, como primer elemento de la construcción y conceptualización de la higiene<sup>47</sup>.

En 1854 Snow, fue el primero en sugerir que la fiebre tifoidea y el cólera eran transmitidos en el agua a partir de heces contaminadas. Las materias fecales en animales homeotermicos contienen una variedad de enteropatógenos como: *Campylobacter*, *Shiguella*, *Yersina*, *Aeromonas*, *Pasteurella*, *Leptospira*, *Vibrio*, protozoarios y varios virus. Un factor importante de la transmisión de enfermedades en el agua es por el número de bacterias que se elimina en las heces de pacientes, además es muy importante el tiempo de supervivencia de las bacterias, como se muestra en la tabla 1.3<sup>49,50</sup>.

De las 37 enfermedades más comunes de américa latina, 21 de estas, están relacionadas con el suministro de agua y se dividen en cuatro categorías<sup>38</sup>.

- Enfermedades transmitidas por el agua
- Enfermedades con base u originadas en el agua
- Enfermedades de origen vectorial relacionadas con el agua
- Enfermedades vinculadas a la escasez de agua.<sup>55,56</sup>

**TABLA 1.3: SUPERVIVENCIA DE ALGUNOS MICROORGANISMOS  
PATOGENOS**

ORGANISMOS	MEDIO ECOLOGICO	TIEMPO DE SUPERVIVENCIA (DIAS)
<i>Coliformes</i>	Suelo	38
	Vegetales	35
	Pasto	6-34
<i>Salmonella</i>	Suelo	280
	Vegetales y frutas	3-49
<i>Shigella</i>	Suelo	42
	Vegetales	2-10
	En agua con humus	160
<i>Bacilo</i>	Suelo	180
<i>Tuberculosis</i>	pasto	10-49
<i>Enterovirus</i>	Suelo	8
	vegetales	4-6
<i>Entamoeba hystolitica</i>	Suelo	8
	Vegetales	1-3
<i>Huevo de Ascaris</i>	Agua	8-40
	Suelo	Hasta 7 años
	Vegetales y frutas	27-35

Fuente: Cáceres O. 2003 MINSA

## 1.8. PROTECCION DE AGUAS

El objetivo es garantizar por medio de protocolos, la inocuidad del agua destinada para el consumo humano, abarcando diferentes áreas como el físico, químico y microbiológico. Desde el punto de vista microbiológico se establece para su análisis el uso de microorganismos indicadores, esenciales para la búsqueda y determinación de la calidad del agua<sup>39,41</sup>.

### 1.8.1. INDICADORES DE CALIDAD BACTERIOLOGICA

Los más conocidos e importantes son las Coliformes totales y fecales. En todos los métodos de calidad bacteriológica de agua resalta la identificación de estas bacterias, teniendo como la principal a la *Escherichia coli*, en segundo plano se puede detectar a los *Streptococcus faecalis*, cuya presencia es fácil de demostrar, pero en menor grado que las Coliformes<sup>56</sup>.

La técnica de fermentación por tubos múltiples del SMEWW, emplea como indicadores de contaminación al grupo Coliforme. Precisamente las características para que este grupo Coliforme sea considerado como indicador biológico son las siguientes<sup>57</sup>.

- Ser constituyente normal de la flora intestinal de individuos sanos
- Estar presente, en forma exclusiva, en las heces de animales homeotermicos
- Estar presente cuando los microorganismos patógenos intestinales lo están
- Presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación
- Debe ser incapaz de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotermicos
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas (su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal)
- Debe ser fácil de aislar y cuantificar
- No debe ser patógeno<sup>57</sup>.

### 1.8.2. INDICADORES SECUNDARIOS

Si la técnica por fermentación de tubos múltiples identifica Coliformes totales, pero no se llega a determinar Coliformes fecales, es recomendable usar otros microorganismos como indicadores, estos son llamados indicadores secundarios, y así confirmar la contaminación fecal del agua. Los organismos sugeridos son: *Streptococcus faecalis*, *Pseudomona aeruginosa* y *Clostridium perfringens*<sup>57,58</sup>.

La OMS recomienda una adecuada protección de los recursos hídricos desde todos los puntos posibles, además de los adecuados protocolos para confirmar la

ausencia de patógenos en el agua y que esta pueda ser consumida sin ningún problema posterior. El grado de tratamiento dependerá del origen de los agentes contaminantes y del nivel de contaminación, aunque ya se tienen protocolos para el tratamiento de aguas naturales y residuales, también es muy importante, la capacitación y la destreza de los analistas, por eso es necesario la acreditación de estos métodos y la estandarización de los equipos para tener un gran porcentaje de certeza, de lo que se está investigando<sup>4</sup>.

### 1.8.3. DISTRITO DE CHUQUIBAMBA

El distrito de Chuquibamba, es uno de los ocho distritos que conforman la Provincia de Condesuyos en la región de Arequipa, al sur del Perú. Chuquibamba es la capital de la Provincia de Condesuyos, a una elevación de 2880 m.s.n.m. a una latitud sur de 15° 50' 43" y longitud oeste 72° 30' 49", tiene una superficie de 1, 255 Km<sup>2</sup> con una población de 3,618 personas. Etimológicamente, Chuquibamba proviene de una palabra indígena local que significa “Llanura de oro”<sup>59,60</sup>.

**FIGURA 1.12: PROVINCIA DE CONDESUYOS, REGIÓN DE AREQUIPA**



Fuente: <http://cooperacion.org.pe/mapas/condesuyos-noviembre-2016/>

## CAPITULO II

### MATERIALES Y METODO

#### 2.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño del estudio es descriptivo, observacional, prospectivo y longitudinal.

#### 2.2. AREA DE ESTUDIO

El distrito de Chuquibamba se encuentra a 224 km de la ciudad de Arequipa, es la capital de la provincia de Condesuyos, compuesta por Iray, Andaray, Rio Grande, Chichas, Salamanca y Cayarani, esta es una zona netamente agrícola y ganadera.

El suministro de agua comprende desde las captaciones de cuatro manantiales: Pacchita, Ccalato, Cabracancha, Umpuyo y por un arroyo proveniente del Nevado Coropuna, El agua es transportada en una sola vía de cañería hasta la caseta de cloración, donde por medio de un hipoclorador se vierte el desinfectante al agua, posteriormente por efecto de la gravedad es transportada y almacenada en los tres reservorios denominados R1, R2 y R3, (ver anexo 06 y 07).

Las muestras se analizaron en el laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María, entre los meses de abril a junio del 2018. En el caso de los tres reservorios con la denominación R1, R2 y R3 que se encuentran en el barrio de Umpuyo se realizaron seis muestreos a cada reservorio teniendo un total de 18 muestras, la llegada del agua de la caseta de cloración a los reservorios es por una sola cañería, que se trifurca, para llenarlos, es preciso recalcar que en Chuquibamba el proceso de potabilización de las aguas naturales solo contempla la fase de desinfección teniendo en infraestructura solamente una caseta de cloración y tres reservorios los cuales poseen un embalse lo que permite mantener el volumen de forma constante que en condiciones óptimas ronda los 120 m<sup>3</sup> para los reservorios R1 y R2, en tanto que para el R3 es de 280 m<sup>3</sup>. Los domicilios muestreados fueron seis, de los cuales el domicilio 1 fue el más cercano a la planta de tratamiento mientras que el domicilio 6 fue el más lejano, entre estos domicilios cuatro fueron viviendas comunes y los otros dos fueron el colegio San Luis Gonzaga y el Instituto Superior de Chuquibamba, la planta de tratamiento no cuenta con bombas para la distribución del agua, en este caso la gravedad es la causante de la distribución del

agua, ya que la planta está ubicada en el punto más alto de Chuquibamba. Para cada domicilio se recolecto seis muestras, habiendo un total de 36 muestras. Por otro lado, una vez hecha la recolección de las muestras, estas fueron rotuladas (ver anexo 01) y guardadas en un contenedor isotérmico, a una temperatura no mayor de 10 °C, según la técnica del SMEWW, para determinar la presencia y la cuantificación de Coliformes.

### **2.3. MATERIAL UTILIZADO EN EL MUESTEO**

El material esta seleccionado según el STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWASTER 23RD EDITION, para la técnica de fermentación de tubos múltiples.

#### **ENVASES PARA TOMA DE MUESTRA:**

Los Frascos de vidrio borosilicato, tapa azul de 250ml, fueron esterilizados a calor húmedo por 30 min a 121 °C<sup>57</sup>.

#### **REFRIGERACION:**

Las muestras se mantuvieron en frío para preservar sus características microbiológicas, para ello se utilizó un cooler<sup>57</sup>.

#### **EQUIPOS**

- Autoclave vertical Beltec Ls-B50L
- Balanza analítica Kern AEJ 200-4NM de 200 gramos de capacidad
- Estufa esterilizadora J.P. SELECTA, S.A. 05 15148
- Incubadora Memmert model 100-800 (37°C)
- Incubadora Memmert model 30-750 (44.5°C)
- pHmetro Orion 525A
- Placa calefactora Nuova stir plate II<sup>57</sup>.

#### **MATERIAL DE VIDRIO**

- Campanas de Durham de 60 mm x 8 mm
- Frascos de tapa azul de 250 ml
- Matraces de 500 y 1000 ml
- Placas Petri de 100 mm x 15mm
- Probetas de 500 y 1000 ml

- Tubos de ensayo 150 mm x 20 mm<sup>57</sup>.

#### MATERIAL DE METAL

- Asa y porta asas
- Gradilla para tubo de ensayo 88 mm x 25 mm<sup>57</sup>.

#### MEDIOS DE CULTIVO

- Agar citrato según Simmons de Hi Media
- Agar EMB de Hi Media
- Agar LIA de Hi Media
- Agar TSI de Hi Media
- Agua peptonada de Hi Media
- Caldo EC de Hi Media
- Caldo lauril sulfato triptosa de Merck
- Caldo verde brillante de Hi Media<sup>57</sup>.

**TABLA 2.4: CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS**

CALDO EC : control (+): <i>E. coli</i> ATCC 8739; control (-): <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
COLIFORMES TOTALES: control (+): <i>E. coli</i> ATCC 25922; control (-): <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853
COLIFORMES FECALES: control (+) : <i>E. coli</i> ATCC 25922; control (-): <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048

Fuente: SMEWW, 23rd edición, 2017

El control de calidad de los medios, se realiza a todos los medios a simple concentración, la incubación en tiempo y temperatura son las que sugiere el método SMEWW, se utilizaron los medios comercialmente disponibles, según SMEWW no se excedió la fecha de vencimiento y según la ficha técnica. La tabla 2.4 muestra los microorganismos para el control de calidad de los medios<sup>57</sup>.

## 2.4. METODOLOGIA PARA LA TOMA DE MUESTRA

### AGUA EN REPOSO

#### MATERIALES:

Frasco de vidrio estéril de 250 ml boca ancha, y guantes<sup>57</sup>.

#### PROCEDIMIENTO:

Se ubicó el sitio más adecuado para la toma de la muestra, el frasco fue destapado y sostenido firmemente por la base, seguidamente se introdujo hasta una profundidad de 20 cm, se procedió con el avance del frasco en forma horizontal y por debajo de la superficie, se llenó hasta un máximo de  $\frac{3}{4}$  partes del frasco por último se tapó y rotuló. Las muestras recolectadas fueron puestas en un recipiente isotérmico a menos de 10°C por un máximo de 30 horas desde el muestreo<sup>57</sup>.

### MUESTRAS DE AGUA (CAÑERÍA)

**MATERIALES:** frasco estéril de boca ancha de 250 ml, mechero de alcohol, alcohol, encendedor, guantes, cooler<sup>57</sup>.

#### PROCEDIMIENTO:

Se verifico que el grifo esté conectado directamente a la red de distribución, sin accesorios (coladores, anexos de mangueras, etc.). De otro modo se removió cualquier dispositivo ajeno al grifo. Se verifico que no se presenten fugas a través de los sellos o empaquetaduras del caño. Si hay fugas se debe seleccionar otro punto de muestreo o se debió reparar los puntos de fuga antes de tomar una muestra<sup>57</sup>.

Para empezar, se cerró herméticamente el caño y se retiró los accesorios si los tuviera, después se abrió el caño totalmente por 2 minutos, luego se llenó aproximadamente los  $\frac{3}{4}$  del frasco y finalmente se tapó y rotulo. Las muestras recolectadas fueron puestas en un recipiente isotérmico a menos de 10°C por un máximo de 30 horas desde el muestreo<sup>57</sup>.

Para los ensayos microbiológicos, la recolección se realizó en frascos de vidrio de 250 ml. Para la preparación de la solución eliminadora de cloro a base de tiosulfato de sodio, ver la tabla 2.5. Para aguas potables la concentración del agente de eliminación del cloro será del 3%, estequiometricamente, 0.1ml de solución de tiosulfato de sodio, neutraliza 120 ml de muestra<sup>57</sup>.

**TABLA 2.5: ELABORACION DEL AGENTE NEUTRALIZADOR DEL  
CLORO LIBRE**

<b>Solución y formas de tiosulfato</b>	<b>Peso del compuesto requerido</b>
<i>3% anhidro</i>	3g/100ml
<i>3% pentahidratado</i>	4.6g/100ml

**Fuente:** SMEWW, 23rd edición, 2017.

Las botellas de muestreo no deben estar completamente llenas, deberá haber por lo menos 2.5 cm de aire para la correcta homogenización de la muestra, el agua potable no requiere de una previa dilución a diferencia de las aguas no potables como las residuales en las cuales se debe tener en cuenta la elaboración de diluciones<sup>57</sup>.

## **2.5. METODOLOGIA PARA EL ANALISIS MICROBIOLOGICO**

Las muestras fueron llevadas al laboratorio, para realizar los ensayos microbiológicos los cuales siguieron la técnica del STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER 23RD EDITION, para la técnica de fermentación por tubos múltiples.

## **2.6. TECNICA DE FERMENTACION POR TUBOS MULTIPLES**

### **COLIFORMES TOTALES**

#### **FASE PRESUNTIVA**

Se usó Caldo Lauril Sulfato Triptosa (CLST), doble concentración, se preparó de acuerdo a la tabla 2.6 por cada muestra se utilizó 10 tubos, se colocó 10 ml de CLST con su respectiva campana de Durham, el medio, los tubos y las campanas se esterilizaron a 121°C por 15 minutos. Se verificó que las campanas de Durham no tengan burbujas, el pH fue de 6.8 después de la esterilización<sup>57</sup>.

**TABLA 2.6: PROPORCION DEL CALDO LAURIL SULFATO  
TRIPTOSA SEGÚN INOCULO**

<b>Inóculo, ml</b>	<b>Cantidad de medio en el tubo, ml</b>	<b>Volumen de medio + inóculo ml</b>	<b>Deshidratado de Caldo Lauril Triptosa requerido, g/l</b>
<b>1</b>	10 o mas	11 o mas	35.6
<b>10</b>	10	20	71.2
<b>10</b>	20	30	53.4
<b>20</b>	10	30	106.8
<b>100</b>	50	150	106.8
<b>100</b>	35	135	137.1
<b>100</b>	20	120	213.6

**Fuente:** SMEWW, 23rd edición, 2017

Se organizó los tubos en las filas de cada diez, en una gradilla. El número de filas y los volúmenes de las muestras seleccionadas, dependen de la calidad y características del agua a ser analizada<sup>57</sup>.

Para comenzar, se tomaron diez tubos a temperatura ambiente, (tubos enfriados después de la esterilización), luego se les adicionó 10 ml de muestra y se mezcló cuidadosamente, posteriormente los tubos fueron tapados, en este caso por tapones de gasa y algodón (también esterilizados) y por último los tubos fueron puestos a incubar a 37 °C por 48 horas. En el caso de agua potable primero agitar las muestras para homogenizarlas<sup>57</sup>.

#### **INTERPRETACION:**

La producción de gas y/o turbidez del medio CLST, constituyen reacciones positivas presuntivas. Los tubos positivos fueron sometidos a la fase confirmativa. En la cual la positividad de las pruebas serán medidas con la aparición de turbidez y gas en las campanas de Durham. La ausencia de turbidez o formación de gas después de 48 horas manifestara que la prueba es negativa<sup>57</sup>.

### **FASE CONFIRMATIVA**

El medio de cultivo es el Caldo Verde Brillante Bilis (CVB) simple concentración, se preparó la cantidad de tubos de acuerdo al número de positivos de la fase presuntiva, es decir si se obtuvieran en la fase presuntiva 3 tubos positivos, corresponderá en la fase confirmatoria preparar 3 tubos con CVB, este medio con los tubos y las campanas se esterilizaron a 121°C por 15 minutos, el pH se mantuvo cercano a 7.2<sup>57</sup>.

De los tubos positivos de la fase previa, se extrajo la carga bacteriológica, por medio de un asa de kolle, bastaron dos asadas como máximo para dicho propósito, finalmente se taparon los tubos con tapones estériles de gaza y algodón y se incubo por 48 horas a 37°C<sup>57</sup>.

### **INTERPRETACION**

Los tubos con respuesta positiva fueron aquellos que presentaron turbidez en el medio y gas en la campana de Durham. Los tubos con esas características ya están listos para ser sometidos a las tablas de número más probable (NMP) ver anexo 03 y así establecer de forma cuantitativa la cantidad de Coliformes totales<sup>57</sup>.

### **COLIFORMES FECALES**

#### **FASE PRESUNTIVA**

Para comenzar, se tomaron diez tubos con sus respectivas campanas de Durham se les adiciono 10 ml de CLST doble concentración según la tabla 2.6, se taparon los tubos en este caso por tapones de gaza y algodón (también esterilizados) posteriormente el medio, los tubos y las campanas fueron esterilizados a 121°C por 15 min en el caso de agua potable, primero homogenizar las muestras<sup>57</sup>.

Una vez enfriados los tubos se les adiciona 10 ml de muestra, procurando que se mezcle bien con el medio y se incubo a 37°C por 48 horas<sup>57</sup>.

#### **INTERPRETACION:**

La producción de gas y/o turbidez del medio CLST, constituyen reacciones positivas presuntivas. Los tubos positivos se someterán a la fase confirmativa. En la cual la positividad de las pruebas serán medidas con la aparición de turbidez y gas en las

campanas de Durham. La ausencia de turbidez o formación de gas después de 48 horas manifestara que la prueba es negativa<sup>57</sup>.

### **FASE CONFIRMATORIA**

El medio de cultivo es el caldo EC, la cantidad de tubos que se preparo fue de acuerdo al número de positivos de la fase previa, estos tubos llevan su correspondiente campana de Durham, los tubos, el medio y las campanas se esterilizaron a 121°C por 15 minutos, el pH debe ser cercano a 6.9<sup>57</sup>.

Para empezar, se tomaron los tubos enfriados después de la esterilización, La carga bacteriana paso de medio a medio con un asa de kolle, solo bastaron como máximo dos asadas, finalmente se taparon los tubos con tapones estériles de gasa y algodón y se incubo por 24 horas a 44.5°C<sup>57</sup>.

### **INTERPRETACION**

Los tubos con respuesta positiva fueron aquellos que presentaron, turbidez en el medio y gas en la campana de Durham. Los tubos con esas características estuvieron, listos para ser sometidos a las tablas de número más probable NMP (ver anexo 02) y así establecer de forma cuantitativa la cantidad de Coliformes fecales<sup>57</sup>.

### **FASE COMPLETA (IDENTIFICACION)**

En esta fase se identificó a las Coliformes termotolerantes presentes en las muestras, para esto se usó como mínimo el 10% de los tubos positivos confirmados. La siembra para el aislamiento fue en agar EMB, esta siembra se realizó por triplicado y se elaboró un testigo de control, se incubo entre 18 a 24 horas, a una temperatura de 35°C a 37°C, las colonias desarrolladas pasaron por una batería de tubos para una identificación bioquímica<sup>57</sup>.

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSION

El método por tubos múltiples, usa la capacidad fermentativa de las bacterias Coliformes y la capacidad de las Coliformes fecales para fermentar carbohidratos como la lactosa a temperaturas altas como 45 °C en la figura 3.13 se muestra los tubos positivos versus los tubos no reactivos y un breve resumen del proceso para la identificación de Coliformes totales y fecales.

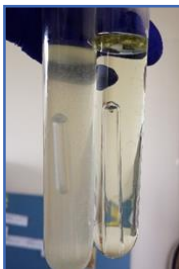
#### FIGURA 3.13: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION CUANTITATIVA DE COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES



La fase presuntiva tanto para Coliformes Totales y Coliformes Fecales es apartir del Caldo lauril sulfato.



En la fase confirmatoria para Coliformes Totales, los resultados positivos de la fase presuntiva son sembrados en el Caldo verde brillante para la determinacion de Coliformes Totales.



En la fase confirmatoria de Coliformes Fecales, los resultados positivos de la fase presuntiva son sembrados en Caldo EC, para la determinacion de Coliformes Fecales.

Los tubos resultantes positivos de la fase confirmatoria, tanto para Coliformes totales y Coliformes fecales de todos los puntos de muestreo, están representados desde la tabla 3.7 hasta la 3.24, Las recolecciones de las muestras en cada punto de muestreo fueron realizadas en periodos de 15 días, cada una de las siguientes tablas recolecta los datos medidos en dichos periodos quincenales desde abril hasta junio del 2018. La columna de **punto de muestreo** indica el sitio de recolección de la muestra siendo en esta investigación un reservorio o un domicilio, la columna de **combinación de tubos** muestra los tubos positivos de la fase confirmatoria tanto para Coliformes Totales y Coliformes Fecales, la columna con el título: **NMP/100 ml** muestra la relación de tubos positivos con su correspondiente número más probable según la tabla de NMP ver anexo 02, la columna con título: **Límite Máximo Permisible** es la que establece el valor máximo aceptado por la normativa peruana vigente D.S. 031-2010 SA y la columna de **conformidad** indica de acuerdo al D.S. 031-2010 SA si cumple con lo establecido según esa normativa.

Los hallazgos de Coliformes totales, tanto de los reservorios R1, R2 y R3, como de los seis domicilios presentan valores variables, que para esta investigación se categorizaron en CUMPLE, NO CUMPLE y CRITICO de acuerdo al valor nominal mínimo (1.1 NMP/100 ml) y el máximo hallado (3.6 NMP/100 ml)

En lo que respecta a los hallazgos positivos de Coliformes fecales tanto en los tres reservorios como en los seis domicilios se tuvo valores consistentemente menores comparada con las Coliformes totales, sin embargo si se obtuvo en reiteradas ocasiones un valor del doble máximo aceptado, esto quiere decir que llegó a valores CRITICOS para estas bacterias. El estudio de Bombilla C. María (2012), realizado cerca de la ciudad de Arequipa, con el título: Determinación de la Calidad Bacteriológica del agua, en el distrito de Chiguata, es congruente con la presente investigación ya que también posee una alta frecuencia de estos indicadores, con un mayor valor de hallazgo de las Coliformes totales respecto a las Coliformes fecales. Lo investigado por Saldaña V. Edwin J. (2017). Investigación con el título: Determinación de la calidad del Agua para consumo humano en el distrito de Bambamarca, provincia de Hualgayoc, región Cajamarca, también presentó hallazgos sostenidos de mayores concentraciones de Coliformes totales respecto a los valores para Coliformes fecales.

**TABLA 3.7: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN EL RESERVORIO R1 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R1	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R1	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R1	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R1	3	3.6	<1.8	CRITICO

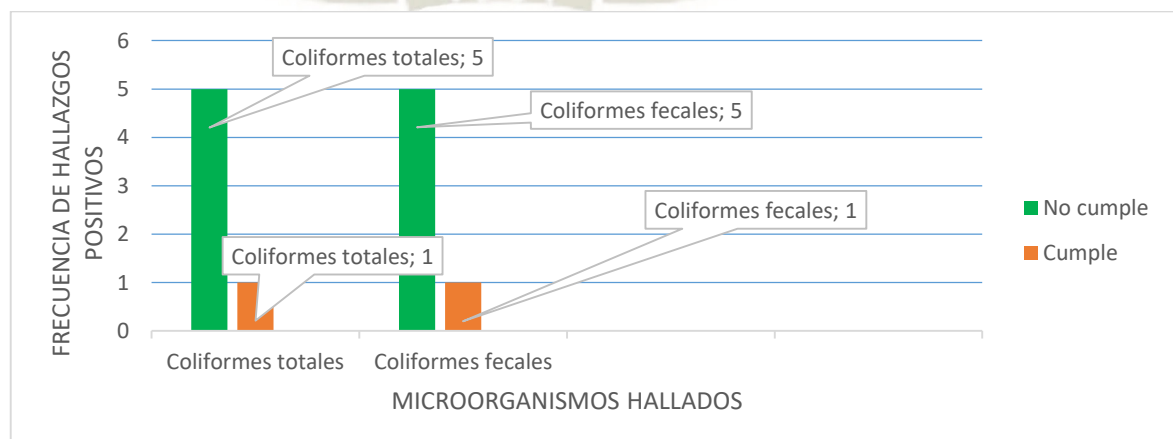
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.8: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL RESERVORIO R1 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	CRITICO
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	CRITICO
Reservorio R1	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R1	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.14: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES SEGUN EL D.S.031-2010, CON LOS VALORES OBTENIDOS PARA EL RESERVORIO R1 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.14, del total de muestras analizadas provenientes del reservorio R1, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en una muestra tanto para Coliformes totales y fecales, este dentro del rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.9: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN EL RESERVORIO R2 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

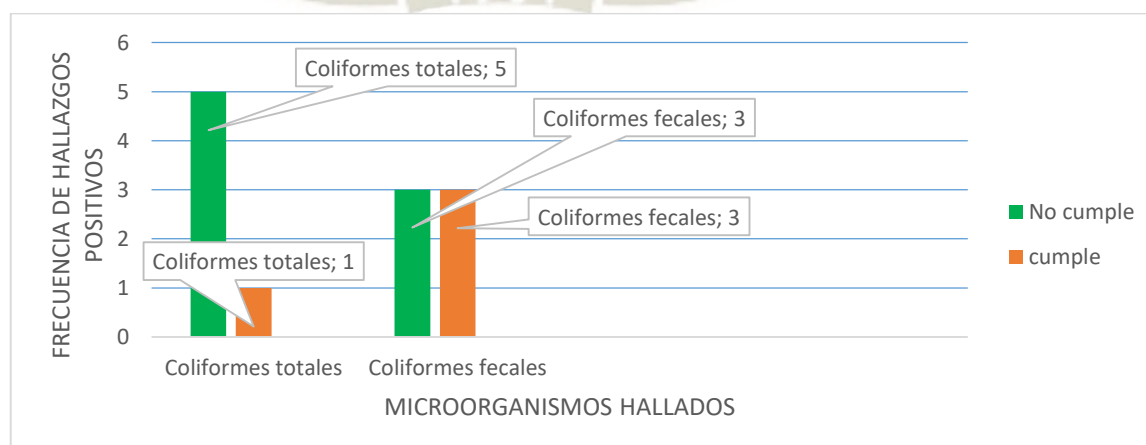
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.10: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL RESERVORIO R2 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R2	1	1.1	<1.8	CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.15: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES SEGUN EL D.S.031-2010, CON LOS VALORES OBTENIDOS PARA EL RESERVORIO R2 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.15, del total de muestras analizadas provenientes del reservorio R2, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resulto en una muestra para Coliformes totales y tres de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.11: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN EL RESERVORIO R3 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R3	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R3	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

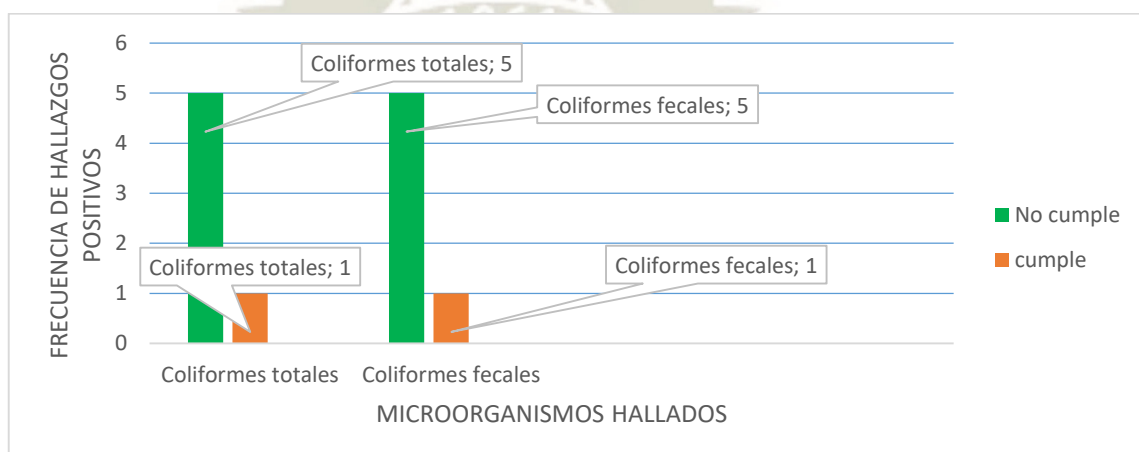
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.12: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL RESERVORIO R3 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Reservorio R3	3	3.6	<1.8	CRITICO
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Reservorio R3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.16: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES SEGUN EL D.S.031-2010, CON LOS VALORES OBTENIDOS PARA EL RESERVORIO R3 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.16, del total de muestras analizadas provenientes del reservorio R3, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resulto en una muestra de Coliformes totales y tres de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.13: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 1 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 1	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 1	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 1	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

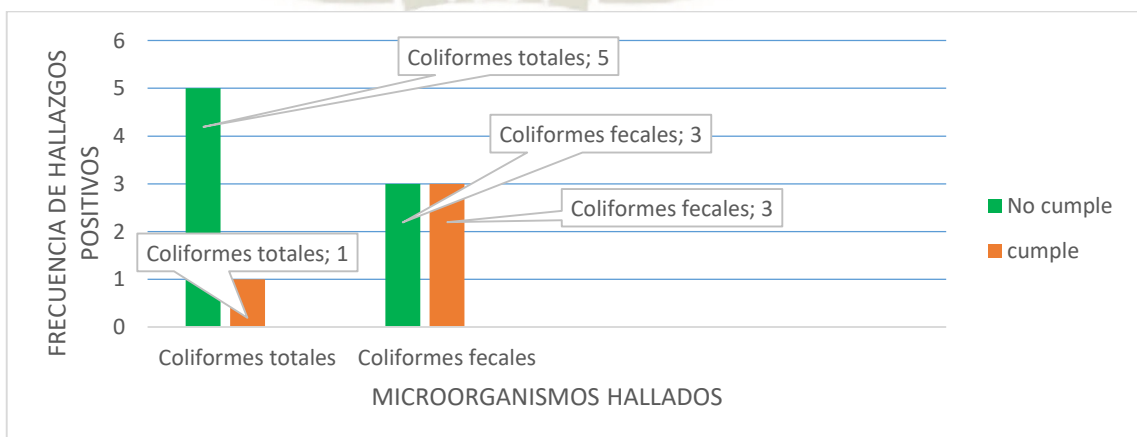
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.14: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES EN EL  
DOMICILIO 1 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 1	0	<1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 1	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 1	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 1	1	1.1	<1.8	CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.17: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES SEGUN EL D.S.031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 1 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.17, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio1, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en una muestra de Coliformes totales y tres de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.15: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 2 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 2	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

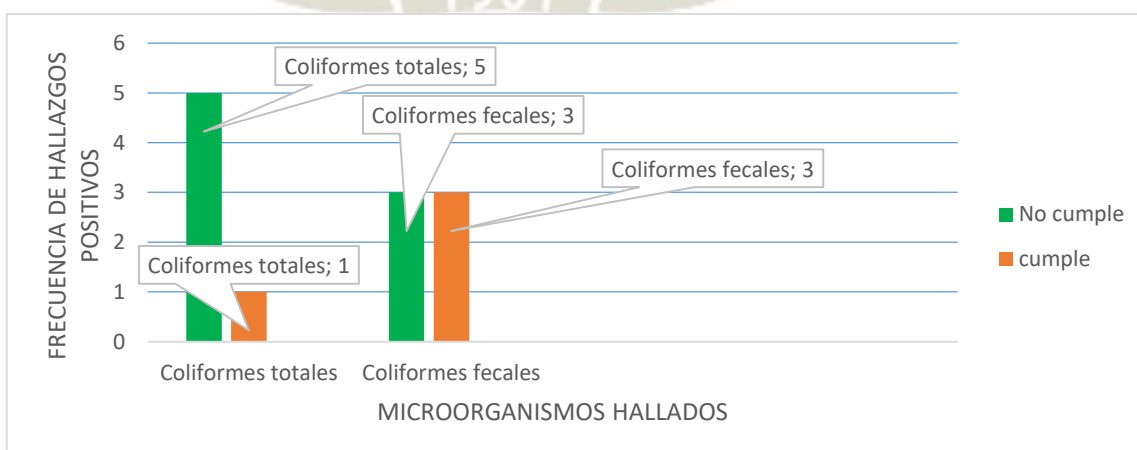
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.16: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL  
DOMICILIO 2 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 2	0	<1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 2	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 2	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.18: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES SEGUN D.S.031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 2 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.18, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio 2, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en una muestra para Coliformes totales y tres muestras de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.17: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 3 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 3	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 3	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

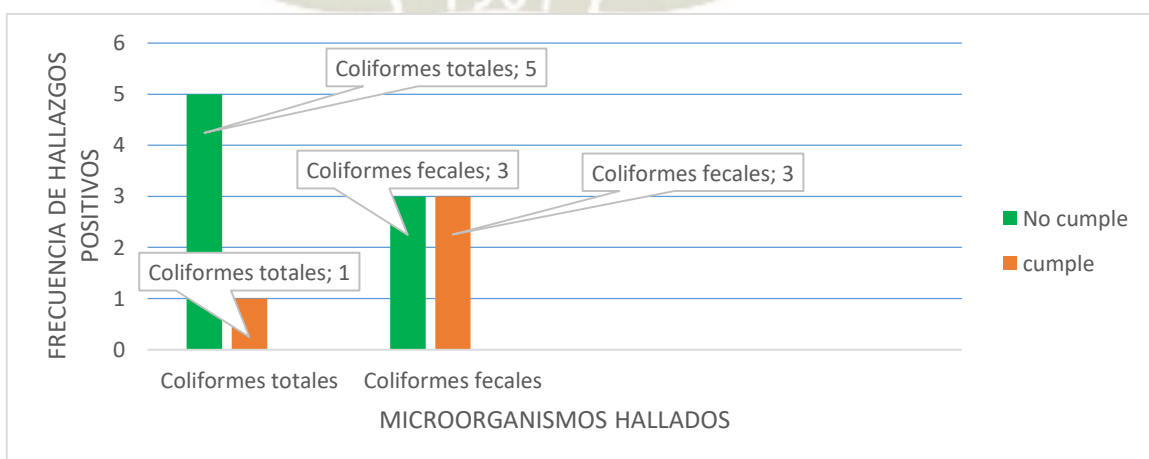
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.18: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL  
DOMICILIO 3 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 3	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 3	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 3	0	<1.1	<1.8	CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.19: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES SEGUN D.S.031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 3 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.19, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio 3, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en una muestra de Coliformes totales y dos muestras de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.19: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 4 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 4	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 4	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

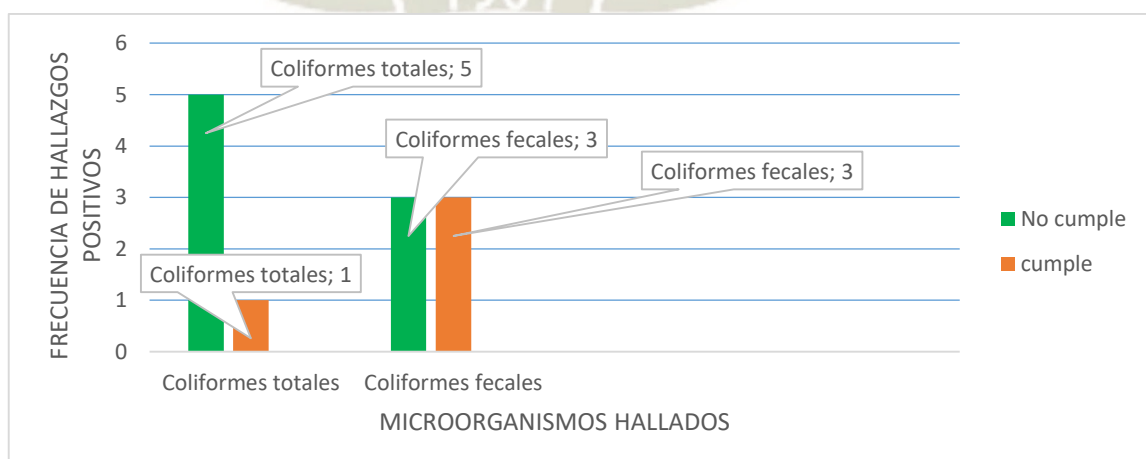
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.20: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL  
DOMICILIO 4 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 4	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 4	0	<1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 4	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 4	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.20: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES SEGUN D.S.031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 4 DE CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.20, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio 4, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en una muestra de Coliformes totales y tres muestras de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.21: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 5 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 5	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 5	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 5	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 5	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 5	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 5	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

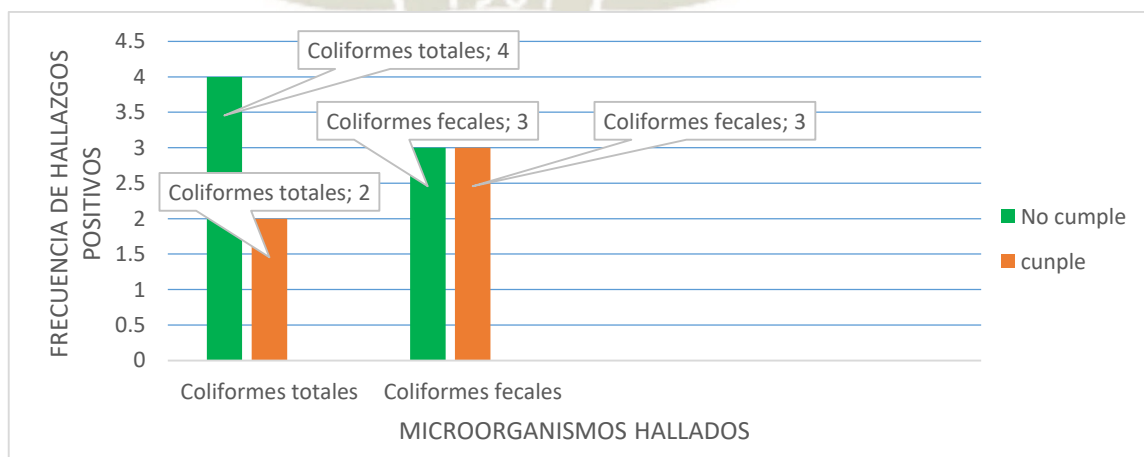
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.22: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL  
DOMICILIO 5 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permissible*	Conformidad
Domicilio 5	2	2.2	<1.8	CUMPLE
Domicilio 5	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 5	0	<1.1	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 5	2	2.2	<1.8	CUMPLE
Domicilio 5	1	1.1	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 5	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.21: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES, SEGUN EL D.S. 031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 5 EN CHUQUIBAMBA**



En la figura 3.21, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio 5, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en dos muestras de Coliformes totales y tres muestras de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

**TABLA 3.23: RESULTADOS PARA COLIFORMES TOTALES EN  
DOMICILIO 6 DE LA PLANTA DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.T. NMP/100 ml	Límite Máximo Permisible*	Conformidad
Domicilio 6	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 6	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 6	3	3.6	<1.8	CRITICO
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 6	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE

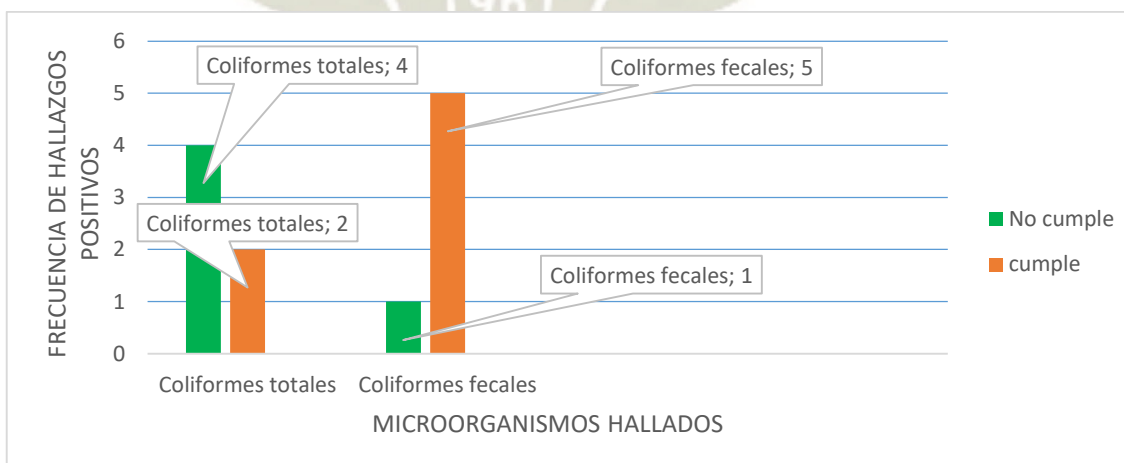
\*Bacterias Coliformes Totales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**TABLA 3.24: RESULTADOS PARA COLIFORMES FECALES DEL  
DOMICILIO 6 DE CHUQUIBAMBA**

Punto de muestreo	Combinación de tubos (+)	C.F. NMP/100 ml	Límite Máximo Permisible*	Conformidad
Domicilio 6	2	2.2	<1.8	NO CUMPLE
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 6	0	<1.1	<1.8	CUMPLE
Domicilio 6	1	1.1	<1.8	CUMPLE

\* Bacterias Coliformes Fecales según D.S.031-2010-SA Reglamento de la Calidad de Agua de Consumo Humano

**FIGURA 3.22: COMPARACION DE LOS LIMITES MAXIMOS  
PERMISIBLES SEGUN D.S.031-2010 CON LOS VALORES OBTENIDOS  
PARA EL DOMICILIO 6 DE CHUQUIBAMBA**



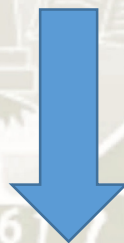
En la figura 3.22, del total de muestras analizadas provenientes del Domicilio 6, al ser comparadas con los Límites Máximos Permisibles del D.S.031-2010-SA, resultado en dos muestras de Coliformes totales y cinco muestras de Coliformes fecales estén en el rango aceptado (ver anexo 04).

El D.S. 031-2010, (ver anexo 04), para agua potable en el caso de bacterias Coliformes totales y fecales establece que dichas aguas deberán tener  $<1.8$  NMP/ 100 ml, para ambos grupos. En las muestras de los reservorios se obtuvieron los resultados (en promedios) siguientes para Coliformes totales R1: 2.7 NMP/100 ml, R2: 2.7 NMP/100 ml y R3: 2.5 NMP/100 ml, para Coliformes fecales son los siguientes: R1:2.3 NMP/ 100 ml, R2: 1.9 NMP/ 100 ml y R3: 2.3 NMP/100ml Todos los valores obtenidos exceden los LMP de la normativa peruana vigente, Para los valores de Coliformes totales de los seis domicilios tenemos los siguientes resultados(en promedios): Domicilio (1): 2.5 NMP/100 ml, domicilio (2): 2.5 NMP/100 ml, domicilio (3): 2.5 NMP/100 ml, el domicilio (4): 2.3 NMP/ 100 ml, domicilio (5): 2.3 NMP/100 ml y domicilio (6): 2.1 NMP/100 ml. En cuanto a las Coliformes fecales tenemos los siguientes resultados (en promedios), para el domicilio (1): 1.5 NMP/100 ml, domicilio (2): 1.5 NMP /100 ml, domicilio (3): 1.3 NMP/100 ml, domicilio (4): 1.5 NMP/100 ml, domicilio (5): 1.5NMP/100 ml y domicilio (6): 1.1 NMP/100 ml, todos los resultados (en promedio y de cada punto de muestreo), para Coliformes totales, fueron ligeramente superiores a lo establecido por la normativa vigente. En tanto para las Coliformes fecales los resultados obtenidos de los reservorios también estuvieron ligeramente por encima de los establecido en la normativa actual por otro lado los resultados obtenidos en los domicilios (promedios) estuvieron dentro de los LMP. Las investigaciones siguientes: Saldaña V. Edwin J. (2017). Investigación con el título: Determinación de la calidad del Agua para consumo humano en el distrito de Bambamarca, provincia de Hualgayoc, región Cajamarca, y El estudio de Bombilla C. María (2012), realizado cerca de la ciudad de Arequipa, con el título: Determinación de la Calidad Bacteriológica del agua, en el distrito de Chiguata, describen variabilidad en la concentración y frecuencia de hallazgos positivos para bacterias Coliformes totales y fecales. Es lógico que dichos resultados contengan alguna variación con la presente investigación, en intensidad de los ya mencionados hallazgos positivos, ya que esto también depende de características específicas de las zonas de estudio, y justamente estas investigaciones han sido elaboradas en diferentes áreas geográficas, por otro lado los resultados obtenidos en cada sesión que se realizó el muestreo no deben ser individualizados ya que los resultados más fiables serán los que correspondan a los promedios obtenidos.

Los tubos positivos de la fase confirmatoria para Coliformes fecales fueron sembrados en Agar EMB, con el fin de identificar morfológicamente y aislar a las bacterias causantes de la contaminación del tipo fecal.

En la imagen superior se tienen dos colonias fermentadoras de lactosa una de ellas con una colonia definida oscura y con brillo metálico, presumiblemente *Escherichia coli*, la otra colonia presenta un crecimiento mucoide, acuoso de color negro presumiblemente de los géneros *Klebsiella* o *Enterobacter*.

En la imagen inferior se dividió la placa Petri en la mitad para sembrar por separado las colonias antes mencionadas y así tenerlas aisladas y poder observar con más claridad sus características morfológicas.



## RESULTADOS PRUEBAS BIOQUIMICAS

Una vez aisladas las colonias del Agar EMB, se procedió a la identificación bioquímica de estas bacterias, estas colonias se sometieron a una batería de tubos conformada por las siguientes pruebas de Agar TSI, Agar LIA, Agar citrato según Simmons, y prueba del indol.



*Klebsiella pneumoniae*: TSI: (A/A +, -); LIA: (K/K+, -); CITRATO SEGÚN SIMONS:  
(+); INDOL: (-)



*Escherichia coli*: TSI: (A/A +, -); LIA: (K/K+, -); CITRATO SEGÚN SIMONS: (-);  
INDOL: (+)

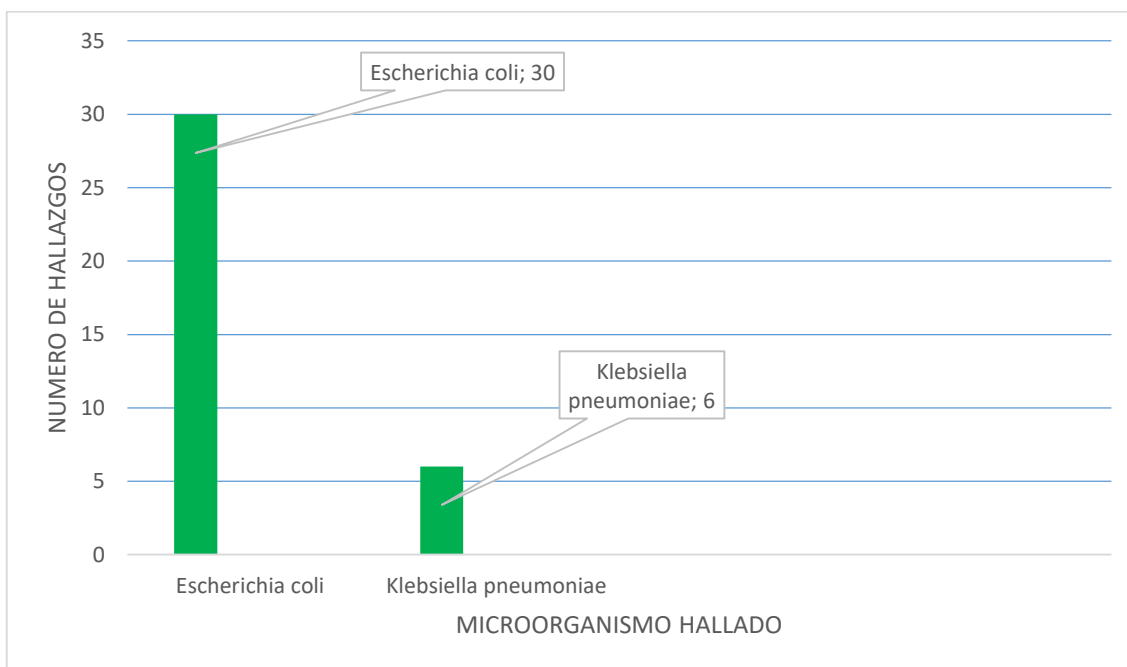
**TABLA 3.25: PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE ESPECIES  
ENCONTRADA**

MICROORGANISMO	INDOL	CITRATO	SH <sub>2</sub>	GAS GLUCOSA	LISINA	SACAROSA	LACTOSA
<i>E.coli</i>	+	-	-	+	+	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	V	+	-	V	V
<i>Citrobacter diversus</i>	+	+	-	+	-	V	V
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-	+	+	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	-	+	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	-	+	-	+	+

(+): resultado positivo; (-): resultado negativo; (V): resultado variable

En lo referente a la identificación de las bacterias de origen fecal, se esquematiza en la figura 3.23, los hallazgos para Coliformes fecales en todos los puntos de muestreo de los reservorios y de los domicilios se logró obtener 30 resultados positivos para *Escherichia coli* y 6 resultados positivos para *klebsiella pneumoniae*, estos resultados son compatibles con los obtenidos por Bombilla C. María, (2012) en su investigación con el título: Determinación de la Calidad Bacteriológica del agua, en el distrito de Chiguata. Donde la presencia de las bacterias indicadoras tanto *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son las más frecuentes en sus hallazgos. La *E.coli* es la bacteria indicadora más abundante en cuanto a su presencia en las aguas analizadas de Chuquibamba, siendo esto congruente con los hallado por: Amado C. Marjorie F.(2017). Investigación con el título: Determinación Bacteriológica de la calidad del Agua de consumo humano del distrito de Majes, Arequipa. En la cual también dicha bacteria es la más abundante en dicha investigación.

**FIGURA 3.23: FRECUENCIA DE HALLAZGOS POSITIVOS DE E. COLI Y KLEBSIELLA PNEUMONIAE**



La red de abastecimiento de agua para la planta de potabilización en Chuquibamba no está canalizada ni protegida del medio ambiente y es así que animales de pastoreo tienen contacto directo con las aguas que serán tratadas posteriormente y además los habitantes de caseríos cercanos establecen sus hogares y los corrales de sus animales cerca de estas fuentes naturales de agua que están expuestas a las excretas de las personas y de animales de sangre caliente.

Con los datos obtenidos tanto en los Reservorios como en los Domicilios existe evidencia que la desinfección por sales de cloro y específicamente, por su efecto residual es considerable, ya que en el caso de las Coliformes totales medidas en los Reservorios con un valor (promedio) de 2.6 NMP/100 ml versus los Domicilios con un valor (promedio) 2.4 NMP/100 ml se evidencia que el tiempo transcurrido del agua de los reservorios a los Domicilios mengua la cantidad de estas bacterias, en el caso de las Coliformes fecales es tal cual lo visto en las Coliformes totales, los reservorios registraron un valor (promedio) 2.2 NMP/ 100 ml versus el promedio de los resultados de los Domicilios que fue de 1.4 NMP/ 100 ml otra vez el tiempo y el desinfectante disminuyeron la cantidad de estas bacterias en el agua.

## 1. PRUEBAS DE CONTRASTE

### COLIFORMES TOTALES EN LOS RESERVORIOS R1, R2 y R3

RESERVORIO R1 NMP/100ml	RESERVORIO R2 NMP/100ml	RESERVORIO R3 NMP/100ml
2.2	3.6	2.2
3.6	3.6	1.1
1.1	1.1	3.6
2.2	2.2	3.6
3.6	3.6	2.2
3.6	2.2	2.2

### RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
RESERVORIO R1	6	16.3	2.7	1.1
RESERVORIO R2	6	16.3	2.7	1.1
RESERVORIO R3	6	14.9	2.5	0.9

### ANOVA

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F
ENTRE MUESTRAS	0.218	2	0.109	0.105
DENTRO DE MUESTRAS	15.625	15	1.042	
TOTAL	15.843	17		

El valor de F, obtenido es de 0.105, este valor es menor que el valor de F de tabla 3.682, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, con lo cual estadísticamente y con una confianza del 95%, las medias para Coliformes totales, de los reservorios R1, R2 y R3 de Chuquibamba no difieren significativamente. Esto significa que las muestras obtenidas para CT de los reservorios no varían entre sí, además que los reservorios tienen las mismas condiciones en cuanto a limpieza y mantenimiento y por lo cual la carga bacteriana, proviene y contamina el agua antes de la entrada a los reservorios.

### COLIFORMES FECALES EN LOS RESERVORIOS R1, R2 y R3

RESERVORIO R1 NMP/100ml	RESERVORIO R2 NMP/100ml	RESERVORIO R3 NMP/100ml
2.2	2.2	2.2
2.2	3.6	1.1
1.1	1.1	3.6
2.2	1.1	2.2
3.6	2.2	2.2
2.2	1.1	2.2

## RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
RESERVORIO R1	6	13.5	2.3	0.6
RESERVORIO R2	6	11.3	1.9	1.0
RESERVORIO R3	6	13.5	2.3	0.6

## ANOVA

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRO MEDIO	F
ENTRE MUESTRAS	0.538	2	0.269	0.357
DENTRO DE MUESTRAS	11.298	15	0.753	
TOTAL	11.836	17		

El valor de F obtenido es de 0.357, este valor es menor que el valor de F de tabla 3.682, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, con lo cual estadísticamente y con una confianza del 95%, las medias en Coliformes fecales de los reservorios, R1, R2 y R3 de Chuquibamba no difieren significativamente. Esto significa que las muestras obtenidas para CF de los reservorios no varían entre sí, además que los reservorios tienen las mismas condiciones en cuanto a limpieza y mantenimiento y por lo cual la carga bacteriana, proviene y contamina el agua antes de la entrada a los reservorios.

## COLIFORMES TOTALES EN DOMICILIOS

DOMICILIO 1 NMP/100ml	DOMICILIO 2 NMP/100ml	DOMICILIO 3 NMP/100ml	DOMICILIO 4 NMP/100ml	DOMICILIO 5 NMP/100ml	DOMICILIO 6 NMP/100ml
3.6	1.1	2.2	2.2	3.6	2.2
2.2	3.6	3.6	3.6	1.1	2.2
3.6	2.2	3.6	2.2	2.2	3.6
1.1	2.2	2.2	1.1	3.6	1.1
2.2	3.6	1.1	2.2	1.1	2.2
2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	1.1

## RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
DOMICILIO 1	6	14.9	2.5	0.9
DOMICILIO 2	6	14.9	2.5	0.9
DOMICILIO 3	6	14.9	2.5	0.9
DOMICILIO 4	6	13.5	2.3	0.6
DOMICILIO 5	6	13.8	2.3	1.3
DOMICILIO 6	6	12.4	2.1	0.9

## ANOVA

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRO MEDIO	F
ENTRE MUESTRAS	0.876	5	0.175	0.190
DENTRO DE MUESTRAS	27.653	30	0.922	
TOTAL	28.529	35		

El valor de F obtenido es de 0.190, este valor es menor que el valor de F de tabla 2.534, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, con lo cual estadísticamente y con una confianza del 95% las medias en Coliformes totales, de los seis Domicilios muestreados, de Chuquibamba no difieren significativamente entre sí. Lo cual manifiesta que la red de distribución del agua potable en todo su recorrido presenta las mismas condiciones en infraestructura para los seis domicilios, el ingreso y la contaminación por agentes patógenos en este caso CT, no proviene por algún problema de la red de distribución.

## COLIFORMES FECALES EN DOMICILIOS

DOMICILIO 1 NMP/100ml	DOMICILIO 2 NMP/100ml	DOMICILIO 3 NMP/100ml	DOMICILIO 4 NMP/100ml	DOMICILIO 5 NMP/100ml	DOMICILIO 6 NMP/100ml
2.2	2.2	1.1	1.1	2.2	2.2
0.0	2.2	2.2	0.0	1.1	1.1
2.2	0.0	1.1	2.2	0.0	1.1
1.1	1.1	2.2	1.1	2.2	1.1
2.2	1.1	1.1	2.2	1.1	0.0
1.1	2.2	0.0	2.2	2.2	1.1

## RESUMEN

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
DOMICILIO 1	6	8.8	1.5	0.8
DOMICILIO 2	6	8.8	1.5	0.8
DOMICILIO 3	6	7.7	1.3	0.7
DOMICILIO 4	6	8.8	1.5	0.8
DOMICILIO 5	6	8.8	1.5	0.8
DOMICILIO 6	6	6.6	1.1	0.5

## ANOVA

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRO MEDIO	F
ENTRE MUESTRAS	0.706	5	0.141	0.193
DENTRO DE MUESTRAS	21.982	30	0.733	
TOTAL	22.688	35		

El valor de F obtenido es de 0.193, este valor es menor que el valor de F de tabla 2.534, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, con lo cual estadísticamente y con una confianza del 95% las medias en Coliformes fecales, de los seis Domicilios muestreados, de Chuquibamba no difieren significativamente entre sí. Lo cual manifiesta que la red de distribución del agua potable en todo su recorrido presenta las mismas condiciones en infraestructura para los seis domicilios, el ingreso y la contaminación por agentes patógenos en este caso CF, no proviene por algún problema de la red de distribución.



## CONCLUSIONES

**Primera**, las Coliformes totales en los reservorios y domicilios, poseen los siguientes valores: 2.7 NMP/ 100 ml; 2.7 NMP/ 100 ml y 2.5 NMP/ 100 ml, para los reservorios R1, R2 y R3 respectivamente y para los seis domicilios: 2.5 NMP/ 100 ml, 2.5 NMP/100 ml, 2.5 NMP/ 100 ml, 2.3 NMP/ 100 ml, 2.3 NMP/100 ml y 2.1 NMP/100 ml.

**Segunda**, la cantidad de Coliformes fecales en los reservorios y domicilios, fue la siguiente: 2.3 NMP/100 ml, 1.9 NMP/ 100 ml y 2.3 NMP/ 100 ml para R1, R2 y R3 respectivamente y para los seis domicilios fue: 1.5 NMP/ 100 ml, 1.5 NMP/ 100 ml, 1.3 NMP/ 100 ml, 1.5 NMP/ 100 ml, 1.5 NMP/100 ml y 1.1 NMP/ 100 ml.

**Tercera**, las Coliformes fecales encontradas en los reservorios y en los domicilios fueron: *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

**Cuarta**, el agua potable analizada proveniente de los reservorios y de los domicilios, presenta Coliformes totales y fecales en cantidad variable, los valores de Coliformes totales están ligeramente elevados en los reservorios y en los domicilios con valores (promedios) de 2.6 NMP/ 100 ml y 2.4 NMP/ 100 ml. Con respecto a las Coliformes fecales estas también están ligeramente elevadas, con un valor (promedio) en reservorios de 2.2 NMP/ 100 ml, aunque por otro lado en los domicilios los valores están en el margen aceptable con un valor promedio de 1.4 NMP/ 100 ml según la normativa vigente (DS 031-2010) la cual establece límites máximos permisibles para estos grupos de bacterias, menores de <1.8 NMP/100 ml.

## RECOMENDACIONES

1. Implementar y mejorar la infraestructura en la captación y procesamiento del agua, el mantenimiento de las redes de distribución y de los reservorios y en todo lo referente al abastecimiento de agua potable.
2. Establecer un monitoreo periódico, en el cual este incluido el análisis microbiológico tanto en los reservorios como en los domicilios.
3. Concientizar a los pobladores en la importancia de cuidar el recurso hídrico y lo importante de hervir el agua, ya que la contaminación por microorganismos puede originar graves enfermedades.
4. Brindar capacitación a los ganaderos para que sus animales de pastoreo no estén tan cerca de las captaciones de agua y de los manantiales naturales para que de esta manera dichos animales no contaminen el agua con sus excretas.

## BIBLOGRAFIA

1. Orozco C, Perez A. Contaminacion Ambiental Una Vision desde la Quimica.terceraed. Lara C, editor. Madrid: Paraninfo; 2011.
2. Guadalupe L. Diseño de Humedales Artificiales para el Tratamiento de Aguas Residuales en la UNMSM. Instituto de Investigaciones FIGMMG. 2006 Noviembre; XV(17).
3. OPS, OMS. [Documento].; 2018 [cited 2018 Enero 7]. Available from: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=topics&Itemid=40241&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=topics&Itemid=40241&lang=es).
4. OPS, OMS. [Documento].; 2016 [cited 2017 junio 5]. Available from: [https://www.paho.org/per./index.php?option=com\\_joomlabook&view=joomlabook&Itemid=908](https://www.paho.org/per./index.php?option=com_joomlabook&view=joomlabook&Itemid=908)
5. Lopez M. El Agua. IUI de las Palmas de Gran Canaria. 2008 Junio; XIII(27).
6. Marin R. Fisicoquimica de los Medios Acuaticos. Tercera ed. Seara A, editor. Madrid: Diaz de Santos; 2005.
7. EcuRed. EcuRed Web site.[Online].; 2018 [cited 2018 Junio 9]. Available from: [https://www.ecured.cu/Calidad\\_del\\_Agua](https://www.ecured.cu/Calidad_del_Agua).
8. OMS. OPS Web site. [Online].; 2018 [cited 2018 Agosto 7]. Available from: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/es/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/es/).
9. Leonard V. Calidad del Agua-EPA.[Online].; 2015 [cited 2018 Agosto 7]. Available from: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/water\\_quality\\_spanish.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/water_quality_spanish.pdf).
10. Instituto Aragonés del Agua. Gobierno de Aragon. [Online].; 2016 [cited 2018 Julio 20]. Available from: [http://aragon.es/DepartamentosOrganismosPublicos/Organismos/InstitutoAragonésAgua/ÁreasTemáticas/01\\_AbastecimientoAguaPotable/ci.08\\_Abastecimiento\\_Agua\\_Potable.detalleDepartamento](http://aragon.es/DepartamentosOrganismosPublicos/Organismos/InstitutoAragonésAgua/ÁreasTemáticas/01_AbastecimientoAguaPotable/ci.08_Abastecimiento_Agua_Potable.detalleDepartamento).

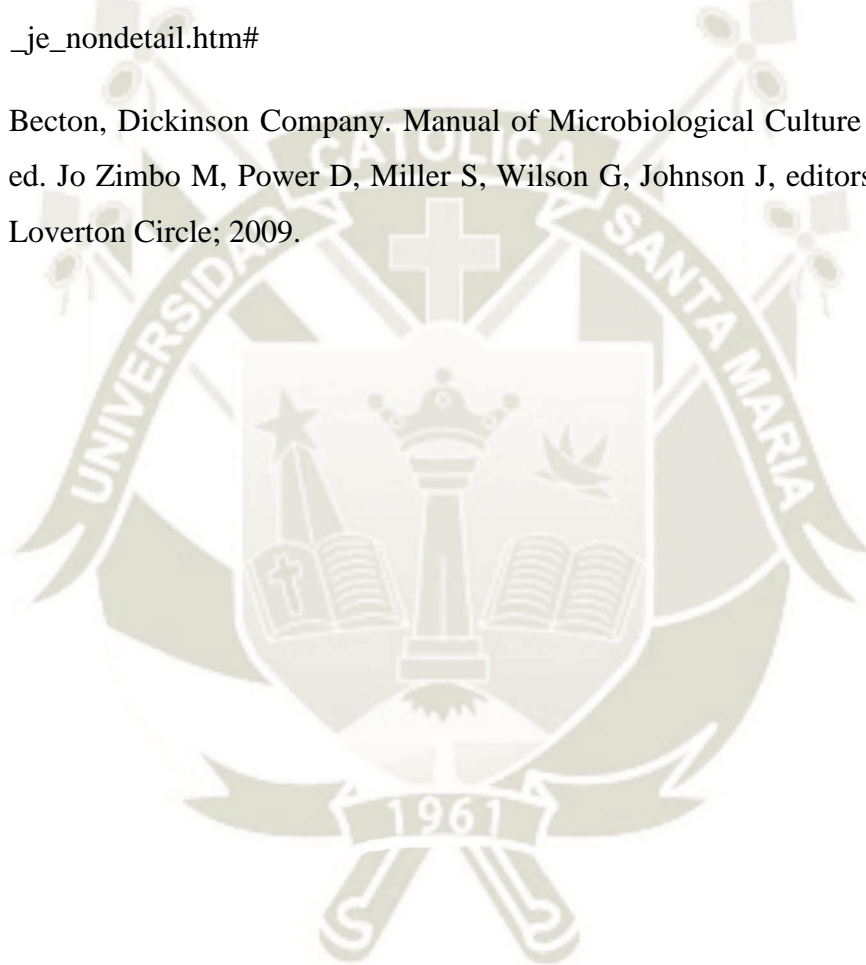
11. Reynolds K. Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamerica. Agua Latinoamericana. 2002 Setiembre; II(6).
12. Fondo para la Comunicacion y Educacion Ambiental. AGUA.ORG.Mx. [Online].; 2018 [cited 2018 Junio 25]. Available from: <https://agua.org.mx/contaminacion-del-agua/>.
13. Cardenas A. Ecolisima. [Online].; 2015 [cited 2018 junio 26]. Available from: <http://ecolisima.com/la-contaminacion-del-agua/>.
14. Moreno M. Prezi. [Online].; 2014 [cited 2018 julio 6]. Available from: <https://prezi.com/y-o3xph3cqgn/efectos-contaminantes-del-agua-fisicos-quimicos-y-biologicos/>.
15. Morales S. PREZI. [Online].; 2015 [cited 2018 Julio 19]. Available from: <https://prezi.com/gungap6qodoe/contaminantes-fisicos-quimicos-y-biologicos/>.
16. Falcao V. PREZI. [Online].; 2016 [cited 2018 Junio 20]. Available from: <https://prezi.com/z7okhwmcta6c/contaminantes-quimicos-del-agua-y-su-repercusion-en-la-salud/>.
17. Manahan S. Introduccion a la Quimica Ambiental. primera ed. Domenech X, editor. Mexico D.F.: REVERTE; 2006.
18. Ramalho R. Tratamiento de Aguas Residuales. segunda ed. Jimenez D, editor. Sevilla: REVERTE; 2003.
19. De Anda P. Quimica II. Primera ed. Camparan J, editor. Jalisco: Umbral; 2005.
20. Rico A. Quimica del Agua y Oxigeno. Tercera ed. Castellanos M, editor. Mexico D.F.: Circuito Escolar ; 2008.
21. Ramos R. El Agua en el medio Ambiente, Muestreo y Analisis. Primera ed. Contreras M, editor. Mexicali: Plaza y Valdez; 2003.
22. Castelo P. Avances en Calidad Ambiental. Primera ed. Municio C, editor. Salamanca: Universal; 2002.

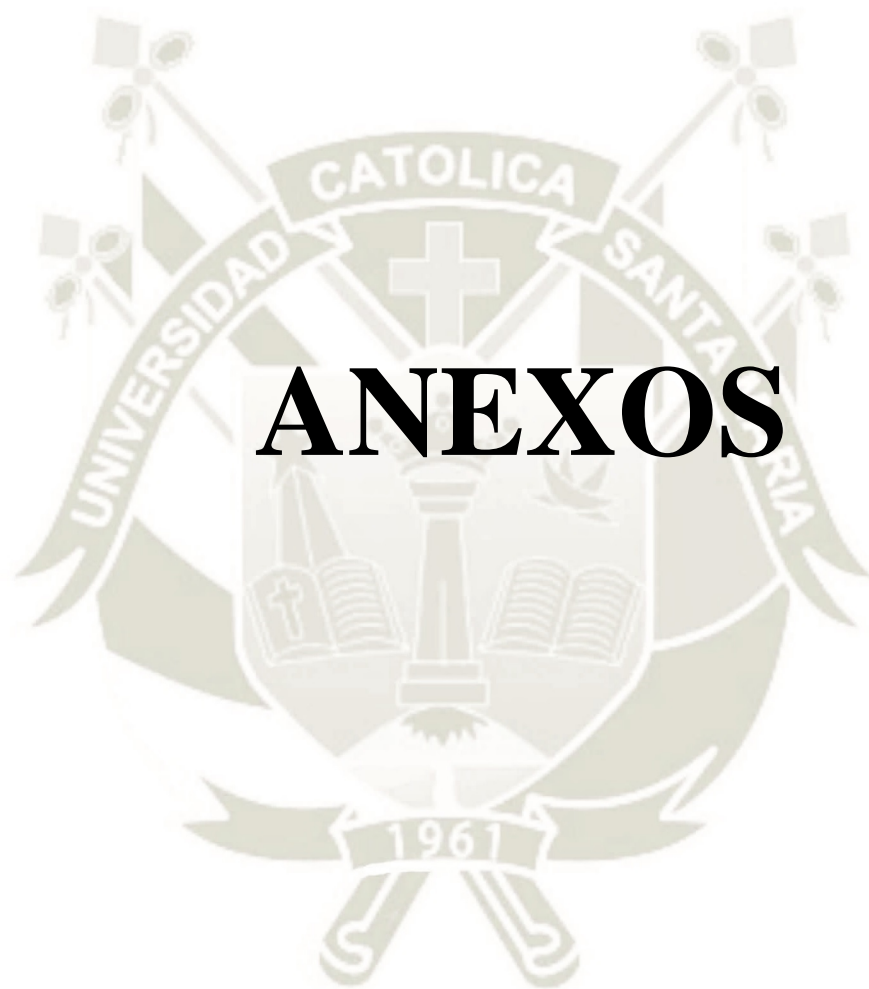
23. Sanchez M. Depuracion de las Aguas Residuales por Tecnologias Ecolgicas y de Bajo Costo. Primera ed. Izal J, editor. Madrid: Mundi-prensa; 2004.
24. Gonzales B. Tecnicas y Metodo de Laboratorio. Segunda ed. Loureiro H, editor. Madrid: Masson ; 2004.
25. Pulles R. Microorganismos de la Calidad del Agua en Cuba. CENIC, Ciencias Biologicas. 2013 Agosto; 45(1).
26. Narvaez S. Coliformes Termotolerantes de la Cienaga de Santa Marta, Colombia. Acta Biologica Colombiana. 2008 Diciembre; XIII(3).
27. Motta M, Perez M. Bacteriologia y Virologia Medica. segunda ed. Mazzeti L, editor. Montevideo: Fondo Editorial Universidad de la Republica; 2008.
28. Puerta - Garcia A. Enterobacterias. CODEINEP. 2014 Enero; X(15).
29. Romero R. Microbiologia y Parasitologia Medica. Tercera ed. Alcocer R, editor. Mexico D.F.: Panamericana; 2007.
30. Winn W. Diagnostico Microbiologico. Sexta ed. Preciado M, editor. Buenos Aires: Panamericana; 2008.
31. Raquel G. Microbiologia. Tercera ed. Gomez M, editor. Madrid: Paraninfo; 2003.
32. Melnick J, Adelberg A. Microbiologia Medica de Jawetz. Decimo Sexta ed. Mexico D.F.: Mc GrawHill; 2013.
33. Maria P. Microbiologia Alimentaria. Segunda ed. Bravo J, editor. Madrid: Diaz de Santos; 2000.
34. Brunton L, Lazo J, Parker K. Goodman y Gilman Las bases farmacologicas de la Terapeutica. Undecima ed. Mexico D.F.: McGraw Hill; 2005.
35. Hayhurst C. Epidemics Deadly Diseases Throughout History E. coli. Primera ed. Washington: The Rosen Publishing Group; 2004.
36. Berg H. E. coli in Motion. Primera ed. Cambrige, MA: Springer; 2004.
37. Garvey P, McDowell D. Verocytotoxigenic E. coli. Decimo quinta ed. Duffy G, editor. Dublin: Food and Nutrition Press; 2001.

38. Mamani G. Estudio Bacteriologico del Agua Potable de la Joya, Region de Arequipa. tesis de grado. Arequipa: Universidad San Agustin Arequipa, Biologia; 2009.
39. Bombilla M. Determinacion de la calidad Bacteriologica del agua destinada para consuo humano del distrito de Chiguata, Region de Arequipa. tesis de grado. Arequipa: Universidad San Agustin , Biologia; 2012.
40. Gamarra G. Evaluacion de la calidad Fisicoquimica y Bacteriologica del agua de dos ecosistemas acuaticos: Rio Tintaya y Rio Salado, Espinar, Cusco. tesis de grado. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustin , Biologia; 2010.
41. Huanca B. Estudio de la calidad Bacteriologica del agua para consumo en Urbanizaciones del Cono Norte de la Ciudad de Arequipa. tesis de grado. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustin, Biologia; 2000.
42. Graum G. Enfermedades transmitidas por el agua en los Estados Unidos de America. In Washington: ILSI Press; 2006.
43. Colque E. Estudio Bacteriologico del rio Tambo, provincia de Islay, region de Arequipa. tesis de grado. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustin, Biologia; 2008.
44. Graniel E, Carril M. Calidad del rio Zanatenco en el estado de Chiapas. FI-UADY. 2012 Diciembre; x(17).
45. Palacios B. Determinacion de la calidad bacteriologica del agua para consumo en comunidades de Ilave-Puno. tesis de grado. Arequipa: Universidad Nacaional de San Agustin , Biologia; 1989.
46. Paz M, Barzola C. Colifagos como indicadores de contaminacion fecal y de remocion bacteriana en la potabilizacion del agua. Peru BIOL. 2005 Julio - Diciembre; X(2).
47. Arce M. Estudio bacteriologico del Afluente y Efluente en la planta de tratamiento Chilpina. tesis de grado. Arequipa: Universidad Nacional San Agustin, Biologia; 2007.

48. Caceda M. Coliformes totales, termotolerantes y E. coli en relacion ala temperatura, pH y Demanada Bioquimica de Oxigeno en la playa de Puerto Malabrigo. tesis grado. Trujillo: Universidad Nacional de Tujillo, Biologia; 2017.
49. Romero B. Concentracion de coliformes totales, fecales y E.coli en agua de mar de la playa Salaverry. tesis de grado. Trujillo: UNT , Biologia; 2016.
50. Oblitas Y, Torres L. Identificacion de coliformes totales y fecales aisladas del agua potable del distrito de Cajamarca. tesis de grado. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo , Biologia; 2016.
51. Aurazo M. CEPIS /OPS. [Online]. Lima; 2004 [cited 2018 Agosto 14]. Available from: <http://www.elaguapotable.com/manual%20analisis%20basicos%20CA.pdf>.
52. Acton A. Klebsiella pneumoniae, New Insights for the Healthcare Professional. primera ed. Boston: Scholarly Brief; 2013.
53. Tennoe M. Enterobacter aerogenes. segunda ed. Henssonov S, editor. Atlanta: Betascript Publishing; 2011.
54. Engelkirk P. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Primera ed. Montalbano J, editor. Belton, Texas: Wolkers Kluwer Heath; 2008.
55. Dworking M, Falkow S. The Prokaryotes. segunda ed. Stackebrandt E, editor. Minnesota, USA: Springer; 2006.
56. Crawford S. Scientist Direct. [Online].; 2014 [cited 2018 setiembre 5]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/citrobacter>.
57. American Public Health Association. Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. 2017. Edicion 23 RD.
58. Carrillo E, Lozano A. Validacion del Metodo de Deteccion de Coliformes totales y fecales en Agua Potable utilizando Agar Chromcult. tesis de grado. Bogota: Pontificia Universidad Javeriana, Microbiologia industrial; 2008.

59. Portal del Estado Peruano. Portal del Estado Peruano Web site. [Online].; 2018 [cited 2018 Abril 6]. Available from: [http://www.peru.gob.pe/directorio/pep\\_directorio\\_detalle\\_institucion.asp?cod\\_institucion=10543&cod\\_poder=5](http://www.peru.gob.pe/directorio/pep_directorio_detalle_institucion.asp?cod_institucion=10543&cod_poder=5)
60. Conferencia Episcopal. Iglesia Católica Web site. [Online].; 2018 [cited 2018 Agosto 5] Available from: [https://web.archive.org/web/20110722174033/http://www.iglesiacatolica.org.pe/cep/map\\_je\\_nondetail.htm#](https://web.archive.org/web/20110722174033/http://www.iglesiacatolica.org.pe/cep/map_je_nondetail.htm#)
61. Becton, Dickinson Company. Manual of Microbiological Culture Media. Segunda ed. Jo Zimbo M, Power D, Miller S, Wilson G, Johnson J, editors. Sparks, MD: 7 Loverton Circle; 2009.





# ANEXOS

**ANEXO 01**

**FORMATO PARA LA ETIQUETA EN EL MUESTREO**

SOLICITANTE:
LUGAR DE PROCEDENCIA:
PUNTO DE MUESTREO:
FECHA:
NOMBRE DEL ANALISTA:
ORIGEN DE LA MUESTRA:
N° DE MUESTRA:
HORA DE MUESTREO:
OBSERVACIONES:

**ANEXO 02**

**TABLA DE RESULTADOS PARA AGUA POTABLE (Standard Methods, 2017)**

Índice de NMP y Límites de Confianza al 95% para todas las combinaciones de Resultados positivos y negativos cuando se usan porciones de 10 ml.

No. De tubos positivos	Índice de NMP/ 100 ml	Límites de Confianza al 95%	
		BAJO	ALTO
0	<1.1	-----	3.4
1	1.1	0.051	5.9
2	2.2	0.37	8.2
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.8	34
9	23	8.1	53
10	>23	13	-----

## ANEXO 03

### COMPOSICION Y PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO (DIFCO 2009)

#### 1.- CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSA

Medio de cultivo selectivo para el ensayo previo orientativo de Coliformes y para el enriquecimiento selectivo de los mismos, en la investigación de aguas, productos lácteos y alimentarios<sup>61</sup>.

#### FUNDAMENTO

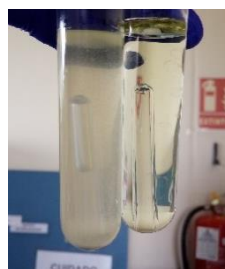
Debido a su elevada calidad nutritiva y al tampón de fosfato que contiene este medio de cultivo. Se garantiza el rápido crecimiento y la intensa formación de gas incluso para fermentadores lentos de lactosa. La formación de gas deberá ser medida por campanas de fermentación. La presencia de lauril sulfato inhibe el crecimiento de la flora acompañante no deseable<sup>61</sup>.

#### FORMULA (g/litro)

• Triptosa.....	20.0 g
• Lactosa.....	5.0 g
• Cloruro sódico.....	5.0 g
• Laurilsulfato, sal sódica.....	0.1 g
• Fosfato dipotásico.....	2.75 g
• Fosfato potásico.....	2.75 g

#### PREPARACION

Disolver 35.5 g en un litro de agua destilada, dejar que rompa ebullición por no más de tres veces. Distribuir 10 ml en tubos de ensayo, provistos de campanas de Durham y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C)<sup>61</sup>.



De izquierda a derecha, reacción positiva para primer tubo y reacción negativa para el siguiente.

## 2.- CALDO VERDE BRILLANTE

Medio de cultivo para el enriquecimiento selectivo y numeración de Coliformes totales en aguas, leche, alimentos. Por el método del Numero Más Probable<sup>61</sup>.

### FUNDAMENTO

En este medio de cultivo, la peptona aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano, la bilis y el verde brillante, son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de las bacterias Gram positivas y Gram negativas menos las Coliformes y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable<sup>61</sup>.

Es una propiedad del grupo Coliforme, la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas<sup>61</sup>.

### FORMULA (g/L)

- Bilis de buey deshidratado ..... 20.0 g
- Lactosa..... 10.0 g
- Peptona ..... 10.0 g
- Verde brillante ..... 0.01 g

### PREARACION

Suspender 40 gramos en un litro de agua purificada, disolver y distribuir 10 ml por tubo con campana de Durham. Calentar hasta romper ebullición por tres veces como máximo, autoclavar (15 min. a 121°C)<sup>61</sup>.



De izquierda a derecha, reacción positiva para el primer tubo, reacción negativa para el siguiente

### 3.-CALDO EC

Medio utilizado para el recuento de Coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua<sup>61</sup>.

#### FUNDAMENTO

Medio recomendado por Hajna y Perry, para el recuento de coliformes en alimentos. En el medio de cultivo la tripteina es la fuente de péptidos, aminoácidos y nitrógeno. La lactosa es el hidrato de carbono fermentable y favorece el desarrollo de bacterias coliformes, las sales biliares inhiben el crecimiento de la flora acompañante Gram positiva, las sales de fosfato. Constituyen un sistema buffer que impide que los productos ácidos originados por la fermentación de la lactosa afectan el crecimiento microbiano y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico<sup>61</sup>.

#### FORMULA (g/L)

• Tripteina.....	20.0 g
• Lactosa.....	5.0 g
• Sales biliares N° 3.....	1.9 g
• Fosfato dipotasico.....	4.0g
• Fosfato monpotasico.....	1.5g
• Cloruro de sodio.....	5.0g
• pH final .....	6.9

#### INSTRUCCIONES

Suspender 37.4 g del polvo en un litro de agua purificada. dejar reposar minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición para su total disolución. Distribuir en tubos de ensayo que contengan campanas de Durham. Esterilizar en autoclave 121°C durante 15 minutos<sup>61</sup>.



De izquierda derecha, reacción positiva para el primer tubo, negativa para el segundo.

#### 4.-AGAR EMB (Eosina Azul de metileno)

Este medio de cultivo se utiliza para aislamiento selectivo de bacterias Gram negativas, de rápido crecimiento y escasas exigencias nutricionales, permite el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacteriaceae<sup>61</sup>.

#### FUNDAMENTO

Es nutritivo por la presencia de peptona que favorece el desarrollo microbiano. La diferencia entre los microorganismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellas que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores de Eosina y Azul de metileno; estas ejercen efecto inhibitorio sobre una amplia variedad de bacterias Gram positivas<sup>61</sup>.

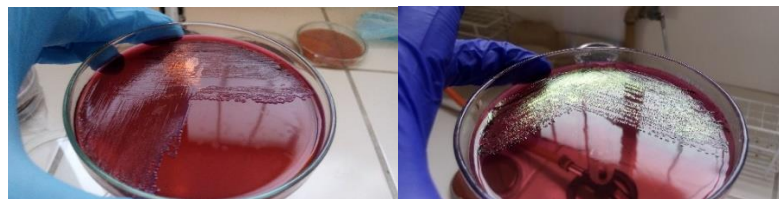
Muchas cepas de *E.coli* y *Citrobacter spp*, presentan un característico brillo metálico, las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosad, mientras que las que no lo hacen son incoloras<sup>61</sup>.

#### FORMULA (g/ L)

Peptona.....	10.0 g
Lactosa.....	5.0 g
Fosfato dipotasico.....	2.0 g
Eosina.....	0.4 g
Azul de metileno.....	0.065 g
Agar.....	13.5 g
pH final	7.2

#### INSTRUCCIONES

Suspender 36 g del polvo en un litro de agua destilada. Reposar 5 minutos calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta la disolución total. Esterilizar en autoclave 121°C durante 15 minutos<sup>61</sup>.



De izquierda a derecha, organismo no fermentador y organismo fermentador de lactosa

## 5.-TRIPLE SUGAR IRON (TSI)

### FUNDAMENTO

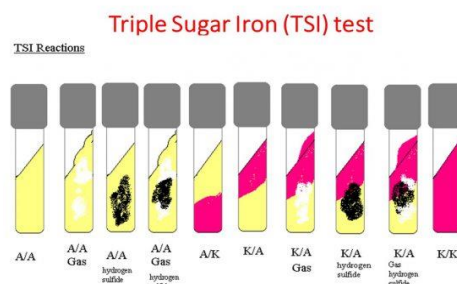
La degradación del azúcar con formación de ácido se manifiesta por un cambio de color del indicador rojo de fenol que vira de anaranjado-rojizo a amarillo, o por un viraje a rojo intenso en caso de alcalinización. El tiosulfato es reducido por algunos gérmenes a ácido sulfhídrico, el cual reacciona con la sal férrica. Produciendo sulfuro de hierro de color negro<sup>61</sup>.

### FORMULA (g/ L)

• Peptona de carne.....	5.0 g
• Extracto de levadura.....	3.0g
• Peptona de caseína.....	15.0g
• Extracto de carne.....	3.0 g
• Lactosa.....	10.0 g
• Sacarosa.....	10.0 g
• Glucosa.....	1.0 g
• Cloruro de sodio.....	5.0 g
• Tiosulfato de sodio.....	0.3 g
• Agar agar.....	12.0 g
• Rojo fenol.....	0.024 g

### INSTRUCCIONES

Disolver 65 g/L, hervir hasta su completa disolución y ajustar a pH 7.4, llevar a autoclave a 121°C por 15 minutos y distribuir en tubos inclinados formando pico flauta<sup>61</sup>.



Posibles reacciones en el medio TSI

**Fuente:** <http://www.biologypractical.com/tsi-triple-sugar-iron-test-objectiveprinciple>.

## 6.- AGAR LISINA-HIERRO (LIA)

Agar de ensayo para la demostración simultanea de lisina descarboxilasa (LD) y la formación de ácido sulfhídrico para la identificación de Enterobacterias, sobre todo Salmonella y Arizona<sup>61</sup>.

### FUNDAMENTO

La lisina puede ser descarboxilada por microorganismos LD-positivos, que la transforman en la amina Cadaverina. Esto produce un viraje al violeta del indicador de pH purpura de bromocresol puesto que la descarboxilación solo tiene lugar en medio acido, es necesario que se produzca previamente la acidificación del medio de cultivo, por fermentación de la glucosa<sup>61</sup>.

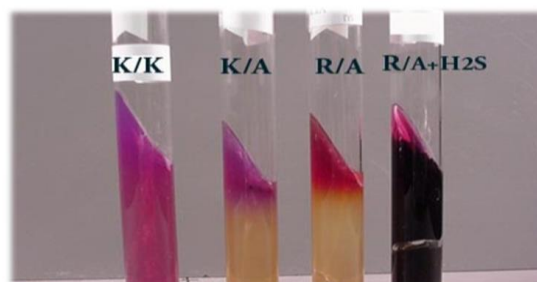
### FORMULA (g/L)

• Peptona de carne.....	5.0 g
• Extracto de levadura.....	3.0 g
• Glucosa.....	1.0 g
• Tiosulfato de sodio.....	0.04 g
• Purpura de bromocresol.....	0.02 g
• Agar agar.....	12.5 g
• L-lisina monoclrorhidrato.....	10.0 g
• Citrato de amonio y hierro(III).....	0.5 g

### INSTRUCCIONES

Disolver 32 g en un litro, hervir hasta su completa disolución, ajustar el pH a 6.7 y llevar a autoclave a 121°C por 15 minutos<sup>61</sup>.

#### LYSINE IRON AGAR (LIA)



Posibles resultados en siembra del agar LIA

**Fuente:** <http://dianayjulian.galeon.com/bioquimicas.htm>

## 7.- AGAR CITRATO SEGÚN SIMONS

Agar de ensayo, totalmente sintético para la identificación de microorganismos, especialmente de Enterobacterias y ciertos hongos, basados en el empleo de citrato como única fuente de carbono<sup>61</sup>.

### FUNDAMENTO

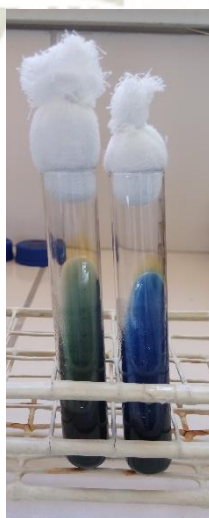
La degradación del citrato por los microorganismos da lugar a una alcalinización del medio de cultivo, lo que se manifiesta por un viraje a azul oscuro del indicador azul de bromotimol<sup>61</sup>.

### FORMULA (g/L)

• Fosfato amónico.....	1.0 g
• Fosfato dipotasico.....	1.0 g
• Cloruro de sódico.....	5.0 g
• Citrato sódico.....	2.0g
• Sulfato de magnesio.....	0.2 g
• Azul de bromotimol.....	0.08 g
• Agar agar.....	13.0 g

### INSTRUCCIONES

Disolver 22.5 g en un litro de agua destilada, esterilizar en autoclave (15 minutos a 121°C) y preparar tubos inclinados, el agar es de color verde pH 6.6<sup>61</sup>.



De izquierda a derecha, resultado negativo primer tubo, positivo para el segundo

## 8.- AGUA PEPTONADA (INDOL)

Medio utilizado como diluyente y para el enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de importancia sanitaria<sup>61</sup>.

### FUNDAMENTO

Medio enriquecido no selectivo, en el cual la peptona proporciona nutrientes necesarios para el desarrollo microbiano y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Permite recuperar células de Enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos a los que ha sido sometido el alimento<sup>61</sup>.

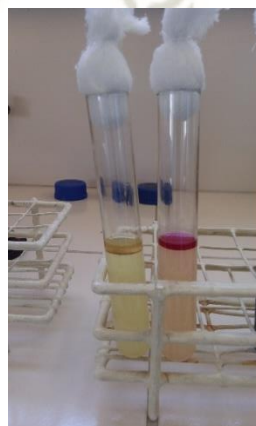
Además, puede ser utilizado como diluyente de muestras en reemplazo de la solución fisiológica y como medio base para la fermentación de hidratos de carbón. En este último caso se debe adicionar el indicador de Andrade y el hidrato de carbono en cuestión en concentración final al 1%<sup>61</sup>.

### FORMULA ( g/ L )

- |                         |        |
|-------------------------|--------|
| • Peptona de carne..... | 10,0 g |
| • Cloruro de sodio..... | 5,0 g  |
| • pH final              | 7,2    |

### INSTRUCCIONES

Suspender 15 gramos del polvo en un litro de agua destilada. Mezclar calentando, hasta ebullición durante un minuto. Distribuir en recipientes apropiados. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos<sup>61</sup>.



De izquierda a derecha, negativo para indol y positivo para indol

**Fuente:** elaboración propia

## ANEXO 04

### NORMAS BACTERIOLÓGICAS DE LAS AGUAS SEGÚN SUS USOS

Reglamento de la calidad del Agua para consumo Humano: D.S. 031-2010-SA. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental- Lima: Ministerio de Salud 2011, no solo establece límites máximos permisibles en lo que a parámetros microbiológicos, parasitológicos, organolépticos, químicos orgánicos e inorgánicos y parámetros radioactivos, se refiere sino también le asigna nuevas y mayores responsabilidades a los Gobiernos Regionales, respecto a la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano, además de fortalecer a la DIGESA, en el posicionamiento como Autoridad Sanitaria frente a estos temas.

#### LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS Y PARASITOLÓGICOS

Parámetros	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1. Bacterias Coliformes Totales.	UFC/100 mL a 35°C	0 (*)
2. E. Coli	UFC/100 mL a 44,5°C	0 (*)
3. Bacterias Coliformes Termotolerantes o Fecales.	UFC/100 mL a 44,5°C	0 (*)
4. Bacterias Heterotróficas	UFC/mL a 35°C	500
5. Huevos y larvas de Helmintos, quistes y ooquistes de protozoarios patógenos.	Nº org/L	0
6. Virus	UFC / mL	0
7. Organismos de vida libre, como algas, protozoarios, copépodos, rotíferos, nemátodos en todos sus estadios evolutivos	Nº org/L	0

UFC = Unidad formadora de colonias

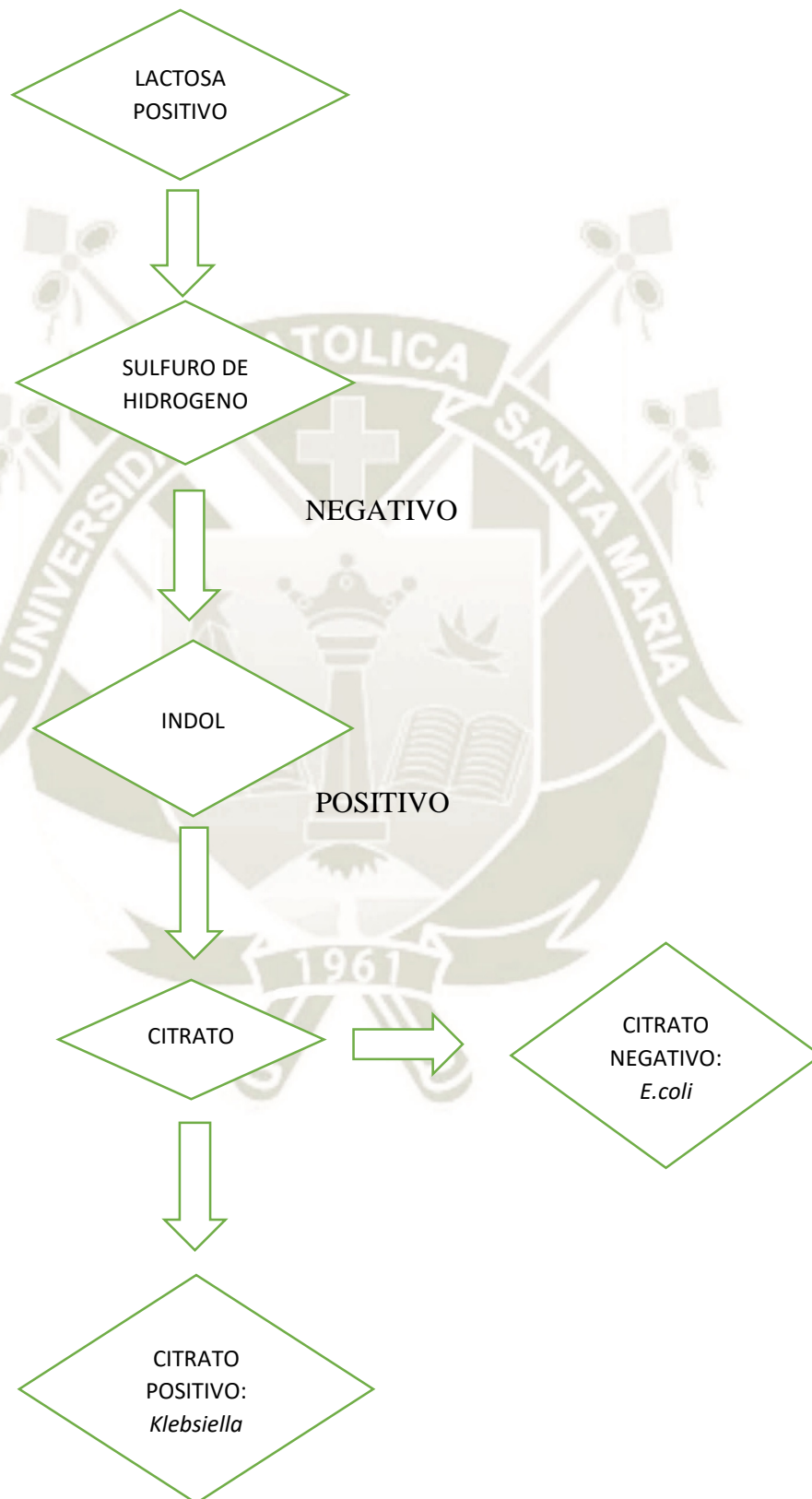
(\*) En caso de analizar por la técnica del NMP por tubos múltiples = < 1,8 /100 ml

Disponible:

[http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Reglamento\\_Calidad\\_Agua.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Reglamento_Calidad_Agua.pdf)

ANEXO 05

FLUJOGRAMA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *E.coli* y *Klebsiella*



## ANEXO 06

### PUNTOS DE MUESTREOS EN LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUA



Caseta de cloración externamente



Caseta de cloración por dentro



Caseta de cloración por dentro



Reservorios R1, R2 y R3 de izquierda a derecha



Reservorio R3



Muestreo reservorio R1



Muestreo reservorio R2



Muestreo reservorio R3



## ANEXO 07

### MUESTREO EN DOMICILIOS, MATERIALES Y MEDIOS DE CULTIVO



Muestreo en colegio San Luis Gonzaga, Chuquibamba



Muestreo en instituto superior de Chuquibamba



Muestreo en instituto superior de Chuquibamba (por fuera)



(A)



(B)



(C)

- A. Muestreo en domicilio
- B. Muestreo en domicilio
- C. Muestreo en domicilio



Medios para las fases presuntiva y confirmatoria



Material para el desarrollo del metodo SMEWW



Contenedor isotermico (cooler)



(A)



(B)

A. Incubadora de calor seco, 44.5°C ( fuera)

B. Incubadora de calor seco, 44.5°C (dentro)



(A)



(B)

A. Incubadora de calor seco, 37°C ( fuera)

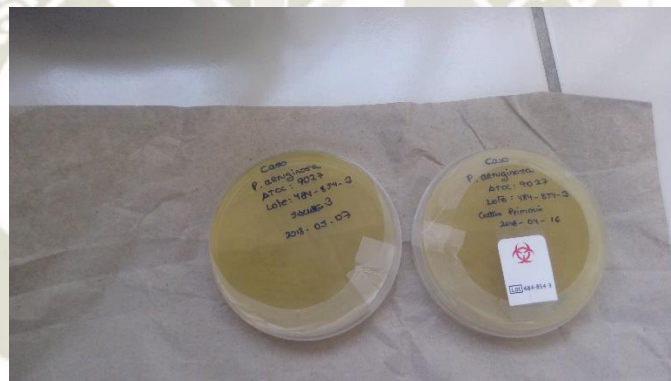
B. Incubadora de calor seco, 37°C (dentro)

## ANEXO 08

### CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS, FASE PRESUNTIVA Y CONFIRMATORIA DE BACTERIAS COLIFORMES



Bacterias *E. coli* ATCC, para control de calidad de los medios



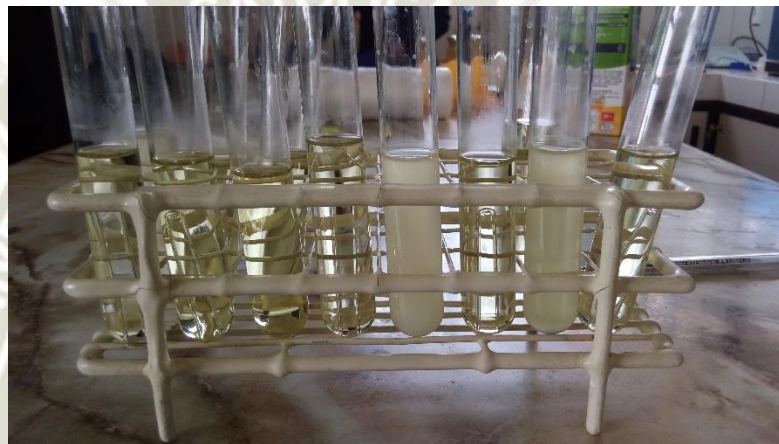
Bacterias *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, para control de calidad de los medios



Resultados positivos y negativos de la siembra en CLST



Tubos positivos y negativos en CVBB



Tubos positivos y negativos en Caldo EC



Resultado de la siembra en Agar EMB, de izquierda a derecha: *Klebsiella pneumoniae*,  
*E. coli* y Blanco