

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA.

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica.



**“CONTROL BACTERIOLÓGICO POR EL MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA
PARA EL EXAMEN DEL AGUA SUBTERRÁNEA, POTABLE Y SUBTERRÁNEA - POTABLE
DE USO DIARIO DEL HOSPITAL CÍVICO POLICIAL “JULIO PINTO MANRIQUE”- XI
DIRTEPOL – AREQUIPA. MAYO – AGOSTO 2012.”**

**PRESENTADO POR EL BACHILLER
EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA:
MENDOZA LEÓN, JOHOÉ DANIEL.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

ASESOR(A):

**Q.F.JAVE MÁRQUEZ, JESÚS
MERCEDES.**

Arequipa – Perú

2013.

DEDICATORIA

Dedico el siguiente Proyecto de Investigación:


A Dios Padre; Al Señor De Luren De Ica cuya imagen representa a Jesucristo Rey Divino; a la Virgencita De Chapí De Arequipa, quien vela por mí como una madre espiritual, y me ha escuchado en los momentos más difíciles que he pasado estando lejos de casa y sé que me dará fuerzas, y mucho ánimo para seguir siempre adelante.

A mis padres, es especial a mi madre Luisa Cristina; quien me supo enseñar muchas cosas importantes que practico hoy en mi vida diaria, e inculcarme con el ejemplo que todo sacrificio que uno realiza, significa demostrar el amor a quienes amas, para que ellos puedan cumplir sus metas y sueños; además de proporcionarme fuerzas día a día, para nunca rendirme y enfrentar los obstáculos de la vida con orgullo, y dignidad.

A mi hermana Erika Roxana y sobrina Luisa Fernanda; por siempre brindarme amor y cariño en los buenos y malos momentos, comprenderme, escucharme, y dar FE que no importa lo poco o mucho que uno puede tener o compartir, si es que se hace con toda la voluntad en el calor del hogar que solo te puede brindar tu familia.


AGRADECIMIENTO

Agradezco a la “Universidad Católica De Santa María” de Arequipa; y a su vez a la “Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas”; por permitirme recorrer sus aulas y convertirse en mi Alma Mater de estudios.



Un agradecimiento a mi asesora Dra. Mercedes Jave Márquez, por sus consejos, apoyo, sabiduría y comprensión, en la concepción ardua y larga de este proyecto de tesis.

A mis jurados: Dr. Alberto Briseño Ortega; Blgo. Carlos Eitel paz Aliaga; Dra. Yenny López Valencia; por sus correcciones, y aportes para el mejoramiento de está investigación.



Al Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique” - XI DIRTEPOL – Arequipa, en especial al Ing. Javier Castro Sonco, por todas las atenciones, y aportes en la elaboración de este proyecto de investigación.

Sin olvidar a la:
Blga. Roció Rodríguez; y al Q.F Ricardo Abril; quienes fueron de gran ayuda con su sapiencia, para seguir adelante con mi investigación.

A Todos Muchas Gracias.

Johoé Daniel.

ÍNDICE

	Pág.
CAPITULO I.	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	6
HIPÓTESIS	8
OBJETIVOS	9
CAPITULO II	10
MARCO TEORICO	
1.- EL AGUA	11
1.1 Propiedades físico químicas del agua.	12
1.1.1.- Composición química.	“
1.1.2.- Propiedades físico químicas del agua de mayor relevancia.	13
2.- PROBLEMÁTICA Y ROL SANITARIO DEL AGUA.	16
3.- CLASES DE AGUAS.	18
3.1.- Según sus propiedades para el consumo.	“

3.1.1.- Agua no potables.	“
3.2.- Según la cantidad de minerales que tengan disueltos.	“
3.2.1.- Aguas duras.	“
3.2.2.- Aguas blandas.	19
3.3.- Según la procedencia de las aguas.	“
3.3.1.- Aguas superficiales.	“
3.3.2.- Aguas subterráneas.	20
3.4.- Otros tipos de agua y uso en el sector de la salud y según necesidades y uso adecuado en los laboratorios.	22
3.4.1.- Agua purificada y uso en el sector de la salud.	23
3.4.2.- Según necesidades y uso adecuado en los laboratorios. - NP-ISO 3696: 2004; “ISO -Organización Internacional para la Estándarización”.	“
4.- IMPORTANCIA DE LA MICROBIOLOGÍA EN LA VIGILANCIA SANITARIA, CON RESPECTO A LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO VINCULADA A LA PROBLEMÁTICA DEL PERÚ Y DE LA CIUDAD DE AREQUIPA.	24
5.- FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA ALTERACION DE TIPO BACTERIOLOGICO EN EL AGUA.	29
5.1.- En el aire.	“
5.2.- En el agua y suelo.	“
6.- FACTORES QUE POSIBILITAN O DIFICULTAN EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN EL AGUA.	30
6.1 Factores intrínsecos.	“

6.2 Factores extrínsecos.	“
6.3 Factores implícitos.	“
6.4 Factores de especial relevancia.	“
6.5 Grupos de gérmenes según sus temperaturas cardinales.	“
6.6 Fases del crecimiento bacteriano.	32
6.1.1 Fase de latencia.	“
6.1.2 Fase logarítmica o exponencial.	“
6.1.3 Fase estacionaria.	“
6.1.4 Fase de declive.	“
7.- EL CLORO Y EL pH EN EL AGUA.	34
7.1 El cloro.	“
7.2 Reacción del cloro en el agua.	35
7.3 Diferentes formas de cloro en el agua.	36
7.3.1 Cloro Residual Libre. (CRL).	“
7.3.2 Cloro Residual Combinado (CRC)	“
7.3.3 Cloro Total (CT).	37
7.4 Mecanismo de acción del cloro.	“
7.5 Efectos del cloro en la salud.	“
7.6 EL pH.	38
7.7 Efecto del pH en el agua Subterránea, Potable, Subterránea - Potable de uso diario del HOSPITAL CÍVICO POLICIAL “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – AREQUIPA.	39
A. pH en concentraciones de nivel alto (>8,5).	“
B. pH en concentraciones de nivel bajo (<6,5).	“

7.8. Cuadro Porcentual Del Cloro Activo En Función Del pH.	“
8.- MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA.	40
8.1 Fundamento del método de filtración por membrana.	“
8.2 Característica del filtro de membrana.	41
8.3 Ventajas y desventajas del método de filtración por membrana.	“
9.- MÉTODO FOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACION DE CLORO RESIDUAL LIBRE (CRL).	42
9.1 Fundamento del método fotométrico.	“
9.2 Ventajas del método fotométrico.	44
10. INDICADORES BACTERIOLOGICOS DE CONTAMINACION EN EL AGUA.	“
10.1 Introducción.	“
10.2 Requerimiento de un indicador de contaminación.	45
10.3. Valor de un indicador.	46
10.4 Bacterias.	“
10.4.1. Bacterias Gram Positivas.	47
10.4.2. Bacterias Gram Negativas.	48
10.5. Indicadores Bacteriológicos	49
10.5.1. Coliformes fecales.	“
10.5.1.1. Características.	“
10.5.1.2. Identificación en el laboratorio.	50
A.- <i>Eschericha.</i>	“
B.- <i>Klebsiella.</i>	“

C.-Enterobacter.	51
10.5.1.3. Enfermedades.	“
10.5.2. Escherichia coli.	“
10.5.2.1. Características.	“
10.5.2.2. Identificación en el laboratorio.	52
10.5.2.3. Enfermedades.	“
10.5.3. Enterococcus faecalis (Streptococcus faecalis).	53
10.5.3.1. Características.	“
10.5.3.2. Identificación en el laboratorio.	54
10.5.3.3. Enfermedades.	“
10.5.4. Staphylococcus aureus.	“
10.5.4.1. Características.	“
10.5.4.2. Identificación en el laboratorio.	55
10.5.4.3. Enfermedades.	“
10.5.5. Salmonella spp.	56
10.5.5.1. Características.	“
10.5.5.2. Identificación en el laboratorio.	“
10.5.5.3. Enfermedades	“
10.5.6. Pseudomonas aeruginosa	57
10.5.6.1. Características.	“
10.5.6.2. Identificación en el laboratorio.	58
10.5.6.3. Enfermedades	“
11.- REGLAMENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO DS N° 031-2010-SA. DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD AMBIENTAL -- MINISTERIO DE SALUD. LIMA –PERÚ 2010.	59
- TÍTULO IX. REQUISITOS DE CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO.	“

B.3 Muestreo de Agua Potable- Subterránea.	72
C.- Del muestreo.	74
Cuadro A. Muestreos para el control bacteriológico del agua Subterránea, potable, y Subterránea - Potable de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.	“
D.- Del Transporte De La Muestra.	76
7.2.2. Procesamiento de muestras.	“
7.1.2.1. Método de filtración por membrada para la determinación cualitativa de indicadores bacteriológicos.	“
7.1.2.2. Identificación de Coliformes fecales.	80
7.1.2.3. Identificación de <i>Escherichia coli</i>.	81
7.1.2.4. Identificación de <i>Enterococcus faecalis</i>	82
7.1.2.5. Identificación de <i>Salmonella spp.</i>	83
7.1.2.6. Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>.	85
7.1.2.7. Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	86
7.2 MÉTODO para la determinación de CLORO RESIDUAL LIBRE (CRL) y pH.	87
7.2.1. Recolección de las muestras.	“
A.- De los Envases.	“
B.- De la Toma De Muestra.	88
B.1 Muestreo de Agua Subterránea	“
B.2 Muestreo de Agua Potable.	“
B.3 Muestreo de Agua Potable- Subterránea.	“
C.- Del muestreo.	89
CUADRO B. Muestreos para la medición de Cloro Residual Libre (CRL) y de pH, del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.	“
7.2.2. Procesamiento de muestras.	91

7.2.2.1. Determinación de Cloro Residual Libre (CRL).	
7.2.2.2. Determinación de pH.	93
8. METODO ESTADÍSTICO.	94
CAPITULO IV.	95
RESULTADOS Y DISCUSIONES.	“
RESULTADOS.	96
DISCUSIONES.	104
CAPITULO V.	143
CONCLUSIONES.	144
SUGERENCIAS.	146
BIBLIOGRAFIA.	147
ANEXOS.	153

RESUMEN

La calidad de vida de las personas, es refleja en servicios primarios y secundarios, alcanzados a través de derechos y deberes, en el marco de una sociedad determinada, siendo el eslabón fundamental de está cadena la **Salud** de los individuos, la cual es dependiente en gran medida del **Agua** que utilizan en sus actividades diarias. Y siendo los nosocomios establescimientos públicos de salud, son sometidos a la demanda exigente y creciente de la población, convirtiéndose en candidatos oportunos para ser sometidos a evaluaciones sanitarias.

En el presente trabajo de investigación se realiza una evaluación bacteriológica sanitaria y un análisis de los parámetros de desinfección del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – potable, cuya mezcla de ambas es utilizada como agua en calidad de naturaleza “Potable” en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique” - XI DIRTEPOL – Arequipa. Se evaluó los tres tipos de agua anteriormente mencionadas independientemente cada una de su lugar de muestreo, agrupadas en dos grupos de muestreo Grupo I (Mayo y Junio), y Grupo II (Julio y Agosto) del 2012, haciendo un total de 28 muestreos incluyendo 84 sub ensayos para cada tipo de agua, la recolección de las muestras se realizo entre las 5am y 6am, bajo condiciones y parámetros específicos de acuerdo, a la normativa sanitaria y parámetros de la calidad vigente en nuestro país.

Los parámetros bacteriológicos a buscar fueron: Coliformes Totales, de los cuales se halló: “*Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*”; Coliformes fecales, donde se encontró: “*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*”; patógenos oportunistas “*Pseudomona aeruginosa*”; de vida libre “*Staphylococcus aureus*”; y “*Salmonella spp*”, como microorganismo epidemiológico desencadenante; se determino por ausencia en 100 ml. A su vez los parámetros de desinfección analizados fueron: La concentración de Cloro Residual Libre (CRL) de 0.0 a 0.5 mg/l ppm, y valores de pH de 6.5 a 8.5; parámetros establecidos en el DS N° 031-2010-

SA. “Reglamento Sanitario De Agua Potable”, de carácter vigente en nuestro país. Para la evaluación bacteriológica se utilizó el método de filtración por membrana y posterior identificación de los indicadores bacteriológicos mediante las pruebas microbiológicas y bioquímicas. Para la medición del Cloro Residual Libre, se utilizó el Fotómetro Digital HI - 701 y para la medición del pH se utilizó el pHmetro Digital HI-98107.

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que: No cumplen con los parámetros bacteriológicos establecidos, a lo largo del proceso de investigación, el punto de muestreo A. correspondiente al agua Subterránea, el punto de muestreo C. correspondiente al agua Subterránea – Potable, y el punto de muestreo B. correspondiente al agua Potable, cumple en un 85.71%, de la cantidad de veces que fue analizado, creyendo así que el 14.29%, de su incumplimiento se deba a sus malas condiciones de almacenamiento, de tal manera de los resultados bacteriológicos obtenidos de forma positiva, se concluye en la presencia del grupo de los Coliformes Totales, de los cuales se hallaron: “*Enterobacter aerogenes* 9%, *Enterobacter cloacae* 22%, *Klebsiella pneumoniae* 5%”; además se noto presencia de Coliformes fecales de los cuales se determino presencia de: “*Escherichia coli* 33%, *Enterococcus faecalis* 16%”; además un 10% pertenece a patógenos oportunistas como “*Pseudomona aeruginosa*”; el 5% a microorganismos de vida libre como el “*Staphylococcus aureus*”, no se encontró “*Salmonella spp*”, comprobándose así que la contaminación de origen fecal del agua Subterránea conlleva a la contaminación del agua Subterránea – Potable, que fueron obtenidas de sus lugares específicos de recolección.

Finalmente con Respecto a los valores de cloro residual libre (CRL), solo el punto de muestreo B. correspondiente al agua Potable, cumple con los parámetros establecidos de desinfección. Con respecto al pH, los tres puntos de muestreo A, B, C, correspondiente al agua Subterránea, Potable, y Subterránea – potable respectivamente, cumplen los valores establecidos en la normativa vigente.

ABSTRACT

The quality of life of people, is reflected in primary and secondary services, achieved through rights and duties within the framework of a given society, being the vital link in this chain the health of individuals, which is dependent on Water heavily used in their daily activities. And being the hospitals public health facilities are subjected to demanding and growing demand of the population, making appropriate candidates to undergo health assessments.

In the present research work assesses health and bacteriological analysis of water disinfection parameters Groundwater, Drinking and Groundwater - water, whose mix of both is used as water nature as "Potable" Civic Hospital police "Julio Pinto Manrique" - XI DIRTEPOL - Arequipa. We evaluated the three types of water above independently each sampling place, grouped into two sample groups Group I (May and June), and Group II (July and August) of 2012, making a total of 28 samples including sub 84 trials for each type of water sample collection was done between 5am and 6am, under specific conditions and parameters according to health standards and quality parameters in force in our country.

Bacteriological parameters to search were: total coliforms, which was found: "*Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*", Fecal Coliform, where it was found: "*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*;" opportunistic pathogens "*Pseudomonas aeruginosa*", of free life "*Staphylococcus aureus*" and "*Salmonella spp*" as trigger epidemiological microorganism, was determined by the absence in 100 ml. In turn disinfection parameters analyzed were: Free Residual Chlorine concentration (CRL) of 0.0 to 0.5 mg / l ppm, and pH values of 6.5 to 8.5; parameters of Supreme Decree No. 031-2010-SA. "Drinking Water Health Regulations", of a force in our country. For bacteriological evaluation method was used for membrane filtration and subsequent identification of the bacterial indicators by microbiological and biochemical tests. For the measurement of Free Residual Chlorine was used Digital

Photometer HI - 701 and for the measurement of pH was used Digital pH meter HI-98107.

From the results obtained, one can conclude that: Do not meet bacteriological parameters established during the research process, the sampling point A. Underground water corresponding to the sampling point C. Water for Groundwater - Drinking, and the sampling point B. Potable water for, meets on a 85.71%, of the amount of times it was used, believing so the 14.29%, its failure is due to their poor storage conditions, is concluded in the presence of Total Coliforms group, which were found: "*Enterobacter aerogenes* 9%, *Enterobacter cloacae* 22%, *Klebsiella pneumoniae* 5%"; also was noted Fecal Coliform presence of which was determined the presence of: "*Escherichia coli* 33%, *Enterococcus faecalis* 16% ", plus 10% belongs to opportunistic pathogens as "*Pseudomonas aeruginosa*", 5% free-living microorganisms as "*Staphylococcus aureus* " not found " Salmonella "and found so the Faecal contamination Underground water leads to water pollution Groundwater - Drinking, which were obtained from their specific site collection.

Finally with regard to the values of free residual chlorine (CRL), only the sample point B. Potable water for the meets the parameters established for disinfection. With respect to pH, the three sampling points A, B, C, corresponding to water Groundwater, Drinking and Groundwater - Drinking respectively, meet the values set in the legislation.

INTRODUCCION.

El agua en la actualidad sigue siendo sinónimo de vida y de trascendental importancia para la humanidad, con el tiempo su distribución y la falta de la misma por diversos factores, en especial por la demanda creciente y permanente de la población en sus actividades cotidianas, nos lleva a la impetuosa y justificada necesidad de realizar evaluaciones bacteriológicas así como del grado de desinfección utilizado en ellas más aún cuando el agua es destinada a un uso potable de un nosocomio, siendo la primera condición estar libre de microorganismos patógenas (Indicadores Bacteriológicos) capaces de afectar la salud de los pacientes, y del personal poniendo en riesgo la Salud Pública de una comunidad, A la vez de controlarse que los métodos y la calidad de desinfección, no den lugar a trastornos o molestias, por una mala utilización o dosificación.

De ahí la impetuosa necesidad de la revisión y evaluación de los parámetros anteriormente mencionados, cumpliendo con los parámetros establecidos en Publicaciones y normas Internacionales y Nacionales como los reflejados en organismos como: La OMS, Organización Mundial De La Salud, y la FAO, (Organización De Las Naciones Unidas Para La Alimentación Y La Agricultura), en un esfuerzo mutuo Publicaron en 1972, “International Standars for drinking water”; “Normas internacionales para el agua potable”, con los que se introdujeron criterios bacteriológicos de calidad de agua potable según su procedencia, pero es que en el año 1984, la OMS publicó las “Guías para la calidad del agua potable”, en tres volúmenes separados. El tercer volumen titulado “Guías para el control de calidad del agua potable en sistemas que abastecen a pequeñas comunidades”, analiza específicamente el problema de las pequeñas localidades, principalmente las localizadas en las zonas sub urbanas y rurales. Mientras en nuestro contexto nacional al actualizarse y mejorarse con éxito el: “Reglamento de los Requisitos Oficiales Físicos, Químicos y Bacteriológicos

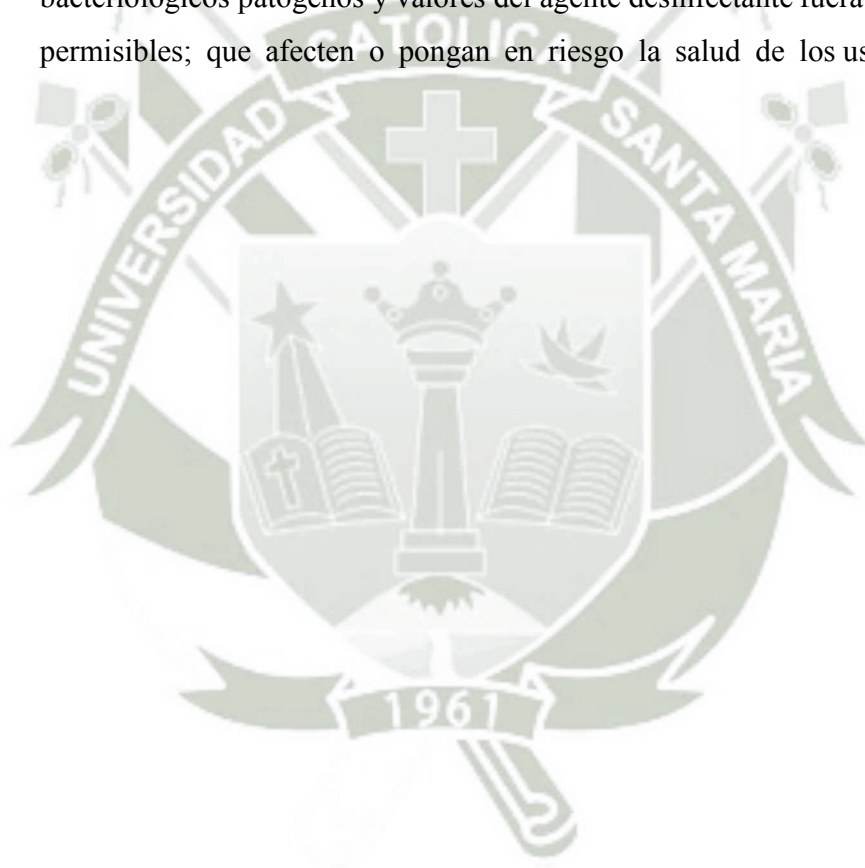
que deben Reunir las Aguas de Bebida Para ser Consideradas Potables”, que por su antigüedad (1946), se hacía inaplicable; es entonces que en el año 2000, la Dirección General de Salud Ambiental, asume la tarea de elaborar el “Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano”, tarea que el 26/09/2010, a través del D.S. N° 031-2010-SA, se vio felizmente culminada y hoy rige con existo nuestro país.

Los resultados obtenidos a través de está investigación de carácter evaluatorio, tendrán un significado vital para manifestár si el agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable, es apropiada en un fin de uso de la misma como agua Potable, en las actividades diarias del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, afín de salvaguardar la salud de los usuarios en dicho nosocomio, así mismo se determinará y establecerá parámetros de naturaleza correctivas, si fuese necesario para el mejoramiento del servicio.

Siendo el motivo que me llevo realizar el presente trabajo, no fue la culminación de un proyecto de tesis fue tratar de conocer y enfatizar, como ayudar en la mejora de una problemática de Salud, que pudiera conllevar a una preocupación en la Salud Pública de las personas, y así con mis conocimientos adquiridos a través de mis años de estudio haberme convertido en parte de una Solución y no de un Problema, como es la visión en la cual debe enfocarse cada profesional en el sector de la salud,

HIPOTESIS.

Siendo el agua un medio propicio, para el crecimiento, multiplicación y proliferación de microorganismos, está debe reunir estándares adecuados para un uso Potable y más aún si está destinada a las actividades diarias de un centro de salud como es el caso del: Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, es **probable** que se encuentren indicadores bacteriológicos patógenos y valores del agente desinfectante fuera de los límites permisibles; que afecten o pongan en riesgo la salud de los usuarios.



OBJETIVOS

1. Ejecutar un estudio y evaluación, bacteriológico sanitario, del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable, de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”– XI DIRTEPOL – Arequipa, de acuerdo a los parámetros establecidos en el DS N° 031-2010-SA. “Reglamento Sanitario De Agua Potable”, de carácter vigente en nuestro país.
2. Determinar y conocer la frecuencia de cumplimiento, de los parámetros bacteriológicos establecidos, así como el porcentaje de indicadores bacteriológicos encontrados, de los diferentes lugares de muestreo, para el uso del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable, a fines de consumo potable para el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”– XI DIRTEPOL – Arequipa
3. Determinar y conocer, los parámetros de desinfección de Cloro Residual Libre (CRL) y pH del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable, en un fin de uso de la misma como agua potable en las actividades diarias del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”– XI DIRTEPOL – Arequipa, a fin de constatar el cumplimiento de los parámetros establecidos en el DS N° 031-2010-SA. “Reglamento Sanitario De Agua Potable”, de carácter vigente en nuestro país.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1. EL AGUA

El agua (del latín aqua), es el recurso natural más importante, fuente de vida, y de consumo esencial para la mayoría de organismos vivos, El agua cubre el 71% de la superficie de la corteza terrestre. Se localiza principalmente en los océanos donde se concentra el 96,5% del agua total, los glaciares y casquetes polares poseen el 1,74%, los depósitos subterráneos (acuíferos), los permafrost y los glaciares continentales suponen el 1,72% y el restante 0,04% se reparte en orden decreciente entre lagos, humedad del suelo, atmósfera, embalses, ríos y seres vivos. El agua es un elemento común del sistema solar, hecho confirmado en descubrimientos recientes. Puede ser encontrada, principalmente, en forma de hielo; de hecho, es el material base de los cometas y el vapor que compone sus colas.

En forma combinada abunda en muchos minerales como el yeso, ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Además existe en otros tejidos animales y vegetales; forma el 70% del cuerpo humano y más del 90% de vegetales como el pepino y la sandía, y de animales como la medusa y la holoturia. (1 “7”)

Se estima que aproximadamente el 70% del agua dulce es usada para agricultura. El agua en la industria absorbe una media del 20% del consumo mundial, empleándose en tareas de refrigeración, transporte y como disolvente de una gran variedad de sustancias químicas. El consumo doméstico absorbe el 10% restante.

El agua es esencial para la mayoría de las formas de vida conocidas por el hombre, incluida la humana. El acceso al agua potable se ha incrementado durante las últimas décadas en la superficie terrestre. Sin embargo estudios de la FAO, “Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura”, estiman que uno de cada cinco países en vías de desarrollo tendrá problemas de escasez de agua antes de 2030; en esos países es vital un menor gasto de agua en la agricultura modernizando los sistemas de riego. (1“4”)



El agua en la naturaleza se encuentra en sus tres estados: Líquido fundamentalmente en los océanos; Sólido (hielo en los glaciares y casquetes polares así como nieve en las zonas frías); Vapor (invisible) en el aire.

Fuente: FAO (http://www.fao.org/index_es.htm)

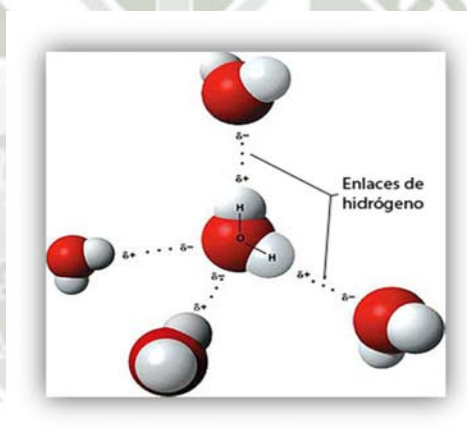
1.2 Propiedades físico químicas del agua.

1.1.1.- Composición química.

Fue Henry Cavendish quien descubrió en 1781 que el agua es una sustancia compuesta y no un elemento, como se pensaba desde la Antigüedad. Los resultados de dicho descubrimiento fueron desarrollados por Antoine Laurent de Lavoisier dando a

conocer que el agua está formada por oxígeno e hidrógeno. En 1804, el químico francés Joseph Louis Gay-Lussac y el naturalista y geógrafo alemán Alexander Von Humboldt demostraron que el agua está formada por dos volúmenes de hidrógeno por cada volumen de oxígeno (H_2O).

Al unirse estos 3 átomos se forma una nueva nube de electrones alrededor de los 3 núcleos, que se sitúan en forma de triángulo (no en línea). De esta forma se obtiene una molécula bipolar, es decir que tiene dos polos: Negativo en el lado del oxígeno y positivo en el lado de los átomos de hidrógeno. La nube de electrones adopta una forma extraña (enlace de hidrógeno) que hace que atraiga a los átomos de hidrógeno de otras moléculas de agua, uniéndose fuertemente y causando algunas de las curiosas y necesarias propiedades que tiene el agua. (II "11")



Modelo mostrando los enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua.

Fuente: GWP (Global Water Partnership - Asociación Mundial para el Agua).

<http://www.gwp.org/>

1.1.2.-Propiedades físico químicas del agua de mayor relevancia.

- El agua es insípida e inodora en condiciones normales de presión y temperatura. El color del agua varía según su estado: como líquido, puede parecer incolora en pequeñas cantidades, aunque en el espectrógrafo se prueba que tiene un ligero

tono azul verdoso. El hielo también tiende al azul y en estado gaseoso (vapor de agua) es incolora.

- El agua bloquea sólo ligeramente la radiación solar UV fuerte, permitiendo que las plantas acuáticas absorban su energía. (1 "11")
- Ya que el oxígeno tiene una electronegatividad superior a la del hidrógeno, el agua es una molécula polar. El oxígeno tiene una ligera carga negativa, mientras que los átomos de hidrógenos tienen una carga ligeramente positiva del que resulta un fuerte momento dipolar eléctrico. La interacción entre los diferentes dipolos eléctricos de una molécula causa una atracción en red que explica el elevado índice de tensión superficial del agua. Fuerza de Van Der Waals.
- La capilaridad se refiere a la tendencia del agua de moverse por un tubo estrecho en contra de la fuerza de la gravedad. Esta propiedad es aprovechada por todas las plantas vasculares, como los árboles.
- Otra fuerza muy importante que refuerza la unión entre moléculas de agua es el enlace por puente de hidrógeno.
- El punto de ebullición del agua (y de cualquier otro líquido) está directamente relacionado con la presión atmosférica. Por ejemplo, en la cima del Everest, el agua hierve a unos 68° C, mientras que al nivel del mar este valor sube hasta 100°. Del mismo modo, el agua cercana a fuentes geotérmicas puede alcanzar temperaturas de cientos de grados centígrados y seguir siendo líquida. Es así que al encontrarnos en Arequipa, agua hierve a 92 °C puesto que al encontrarnos por encima del nivel del mar a de 2325 m.s.n.m; hay por tanto menos presión o columna de aire, y la temperatura de ebullición desciende hasta 92°C.

- El agua es un disolvente muy potente, al que se ha catalogado como el disolvente universal, y afecta a muchos tipos de sustancias distintas. Las sustancias que se mezclan y se disuelven bien en agua como las sales, azúcares, ácidos, álcalis, y algunos gases (como el oxígeno o el dióxido de carbono, mediante carbonación) son llamadas hidrófilas; mientras que las que no combinan bien con el agua como lípidos y grasas se denominan sustancias hidrófobas.
- El agua es miscible con muchos líquidos, como el etanol, y en cualquier proporción, formando un líquido homogéneo. Por otra parte, los aceites son inmiscibles con el agua, y forman capas de variable densidad sobre la superficie del agua. Como cualquier gas, el vapor de agua es miscible completamente con el aire.
- El agua pura tiene una conductividad eléctrica relativamente baja, pero ese valor se incrementa significativamente con la disolución de una pequeña cantidad de material iónico, como el cloruro de sodio.
- El agua tiene el segundo índice más alto de capacidad calorífica específica sólo por detrás del amoníaco así como una elevada entalpía de vaporización ($40,65 \text{ kJ mol}^{-1}$); ambos factores se deben al enlace de hidrógeno entre moléculas. Estas dos inusuales propiedades son las que hacen que el agua "modere" las temperaturas terrestres, reconduciendo grandes variaciones de energía.
- La densidad del agua, normalmente las sustancias al enfriarse se hacen más densas, pero en el agua ocurre todo lo contrario. Esto hace que el hielo tenga menos densidad que el agua líquida y, por tanto, el hielo flota en el agua. De hecho, el agua consigue su mayor densidad a los 4°C . Por debajo de esa

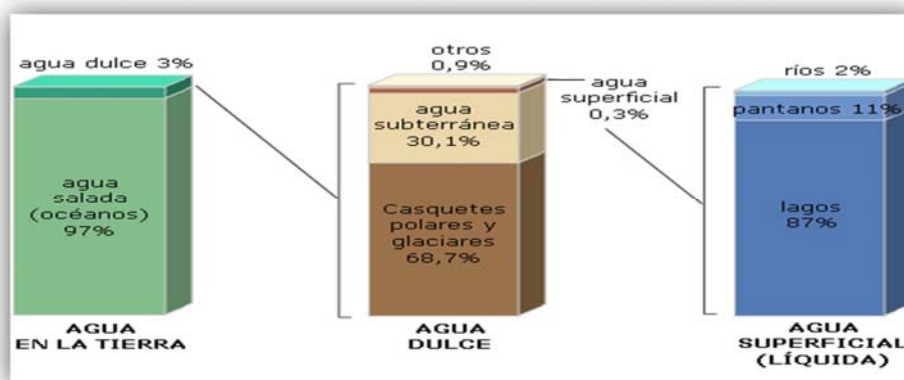
temperatura el agua disminuye su densidad hasta que se congela. Cuando la temperatura baja, las moléculas pierden movilidad y tienden a unirse más fuertemente, pero separándose unas moléculas de otras, disminuyendo así su densidad y aumentando su volumen. Por eso, el agua al congelarse aumenta su volumen y flota. Esta propiedad es fundamental para los peces y otros animales, pues cuando hace frío el agua se congela y al flotar hace que sólo se congele el agua de la superficie, evitando que el frío congele el agua inferior. Si esto no fuera así, se congelaría toda el agua y morirían todos los animales acuáticos. La densidad del agua es 1 kg/dm^3 a 4°C . (1-11)

2.- PROBLEMÁTICA Y ROL SANITARIO DEL AGUA.

El agua en el mundo, es un bien muypreciado por su distinta condición de encontrarse en mayor proporción en algunos lugares y menor proporción en otros, pero la importancia sanitaria de las infecciones humanas por su consumo en condiciones no adecuadas es evidente, y sobre todo conocida, en países que no poseen una cultura sanitaria adecuada, sin excluir a los países desarrollados cuyos focos de contaminación de su medio ambiente es muy alto, o se vincula el manejo de este recurso vital en actividades peligrosas como por ejemplo en centrales de energía nuclear, o industrialmente (contaminada por desechos), a esto se suma la creciente demanda poblacional, de este recurso, que voluntariamente o no, se direccionada a utilizar aguas de muy distinto origen sometidas a múltiples agentes de contaminación. Habiendo mencionado esto la salud del hombre puede verse afectada poniendo en riesgo su vida, directa o indirectamente, dando lugar a la aparición de infecciones y de brotes epidémicos, hay que tener en cuenta, que la contaminación de los parámetros medibles biológicas y químicas del agua puede producirse como consecuencia de hechos fortuitos, por accidentes o negligencias en cualquier sector del proceso de abastecimiento, ya sea en el origen, en la conducción, o en los depósitos de almacenamiento. (1“7”)

En el Perú, el acceso al agua potable es una necesidad primaria y por lo tanto un derecho humano fundamental inherente a mejorar la calidad de vida del individuo, en este contexto era necesario la actualización del Reglamento de los Requisitos Oficiales Físicos, Químicos y Bacteriológicos que deben Reunir las Aguas de Bebida Para ser Consideradas Potables, que por su antigüedad del año 1946, se hacía inaplicable; es entonces que en el año 2000, la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), asume la tarea de elaborar el: “Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano”, tarea que el 26/09/2010, a través del D.S. N° 031-2010-SA, se vio felizmente culminada y aprobada. (I “20”)

Este es el nuevo Reglamento aprobado y de naturaleza vigente, que hizo el gobierno de turno anterior en nuestro país, el cual tomo de referencia de naturaleza de origen legal jurídica, para dar valor investigativo, a mi proyecto de tesis durante su aprobación, desarrollo, y generación de resultados los cuales serán analizados con los estándares descritos en el mismo, en los cuales establecen límites máximos permisibles, en lo que a parámetros microbiológicos, parasitológicos, organolépticos, químicos, orgánicos e inorgánicos, etc.se refiere; siendo los microbiológicos – bacteriológicos los de mayor interés evocativo para nuestro estudio de agua Subterránea – Potable. (II “10”)



Porcentajes y distribución del agua en la Tierra.

Fuente: GWP (Global Water Partnership - Asociación Mundial para el Agua).

<http://www.gwp.org/>

3. – CLASES DE AGUAS.

3.1.- Según sus propiedades para el consumo:

Son aquellas aguas que no son aptas para el consumo humano por diversos factores biológicos, químicos y naturales.

3.1.1.-Agua potable: Es el agua “apta para beber”, el suministro de agua es una de las necesidades más importantes de las sociedades modernas. El proceso total incluye la remoción de materia insoluble por métodos apropiados de coagulación, sedimentación y filtrado, destrucción de microorganismos patógenos por aireación, cloración siendo este parte muy importante para determinar el grado de desinfección del agua potable y también punto fundamental en la realización de mi proyecto de tesis, pues en el haremos mención a su medición en unidades partes por millón (ppm). Detallados en el DS-031-2010-SA.

Además para mejoramiento del sabor del agua existen métodos por aireación y filtración a través de carbón activado. En las regiones donde el agua es excesivamente dura, su “ablandamiento” se hace por remoción parcial de sales disueltas, por precipitación como carbonatos (Ca^{2+} y Mg^{2+}) y como hidróxido [hierro III], agregando cal o amoníaco. Para asegurarse de una provisión suficiente del esencial elemento flúor, se realiza la fluoración utilizando fluorosilicato de sodio.

3.2.- Según la cantidad de minerales que tengan disueltos:

3.2.1.-Aguas duras: Son las que poseen muchos minerales, disueltos en su contenido tales como el calcio y el magnesio, está agua se caracteriza

porque produce muy poca espuma cuando se junta con el jabón, además otra de las características de las aguas duras son la cantidad de residuos que dejan en el vaso cuando el agua se evapora o en los contenedores después de hervirla, las aguas duras suelen proceder de fuentes subterráneas en las que el agua ha tenido que atravesar diferentes capas de minerales. La disolución y arrastre de estos minerales es lo que le proporciona la dureza.

3.2.2.-Aguas blandas: Son las que poseen muy pocos minerales disueltos en su contenido, producen mucha espuma cuando se les mezcla con el jabón, este tipo de aguas proceden en su mayoría de fuentes superficiales o de tratamientos para mejorar su pureza y consumo, cabe mencionar que el agua más blanda es el agua destilada que no posee ningún mineral pero no es apta para el consumo humano porque en nuestro organismo el medio externo de las células está muy diluido (medio hipotónico) y para igualar las concentraciones debe entrar mucha agua dentro de las células, haciendo que éstas se hinchen demasiado llegando a explotan y morir (plasmólisis), provocando la alteración del proceso osmótico en nuestro organismo y por consiguiente desbalance electrolítico.

3.3.- Según la procedencia de las aguas:

3.3.1.- Aguas superficiales: Es la clase de agua que procede de los ríos, los lagos, los pantanos o el mar. Estas aguas, para que resulten potables, deben someterse a un tratamiento que elimina los elementos no deseados, tanto las partículas en suspensión como los microorganismos patógenos. Estas partículas son fundamentalmente arcillas que el río arrastra y restos de plantas o animales que flotan en ella, a todo ello hay que sumar los vertidos que realizan las fábricas y las poblaciones. Para eliminar las

impurezas físicas se utilizan fundamentalmente procedimientos de decantación que las hacen precipitar al fondo y para la eliminación de bacterias se utilizaran procedimientos químicos o biológicos. (II “9”)

3.3.2.-Aguas subterráneas: El agua subterránea se encuentra debajo del suelo entre grietas y espacios que hay en la tierra, incluyendo arena y piedras. El área donde se acumula el agua en las grietas se llama la zona saturada. La parte de arriba de esta área se le conoce como el nivel freático. El nivel freático puede encontrarse a unos metros del suelo como a cientos de metros debajo de la superficie.

El agua subterránea se acumula en capas de tierra, arena y rocas conocidas como acuíferos. La velocidad a la que el agua se mueve depende del tamaño de los espacios en las capas y de la conexión entre éstos. Los acuíferos consisten típicamente de gravilla, arena, arenilla y piedra caliza. Estos materiales son permeables porque tienen poros grandes que permiten que el agua fluya con mayor rapidez.



Flujo del agua subterránea.

Fuente: OMS “Organización Mundial de la Salud”. <http://www.who.int/es/>

No existe agua que sea completamente pura. Aún el agua en la naturaleza contiene impurezas. A medida que el agua fluye por diferentes rutas, se acumula en cuerpos de agua y se infiltra en las capas del suelo, va disolviendo o absorbiendo los minerales o las sustancias que entran en contacto con ella. Algunas de estas sustancias no son dañinas a la salud, pero a ciertos niveles podrían afectar el sabor del agua y contaminarla.

Algunos contaminantes se originan de la erosión natural de las formaciones rocosas. Otros contaminantes provienen de descargas de fábricas, productos agrícolas, o químicos utilizados por las personas en sus hogares y patios. Los contaminantes también pueden provenir de tanques de almacenamiento de agua, pozos sépticos, lugares con desperdicios peligrosos y vertederos. Actualmente, los contaminantes del agua subterránea de mayor preocupación son los compuestos sintéticos. Estos incluyen: solventes, pesticidas, pinturas, barnices, gasolina y nitrato.

El agua subterránea tiene las condiciones de pureza para su consumo humano, por los factores ya mencionados pero es un tipo de agua que no requiere grandes tratamientos o métodos de para su desinfección. (II "12")



Flujo del agua subterránea y su contaminación por residuos sólidos.

Fuente: OMS "Organización Mundial de la Salud". <http://www.who.int/es/>

3.4.- Otros tipos de agua y uso en el sector de la salud y según necesidades y uso adecuado en los laboratorios.

El agua se puede considerar como un medio vivo, un sistema ecológico en equilibrio, que presenta un cierto número de propiedades físicas, químicas y biológicas estrechamente relacionadas, constituyendo la base de todas las comunidades vivas o habitadas, sin embargo este medio puede contaminarse y de hecho se contamina, por diferentes fuentes u orígenes, que son clasificados en dos grandes grupos: puede ser de naturaleza química o microbiana.

La contaminación química se produce, cuando el agua se pone en contacto con residuos de procesos industriales no biodegradables o de difícil degradación, como metales pesados u otros, que se mantienen en solución, haciendo difícil establecer su presencia, sino a través de procesos analíticos específicos.

La contaminación microbiana es la que afecta fundamentalmente a aguas superficiales, especialmente estancadas y aunque teóricamente cualquier bacteria patógena puede llegar al agua y propagarse por este medio, en la práctica esta posibilidad se limita a un cierto número de gérmenes, incluso dicha contaminación puede llegar a las aguas subterráneas dependiendo del grado o la zona donde se halle a nivel freático o el lugar en donde está se ubique.

Estos gérmenes, al eliminarse por las heces o la orina de personas o animales enfermos o portadores, tiene mayores posibilidades de llegar a las aguas del sistema de alcantarillado y, por una deficiente política de salubridad, contaminar los ríos, los mares, y aún ingresar a las redes de agua potable de las ciudades, en cantidad suficiente para producir enfermedades.

Estás enfermedades se pueden manifestar en forma epidémica, constituyendo las llamadas infecciones hídricas, de las cuales las fiebres tifoideas y paratifoideas, el cólera, la disentería bacilar, las diarreas infantiles y en algunas ocasiones la leptospirosis, son las más importantes. (II “4”, “6”)

3.4.1.- Agua purificada y uso en el sector de la salud.

El agua purificada se prepara por destilación, intercambio de iones (desionización, desmineralización), ósmosis inversa u otros métodos. Es preparada con agua potable que cumple con los requisitos sanitarios.

El objetivo es la remoción de sólidos disueltos, el intercambio de iones y la ósmosis inversa son particularmente efectivos para remover electrolitos. La destilación no es efectiva en la remoción de electrolitos fuertes y débiles o de compuestos no electrolitos, especialmente si estos son volátiles. El agua purificada puede esterilizarse y librarse de pirógenos por destilación repetida.

Debido principalmente a sus facultades de solvente y a su inercia fisiológica, es un agente farmacéutico muy importante. De acuerdo a este punto de vista, podemos clasificar el agua en los siguientes tipos: Agua purificada, Agua para inyección, Agua bacteriostática para inyección, Agua estéril para inhalación, Agua estéril para inyección y Agua estéril para irrigación.

3.4.2.- Según necesidades y uso adecuado en los laboratorios. -- NP- ISO 3696: 2004; “ISO - Organización Internacional para la Estándarización”.

- **Grado I.-** Exenta básicamente de contaminantes constituidos por iones disueltos o coloidales y materias orgánicas. Es apropiada para los

requisitos de análisis más exigentes, incluyendo la cromatografía líquida de alta definición. Se puede preparar por un tratamiento adicional del agua de grado II (por ejemplo osmosis inversa o desionización seguida de filtrado a través de una membrana con tamaño de poro de $0,2\mu\text{m}$ para separar las partículas, o por redestilación en un aparato de sílice fundido).

- **Grado II.-** Con muy pocos contaminantes inorgánicos, orgánicos o coloidales. Es apropiada para análisis delicados, incluyendo la espectrometría de absorción atómica (EAA) y la determinación de componentes en cantidades mínimas. Se puede preparar por destilación múltiple o por desionización u osmosis inversa seguida de destilación.
- **Grado III.-** Apropiada para la mayoría de los trabajos de química en laboratorios por vía húmeda y la preparación de soluciones de reactivos, ideal para la preparación de medios de cultivo, y lavado, pre sebad y sebad de materiales de laboratorio, a fines de procedimientos poco exigentes. Se puede preparar mediante una sola destilación, por desionización o por osmosis inversa. Salvo indicación de lo contrario, se puede utilizar para el trabajo normal de análisis. (1 "3"; 1 "7")

4.- IMPORTANCIA DE LA MICROBIOLOGÍA EN LA VIGILANCIA SANITARIA, CON RESPECTO A LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO VINCULADA A LA PROBLEMÁTICA DEL PERÚ Y DE LA CIUDAD DE AREQUIPA.

La microbiología es un factor de vital importancia y más aún cuando se vincula a estándares adecuados para el uso o consumo humano, siendo la calidad del agua, un peldaño por no decir la cima fundamental para garantizar la salud pública de una población y es mas de mayor relevancia cuando dicho recurso hídrico es usado en un

centro de salud para las diferentes actividades de uso cotidiano como es el tipo de servicio que adopta el uso del agua Subterránea – Potable Del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa. En el momento actual, el mantenimiento de la calidad bacteriológica del agua y la lucha contra las enfermedades transmisibles de origen hídrico, continúa siendo preocupación de las autoridades sanitarias. Ello ha hecho que organismos internacionales se preocupen por esta creciente problemática y en la legislación de todos los países, se hallan señalado criterios y normas para regular la calidad del agua, en especial de los requisitos mínimos necesarios para la protección de la salud, de modo que se considera, desde todo punto esencial, la vigilancia de la calidad del agua potable, mediante la valoración sanitaria continuada de su aceptabilidad e inocuidad, lo que supone el examen analítico de sus propiedades.

La vigilancia de la calidad del agua de consumo humano, consiste en la evaluación e inspección sanitaria continuas, de su inocuidad y aceptabilidad. Principalmente es una medida sanitaria de fiscalización, cuya finalidad primordial es la de proteger a la población de las enfermedades transmitidas por el agua. Bajo ese punto de vista, la autoridad encargada de ella, tiene que estar especialmente capacitada para ejercer esa vigilancia.

Sin duda alguna, el abastecimiento de agua para consumo humano, es el componente de la Salud Ambiental que más atención ha recibido de parte de los dos gobiernos de esta última década, dándosele inclusive la denominación de “Sector de Agua y Saneamiento”. Así, se crearon instituciones como el PRONAP “Programa Nacional De Agua Potable Y Alcantarillado” y el FONCODES “Fondo Nacional de Compensación y Desarrollo Social” en el Ministerio de la Presidencia, y la SUNASS “Superintendencia Nacional De Servicios de Saneamiento” y recientemente el Vice Ministerio de Saneamiento en el Ministerio de Transportes, Comunicaciones, Vivienda y Construcción, para impulsar este programa, tanto en el medio urbano como en el rural.

El agua contaminada se define como aquella que ha sido alterada en su composición y resulta inadecuada para una determinada aplicación. Bajo el punto de vista microbiológico y de acuerdo a una serie de conceptos legales, el agua destinada al consumo humano debe reunir ciertas condiciones imprescindibles. En muchos países desarrollados, han sido erradicadas casi por completo las enfermedades transmitidas por el agua, pero estas enfermedades siguen siendo endémicas en otras regiones del mundo.

En América Latina las tasas de mortalidad por enteritis y otras enfermedades diarreicas oscilan entre 28,000 habitantes anuales sin reportar epidemias o focos endémicos de mayor proporción lo que revela la gran diversidad de niveles socioeconómicos en esta región, latinoamericana en la cual se halla nuestro Perú, a veces considerada como un área uniforme y no exenta a este problema.

En Perú la gastroenteritis es uno de los principales motivos de consulta y hospitalización, ocupando en la actualidad el segundo lugar entre las causas de muerte en nuestro país. En 2007 se registraron 998,312 casos de pacientes que fueron atendidos en los Centros de Salud aquejados por una enfermedad diarreica, de los cuales 637,130 eran niños menores de 4 años y representaban el 68% de los casos presentados. De este número de niños enfermos el mayor porcentaje (58%) lo ocupan los niños cuyas edades fluctúan entre 1 y 4 años, es decir los niños que se alimentan solos. Este detalle es importante señalarlo porque a un niño mayor, no le asean las manos con el mismo detalle que a un bebé. (II “2”)

En Arequipa, en el mismo periodo de tiempo se registraron 68,459 casos de enfermedades diarreicas de diferente índole, siendo 37,739 (55%), niños menores de cuatro años y con mayor afluencia de casos en los meses de verano y en época escolar en los meses de noviembre y diciembre. Todos estos datos, nos muestran a la población infantil, como la más vulnerable para este tipo de enfermedades, en las cuales el agua es el principal vehículo de contaminación. El 80% aproximadamente de todas las

enfermedades en el mundo en desarrollo, están relacionadas con un abastecimiento de agua y saneamiento inadecuados.

La deficiencia en la calidad de agua, contribuye a la propagación de las enfermedades entéricas y otras enfermedades transmisibles. Estas enfermedades, no solo agravan los sufrimientos humanos, sino que tienen consecuencias negativas para la economía, al impedir un aprovechamiento ineficaz de los recursos humanos existentes.

Por otra parte, la presencia de bacterias coliformes, es una indicación de que se pueden encontrar presentes, también bacterias patógenas que no corresponden al grupo coliforme, capaces de producir enfermedad y por lo tanto está agua para ser bebida e uso es insegura.

El grupo coliforme incluye a todas las bacterias en forma de bastoncillos que son aeróbias o anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporógenas, que fermentan la lactosa con producción de gas en un medio de cultivo prescrito, dentro de las 48 horas a 37°C de temperatura. (II “10”)

Hace 55 años, es decir el 17 de Diciembre de 1946, se expidió en el Perú una Resolución suprema aprobando el “Reglamento de los Requisitos oficiales que deben reunir las aguas de bebida para ser consideradas potables”. El Reglamento antes mencionado sirvió de base de inicio para que en nuestro país se tomen las medidas adecuadas acerca de esta problemática a la vez que ayudo a la toma de conciencia por parte de las autoridades y de la población, a tener conocimiento de nuestra realidad nacional.

En el año 1972, la Organización Mundial de la Salud (OMS) hizo conocer las “Normas internacionales para el agua potable”, traducción del “International Standards for drinking water”, con los que se introdujeron criterios bacteriológicos de calidad de agua potable

según su procedencia, es decir, aguas distribuidas por tuberías, al inicio y en la misma red. Así mismo, en sistemas de abastecimiento individuales o de pequeñas colectividades. (II “12”)

El año 1984, la OMS publicó las “Guías para la calidad del agua potable”, en tres volúmenes separados. El tercer volumen titulado “Guías para el control de calidad del agua potable en sistemas que abastecen a pequeñas comunidades”, analiza específicamente el problema de las pequeñas localidades, principalmente las localizadas en las zonas sub urbanas y rurales. (II “12”)

En el Perú en este contexto se veía la imperiosa necesidad de actualizar el Reglamento de los Requisitos Oficiales Físicos, Químicos y Bacteriológicos que deben Reunir las Aguas de Bebida Para ser Consideradas Potables, que por su antigüedad (1946), se hacía inaplicable; es entonces que en el año 2000, la Dirección General de Salud Ambiental, asume la tarea de elaborar el “Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano”, tarea que el 26/09/2010, a través del D.S. N° 031-2010-SA, se vio felizmente culminada y hoy rige con existo y debe ser acatada por toda empresa del roll público, o privada que brinde este servicio así como la población está en la obligación de exigir dichos parámetros suscritos en dicho reglamento, y hacer todo lo posible en conjunto mutuo para llegar a alcanzarlos y así evitar cualquier problema de índole mayor o menor, que atente o infrinja dicho reglamento. (II “9”)

5.- FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA ALTERACION DE TIPO BACTERIOLOGICO EN EL AGUA.

Teniendo una perspectiva del comportamiento de los microorganismos estos se hallan presentes en el ambiente vital del hombre (agua, suelo, aire). Que al relacionarse entre sí generan la contaminación de origen cruzada entre dichos elementos.

5.1.-En el aire.- Es uno de los medios más hostiles para la supervivencia de los microorganismos, ya que en él los gérmenes están expuestos a la actividad del oxígeno, a la radiación solar, a variaciones en la humedad relativa del aire, etc. Así, las bacterias Gram negativas mueren rápidamente en suspensión aérea. No obstante, puede convertirse en un buen medio de dispersión si los microorganismos disponen de formas esporuladas.

5.2.- En el agua y suelo.- La calidad microbiológica del agua, directa o indirectamente, ejerce una enorme influencia en la contaminación de los otros dos factores como que son el aire y el suelo puesto que en el agua podemos encontrar en suspensión bacterias procedentes del suelo, como *Micrococcus*, *Pseudomona*, *Aeromonas*. Los animales acuáticos, además de la flora específica típica de su especie, pueden ver aumentada su carga microbiana con estos microorganismos. Asimismo, pueden contaminarse con géneros patógenos de restos fecales del hombre y animales como *Enterobacterias* y *Streptococcus*. En el suelo también se pueden encontrar especies de los géneros *Bacillus* (1 "24")

6.- FACTORES QUE POSIBILITAN O DIFICULTAN EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN EL AGUA.

Pueden agruparse en:

6.2 Factores intrínsecos.- Se refieren a las propiedades físicas y a la composición química del agua en si relacionando: Dureza, alcalinidad, pH, nutrientes

disueltos en ella, parámetros químicos e inorgánicos que contengan con su porcentaje en contenido de níquel, plomo, bario, etc.

6.3 Factores extrínsecos.- Características del ambiente donde se almacena el agua: Tipo de contenedor, flujo, temperatura, presión y exposición al oxígeno, etc.

6.4 Factores implícitos.- Relaciones que se establecen entre los microorganismos presentes en el medio acuífero: Seres que habitan en ella como peces, las mismas bacterias, y otros organismos de vida libre.

6.5 Factores de especial relevancia.- En relación a estos factores podemos mencionar el pH, el porcentaje de cloro que contenga el agua, que indicara si está posee las cualidades para convertirse en agua potable, además cabe mencionar a la Tª como un factor dominante a aumentar la curva de crecimiento patógeno – bacteriano. (1 “11”, “20”, “23”)

6.6 Grupos de gérmenes según sus temperaturas cardinales.

Hay varios tipos de microorganismos en función de sus temperaturas de crecimiento mínima, máxima y óptima

Tipo de microorganismo	Temp. Mínima	Temp. Óptima	Temp. máxima
Psicrófilo	-5 +5	12 – 15	15 – 20
Psicrótrofo	-5 +5	25 – 30	30 – 35
Mesófilo	5 – 15	30 – 45	35 – 47
Termófilo	40 – 45	55 – 75	60 – 90
Hipertermófilo	55	80	113

Cuadro de grupos de gérmenes según sus temperaturas cardinales

Fuente: <http://www.unavarra.es/genmic/micind-2-4.htm>

- **Psicrófilos:** Microorganismos adaptados al frío, suelen encontrarse en el agua congelados hace millones de años en el casquete polar de la tierra.
- **Psicrótrofos:** Estos microorganismos son mesófilos que pueden crecer a temperaturas bajas. Esto es importante desde el punto de vista aplicación porque cuando se encuentran contaminada el agua, son capaces de crecer en condiciones de refrigeración (4 - 8° C) y de producir infecciones en los consumidores a (30 - 35° C).
- **Mesófilos:** Gérmenes abundantes en el agua, que no ha recibido ningún tipo de tratamiento de desinfección son aquellos que han permanecido a temperatura ambiente.
- **Termófilos:** Se aplica a organismos vivos que pueden soportar condiciones extremas de temperatura relativamente altas, por encima de los 45°C, o relativamente bajas. Es un subtipo de vida extremófila. Los termófilos se

caracterizan por tener una membrana celular rica en lípidos saturados ya que contienen enzimas que les permiten trabajar en condiciones extremas.

- **Hipertermófilos:** Pueden crecer a temperaturas cercanas o incluso superiores a 100° C en condiciones de alta presión. Son microorganismos muy importantes desde el punto de vista ambiental; pero no tienen aplicaciones actuales en agronomía o en microbiología industrial. (1“11”, “20”, “23”)

6.7 Fases del crecimiento bacteriano.

Si adicionamos los microorganismos a un medio en el cual se incluye a todos los nutrientes necesarios para su crecimiento (el agua no tratada la suele contener) y lo sometemos a condiciones favorables, éstos se multiplican por fisión binaria. Normalmente el crecimiento de los microorganismos suele seguir cuatro fases:

6.7.1 Fase de latencia:

Cuando los microorganismos son expuestos a un nuevo medio de crecimiento, éstos necesitan un período de adaptación cuya duración suele ser variable según el tipo de microorganismo. Normalmente suelen rondar las dos horas y durante este tiempo no crecen y se dedican a aumentar su tamaño y a crear nuevos materiales.

6.7.2 Fase logarítmica o exponencial

Durante esta fase los microorganismos se multiplican y aumentan cuantitativamente en forma logarítmica. El tiempo de multiplicación es variable según el tipo de microorganismo, por ejemplo el *Escherichia coli* es uno de los más rápidos y se multiplican cada veinte minutos aproximadamente en condiciones óptimas. De esta forma, a partir de una bacteria habrá dos a los veinte

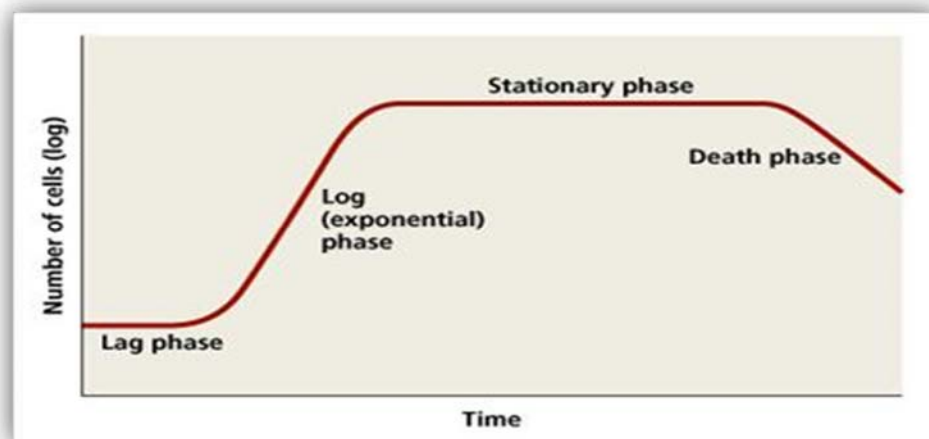
minutos, cuatro a los cuarenta minutos, ochos tras una hora, y siguiendo este crecimiento exponencial, tendremos 128 millones en nueve horas.

6.7.3 Fase estacionaria.

En este momento, el número de microorganismos en el medio se mantiene constante bien porque el crecimiento ha cesado o porque el crecimiento ha decrecido y es igual a la muerte bacteriana. Se produce como consecuencia de un empobrecimiento de nutrientes en el medio o bien por un enriquecimiento en los materiales de desecho provocado por el metabolismo microbiano.

6.7.4 Fase de declive

Cambios ambientales perjudiciales, como privación de nutrientes y acumulación de residuos tóxicos, originan la disminución del número de células viables, hecho que caracteriza la fase de muerte. Es la última fase y el número de microorganismos decrece. (1 “11”, “12”, “20”, “23”)



Fases del crecimiento bacteriano.

Fuente: COLLINS. C. (Métodos Microbiológicos 4ª Edición, México. Edit. Interamericana, 2009).

7. EL CLORO Y EL pH EN EL AGUA.

7.1 El cloro.

Es el agente desinfectante más usado, fácil, eficaz y barato. El cloro es un agente químico muy activo que actúa por oxidación. La oxidación es el proceso de convertir las moléculas orgánicas complejas en compuestos simples que pueden evaporarse en forma de gas totalmente inofensivo. Al agregar cloro al agua, este reacciona con las sustancias disueltas o suspendidas en ella: la materia orgánica, las sustancias reductoras y el amoníaco. La cantidad de cloro consumido durante este proceso se denomina demanda de cloro. Si no se agregase cloro en cantidad suficiente, la reacción con estos compuestos lo consumiría totalmente, no produciéndose la desinfección deseada, por lo que debe adicionarse en cantidad suficiente para que permanezca en el agua después del periodo de reacción.

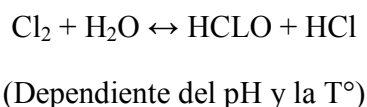
El poder desinfectante del cloro es uno de los más importantes, de entre los desinfectantes conocidos. En general, todos los microorganismos como bacterias, virus, mohos, levaduras, esporas, algas y protozoos se ven inhibidos o destruidos en mayor o menor medida.

En la medición de Cloro Residual Libre (CRL), la forma activa del cloro, el método más sencillo, es por el kit de Ortotolidina (aminotolueno), con el cual se forma un complejo coloreado entre la ortotolidina y el CRL, que es proporcional a la concentración de cloro presente en la muestra. Por esto, fue ampliamente usado y hasta hoy en día es fácil de encontrar en supermercados y ferreterías.

Sin embargo, experimentos realizados por la IARC, el organismo oficial que patrocina la Organización Mundial de la Salud (OMS) en temas de carcinogénesis, y estudios del CIIC (Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer) que también patrocina la OMS, clasifican a la ortotolidina en el grupo 2A. Es decir, como probable cancerígeno humano. La información está disponible desde 1990 y por esto a nivel internacional se ha desaconsejado su uso y reemplazado por el DPD, un reactivo más caro pero más estable, que permite mediciones más certeras y que no es dañino para el ser humano.

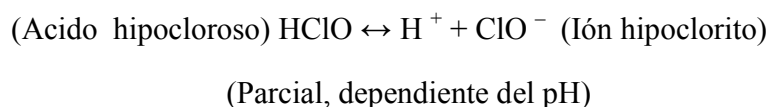
Además, el libro más importante de referencia mundial en mediciones de aguas, el Standard Methods for the Examinations of Water and Waste Water (actualmente en la 20ª edición), confirma que el método más adecuado para la medición del Cloro Residual Libre es el DPD o Método de la *N, N*-dietil-*p*-fenilendiamina. El cloro libre en contacto con esta sustancia produce una coloración rojo-violeta, que se caracteriza por su estabilidad y certeza. Existen equipos digitales que a través de un microprocesador o fotómetro permiten eliminar el error de percepción visual entregando datos en extremo confiables. (1 "28")

7.2 Reacción del cloro en el agua.



A. Reacción de disociación:



B. Disociación del ácido hipocloroso:**7.3 Diferentes formas de cloro en el agua.**

Producto de la reacción del cloro en el agua, este adquiere diversas formas, cada una de las cuales con un poder desinfectante diferente que evoluciona con el tiempo, según la cantidad de materia orgánica, pH, concentración de cloro, temperatura, radiación solar, etc.

7.3.1 Cloro Residual Libre. (CRL).

Corresponde al cloro presente en agua como ácido hipocloroso (HClO) e iones hipoclorito (ClO^-) este último reacciona rápidamente con amoníaco y algunos compuestos nitrogenados para formar cloro combinado.

Acido Hipocloroso (HClO): Es la forma más activa del cloro, el cual le confiere el poder desinfectante, principalmente. La formación de este ácido (cloro activo) se potencia si el pH es bajo. A medida que se consume el HClO se va formando nuevamente mediante el ion hipoclorito, que constituye una reserva de cloro.

7.3.2 Cloro Residual Combinado (CRC).

Es el cloro existente en combinación química con amoníaco, nitrógeno o compuestos orgánicos clorados.

7.3.3 Cloro Total (CT).

El cloro total es la suma del cloro libre más el cloro combinado disponible.

7.4 Mecanismo de acción del cloro.

Cuando el cloro es añadido al agua, este forma el ácido hipocloroso (HClO), y este se disocia en el agua en H^+ e ClO^- (ion hipoclorito). El grado de disociación depende del pH, de esta manera la disociación es pobre a niveles de pH menores o por debajo de 6,5 y a niveles de pH de 8,5 el ácido hipocloroso se acerca a su disociación completa.

El ácido hipocloroso (HClO), es la forma más activa del cloro, debido al hecho que este es eléctricamente neutral y es capaz de difundir a través de la pared celular de los microorganismos, cargada negativamente, y reaccionar con las proteínas que son poco accesibles, para el ion hipoclorito (ClO^-). Finalmente, el ácido hipocloroso ejerce su efecto desinfectante, basado en el poder de oxidación de los átomos de oxígeno libre y reacciones de sustitución del cloro.

7.5 Efectos del cloro en la salud.

Si se respetan los valores recomendados para la correcta desinfección del agua con cloro, no tiene por qué producirse ningún tipo de reacción perjudicial para la salud. Los efectos del cloro en la salud humana dependen de la cantidad de cloro presente, del tiempo y la frecuencia de exposición. Los efectos también pueden depender de la salud de la persona.

La respiración de pequeñas cantidades de cloro durante cortos periodos de tiempo afecta negativamente al sistema respiratorio humano. Se presume que la toxicidad de las soluciones que contienen cloro, ácido hipocloroso o hipoclorito es similar, ya que

estos compuestos están en equilibrio dinámico y debido a que las comparaciones de toxicidad pueden efectuarse en base a la medición de la concentración de Cloro Residual Libre. El grupo de individuos de alto riesgo está constituido por los asmáticos o por aquellos que presentan reacciones alérgicas después de su exposición al cloro. El cloro además irrita la piel, los ojos y el sistema respiratorio. Los efectos van desde tos y dolor pectoral, hasta retención de agua en los pulmones.

7.6 EL pH.

Es una medida de acidez o alcalinidad del agua. Su expresión viene dada por el logaritmo negativo de la concentración del ion H^+ expresada en moles/litro. Los niveles de pH para el uso del agua de naturaleza potable, aseguran la eficacia de los productos o agentes químicos que se utilicen en el tratamiento de desinfección y además previenen la corrosión de los equipos, contenedores, Cañerías, durante su distribución. Un exceso o un defecto, puede disminuir la eficacia de la cloración e irritar las mucosas, además de contribuir al enturbiamiento del agua

En el caso de utilización de agentes desinfectantes clorados. El cloro actúa eficazmente como bactericida cuando el agua donde se diluye tenga un pH entre 7.2 y 7.8 preferiblemente, lo recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS).

- Si el pH está por encima de 8.5 el ácido disuelto se precipitará de forma visible, generando el enturbiamiento del agua, además de producir el deterioro del equipo mecánico vinculado a la extracción del agua del pozo.
- Si el pH está por debajo de 6.5, el agua se halla en un estado corrosivo, produciendo irritación a la piel y mucosas como podría suceder en aseo de las personas de nuestro centro de salud.

En la medición del pH se pueden utilizar varios métodos, siendo el más exacto y versátil el sistema de electrodo de vidrio. En donde la medida de pH de una disolución se basa en la transformación de la señal eléctrica obtenida por un

electrodo de vidrio y uno de referencia. Dicha señal es proporcional a la actividad de los iones H^+ presentes en el agua. (1“11”)

7.7, Efecto del pH en el agua Subterránea, Potable, Subterránea – Potable; de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – AREQUIPA.

A. pH en concentraciones de nivel alto (>8.5)

- Produce disminución del poder desinfectante del cloro.
- Favorece el crecimiento de algas y bacterias.
- Produce irritación de mucosas.
- Precipitación de sales cálcicas (enturbiamiento).

B. pH en concentraciones de nivel bajo (<6.5)

- Aumenta la turbidez del agua
- Aumenta el poder desinfectante del cloro.
- Produce irritación de mucosas.

7.8. Cuadro Porcentual Del Cloro Activo En Función Del pH.

La cantidad de ácido hipocloroso presente en el agua está muy condicionada por el valor del pH. En las aguas con un pH alto, la mayor parte del cloro activo se convierte en ion hipoclorito (ClO^-), una forma de cloro con bajo poder desinfectante. El ácido hipocloroso tiene mayor poder oxidante y bactericida que el ion hipoclorito, por lo que, es importante mantener un valor de pH adecuado, para obtener una desinfección eficiente. En las aguas con un pH básico, disminuye el porcentaje de ácido hipocloroso, y aumenta el del ion hipoclorito con un poder

oxidante inferior, de manera que disminuye el poder desinfectante del agua. El valor de pH idóneo para obtener una mayor desinfección adecuada es entre 7.2 y 7.8 según la OMS “Organización Mundial Para La Salud”. (1 “16”)

<i>pH</i>	% HClO	% ClO ⁻
6,0	95	5
6,5	90	10
7	75	25
7,2	66	34
7,5	47	53
8	22	78
8,5	8	92

Variación del pH en relación al porcentaje de Acido hipocloroso HClO y Ión hipoclorito ClO⁻

Fuente: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos – EPA.

[Http://Www.Epa.Gov/Espanol/Sobreepa.Htm](http://www.epa.gov/espanol/sobreepa.htm)

8. MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA.

Existen diversos métodos para el análisis bacteriológico, que permiten detectar la presencia o ausencia de ciertos microorganismos indicadores de contaminación, tales como la técnica del NMP (Fermentación En Tubos) o la filtración por membrana. El método de filtración por membrana es un método altamente reproducible, puede usarse para analizar volúmenes de muestra relativamente grandes y se obtienen resultados en menor tiempo que con el NMP

Este método es utilizado cuando el número de bacterias es bajo, además de expresar valores cualitativos o cuantitativos, en cuanto a un volumen de muestra determinado

(ausencia/presencia por 100 ml). Se utilizan filtros de membrana de celulosa estériles con un poro de 0,45 μm , que retienen las bacterias.

8.1 Fundamento del método de filtración por membrana.

La muestra de agua se hace pasar mediante vacío por un filtro de celulosa de 0.45 μm de diámetro de poro, para que las bacterias queden retenidas, en el mismo. El filtro o membrana de celulosa, luego es colocado en un medio de cultivo específico o adecuado, según el estudio a realizar.

8.2 Característica del filtro de membrana.

Se deben utilizar filtros de membrana con un diámetro de poro que permita una completa retención de las bacterias. Siendo el más utilizado el de 0.45 μm de diámetro de poro. Se debe tener en cuenta que estos filtros estén libres de químicos susceptibles de inhibir el crecimiento y desarrollo bacteriano y que posean una velocidad de filtración satisfactoria. Se recomienda utilizar filtros de membrana de celulosa o nitrato de celulosa.

8.3 Ventajas y desventajas del método de filtración por membrana.

El método de filtración por membrana es un método ágil, rápido y reproducible, en comparación con otras técnicas. La lectura de resultados se da en un menor tiempo a comparación del método del NMP, además se puede utilizar en pruebas de campo, empleando los accesorios adecuados. El análisis se dificulta en muestras de aguas muy turbias o con abundante carga bacteriana. Este inconveniente es posible remediarlo, haciendo diluciones de la muestra o realizando pequeñas adiciones, de acuerdo al tipo de muestra a analizar. Otro inconveniente, es el costo de los filtros

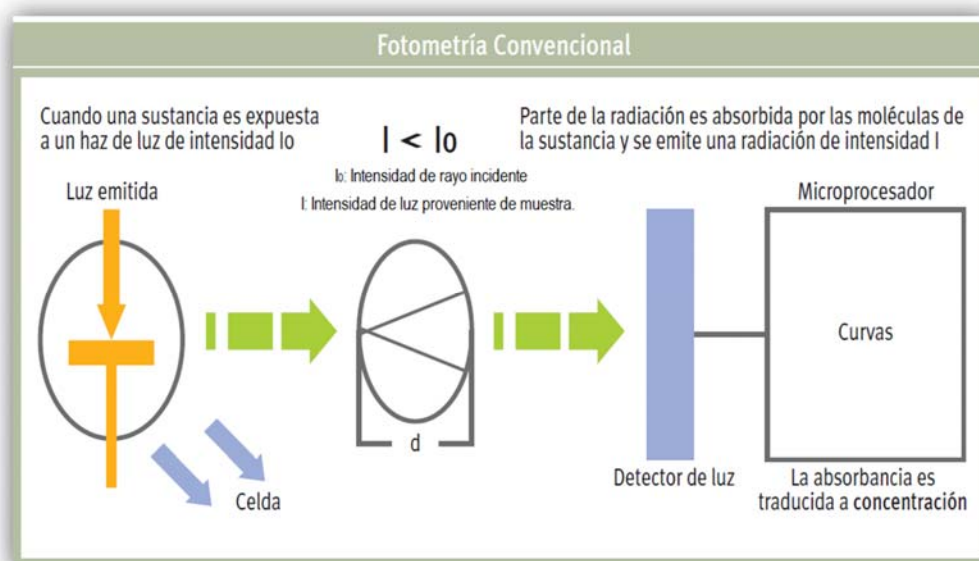
por membrana, además de los accesorios complementarios, necesarios para su uso. (1 “12”, “13”)

9. MÉTODO FOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE (CRL).

Por recomendación del libro Standard Methods for the Examinations of Water and Waste Water, la determinación de Cloro Residual Libre debe ser realizada en el terreno y por el método del DPD (N, N-dietil-*p*-fenilendiamina). Este método se basa en la adición de este reactivo a la muestra, la cual desarrolla un color que puede compararse con una referencia (Test Kit) o leerse directamente en un equipo digital (Fotómetro).

9.1 Fundamento del método fotométrico.

Los métodos fotométricos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber o emitir radiación electromagnética (Luz). Éstos se pueden emplear para determinar la concentración de un reactivo o producto durante una reacción. El Fotómetro detecta la intensidad de luz transmitida o absorbida a través de la solución en la celda y la compara con la que se transmite o absorbe a través de una solución de referencia denominada “blanco”.



Fuente: Hannainstruments–Argentina. [Http://Www.Hannaarg.Com/](http://Www.Hannaarg.Com/)

La cantidad de radiación absorbida se obtiene por la ley de Lambert – Beer:

$$\text{Log } I_0 / I = e c d$$

En donde:

- $\log I_0 / I =$ absorbancia (A)
- $e =$ coeficiente de extinción molar de la sustancia. ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$). Es la característica de una sustancia que nos dice cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada.
- $c =$ concentración molar de la sustancia. (M)
- $d =$ distancia óptica de la luz a través de la muestra. (cm)

La concentración “c” puede calcularse a partir de la absorbancia determinada, dado que los otros factores son conocidos.

Actualmente es el método más empleado por las mejoras en su óptica, obteniendo detecciones más precisas y permitiendo al usuario realizar las determinaciones in-situ y las veces que sean necesarias

9.2 Ventajas del método fotométrico.

En comparación con el método Test Kit o disco comparador, se encuentran las siguientes ventajas:

- Resultado no subjetivo.
- Principio de fotometría óptica.
- Se declara precisión y no incremento mínimo.
- Trazabilidad de resultados +/- 0,01ppm.
- Lectura digital.
- Costo-beneficio, superior a test kit.
- No necesita repetir la medición. (I “14”; II “8”)

10. INDICADORES BACTERIOLOGICOS DE CONTAMINACION EN EL AGUA. (I “6”, “7”, “9”, “11”)

10.1 Introducción.

El agua, además de ser una sustancia imprescindible para la vida, por sus múltiples propiedades, es ampliamente utilizada en actividades diarias tales como la agricultura, la industria, el uso doméstico, recreativo, entre otras; convirtiéndose en uno de los recursos más apreciados en el planeta. De ahí la importancia de conservar y mantener la calidad del agua, de manera que se garantice su sostenibilidad. Además, de ser la transmisión hídrica generalmente, una de las primeras vías de transmisión.

Las condiciones bacteriológicas del agua son fundamentales desde el punto de vista sanitario. Por tanto, determinar el tipo de bacterias presentes y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad del agua y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas. Existe un consenso general sobre la dificultad de determinar la presencia de todos los organismos patógenos implicados en los procesos de contaminación ambiental. Dicha determinación implica varios días de análisis, costos elevados y laboratorios especializados. Frente a estas dificultades y a la necesidad de hacer una evaluación rápida y fiable de la presencia de patógenos en el agua, se ha planteado la necesidad de trabajar con organismos indicadores.

Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento patógeno o similar a estos, (concentración y reacción frente a factores ambientales, barreras artificiales), pero son más rápidos, económicos y fáciles de identificar, son relativamente inocuos para el hombre y animales; su presencia en agua está relacionada, cualitativamente y cuantitativamente con la de otros microorganismos patógenos de aislamiento más difícil.

10.2 Requerimiento de un indicador de contaminación.

- No encontrarse en agua no contaminada.
- Estár presente en el agua contaminada manteniendo una correlación con los patógenos.
- Ser más abundante que los patógenos.
- Sobrevivir en el agua más tiempo que los patógenos.
- Ser detectado, de la forma, más rápida, fácil y económica.
- En lo posible tener criterios microbiológicos comunes internacionalmente

10.3 Valor de un indicador.

Los indicadores se utilizan en cada país o ciudad dependiendo de 3 factores que le permiten dar un valor al indicador.

- **Criterio:** Depende de la densidad del indicador, y del riesgo potencial a la salud humana. (Estudio científico, valoración del riesgo, determinación de donde aparece el brote).
- **Guía:** A partir del criterio, el país establece un límite máximo alcanzable del indicador por 100ml de agua, Este valor está alcanzado bajo los factores científicos (estudios), sociopolíticos (status mundial), económicos (turismo), culturales (región y costumbres).
- **Standard:** Normativa nacional e internacional.

10.4 Bacterias.

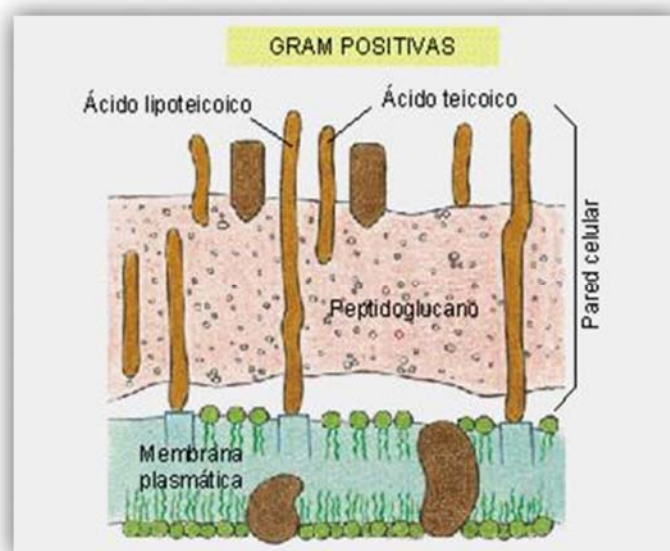
Las bacterias son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de algunos micrómetros de largo (entre 0.5 y 5 μm , por lo general) y diversas formas incluyendo esferas (cocos), barras (bacilos) y hélices (espirilos). Las bacterias son procariotas, a diferencia de las células eucariotas (de animales, plantas, etc.), no tienen el núcleo definido y presentan orgánulos internos de locomoción, generalmente poseen una pared celular compuesta de peptidoglicano. Muchas bacterias disponen de flagelos o de otros sistemas de desplazamiento y son móviles.

Además de su tamaño, forma y disposición celular, otro criterio de diferenciación de las bacterias se basa sobre sus características de tinción, con la coloración de Gram, con esta técnica de tinción la mayor parte de las bacterias pueden ser clasificadas

como Gram positivas o Gram negativas. El componente rígido de la pared celular de todas las bacterias, está constituido por peptidoglicanos o mureína. Los peptidoglicanos se encuentran en todas las especies de bacterias excepto en los ureaplasmas y micoplasmas, ya que carecen de pared celular.

10.4.1. Bacterias Gram Positivas.

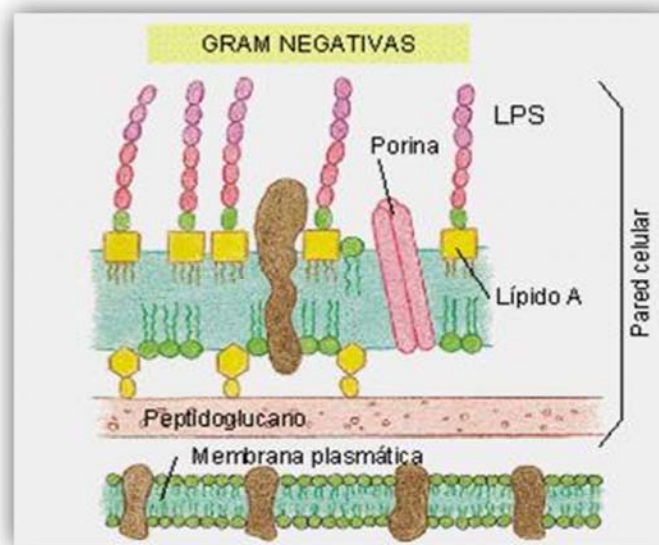
La pared celular de las bacterias Gram positivas, tiene un grosor de casi 80 nm y está compuesta principalmente de varias capas de peptidoglicano. De hecho, desde el 40% hasta más del 80% del peso seco de algunas paredes celulares, Gram positivas; están constituidas por peptidoglicanos. Atrapados dentro de esta matriz de peptidoglicanos, se encuentran una variedad de proteínas, polisacáridos y moléculas únicas denominadas ácidos teicoicos.



Fuente: R. Díaz; C. Gamazo; F. López Goñi. (Manual práctico de microbiología – Segunda edición 2003).

10.4.2. Bacterias Gram Negativas.

Las bacterias Gram negativas presentan una pared celular delgada a diferencia de las bacterias Gram positivas. Sin embargo, estructuralmente, más compleja. Por fuera de la membrana citoplasmática se encuentra el espacio periplasmático un compartimiento que contiene enzimas y que se encuentra entre la membrana citoplasmática y la porción exterior de la pared celular



Fuente: R. Diaz; C.Gamazo; F. Lopez Goñi. (Manual práctico de microbiología – Segunda edición 2003).

Existen diferencias notables entre la estructura de la pared bacteriana en organismos Gram positivos y Gram negativos. La más notable es la presencia en los Gram negativos, de una segunda membrana, la membrana externa, creándose un espacio entre ambas, el espacio periplásmico, en el que se encuentra la mureína.

La mureína en las bacterias Gram negativas se ve a microscopio electrónico como una capa fina, posiblemente constituida por una única molécula bidimensional que conserva la forma de la bacteria, y a la que normalmente se denominará "sáculo de

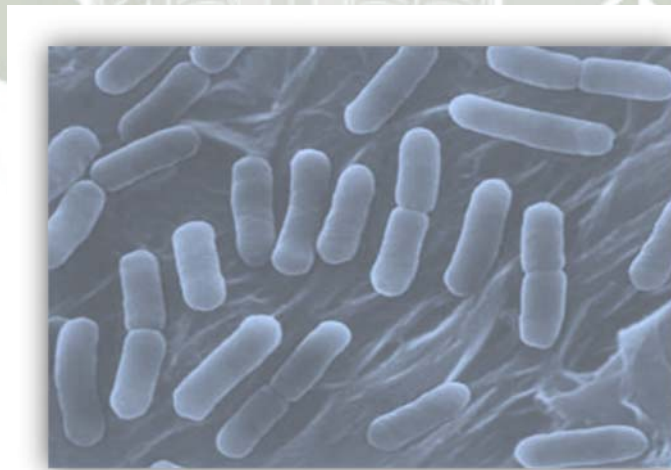
mureína". En las bacterias Gram positivas no existe la membrana externa y la mureína aparece como una capa más gruesa. (1 "6", "7", "9", "11")

10.5. Indicadores bacteriológicos.

10.5.1. Coliformes fecales.

10.5.1.1. Características.

Este grupo de microorganismos se distinguen de los coliformes totales (que comprende la totalidad del grupo), por ser estos de origen intestinal, tanto del hombre como de los animales de sangre caliente y estar presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades. Desde el punto de vista de la salud pública esta diferenciación es importante puesto que permite asegurar con alto grado de certeza que la contaminación que presenta el agua, es de origen fecal. Permanecen por más tiempo en el agua y se comportan de igual manera que otros patógenos en los sistemas de desinfección



Coliformes fecales, Apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. <http://www.cdc.gov/spanish/>

10.5.1.2. Identificación en el laboratorio.

Los coliformes fecales pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulantes, termotolerantes, fermentadores de lactosa a una temperatura de 44,5 - 45,5°C con producción de gas. Crecen en medios diferenciales y selectivos como el agar VRBA (agar biliado - rojo neutro - cristal violeta) formando colonias de color rosa - púrpura. La prueba de coliformes fecales positiva, indica un 90% de probabilidad de que el coliforme aislado sea *E. coli*.

A. *Escherichia*.

- ***Escherichia coli***: Es un bacilo Gram negativo, no esporulado, móvil, con flagelos peritricos, es anaerobio facultativo, además es el principal indicador de contaminación fecal. Es un microorganismo de flora normal, pero existen cepas que son patógenas y causan daño produciendo diferentes cuadros clínicos.

B. *Klebsiella*.

- ***Klebsiella pneumoniae***: Es una bacteria Gram negativa en forma de bastoncillo, la más importante del género *Klebsiella* de la familia *Enterobacteriaceae*. Es el agente causal de infecciones del tracto urinario, neumonías, sepsis, infecciones de tejidos blandos. Causa alrededor del 1% de las neumonías bacterianas.

C. *Enterobacter*.

- ***Enterobacter Aerogenes:*** Bacilo Gram negativo, oxidasa negativo y catalasa positivo, se puede encontrar en medios acuáticos. Puede ser móvil y no móvil. La especie está estrechamente relacionada con *Klebsiella pneumoniae*. Es un patógeno oportunista que causa infecciones en piel y otros tejidos incluyendo neumonías, infecciones urinarias, infecciones en los ojos, peritonitis post-quirúrgica. (9, 13)
- ***Enterobacter cloacae:*** Bacilo Gram negativo, oxidasa negativo y catalasa positivo, presente en el aparato digestivo humano. Se diferencia del *Enterobacter aerogenes* por dar reacción positiva para la ureasa. Puede producir infecciones del tracto urinario, incluso bacteriemia, osteomielitis, artritis supurativa.

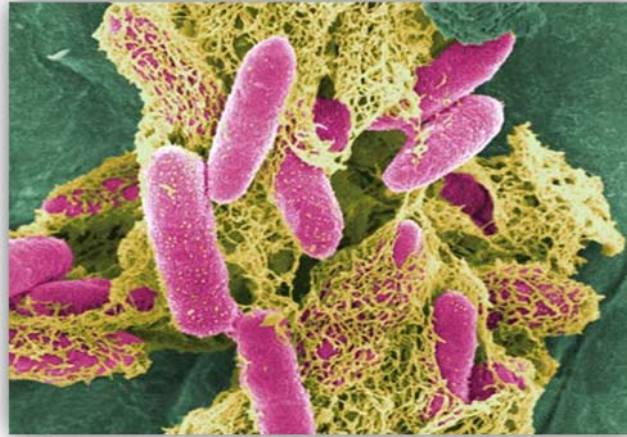
10.5.1.3. Enfermedades.

Estas bacterias son de interés clínico, ya que pueden ser capaces de generar infecciones oportunistas en el tracto respiratorio superior e inferior, además de bacteriemia, infecciones de piel y tejidos blandos, enfermedad diarreica aguda y otras enfermedades severas en el ser humano.

10.5.2. *Escherichia coli*. (1 “6”, “7”, “9”, “11”)

10.5.2.1. Características.

Es un bacilo Gram negativo, su tamaño es de 0.5 μm de longitud por 2 μm de diámetro. No delicado, no esporulado, móvil, con flagelos peritricos, es anaerobio facultativo, además es un indicador de contaminación fecal siendo capaz de crecer a 44°C. Se le considera un microorganismo de flora normal, pero existen cepas que son patógenas y causan daño produciendo diferentes cuadros clínicos.



Escherichia coli, apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. <http://www.cdc.gov/spanish/>

10.5.2.2. Identificación en el laboratorio.

Crece en agar EMB, formando colonias con un característico brillo metálico y produce reacción positiva para lactosa, glucosa, CO₂, lisina, descarboxilasa, indol, movilidad y rojo de metilo; reacción negativa de Voges-Proskauer, H₂S y ureasa. Es incapaz de crecer en medio con citrato como única fuente de carbono y energía.

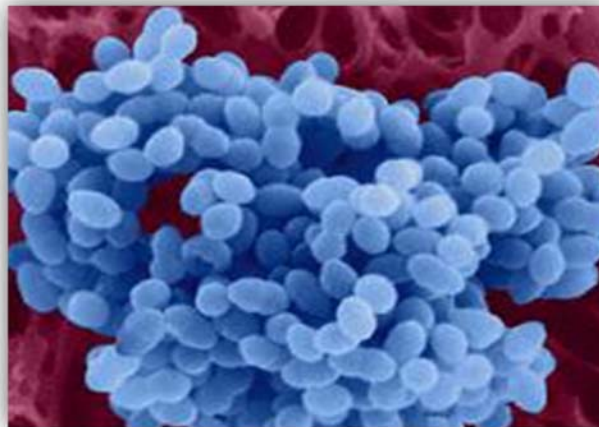
10.5.2.3. Enfermedades.

La mayoría de las *E. Coli* son inofensivas. Sin embargo, algunos tipos pueden producir enfermedades tales como infecciones del tracto urinario, meningitis neonatal, enfermedades intestinales, diarrea acuosa, cistitis y neumonía Gram negativa.

10.5.3. *Enterococcus faecalis* (*Streptococcus faecalis*). (1 “6”, “7”, “9”, “11”)

10.5.3.1. Características.

Son cocos Gram positivos, que forman pares o cadenas durante el crecimiento, de 0.5 a 1 μm de diámetro, inmóviles y no forman endosporas ni cápsulas. Los *Streptococcus faecalis*, actualizados taxonómicamente como *Enterococcus faecalis* se encuentra en las heces de los humanos y animales de sangre caliente. Todos los enterococos presentan alta tolerancia a condiciones ambientales adversas altas o bajas temperaturas, deshidratación, salinidad, luz solar, por lo que se suelen emplear para determinar la contaminación fecal en aguas de baño, pues soportan estas condiciones. Recientemente el *Enterococcus faecalis* ha sido considerado como un organismo de supervivencia superior a los Coliformes, en aguas.



Enterococcus faecalis apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. [Http://Www.Cdc.Gov/Spanish/](http://www.Cdc.Gov/Spanish/)

10.5.3.2. Identificación en el laboratorio.

Crece en Agar selectivo Estreptococos KF, formando colonias puntiformes de color amarillo. Con un diámetro de 0.5 a 1 mm. Presenta reacción negativa para catalasa, hidroliza la esulina en presencia de 40% de bilis y crece en presencia de ClNa al 6.5%.

10.5.3.3. Enfermedades

Puede causar endocarditis, infecciones de vejiga, próstata, epidídimo además de cistitis, pielonefritis, e infecciones de sistema nervioso que son menos comunes. El uso de *Enterococcus faecalis* como un indicador de contaminación fecal de aguas recreacionales fue recomendado por la U.S. Environmental Protection Agency en 1986. La recomendación se basó en estudios que demostraron que tiene una relación directa con las enfermedades asociadas a la natación en ambientes de agua marina y agua dulce.

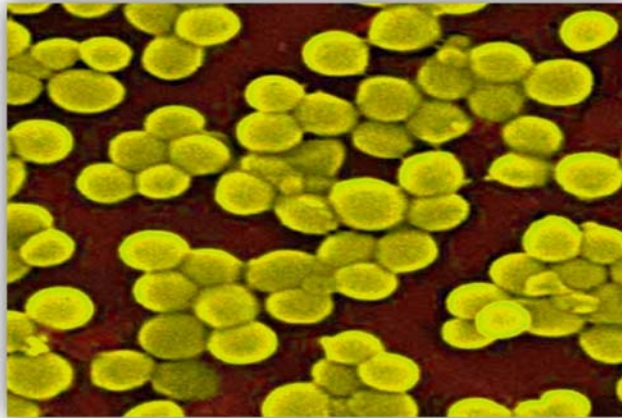
10.5.4. *Staphylococcus aureus*. (I“6”, “7”, “9”, “11”)

10.5.4.1. Características.

Es un coco Gram positivo, inmóvil, de 0.8 a 1 μm de diámetro, forma grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. No es un microorganismo delicado, resiste al calor y a la desecación, además puede crecer en condiciones de salinidad (7,5% de ClNa), es capaz de respiración aerobia y anaerobia. Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* producen cápsulas.

La principal característica que diferencia al *Staphylococcus aureus* de los demás estafilococos es la producción de la enzima coagulasa (coagula el plasma). Coloniza

la piel y las mucosas de muchas personas, tiene además un gran potencial patogénico debido a la gran cantidad de toxinas y enzimas que es capaz de producir, como citotoxina, la enterotoxina y la toxina epidermolítica.



Staphylococcus aureus, apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. <http://www.cdc.gov/spanish/>

10.5.4.2. Identificación en el laboratorio.

Crece en Agar Base Sangre, su desarrollo es abundante, formando colonias circulares, elevadas y resplandecientes de color gris a amarillo dorado intenso, evidenciándose una hemólisis de tipo beta. En Agar selectivo Manitol Salado, forma colonias amarillas debido a degradación de manitol. Presenta metabolismo oxidativo/fermentativo en el medio O-F (Hugh Leifson), por lo que se lo diferencia del genero micrococcus. Presenta reacción positiva para catalasa y coagulasa. (17, 18,

10.5.4.3. Enfermedades.

Puede producir enfermedades, que van desde infecciones cutáneas tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingestá de la enterotoxina

estáfilocócica secretada por la bacteria.

10.5.5. *Salmonella spp.* (1 “6”, “7”, “9”, “11”)

10.5.5.1. Características.

Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, de 1 a 3 μm de longitud y entre 0.5 y 0.7 μm de diámetro, con flagelos peritricos, no desarrollan cápsula, ni esporas. Producen sulfuro de hidrógeno (H_2S). Se encuentran fundamentalmente asociados a la flora intestinal, por ello, a aguas y alimentos que tengan contacto con materia fecal. Por la importancia epidemiológica de este patógeno bacteriano, su aislamiento y caracterización es una de las tareas principales del sistema de vigilancia de la calidad del agua y los alimentos.



Salmonella spp., apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.. [Http://Www.Cdc.Gov/Spanish/](http://Www.Cdc.Gov/Spanish/)

10.5.5.2. Identificación en el laboratorio

Crece en agar selectivo Sulfito Bismuto, formando colonias de color marrón - negro, con o sin brillo metálico. Producen reacción positiva para glucosa, CO_2 , H_2S , lisina, descarboxilasa, movilidad y rojo de metilo; reacción negativa para lactosa, Voges-Proskauer, indol y ureasa. Es capaz de crecer en medio con citrato como única fuente

de carbono y energía.

10.5.5.3. Enfermedades

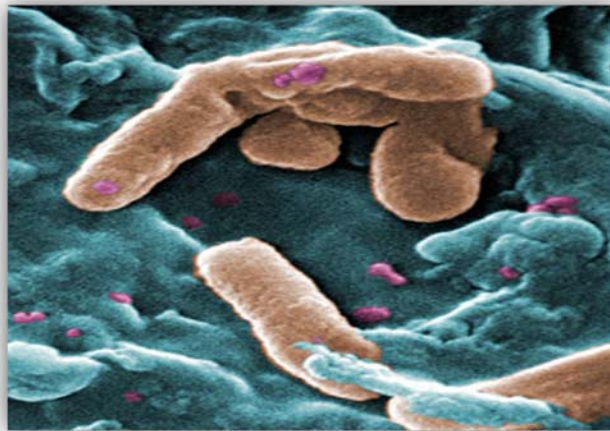
Este microorganismo es el agente causal de varias enfermedades infecciosas entre las que se encuentran las fiebres entéricas, gastroenteritis, toxiinfecciones alimentarias y la fiebre tifoidea (dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal y/o diarrea). Produce salmonelosis (gastroenteritis aguda) con un período de incubación de entre 5 horas y 5 días. A través de las heces del enfermo se elimina un gran número de esta bacteria.

10.5.6. *Pseudomonas aeruginosa*. (1“6”, “7”, “9”, “11”)

10.5.6.1. Características.

Es un bacilo Gram negativo, no fermentador, no esporulado, de unos 3 μm de longitud por 0.5 μm de diámetro, presenta flagelos polares para su locomoción que pueden producir pigmentos fluorescentes como: Píocianina (Azul), Píoverdina, Píorrubina y Píomelanina.

No se considera autóctona del agua, puede derivar de heces humanas y animales, su detección en agua se asocia con contaminación por descarga de aguas residuales, por lo tanto hay una estrecha correlación de su presencia en ambientes acuáticos contaminados y estancados. Este microorganismo crece en muy baja concentración de nutrientes en medio ambiente acuoso. La importancia de *Pseudomonas aeruginosa* se tornó mayor cuando se comprobó su capacidad de inhibir los *coliformes*, debido a la producción de "Pseudocin", que representa el conjunto de píocianinas con actividad antibacteriana, sobre los coliformes.



Pseudomonas aeruginosa, apreciados en el microscopio electrónico.

Fuente: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. <http://www.cdc.gov/spanish/>

10.5.6.2. Identificación en el laboratorio.

Crece en Agar selectivo Cetrimide, formando colonias con pigmentación verde azulada alrededor de las mismas, además presentan fluorescencia bajo luz UV (254 nm). Presentan reacción positiva para oxidaza, catalasa, movilidad, oxidación de glucosa. No fermenta carbohidratos.

10.5.6.3. Enfermedades

Es un importante patógeno oportunista y es causa de un amplio rango de infecciones, especialmente de oídos, ojos y piel, su control en aguas destinadas a la recreación es una obligación en varios países del mundo.

11.- REGLAMENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO DS N° 031-2010-SA. DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD AMBIENTAL -- MINISTERIO DE SALUD. LIMA –PERÚ 2010.

Establecen según la normativa vigente legal, a través de sus respectivos: Títulos, Capítulos, Artículos y Valores Máximos Permisibles, lo cual tomamos de referencia para la elaboración del presente proyecto de tesis lo siguiente en él:

TÍTULO IX.

REQUISITOS DE CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO.

Artículo 60°.- Parámetros microbiológicos y otros organismos.

Toda agua destinada para el consumo humano debe cumplir los siguientes parámetros.

Parámetros Microbiológicos Y Otros Organismos.	Unidad De Medida.	Límite Máximo Permisibles.
Bacterias Coliformes Totales.	UFC/100 ml a 35°C	0 (*)
E. Coli.	UFC/100 ml a 44,5°C	0 (*)
Bacterias Coliformes Termotolerantes O Fecales.	UFC/100 ml a 44,5°C	0 (*)

Artículo 63°.- Parámetros De Control Obligatorio (PCO)

Son parámetros de control obligatorio para todos los proveedores de agua, los siguientes:

Valor Desinfectante Del Cloro Residual Libre (CRL) En El Agua Potable.

- 0.0 mg/l - < 0.3 mg/l Dosificación mínima.
- 0.3 mg/l - < 0.5 mg/l Dosificación baja.
- 0.5 mg/l - Dosificación adecuada. (II “5”, “6”, “7”)

Valor Físico Químico Adecuado Del pH En El Agua Potable.

- pH = 6.5 – 8.5

Nota.- Con respecto al valor de pH el recomendado para la acción del Cloro Residual Libre (CRL), como un parámetro adecuado de desinfección según OMS “Organización Mundial para la Salud” debe hallarse entre 7.2 y 7.8.

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS

1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO.

- El presente trabajo de investigación para la elaboración de mi proyecto de tesis se desarrollo en los ambientes del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, en donde se procedió a la recolección de las muestras.
- El procesamiento, análisis, identificaciones bioquímicas, y medición de parámetros de desinfección de las muestras recolectadas se realizo en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica de Santa María (H-402 y H-403), además debo agradecer al Dr. Oscar Murriel Pinazo por facilitar las instalaciones del Lab. H – 401 para proseguir la investigación de mi proyecto en horarios de clase, durante el periodo de Mayo, Junio, Julio, y Agosto del 2012.

2. DISEÑO DEL ESTUDIO.

El presente trabajo de investigación es de tipo prospectivo de característica longitudinal y descriptivo.

- **Prospectivo.**

Porque se obtuvo y se registró la información según se generaban los resultados permitiéndonos la observación de ciertas causas presumibles que avanzan longitudinalmente en un determinado tiempo, a fin de observar sus consecuencias.

- **Longitudinal.**

Porque durante el tiempo de investigación se obtuvieron las muestras de agua en diferentes momentos en el tiempo. Esto nos permite determinar, cambios, tendencias o desarrollos a través del tiempo, de la contaminación en las muestra de agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

- **Descriptivo.**

Porque se estimó la magnitud expresada en la presencia y características de la contaminación bacteriológica, en el agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

3. OTROS INDICADORES DEL ESTUDIO.

- Área General: Ciencias de la salud
- Área Específica: Farmacia y Bioquímica
- Especialidad: Microbiología,
- Línea o Tópico: Contaminación bacteriológica.
- Tipo De Investigación: De campo y de laboratorio.

4. UNIDADES DE ESTUDIO.

- Agua Subterránea.
- Agua Potable.
- Agua Subterránea – Potable.

5. CRITERIOS DE ESTUDIO.

5.1 Criterios de inclusión.

- a) Agua subterránea del primer acuífero del sub suelo. (Pozo)
- b) Contenedor de agua potable (Entrepiso 2do y 3ero)
- c) Contenedor de agua Subterránea – Potable (Azotea 7 piso)

5.2 Criterios de exclusión.

- a) Pozos de agua subterránea del primer acuífero del sub suelo, de otras ubicaciones cercanas.
- b) Contenedor y suministros red hídrica de agua potable de otras ubicaciones cercanas.
- c) Red hídrica que suministra el agua Subterránea – Potable a distintos puntos del hospital para uso diario.

- **Nota.-** Con respecto al punto “C” en los criterios de exclusión, no se tomo en consideración los puntos de suministro del agua Subterránea – Potable del hospital, porque de hallarse contaminación bacteriológica en el contenedor de la misma, según valores expresados en el Reglamento DS N° 031-2010-SA. (ANEXO N°30), dicha agua destinada para su uso ya se hallaría con indicadores bacteriológicos lo que la haría no apta para su uso potable.

6. MATERIALES.

6.1 Materiales de laboratorio.

6.1.1. Instrumentos y equipos.

6.2.2. Materiales de vidrio y plástico.

- Autoclave	EASTERN.
- Balanza Analítica Con Sensibilidad de 0.1mg.	“SCOUT PLUS”.
- Bomba De Vacío De Alto Rendimiento con poder de succión no mayor a 15psi. (Unidades De Presión).	“M.E”
- Cabina de seguridad biológica.	“ESCO MOD: IBC 61010 – 1”.
- Cocina Eléctrica.	-----
- Equipo de filtración. (Anexo N° 28)	“MILLIPORE FILTER HOLDER De 47 mm DE DIÁMETRO”.
- Estufa incubadora.	“BM – CLIMATEC”.
- Fotómetro digital para la determinación de Cloro Residual Libre (CRL). (Anexo N° 25)	“HANNA INSTRUMENTS MODELO HI-701”
- Horno de esterilización.	“FANEN MOD: 31558”.
- Lámpara UV de 254nm.	“LAMAG”.
- Mechero bunsen.	-----
- Membranas de celulosa estériles de 0.45µm de diámetro de poros.	“PALL CORPORATION METRICEL 47 mm DE DIÁMETRO”.
- Microscopio.	“BELTEC MOD: 020446”.
- ph metro digital. (Anexo N° 27)	“HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207”.
- Refrigeradora	“BOSCH MOD: KDN 43”.

- Baguetas.
- Frascos de vidrio con tapa rosca de 45 ml.
- Frascos de vidrio ámbar con tapa rosca de 80 ml.

- Frascos de vidrio de 1000ml.
- Láminas portaobjetos.
- Matraces de 150 ml.
- Matraz kitasato de 500 ml.
- Pipetas de 0.5ml, 1 ml y 5 ml.
- Placas Petri de 100 x 15 mm.
- Probetas de 50 ml.
- Tubos 13 x 100 mm.
- Frascos de plástico con tapa rosca de 100ml.

6.2.3. Otros materiales.

- Algodón, gasa y pabilo.
- Barbijos descartables.
- Espátula
- Frascos de polietileno de 100ml estériles.
- Gotero
- Gradilla.
- Guantes de látex y Gorros de laboratorio.
- Hisopos de madera estériles.
- Mandil o guardapolvo.
- Mechero de ron.
- Nailon de 0.70mm y de 20kg de resistencia
- Pinzas.
- Pissetas con agua destilada.
- Papel kraft.
- Soportes Universales
- Trípodes.

6.2.4. Reactivos.

- Cloruro de Sodio.
- Glicerina.
- Glucosa.
- Peróxido de hidrogeno de 10 volúmenes.
- Reactivos para Cloro Residual Libre por 100 unidades (Modelo HI93701-0).
HANNA INSTRUMENTS. (Anexo N° 26)
- Reactivo de kovacs.
- Reactivo Rojo de Metilo.
- Reactivo α – naftol.
- Reactivo KOH
- Reactivos para Tinción Gram. (Cristal violeta, lugol, alcohol acetona, safranina).
- Tiosulfato de sodio.
- Urea.
- Aceite de inmersión.

6.2.5. Medios de cultivo microbiológico.

A. Caldo BHI (Al 5% de ClNa).	HIMEDIA.	(Anexo N°1).
B. Caldo BHI (Al 6.5% De ClNa)	HIMEDIA.	(Anexo N°2).
C. Agar Cetrimide.	CRITERION.	(Anexo N°3).
D. Agar Citrato de Simmons.	MERCK.	(Anexo N°4).
E. Agar EMB (Eosina Azul de Metileno).	MERCK.	(Anexo N°5).
F. Agar LIA (Hierro Lisina Agar).	MERCK.	(Anexo N°6).
G. Agar Manitol Salado.	MERCK.	(Anexo N°7).
H. Caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer).	MERCK.	(Anexo N°8).
I. Medio O-F (Medio Basal De Hugh Y Leifson).	MERCK.	(Anexo N°9).
J. Agar Base Sangre.	MERCK.	(Anexo N°10).
K. Agar Sulfato De Bismuto.	MERCK.	(Anexo N°11).
L. Medio SIM(Sulfuro - Movilidad – Indol).	ACUMEDIA.	(Anexo N°12).

M. Agar KF.	MERCK.	(Anexo N°13).
N. Agar TSI (Triple Azúcar Hierro).	MERCK.	(Anexo N°14).
O. Agar Urea.	MERCK.	(Anexo N°15).
P. Agar VRBA (Agar Biliado – Rojo Neutro – Cristal Violeta).	MERCK.	(Anexo N°16).

7. MÉTODOS. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3”, “8”, “11”)

7.1 Métodos para la evaluación bacteriológica del Agua Potable, Subterránea, y Subterránea -- Potable.

7.1.1. Recolección de la muestra.

A. De los envases.

Se utilizaron envases de vidrio rotulados de 1000ml de capacidad, con tapa rosca previamente esterilizados a calor seco y a condiciones adecuadas, (Anexo N° 19) además, frascos estériles de plástico con tapa rosca de 100ml de capacidad, para el aislamiento posterior de la muestra homogenizada.

B. De la toma de muestra.

En la correcta recolección de nuestra muestra de agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable, se tomo en consideración los siguientes criterios de muestreo, a fin de obtener posteriormente el análisis de resultados confiables.

B.1 Muestreo de agua subterránea.

Está se halla siguiendo su cauce natural por debajo del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, en el distrito de Cayma, proviene de la napa freática del sub suelo de la zona superior acuífera de la tierra, la cual es

extraída por un equipo de bombeo adecuado a más de 38m de profundidad, y es aprovechada para minimizar costos, y que el hospital cuente con el servicio las 24hrs del día en caso de algún percance de fuerza mayor.



- a) Para recolectar dicha muestra debemos tener en cuenta la fuerza del caudal del agua Subterránea, puesto que así tomaremos una mejor muestra representativa para fines de nuestro estudio, habiendo mencionado esto, se procede a recolectar la muestra entre las 5am y 6am de la mañana que es el instante de funcionamiento del sistema de bombeo del pozo, el cual se realiza de manera diaria para cubrir las necesidades del hospital.
- b) Procederemos a recolectar la muestra, abriremos la cubierta de seguridad del pozo, y limpiaremos con sumo cuidado los alrededores del mismo, para evitar que contaminantes como tierra, hojas, etc. caigan y afecten en la calidad del agua del pozo, tomaremos nuestro frasco de vidrio estéril rotulado de 1000ml de capacidad, el cual ha sido sujetado a un hilo de nailon de 0.70mm y de 20kg de resistencia, y lo descenderemos cuidadosamente por medio de la boca ancha del pozo sin que este tropiece o choque por las paredes del mismo.



- c) Al llegar el frasco hasta el agua subterránea está al poseer un caudal, llenara el frasco con nuestra muestra problema, inmediatamente después procederemos a subir el frasco. Recordar de enjuagar el frasco recolector de 2 a 3 veces con nuestra muestra problema. Al llegar el frasco a la superficie, colocaremos la solución de Tiosulfato de Sodio (8), a una concentración de 0.1 ml de solución al 1.8 % por cada 100 ml de muestra y procederemos a tapar y rotular el frasco, para posteriormente realizar el correcto traslado de la muestra.



B.2 Muestreo de agua potable.

Está llega al hospital a través del servicio de red de agua y alcantarillado de Arequipa la cual es proporcionada por la empresa SEDAPAR, y en este caso el agua procede de la planta de tratamiento de la TOMILLA - CAYMA. Está agua potable se

halla contenida en un reservorio de almacenamiento ubicado entre el 2do y 3er piso del Hospital.

- a) Para recolectar dicha muestra debemos de tener en cuenta que está al encontrarse en un contenedor, está influenciada por el flujo de agua del mismo, es decir que al llegar el agua al contenedor, está presenta un movimiento circular rotatorio horario, como las manecillas de un reloj, esto nos ayudara a recolectar una muestra representativa durante el proceso del ciclo de abastecimiento del agua del hospital, dicha muestra fue recolectada entre las 5am y 6am de la mañana.



- b) Procederemos a recolectar la muestra, subiremos por la escalera lateral del contenedor, lo que nos dará absceso a la abertura superior del mismo, tomaremos nuestro frasco de vidrio rotulado estéril de 1000ml de capacidad, el cual ha sido sujetado a un hilo de nailon de 0.70mm y de 20kg de resistencia, y trataremos de colocarlo en la parte media del contenedor, a una altura de la mitad del mismo para que el flujo circular del agua no cause interferencia con la recolección de una muestra representativa. (11- 8- 12).



- c) Recordar de enjuagar el frasco recolector de 2 a 3 veces con nuestra muestra problema .Al recuperar nuestro frasco de vidrio estéril de 1000ml de capacidad, del interior del contenedor, realizaremos el añadido de la solución de Tiosulfato de Sodio, a una concentración de 0.1 ml de solución al 1.8 % por cada 100 ml de muestra y procederemos a tapar y rotular el frasco, para posteriormente realizar el correcto traslado de la muestra.



B.3 Muestreo del agua Subterránea - Potable.

Este tipo de muestra es el resultado de mezclar el agua subterránea de la napa freática del sub suelo de la zona superior acuífera de la tierra con el agua potable

procedente de la planta de tratamiento de la TOMILLA – CAYMA, para abastecer en las actividades de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, esta agua Subterránea – Potable se halla contenida en un reservorio de almacenamiento ubicado en el 7mo piso en la azotea del mismo del Hospital.

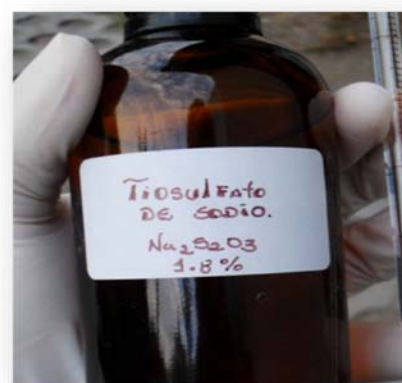
- a) Para recolectar dicha muestra debemos de tener en cuenta que está al encontrarse en un contenedor, está influenciada por la fuerza del llenado del mismo, es decir que al llegar el agua al contenedor, está presenta un movimiento circular rotatorio horario, como las manecillas de un reloj, esto nos ayudara a recolectar una muestra representativa durante el proceso del ciclo de abastecimiento del agua del hospital, dicha muestra fue recolectada entre las 5am y 6am de la mañana.



- b) Procederemos a recolectar la muestra, subiremos por la escalera lateral del contenedor, lo que nos dará acceso a la abertura superior del mismo, tomaremos nuestro frasco de vidrio rotulado estéril de 1000ml de capacidad, el cual ha sido sujetado a un hilo de nailon de 0.70mm y de 20kg de resistencia, y trataremos de colocarlo en la parte media del contenedor, a una altura de la mitad del mismo para que el flujo circular del agua no cause interferencia con la recolección de una muestra representativa.



- c) Recordar de enjuagar el frasco recolector de 2 a 3 veces con nuestra muestra problema. Al recuperar nuestro frasco de vidrio estéril de 1000ml de capacidad, del interior del contenedor, realizaremos el añadido de la solución de Tiosulfato de Sodio, a una concentración de 0.1 ml de solución al 1.8 % por cada 100 ml de muestra y procederemos a tapar y rotular el frasco, para posteriormente realizar el correcto traslado de la muestra.



C.- Del muestreo.

Se analizaron un total de 28 muestras simples, incluyendo 84 sub ensayos individuales, en los lugares de recolección anteriormente mencionados, según el tipo de agua a considerar en nuestro estudio, y teniendo como referencia en el caso del Agua Subterránea su origen, y en caso de Agua Potable, su lugar y condiciones de almacenamiento, de las cuales tendremos así una perspectiva más amplia de la generación de un nuevo punto de recolección a tomar en cuenta que vendría a constituir el acoplo del Agua Subterránea – Potable, en un tercer contenedor, que a la vez tiene condiciones semejantes de almacenamiento al agua potable, pero sin ningún tratamiento específico de desinfección, la cual es utilizada en las actividades de uso diario del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa. Se recolectaron las muestras durante un periodo de 4 meses con dos grupos de muestreo Grupo I. (Mayo, Junio), Grupo II. (Julio, Agosto), entre las 5am y 6am, todas ellas como se muestra en el siguiente cuadro:



CUADRO A.

**Muestreos para el control bacteriológico del agua Subterránea – Potable Hospital
Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.**

Número De Controles.	Nº De Muestreo.	Periodo.		Tipo De Muestra Utilizada En ml.			
		Fecha.	Mes.	Agua Subterránea.	Agua Potable.	Agua Subterránea - Potable.	
Grupo I.	C1.	1	7	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		2	11	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		3	14	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		4	17	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		5	21	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		6	24	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
		7	28	Mayo.	100ml.	100ml.	100ml
	C2.	8	1	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		9	4	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		10	7	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		11	11	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		12	14	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		13	18	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
		14	21	Junio.	100ml.	100ml.	100ml
Grupo II.	C1.	15	2	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		16	5	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		17	9	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		18	12	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		19	16	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		20	19	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
		21	23	Julio.	100ml.	100ml.	100ml
	C2.	22	6	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		23	9	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		24	13	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		25	16	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		26	20	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		27	23	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml
		28	27	Agosto.	100ml.	100ml.	100ml

- **Nota.-** (Del tipo de muestra Utilizada en ml), del **CUADRO A.** Es la cantidad que se utilizó para hallar los indicadores del control bacteriológico del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, por el Método De Filtración Por Membrana.

D.- Del transporte de la muestra. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3”, “19”)

Para el traslado apropiado de las muestras recolectadas éstas deben ser protegida de los rayos UV, luz visible, y variaciones de temperaturas, esto se consigue utilizando recipientes isotérmicos refrigerados, con bolsas de hielo gel, estableciendo una T° de 6°C – 10°C para un perfecto acondicionamiento de la muestra.

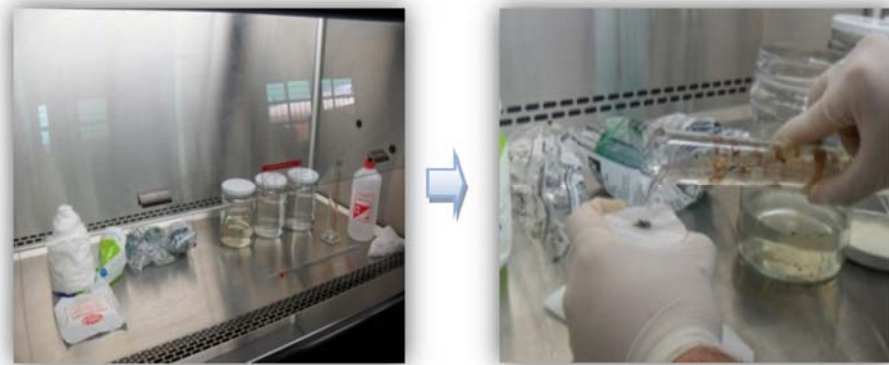


7.1.2. Procesamiento de muestras. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3”, “8”, “9”)

7.1.2.1. Método de filtración por membrada para la determinación cualitativa de indicadores bacteriológicos.

- a) Procederemos a distribuir las muestras agua de los frascos de vidrio de 1000ml, a frascos de plástico estériles de 100ml, dicho volumen es lo que se usará para el análisis bacteriológico, a través del Método De Filtración Por Membrana,

recordando realizar la repartición de la muestra de una forma correcta para evitar su contaminación (19), en ocasiones el agua de pozo suele tener interferentes, lo cual no debería suceder, pero en esa posibilidad procederemos a filtrarla con gasa estéril la cual retendrá los interferentes pero no las bacterias.

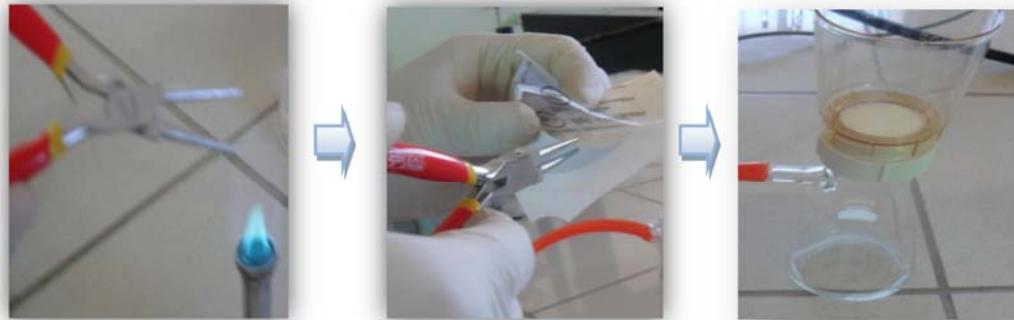


- b) Se procederá al ensamblado el equipo de filtración por membrana previamente esterilizado (porta filtros, embudo, (ANEXO 28)), matraz kitasato, conectando la bomba de vacío de alto rendimiento, al equipo de filtración, se utilizaron filtros de membrana de celulosa estériles con un poro de $0,45 \mu\text{m}$ (ANEXO 28), que retienen las bacterias, en su superficie.



- c) Con ayuda de unas pinzas lisas de naturaleza no dentada, esterilizadas al calor, se retiró la membrana estéril de $0,45 \mu\text{m}$ (Anexo N° 29) de su empaque original, y

se procedió a colocarla en el porta filtro estéril (parte inferior), (Anexo N° 29), unido al matraz kitasato, para posteriormente enroscar la parte superior del porta filtro (embudo), homogenizando vigorosamente los 100ml de muestra a filtrar.



- d) Procederemos a verter en el embudo del equipo de filtración los 100ml de nuestra, para posteriormente encender la bomba de vacío la cual no debe exceder los 15 psi de fuerza, y así hacer circular la muestra del embudo hacia el matraz kitasato, pasando por la membrana de celulosa de 0,45 μm , quedando en ella retenidas las bacterias a analizar.



- e) Luego se procedió a desenroscar el embudo del equipo porta filtro y a retirar la membrana de celulosa, con una pinza estéril y fue depositada en un frasco que contiene caldo de enriquecimiento BHI (Anexo N° 1), preparado previamente. Este caldo una vez preparado se puede guardar en refrigeración y protegido de la luz hasta el momento de utilizarlo, sin exceder más de dos semanas. Seguidamente envolvemos los frascos rotulados e incubamos el caldo de

enriquecimiento BHI (Anexo N° 1), a 37°C durante 24 horas en la estufa de incubación. Se repitió el mismo proceso para las demás muestras.



- f) Se observó el enturbiamiento de los caldos BHI, lo que indica crecimiento bacteriano. El resultado obtenido es cualitativo, expresándose en ausencia o presencia de los Indicadores Bacteriológicos en 100 ml de muestra. Posteriormente se realizó la siembra de las muestras con un asa de kolle, en medios selectivos para cada uno de los Indicadores Bacteriológicos en estudio; los agares utilizados fueron:

	- Agar Cetrimide.	(Anexo N°3).
	- Agar EMB (Eosina Azul de Metileno).	(Anexo N°5).
	- Agar Manitol Salado.	(Anexo N°7).
	- Agar Base Sangre.	(Anexo N°10).
	- Agar Sulfato De Bismuto.	(Anexo N°11).
	- Agar KF.	(Anexo N°13).
Caldo BHI + Membrana De Celulosa. (Crecimiento Positivo).	- Agar VRBA (Agar Biliado – Rojo Neutro – Cristal Violeta).	(Anexo N°16).

7.1.2.2. Identificación de Coliformes Fecales.

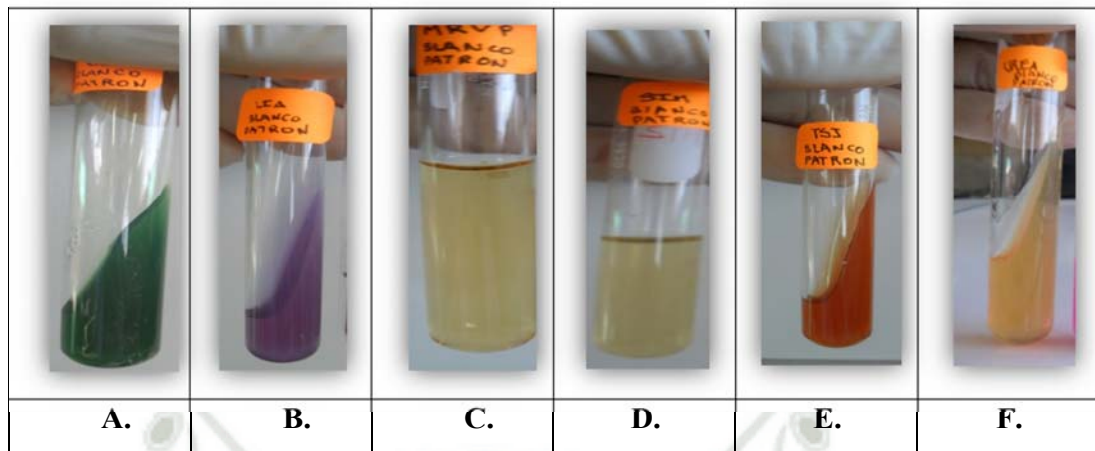
Sembraremos en agar selectivo VRBA (Anexo 16) y se incubaba a 44°C durante 24 horas. Posteriormente se observa el crecimiento y la morfología de las colonias en el agar selectivo VRBA, siendo éstas colonias lactosa positivo, de coloración rosa - purpura; seguidamente se realiza una tinción Gram a 100X (Anexo N°18), observándose bacilos Gram negativos. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)



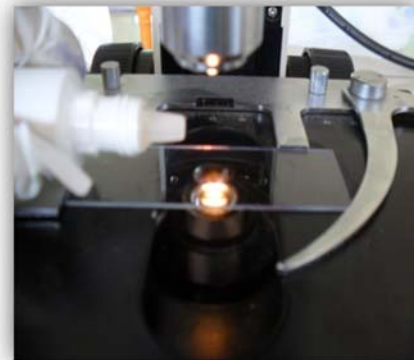
A. Agar Citrato de Simmons.	(Anexo N°4).
B. Agar LIA (Hierro Lisina Agar).	(Anexo N°6).
C. Caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer).	(Anexo N°8).
D. Medio SIM (Sulfuro - Movilidad – Indol).	(Anexo N°12).
E. Agar TSI (Triple Azúcar Hierro).	(Anexo N°14).
F. Agar Urea.	(Anexo N°15).

Se siembra en los siguientes medios de cultivo para las pruebas de identificación bioquímica y para la identificación de las especies de este grupo, se utilizan las tablas de identificación bioquímica. (Anexos N° 20, 21)

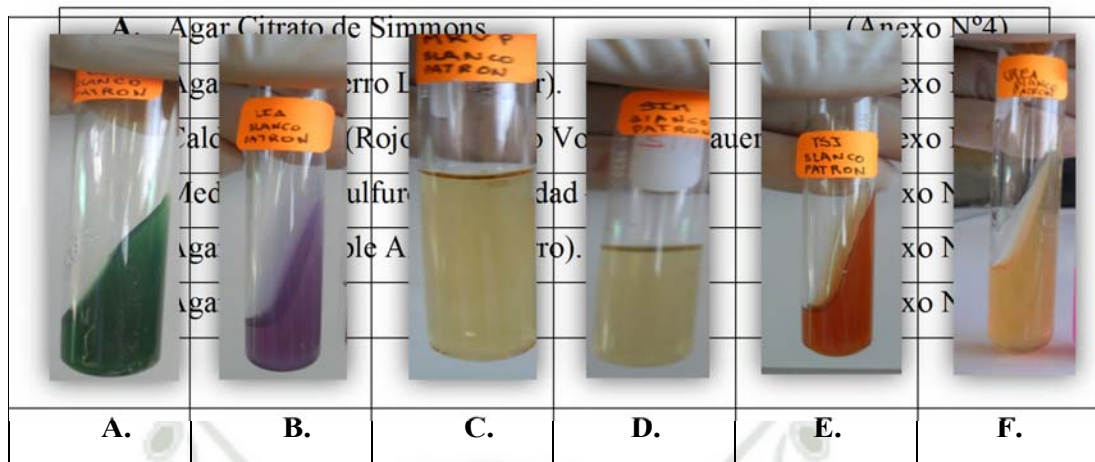
7.1.2.3. Identificación *Escherichia coli*.



Se siembra en agar selectivo EMB (Anexo 5) y se incuba a 44°C durante 24 horas. Posteriormente se observa el crecimiento y la morfología de las colonias en el agar selectivo EMB, siendo éstas colonias lactosa positivo, con brillo metálico verdoso, característico de esta especie, seguidamente se realiza una tinción Gram a 100X, (Anexo N°18) observándose bacilos Gram negativos y se siembra en los siguientes medios de cultivo para las pruebas de identificación bioquímica. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)

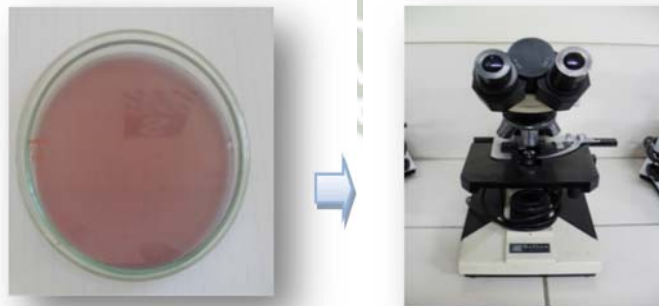


Para la identificación de las especies de este grupo, se utilizan las tablas de identificación bioquímica. (Anexos N° 20, 21)



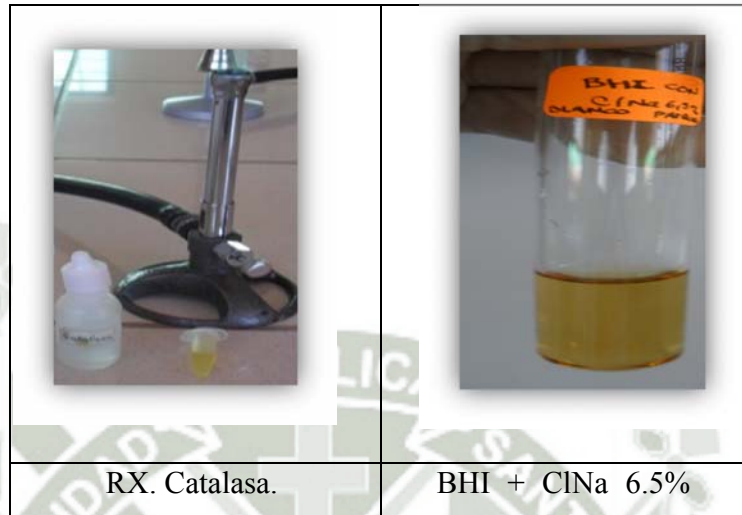
7.1.2.4. Identificación *Enterococcus faecalis*.

Sembraremos en agar selectivo KF (Anexo 15) y se incuba a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se observa el crecimiento y la morfología de las colonias en el agar selectivo Estreptococos KF, siendo éstas, puntiformes y de una coloración amarillenta; seguidamente se realiza una tinción Gram a 100X, (Anexo N°18) observándose cocos Gram positivos en pareja. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)



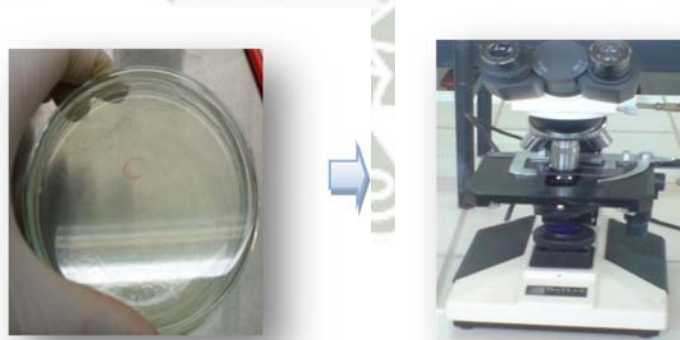
Luego se procede a realizar la prueba de la catalasa, siendo catalasa negativa

y seguidamente se siembra en caldo BHI + CINa 6.5 % (Anexo 2), el enturbiamiento del medio nos indica, resultado positivo para *Enterococcus faecalis*. (Anexo N° 22)



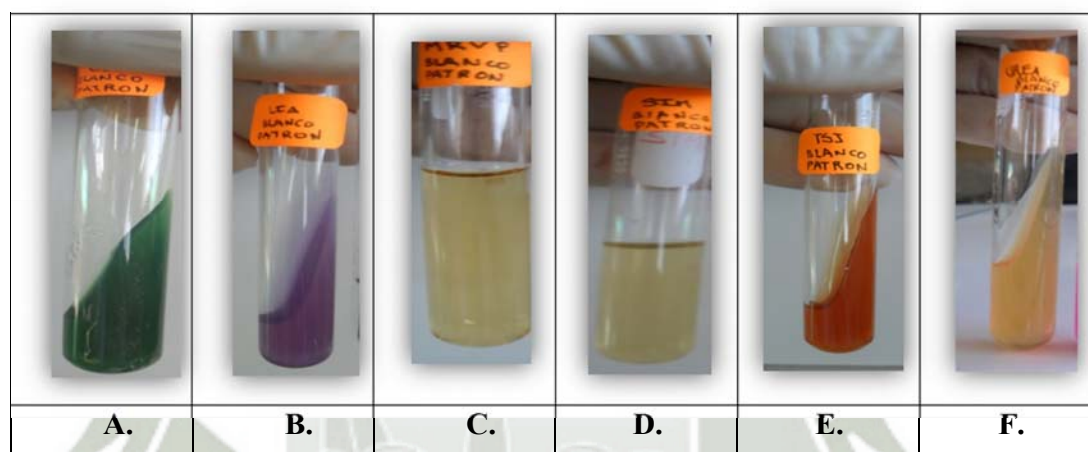
7.1.2.5. Identificación *Salmonella spp.*

Procederemos a sembrar en agar selectivo Sulfito Bismuto (Anexo 11) y se incuba a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se observa el crecimiento y la morfología de las colonias en el agar selectivo Sulfito Bismuto, siendo éstas colonias de coloración negra debido a la producción de sulfuro de hidrogeno, seguidamente se realiza una tinción Gram a 100X (Anexo 18), observándose bacilos Gram negativos. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)



Posteriormente en caso de resultado positivo se procede a sembrar en los siguientes medios de cultivo para las pruebas de identificación bioquímica:

A. Agar Citrato de Simmons.	(Anexo N°4).
B. Agar LIA (Hierro Lisina Agar).	(Anexo N°6).
C. Caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer).	(Anexo N°8).
D. Medio SIM(Sulfuro - Movilidad – Indol).	(Anexo N°12).
E. Agar TSI (Triple Azúcar Hierro).	(Anexo N°14).
F. Agar Urea.	(Anexo N°15).

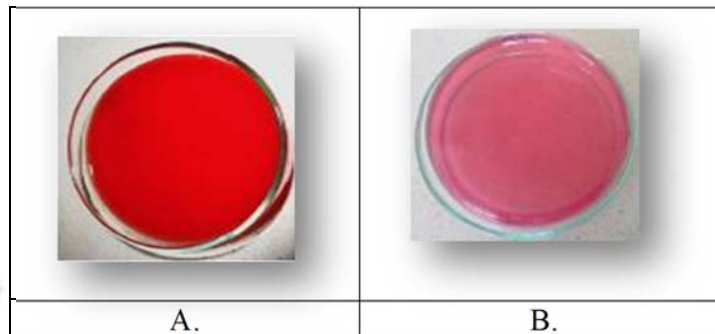


7.1.2.6. Identificación *Staphylococcus aureus*.

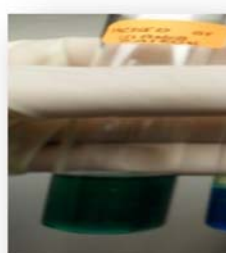
Se siembra en Agar Base Sangre (Anexo 10) y agar Manitol Salado (Anexo 7), luego se incuban ambos a 37°C durante 24 horas. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)

- A. Agar Base Sangre:** Se observa el crecimiento y la morfología de las colonias, y el tipo de hemólisis presente (α , β , γ).
- B. Agar Manitol Salado:** Se observa el crecimiento y la morfología de las colonias, también la degradación de manitol que se hace evidente al

producirse un cambio de color del indicador, virando al color amarillo.



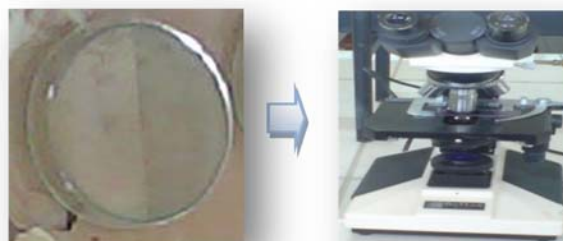
- C. Luego se realiza una tinción Gram a 100X (Anexo 18), observándose cocos Gram positivos en forma de racimos; seguidamente se realiza la prueba de la catalasa, siendo catalasa positiva y posteriormente se siembra en medio O-F (Anexo 10), para observar la oxidación y/o fermentación de glucosa, finalmente se realiza la prueba de la coagulasa, dando como resultado coagulasa positiva, prueba confirmatoria para *Staphylococcus aureus*.



7.1.2.7. Identificación *Pseudomonas aeruginosa*.

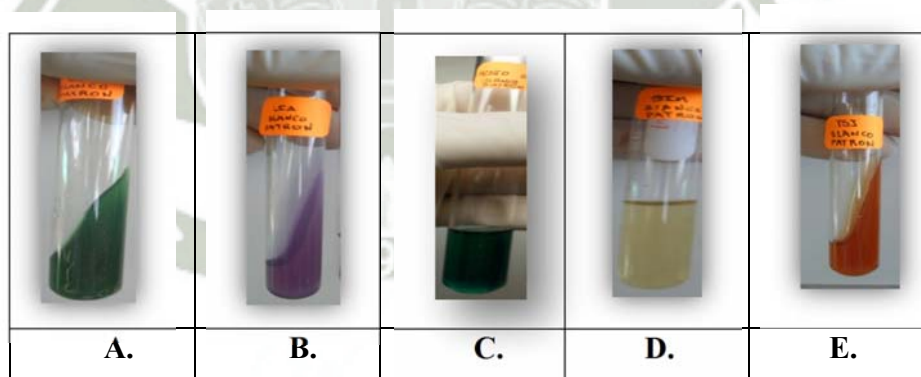
Se siembra en agar selectivo Cetrimide (Anexo 3), y se incuba a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se observa el crecimiento y la morfología de las colonias en el agar selectivo Cetrimide, presentando estas colonias pigmentación azul -

verdosa, debido a la producción de pirocianinas; seguidamente se realiza una tinción Gram a 100X (Anexo 18), observándose bacilos Gram negativos. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “24, 28, 30”)

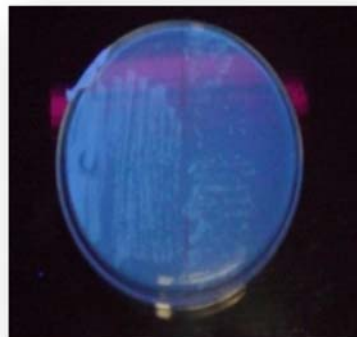


Además se siembra en los siguientes medios de cultivo para las pruebas de identificación bioquímica.

A. Agar Citrato de Simmons.	(Anexo N°4).
B. Agar LIA (Hierro Lisina Agar).	(Anexo N°6).
C. Medio O –F.	(Anexo N°10).
D. Medio SIM (Sulfuro - Movilidad – Indol).	(Anexo N°12).
E. Agar TSI (Triple Azúcar Hierro).	(Anexo N°14).



Además se realiza la observación de las colonias bajo luz ultravioleta a 254nm para observar la fluorescencia, debido a la fluoresceína que presenta esta especie. Para la identificación de esta especie bacteriana, se utilizan las tablas de identificación bioquímica. (Anexo N° 24)



7.2 MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORO RESIDUAL LIBRE (CRL) Y pH. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3, 8, 11” II “8, 5, 9”)

7.2.1. Recolección De Las Muestras.

A. De Los Envases:

Se utilizaron frascos de vidrio de 1000ml de capacidad y envases estériles de plástico con tapa rosca de 100ml de capacidad (en este caso le llamaremos estéril por no poseer residuos, sustancias, partículas de origen químico), para el posterior aislamiento y medición de datos.

B. De La Toma De Muestra.

Se recolectaron las muestras teniendo en cuenta los siguientes conceptos y ubicaciones:

B.1 Muestreo De Agua Subterránea: Proviene de la napa freática del sub suelo de la zona superior acuífera de la tierra, la cual es extraída por un equipo de bombeo adecuado a mas de 38m de profundidad.

Ubicación: Pozo del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, en el distrito de Cayma

B.2 Muestreo De Agua Potable; Llega al hospital a través del servicio de red de agua y alcantarillado de Arequipa la cual es proporcionada por la empresa SEDAPAR, y en este caso el agua procede de la planta de tratamiento de la TOMILLA - CAYMA.

Ubicación: Reservorio de almacenamiento, entre el 2do y 3er piso del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, en el distrito de Cayma.

B.3 Muestreo Del Agua Subterránea - Potable: Este tipo de muestra es el resultado de mezclar el agua subterránea de la napa freática del sub suelo de la zona superior acuífera de la tierra con el agua potable procedente de la planta de tratamiento de la TOMILLA – CAYMA,

Ubicación: Reservorio de almacenamiento, del 7mo piso del Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, en el distrito de Cayma.

Nota 1.- Con respecto al tipo de muestra de los puntos A, B, C, se realizó el muestreo de forma simple (Se toma la muestra en un sitio determinado y una sola vez).

Nota 2.- Además los pasos a seguir en la toma muestra, se siguieron los anteriormente mencionados para el análisis de Métodos Para La Evaluación Bacteriológica Del Agua Potable, Subterránea, y Subterránea Potable. (Pag), para

cada lugar de muestro específico, con la diferencia que en este tipo de análisis de propiedades físico químicas, se obvia el añadir el tiosulfato de sodio a concentración de 1.8%, Puesto que la adición de tiosulfato sódico altera los valores de conductividad de la muestra.

C. Del Muestreo.

Se recolectaron las muestras durante un periodo de 4 meses con dos grupos de muestreo Grupo I. (Mayo. Junio), B. (Julio, Agosto), entre las 5am y 6am, todas ellas como se muestra en el siguiente cuadro:



CUADRO B.

Muestras Para La Medición De Cloro Residual Libre (CRL) Y De pH, del agua Subterránea, Potable, Y Subterránea – Potable Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

Número De Controles.	Nº De Muestreo.	Periodo.		Tipo De Muestra Utilizada En ml.						
		Fecha.	Mes.	Agua Subterránea.		Agua Potable.		Agua Subterránea - Potable.		
				CRL.	pH.	CRL.	pH.	CRL.	pH.	
Grupo A.	C2.	1	7	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		2	11	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		3	14	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		4	17	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		5	21	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		6	24	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		7	28	Mayo.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
	C1.	8	1	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		9	4	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		10	7	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		11	11	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		12	14	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		13	18	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		14	21	Junio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
Grupo B.	C1.	15	2	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		16	5	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		17	9	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		18	12	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		19	16	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		20	19	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		21	23	Julio.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		22	6	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		23	9	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		24	13	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		25	16	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		26	20	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
		27	23	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.
	C2.	28	27	Agosto.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.	10ml.	50ml.

- **Nota 1.-** (Del tipo de muestra Utilizada en ml), del **CUADRO B.** es la cantidad que se utilizó para hallar la Medición De Cloro Residual Libre (CRL) mediante el uso del FOTÓMETRO MODELO H - 701 HANNA INSTRUMENTS (ANEXO 25), Y Del pH mediante el uso del pHmetro digital HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207, (ANEXO 27), para el agua de Pozo, Potable e Subterránea – Potable Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

7.2.2. Procesamiento De Muestras.

7.2.2.1. Determinación De Cloro Residual Libre (CRL). (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3, 8, 11” II “8, 5, 9”)

Para la medición de Cloro Residual Libre (CRL), se analizó cada muestra por separado de tres lugares diferentes, conteniendo el agua Subterránea, Potable, Y Subterránea – Potable, (Tipo De Muestra Simple), cada una de ellas se analizó de la siguiente manera:

- a) Procederemos a retirar el estuche del fotómetro digital, y hacer el respectivo enjuagado de las cubetas de 10ml con agua desionizada, además de la limpieza y secado de las paredes exteriores con gasa, para posteriormente a partir de la muestra simple homogenizada, contenida en nuestros frascos de polietileno de 100ml, proceder a llenar la Cubeta C1 del fotómetro digital, modelos H - 701 HANNA INSTRUMENTS (ANEXO 25), con 10 ml de muestra.



- b) La Cubeta C1 denominada la del Blanco de la muestra,. Es introducida al fotómetro digital, para luego cerrar la cubierta del medidor y presionar el botón STAR, y así medir el blanco de nuestro lugar de muestreo. Recordar que cuando la pantalla del fotómetro digital este parpadeando significa que se está realizando la lectura, por lo cual no se deber abrir la cubierta del mismo hasta que este deje de parpadear.



- c) En la cubeta C2 colocaremos también 10ml de muestra y a está añadiremos el reactivo para determinación de Cloro Residual Libre (CRL). (Anexo 26), agitaremos la misma hasta la total disolución del reactivo, y introduciremos la cubeta al fotómetro digital, cuando este solicite la C2 esto sucede inmediatamente después que la pantalla del fotómetro deje de parpadear después de analizar la cubeta C1 conteniendo el Blanco de la muestra, procederemos a cerrar la cubierta del fotómetro, y este nuevamente comenzará a realizar la lectura de datos dándonos los resultados de Cloro Residual Libre (CRL) en ppm.



- **Nota.-** El procedimiento se realizó, guiándose según manual de uso y instrucciones del Fotómetro Digital modelo: H - 701 HANNA INSTRUMENTS (ANEXO 25).

7.2.2.2. Determinación de pH. (Teniendo en cuenta referencia Bibliográfica I “3, 8, 11” II “8, 5, 9”)

Para la determinación De pH, se analizo cada muestra por separado de tres lugares diferentes, conteniendo el agua Subterránea, Potable, Subterránea – Potable, (Tipo De Muestra Simple), cada una de ellas se analizo de la siguiente manera:

- a) Procederemos a retirar el estuche del pHmetro digital modelo HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207, (ANEXO 27), encendiéndolo para realizar el enjuagado con agua desionizada, y secado con gasa, de la celda, en forma de cilindro, que se pone en contacto con la sustancia a medir que es la muestra simple homogenizada, contenida en nuestros frascos de polietileno de 100ml. (Para verificar el funcionamiento del equipo se realizara la calibración de este en una solución buffer antes de la lectura del pH de cualquier muestra)



- b) De nuestros frascos de polietileno de 100ml, colocaremos 50ml de muestra problema en un matraz de 100ml, previamente enjuagado con agua desionizada, para posteriormente introducir la celda cilíndrica del pHmetro digital, y así obtener la lectura del pH, para su posterior registro.



- **Nota.-** El procedimiento se realizó, guiándose según manual de uso y instrucciones, del pHmetro digital HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207, (ANEXO 27).

8. METODO ESTADÍSTICO.

Para el análisis y interpretación de los datos, obtenidos durante la investigación, se utilizó estadística descriptiva.

La estadística descriptiva permite organizar y clasificar los indicadores cuantitativos y cualitativos obtenidos en una medición, revelándose a través de ellos las propiedades, relaciones y tendencias del fenómeno, que en muchas ocasiones no se perciben de manera inmediata. Las formas más frecuentes de organizar la información es mediante tablas de distribución de frecuencias, gráficos, y las medidas de tendencia en casos de usar métodos cualitativos, el estudio la tendencia porcentual es la más importante sobre los resultados de obtenidos en número de veces positivos o negativos.



CAPITULO III

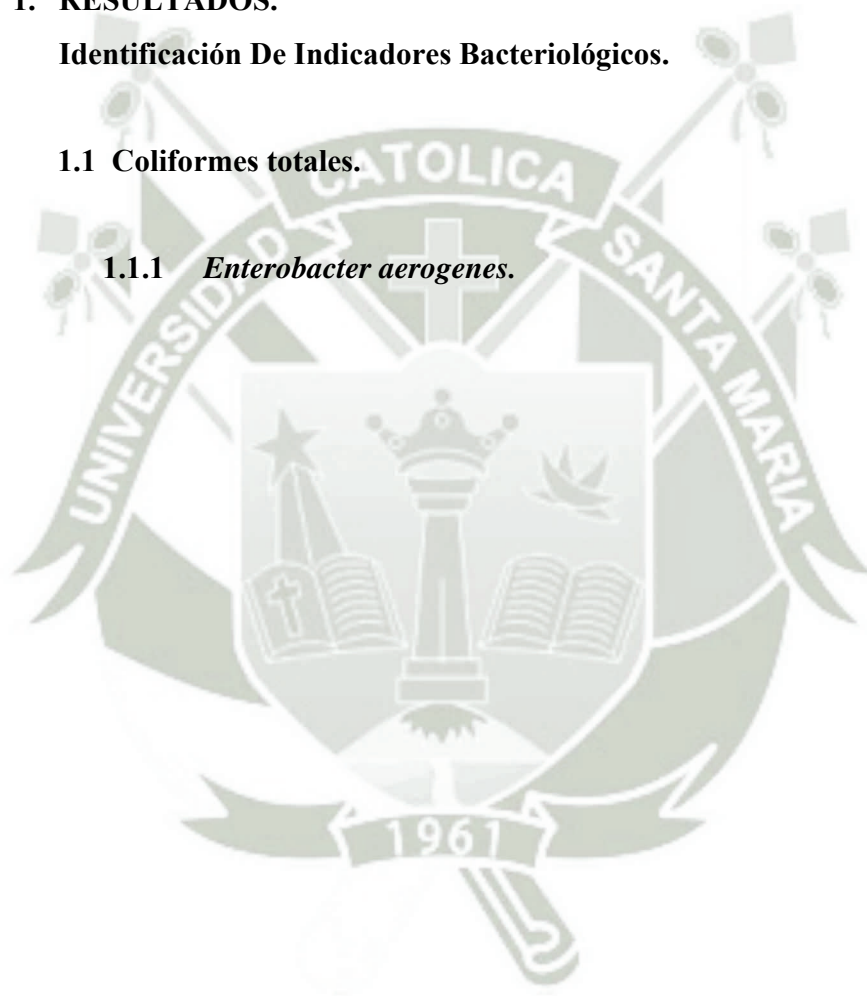
RESULTADOS Y DISCUSIONES

1. RESULTADOS.


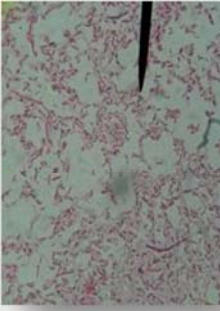




Identificación De Indicadores Bacteriológicos.

1.1 Coliformes totales.


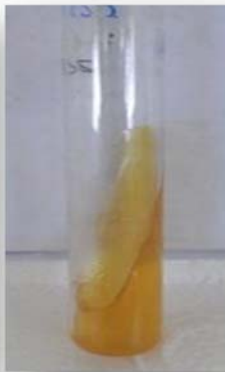

1.1.1 *Enterobacter aerogenes*.




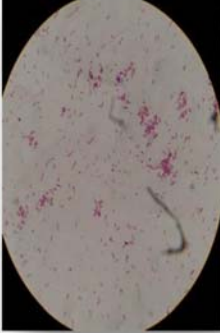






1.1.2

			
<p>Agar VRBA: Lactosa positivo. (Colonias rosa purpura)</p>	<p>Coloración de Gram. Bacilos Gram Negativos a 100X.</p>	<p>Agar TSI: A/A+- -Lactosa: Positivo. -Glucosa: Positivo. -Co₂: Positivo. -H₂S: Negativo.</p>	<p>Agar LIA: K/K- -Lisina: Positiva. -Descarboxilasa: Positiva. -Desaminasa: Negativo. -H₂S: Negativo.</p>
			
<p>Medio SIM: -H₂S: Negativo. -Indol: Negativo. -Movilidad: Positivo.</p>	<p>Caldo MRVP: A. Rojo De Metilo: Negativo. B. Voges Proskauer: Positivo.</p>	<p>Agar Citrato de Simmons: -Positivo.</p>	<p>Agar Urea: -Negativo.</p>

1.1.2 *Enterobacter cloacae*.


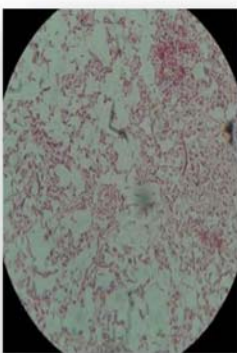






			
Agar VRBA: Lactosa positivo (Colonias rosa purpura)	Coloración de Gram. Bacilos Gram Negativos a 100X.	Agar TSI: A/A- -Lactosa: Positivo. -Glucosa: Positivo. -Co2: Positivo. -H2S: Negativo.	Agar LIA: K/A- -Lisina: Negativa. -Descarboxilasa: Negativa. -Desaminasa: Negativo. -H2S: Negativo.
			
Medio SIM: -H2S: Negativo. -Indol: Negativo. -Movilidad: Positivo.	Caldo MRVP: A Rojo De Metilo: Negativo. B Voges Proskauer: Positivo.	Agar Citrato de Simmons: -Positivo.	Agar Urea: Positivo a las 48 horas.

1.1.3 *Klebsiella pneumoniae*.


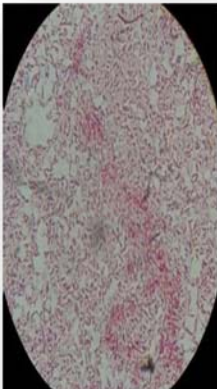






			
Agar VRBA: Lactosa Positivo (Colonias Rosa Purpura De Aspecto Mucoide)	Coloración de Gram. Bacilos Gram Negativos a 100X.	Agar TSI: A/A +- -Lactosa: Positivo. -Glucosa: Positivo. -Co2: Positivo. -H2S: Negativo.	Agar LIA: K/K- -Lisina: Positiva. -Descarboxilasa: Positiva. -Desaminasa: Negativo. -H2S: Negativo.
			
Medio SIM: -H2S: Negativo. -Indol: Negativo. -Movilidad: Negativo.	Caldo MRVP: A Rojo De Metilo: Negativo. B Voges Proskauer: Positivo.	Agar Citrato de Simmons: -Positivo.	Agar Urea: -Positiva las 48 horas.

1.2 Coliformes fecales.





1.2.1 *Escherichia coli*.

			
Agar EMB: Lactosa Positivo (Colonias Purpuras Con Apreciación De Brillo Metálico)	Coloración de Gram. Bacilos Gram Negativos a 100X.	Agar TSI: A/A+- -Lactosa: Positivo. -Glucosa: Positivo. -Co ₂ : Positivo. -H ₂ S: Negativo.	Agar LIA: K/K- -Lisina: Positiva. -Descarboxilasa: Positiva. -Desaminasa: Negativo. -H ₂ S: Negativo.
			
Medio SIM: -H ₂ S: Negativo. -Indol: Positivo. -Movilidad: Positivo.	Caldo MRVP: A Rojo De Metilo: Positivo B Voges Proskauer: Negativo.	Agar Citrato de Simmons: -Negativo.	Agar Urea: -Negativa.

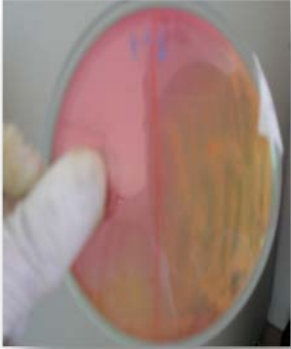
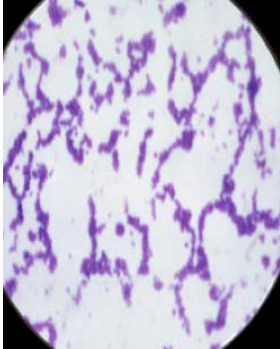




1.2.2 *Escherichia coli*.

			
<p>Agar VRBA: Lactosa Positivo (Colonias Rosa Purpura)</p>	<p>Coloración de Gram. Bacilos Gram Negativos a 100X.</p>	<p>Agar TSI: A/A+- -Lactosa: Positivo. -Glucosa: Positivo. -Co2: Positivo. -H2S: Negativo</p>	<p>Agar LIA: K/K- -Lisina: Positiva. -Descarboxilasa: Positiva. -Desaminasa: Negativo. -H2S: Negativo</p>
	 <p>A B</p>		
<p>Medio SIM: -H2S: Negativo. -Indol: Positivo. -Movilidad: Positivo.</p>	<p>Caldo MRVP: A Rojo De Metilo: Positivo B Voges Proskauer: Negativo.</p>	<p>Agar Citrato de Simmons: -Negativo.</p>	<p>Agar Urea: -Negativa.</p>



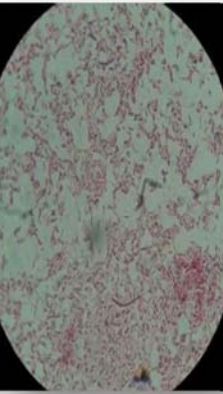





1.2.2 *Enterococcus faecalis*.

	
<p>Agar KF: Crecimiento positivo: Aparición de colonias amarillas puntiformes.</p>	<p>Coloración de Gram. Bacilos Gram positivos en forma de Cocos a 100X.</p>
	
<p>Caldo BHI. Con NaCl al 6.5%, incubado por 24 hrs: Positivo.</p>	<p>Prueba de la Catalasa: Negativa.</p>

1.3 *Staphylococcus aureus*.

		
<p>Agar Manitol Salado: Crecimiento Positivo Viraje Del Color Del Medio De Rojo A Amarillo.</p>	<p>Coloración Gram 100x: Bacilos Gram (+) Apreciados Al Microscopio Óptico.</p>	<p>Prueba De La Catalasa: Positiva.</p>
		
<p>Prueba De La Coagulasa: Positiva.</p>	<p>Medio O-F: A - Aerobio: Amarillo (+). B - Anaerobio: Amarillo (+). (Metabolismo Fermentativo).</p>	<p>Agar Base Sangre: β - hemólisis.</p>

1.4. *Pseudomoma aeruginosa*.

			
<p>Agar Cetrimed: Crecimiento Positivo Viraje Del Color Del Medio De Ámbar A Verde.</p>	<p>Observación Al UV 254nm: Se aprecia la fluorescencia de las colonias.</p>	<p>Coloración Gram 100x: Bacilos Gram (-) Apreciados Al Microscopio Óptico.</p>	<p>Agar TSI: K/K- -Lactosa: Negativo. -Glucosa: Positiva. -Co₂: Negativo.</p>
			
<p>Agar LIA: K/K- -Lisina: Positiva. -Descarboxilasa: Positiva. -Desaminasa: Negativo. -H₂S: Negativo</p>	<p>Medio SIM: -H₂S: Negativo. -Indol: Negativo -Movilidad: Positivo</p>	<p>Agar Citrato de Simmons: -Positivo.</p>	<p>Medio O-F: A- Aerobio: Amarillo (+). B- Anaerobio: Verde (-). (Metabolismo Oxidativo).</p>

2. Discusiones.

Indicadores bacteriológicos número de muestras positivas, Valores de Cloro Residual Libre (CRL), pH, a partir de muestras simples del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa – 2012.

2.1.1 Cuadro 1: Indicadores Bacteriológicos, número de muestras positivas de aguas correspondientes al Grupo I. mes de Mayo y Junio del 2012.

Ubicación y tipo de agua analizada para: Indicadores Bacteriológicos		Fecha y número de muestra.													
		M1.	M2.	M3.	M4.	M5.	M6.	M7.	M8.	M9.	M10.	M11.	M12.	M13.	M14.
A.	7 de Mayo.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.
B.	11 de Mayo.	N.	P.	P.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.
C.	7 de Mayo.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.

A.	B.	C.
Pozo. (Agua Subterránea).	Contenedor del Entrepiso, 2do y 3er (Agua Potable).	Contenedor de la Azotea 7mo Piso (Agua Subterránea – Potable)
P: Positivo.	N: Negativo.	M 1-14: Número de muestras simples.

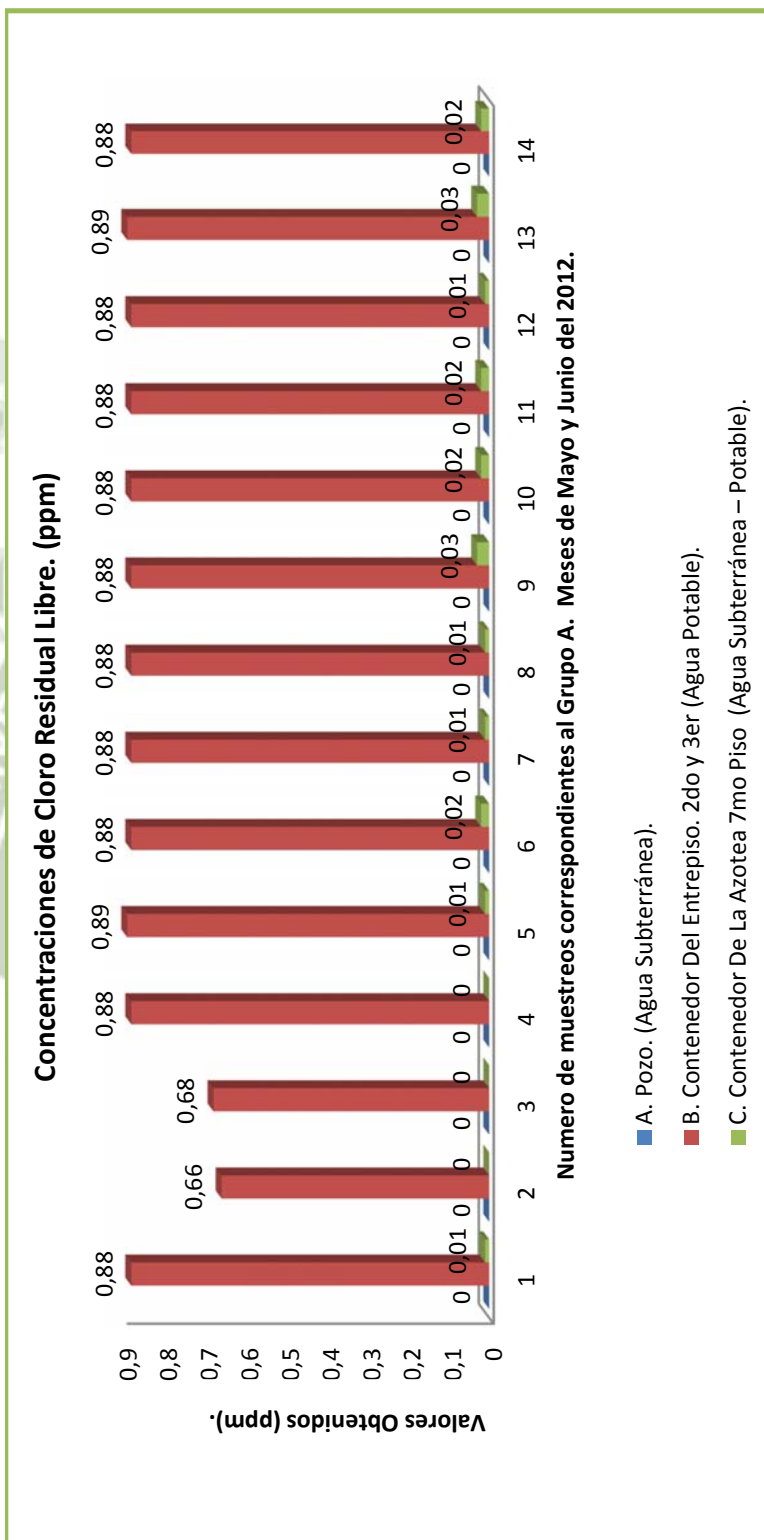
2.1.2. Cuadro 2: Valores de Cloro Residual Libre (CRL) correspondientes al Grupo I, meses de Mayo y Junio del 2012.

Ubicación y tipo de agua analizada para valores de Cloro Residual Libre (CRL)	Fecha y número de muestra.													
	M1.	M2.	M3.	M4.	M5.	M6.	M7.	M8.	M9.	M10.	M11.	M12.	M13.	M14.
A.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B.	0.88	0.66	0.68	0.88	0.89	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.89	0.88
C.	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.01	0.03	0.02

A. Pozo. (Agua Subterránea).	B. Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er (Agua Potable).	C. Contenedor de la Azotea 7mo Piso (Agua Subterránea – Potable)
<p>Nota.- Los resultados de los valores obtenidos de las mediciones de CRL son expresados en ppm. (Partes por Millón).</p> <p>M 1-14: Número de muestras simples.</p>		

Grafica N° 1.

Valores de Cloro Residual Libre (CRL) correspondientes al Grupo I. Meses de Mayo y Junio Del 2012.



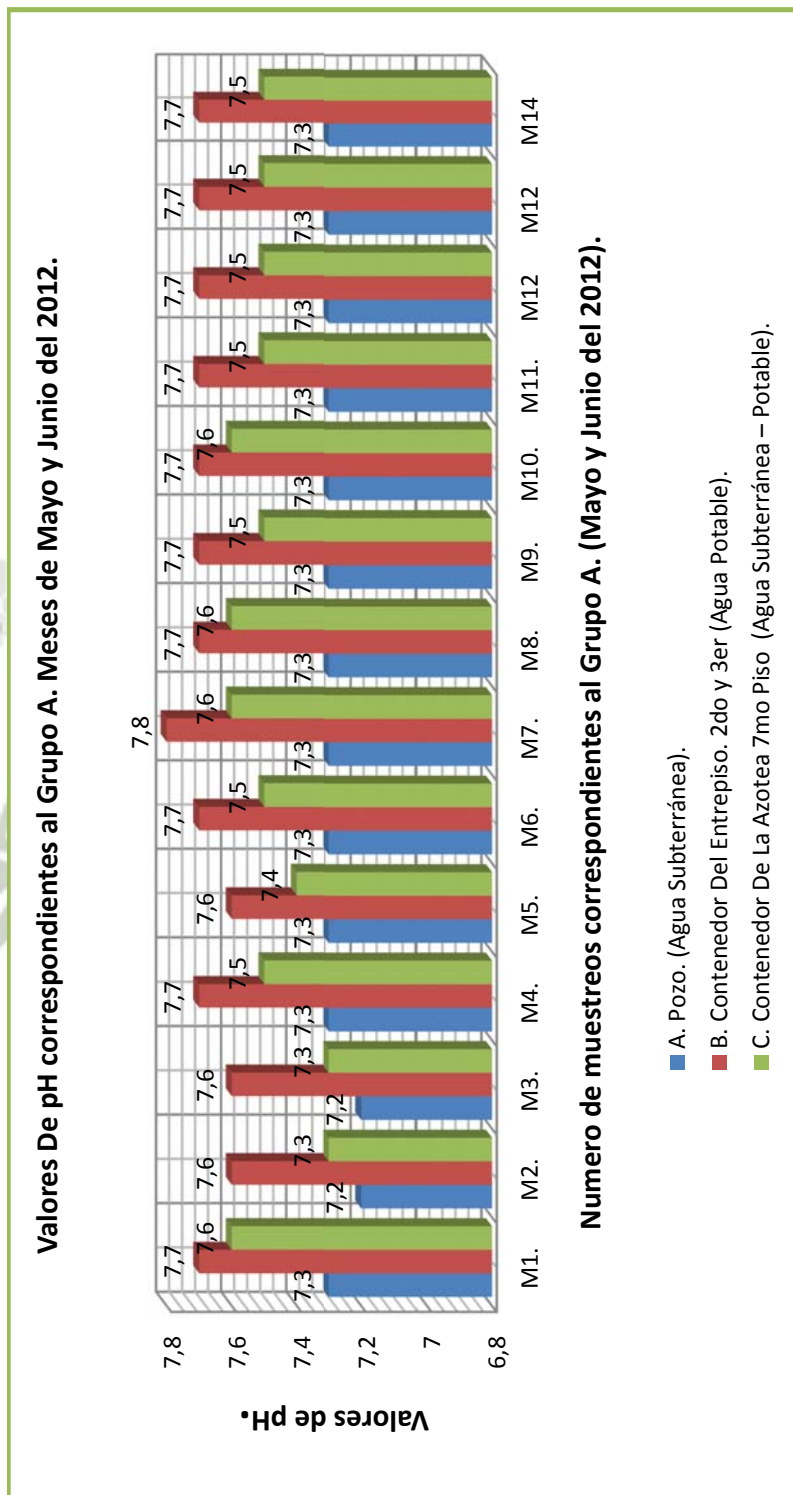
2.1.3. Cuadro 3: Valores de pH correspondientes al Grupo I. meses de Mayo y Junio del 2012.

Ubicación y tipo de agua analizada para valores de pH.	Fecha y número de muestra.													
	7 de Mayo.	11 de Mayo.	14 de Mayo.	17 de Mayo.	21 de Mayo.	24 de Mayo.	28 de Mayo.	1 de junio.	4 de junio.	7 de junio.	11 de junio.	14 de junio.	18 de junio.	21 de junio.
A.	M1.	M2.	M3.	M4.	M5.	M6.	M7.	M8.	M9.	M10.	M11.	M12.	M12.	M14.
	7.3	7.2	7.2	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3
B.	7.7	7.6	7.6	7.7	7.6	7.7	7.8	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7
	7.6	7.3	7.3	7.5	7.4	7.5	7.6	7.6	7.5	7.6	7.5	7.5	7.5	7.5
C.														

A.	B.	C.
Pozo. (Agua Subterránea).	Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er Piso (Agua Potable).	Contenedor de la Azotea 7mo Piso. (Agua Subterránea – Potable)
M 1-14: Número de muestras simples.		

Grafica N° 2.

Valores de pH correspondientes al Grupo I. meses de Mayo y Junio del 2012.



Se analizaron un total de 14 muestras simples, incluyendo 42 sub ensayos individuales, de los lugares de recolección anteriormente mencionados, correspondientes al Grupo I, durante los meses de Mayo y Junio del 2012, en donde procederemos a interpretar los siguientes resultados según cada punto de muestreo:

1. Con respecto a los Indicadores Bacteriológicos:

- A. Pozo. -- (Agua Subterránea):** De las 14 muestras analizadas, cada una en su lugar de muestreo fueron de carácter positivas, para indicadores con un índice de contaminación por lo cual, si dicha agua se utilizaría para uso potable no cumpliría con el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS - 031- 2010-SA.
- A. Contenedor del Entrepiso 2do y 3er Piso -- (Agua Potable):** De las 14 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo, fueron de carácter negativas en 12 oportunidades M 1-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14 y de carácter positivos en 2 oportunidades M 2-3, para indicadores con un índice de contaminación, lo que nos hace suponer de una fuente de contaminación, relacionada a factores externos que modifica los parámetros de potabilidad del agua en este punto de muestreo, establecidos según el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS -031- 2010-SA.
- B. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. -- (Agua Subterránea – Potable):** De las 14 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo, fueron de carácter positivas en todas las oportunidades, para indicadores con un índice de contaminación por lo cual, si dicha agua se utilizaría para uso potable no cumpliría con el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS -031- 2010-SA.

2. Con respecto a los valores de Cloro Residual Libre (CRL) y pH.

- A. Pozo. -- (Agua Subterránea):** De las 14 muestras analizadas fueron de carácter negativo para la medición de CRL, por lo cual si dicha agua se utilizaría para uso potable requeriría de un tratamiento de potabilización adecuado para uso, por tal manera no cumple con los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, referido a la calidad del agua potable y de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).
- A. Contenedor del Entrepiso 2do y 3er Piso -- (Agua Potable):** De las 14 muestras analizadas fueron de carácter positivo para la medición de CRL, presentando valor min de 0.66 ppm y valor máx. de 0.89 ppm cumpliendo así con los requerimientos de dosificación adecuada cuyos valores fluctúan entre > 0.50 ppm a más, por lo cual dicha agua puede ser empleada para uso potable cumpliendo así con los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).
- B. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. -- (Agua Subterránea – Potable):** De las 14 muestras analizadas, fueron de carácter negativo para la medición de CRL, en 2 oportunidades M 2-3 y de carácter positivo en 12 oportunidades M 1-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-14, presentando valor min de 0.01 ppm y un valor máx. de 0.03 ppm, pero estos últimos valores de CRL al encontrarse muy por debajo en rango de medición en dosificación mínima cuyo valor es de 0.30 ppm, según los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país, (Anexo N° 30). no la consideraría como tal, para uso potable.

3. Con respecto a los valores de pH.

Los valores de pH de las 42 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo de agua Subterránea, Potable, Y Subterránea – Potable, durante el primer periodo de muestreo correspondiente al Grupo I. de los meses de Mayo y Junio del 2012, presentan un valor min de 7.2 y valor máx. De 7.8 por lo cual dichos tipos de agua cumplen así con los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).

En resumen se presume que el punto de muestreo “A” Agua Subterránea, presenta índices de contaminación bacteriana, por lo cual se le debe someter a un tratamiento adecuado y específico para uso potable, muy a pesar de presentar valores de pH adecuados,

En tanto que el punto de muestreo “B” agua Potable del contenedor del Entrepiso (2do y 3er Piso) reúne los parámetros de valores de Cloro Residual Libre CRL y de pH, para su uso como tal, a pesar de presentar indicadores de índice de contaminación en 2 oportunidades M²⁻³, pero se cree que está, es producto de la contaminación en sus condiciones de almacenamiento, no del agua potable en sí.

Mientras que en relación al punto de muestreo “C” Agua Subterránea - Agua Potable, la primera afecta directamente los índices de contaminación bacteriana, por no poseer tratamiento de desinfección alguno, haciendo perder al agua potable su calidad como tal, descritos en el reglamento DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país, en el cual se establecen parámetros de potabilización estrictos, a pesar de encontrarse en algunas muestras concentraciones de CRL, las cuales serían insuficientes para inhibir el índice de concentración y crecimiento bacteriano por estar muy por debajo de los valores de CRL para su desinfección y alcanzar parámetros de potabilización, en tanto los valores de pH se hallan dentro de los valores normales, de tal manera se explica y se mantiene relación con los resultados obtenidos y analizados.

2.1.5. Cuadro 4.2: Número de indicadores bacteriológicos presentes por muestreo a partir de muestras simples correspondientes al Grupo I. Meses de Mayo y Junio del 2012 del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa – 2012.

Microorganismo	Fecha y número de muestra.														Total de microorganismos. GRUPO I, por ubicación.																												
	7 de Mayo			11 de Mayo			14 de Mayo			17 de Mayo			21 de Mayo			24 de Mayo			28 de Mayo			1 de Junio			4 de Junio			7 de Junio			11 de Junio			14 de Junio			18 de Junio			21 de Junio			
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B		C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C			
1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	04A+04C=08P
2	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	10A+10C=20P
3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	2A+2C=04P
4	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0
5	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	08A+08C=16P
6	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	14A+14C=28P
7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	02B+02C=04P
8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	4A+4C=08P

Coliformes Totales:		
1.- <i>Enterobacter aerogenes</i> ;	2.- <i>Enterobacter cloacae</i> ;	3.- <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
Bacteria epidemiológica:		
4.- <i>Salmonella spp.</i>		
Coliformes Fecales:		
5.- <i>Enterococcus faecalis</i> ;	6.- <i>Escherich coli</i> .	
Bacterias de vida libre perjudiciales para la salud:		
7.- <i>Staphylococcus aureus</i> ;	8.- <i>Pseudomona aeruginosa</i>	

A.	B.	C.
Pozo. (Agua Subterránea).	Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er (Agua Potable).	Contenedor de la Azótea 7mo Piso (Agua Subterránea – Potable)
P: Positivo.	N: Negativo.	M 1-14: Número de muestras simples.

Se investigó la presencia de 8 indicadores de índice contaminación entre agentes bacteriológicos y agentes contaminantes oportunistas de vida libre, encontrándose que de un total de 14 muestras, de cada punto de recolección mencionado anteriormente y siendo las mismas analizadas de forma individual, para cada tipo agua; Subterránea (A), Potable (B), Y Subterránea – Potable (C), se apreciaron los siguientes resultados de identificación:

- **En la M 1-4-5-6-7-11-13 se identificaron:** *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*,
- **En la M 2-3 se identificaron:** *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.
- **En la M 8-9-12 se identificó:** *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*.
- **En la M 10 se identificó:** *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*.
- **En la M 14 se identificó:** *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*,

Nota.- Para mayor referencia apreciar la Gráfica N° 3.

Como se observa en el **Cuadro 2.2.5:** “Número De Indicadores Bacteriológicos Presentes Por Muestreo A Partir De Muestras Simples Correspondientes Al Grupo I. Mes De Mayo Y Junio Del 2012”. Los identificados fueron: *Escherichia coli*.”28 oportunidades”, *Enterobacter cloacae*, “20 oportunidades”, *Enterococcus faecalis*.”16 oportunidades”, *Enterobacter aerogenes*.”8 oportunidades”, *Pseudomona aeruginosa*.”8 oportunidades”, *Klebsiella pneumoniae*.”4 oportunidades”, *Staphylococcus aureus*.”4 oportunidades”, no se halló *Salmonella spp* en ninguno de los muestreos realizados. Observándose mayor presencia del grupo de *Coliformes fecales* y *Escherichia coli* en dos puntos de muestreo que son el Agua Subterránea “A” y el Subterránea – Potable “C”, esto quiere decir que la contaminación al mesclar el agua Potable “B” con el Subterránea “A”, es evidente, haciéndola perder su característica de

Agua Potable, pudiendo causar problemas a la salud de los pacientes y del personal hospitalario, en la aparición de:

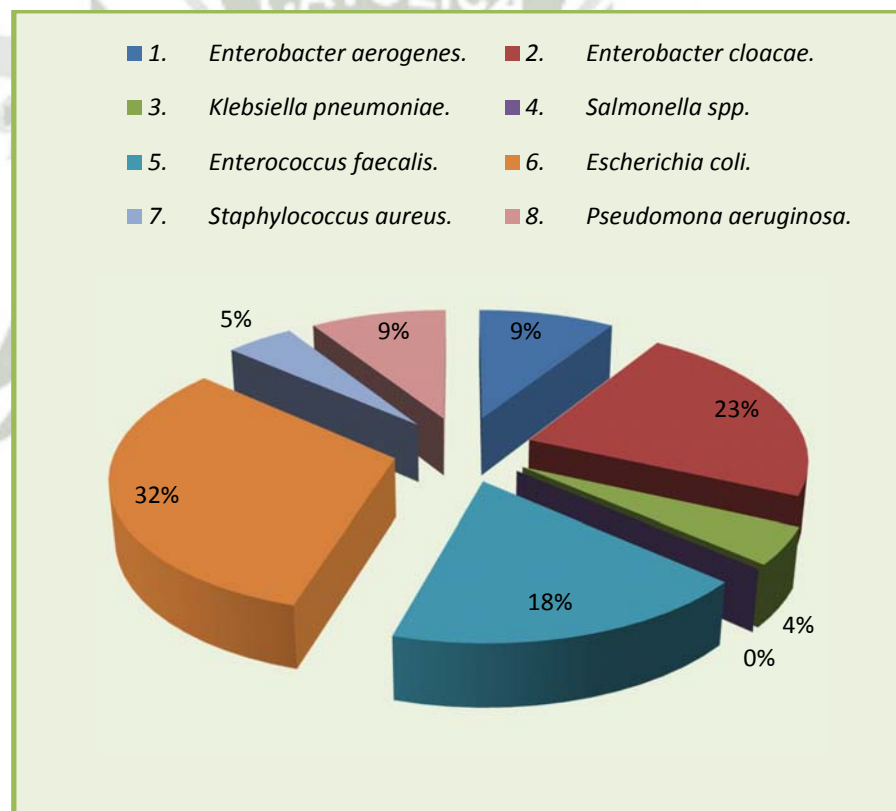
- infecciones del tracto urinario “ITU”, que se producirían, por el paso del germen del tubo digestivo a la zona periuretral, y con posterioridad a la vejiga a través de la uretra.
- En pacientes inmunodeprimidos (VIH, cirróticos, con problema en el sistema inmunológico), hay un paso directo desde el tubo digestivo a la sangre produciendo bacteriemias.
- En enfermos colonizados en el tracto respiratorio superior se pueden producir microaspiraciones de secreciones faríngeas ocasionando neumonía.

Por lo cual se aprecia el incumplimiento de los parámetros establecidos en el DS - 031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país.



Grafica N° 3.

Número de indicadores bacteriológicos presentes expresado porcentualmente a partir de muestras simples correspondientes al Grupo I. Meses de Mayo y Junio del 2012 del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa – 2012.



2.2.1 Cuadro 1: Indicadores bacteriológicos, número de muestras positivas de aguas correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto del 2012.

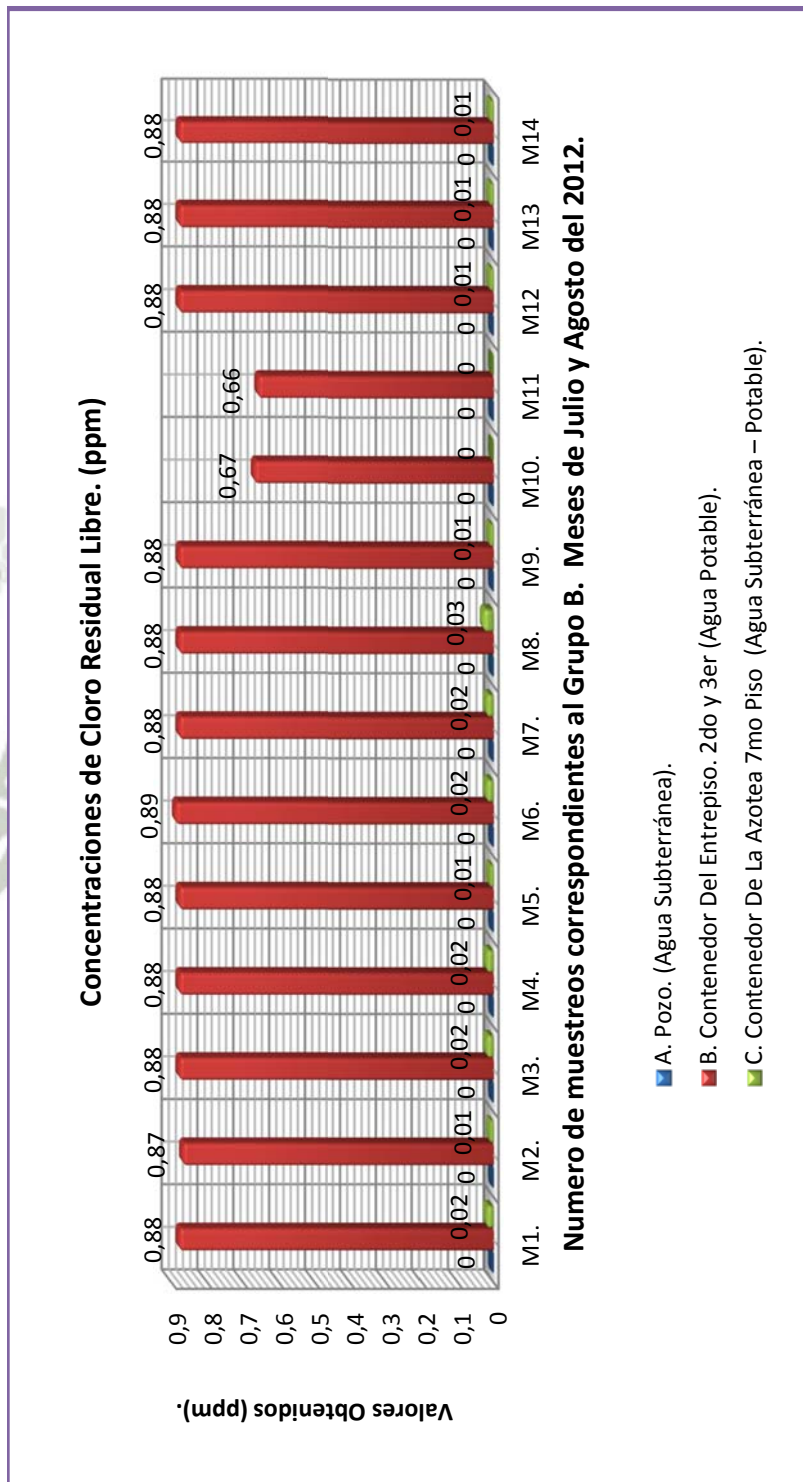
Ubicación y tipo de agua analizada para: Indicadores Bacteriológicos	Fecha y número de muestra.													
	2 de Julio.	5 de Julio.	9 de Julio.	12 de Julio.	16 de Julio.	19 de Julio.	23 de Julio.	6 de Agosto.	9 de Agosto.	13De Agosto.	16De Agosto.	20 de Agosto.	23 de Agosto.	27 de Agosto.
A.	M1.	M2.	M3.	M4.	M5.	M6.	M7.	M8.	M9.	M10.	M11	M12	M13	M14
	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.
B.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	P.	P.	N.	N.	N.
	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.
C.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.	P.
	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.	N.
A. Pozo. (Agua Subterránea).	B.													
	Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er Piso (Agua Potable).							C.						
B.	Contenedor de la Azotea 7mo Piso. (Agua Subterránea – Potable)							C.						
	M1-14: Número de muestras simples.													

<p>A. Pozo. (Agua Subterránea).</p>	<p>B. Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er (Agua Potable).</p>	<p>C. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. (Agua Subterránea – Potable)</p>
<p>Nota.- Los resultados de los valores obtenidos de las mediciones de CRL, son expresados en ppm. (Partes Por Millón).</p> <p>M 1-14: Número de muestras simples.</p>		

2.2.2. Cuadro 2: Valores de Cloro Residual Libre (CRL) correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto del 2012.

		Fecha y número de muestra.													
Ubicación y tipo de agua analizada para valores de Cloro Residual Libre (CRL)		2 de Julio.	5 de Julio.	9 de Julio.	12 de Julio.	16 de Julio.	19 de Julio.	23 de Julio.	6 de Agosto.	9 de Agosto.	13 de Agosto.	16 de Agosto.	20 de Agosto.	23 de Agosto.	27 de Agosto.
		M1.	M2.	M3.	M4.	M5.	M6.	M7.	M8.	M9.	M10.	M11	M12	M13	M14
A.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B.		0.88	0.87	0.88	0.88	0.88	0.89	0.88	0.88	0.88	0.97	0.66	0.88	0.88	0.88
C.		0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.03	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01

Grafica N° 4.
Valores de Cloro Residual Libre (CRL) correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto Del 2012.

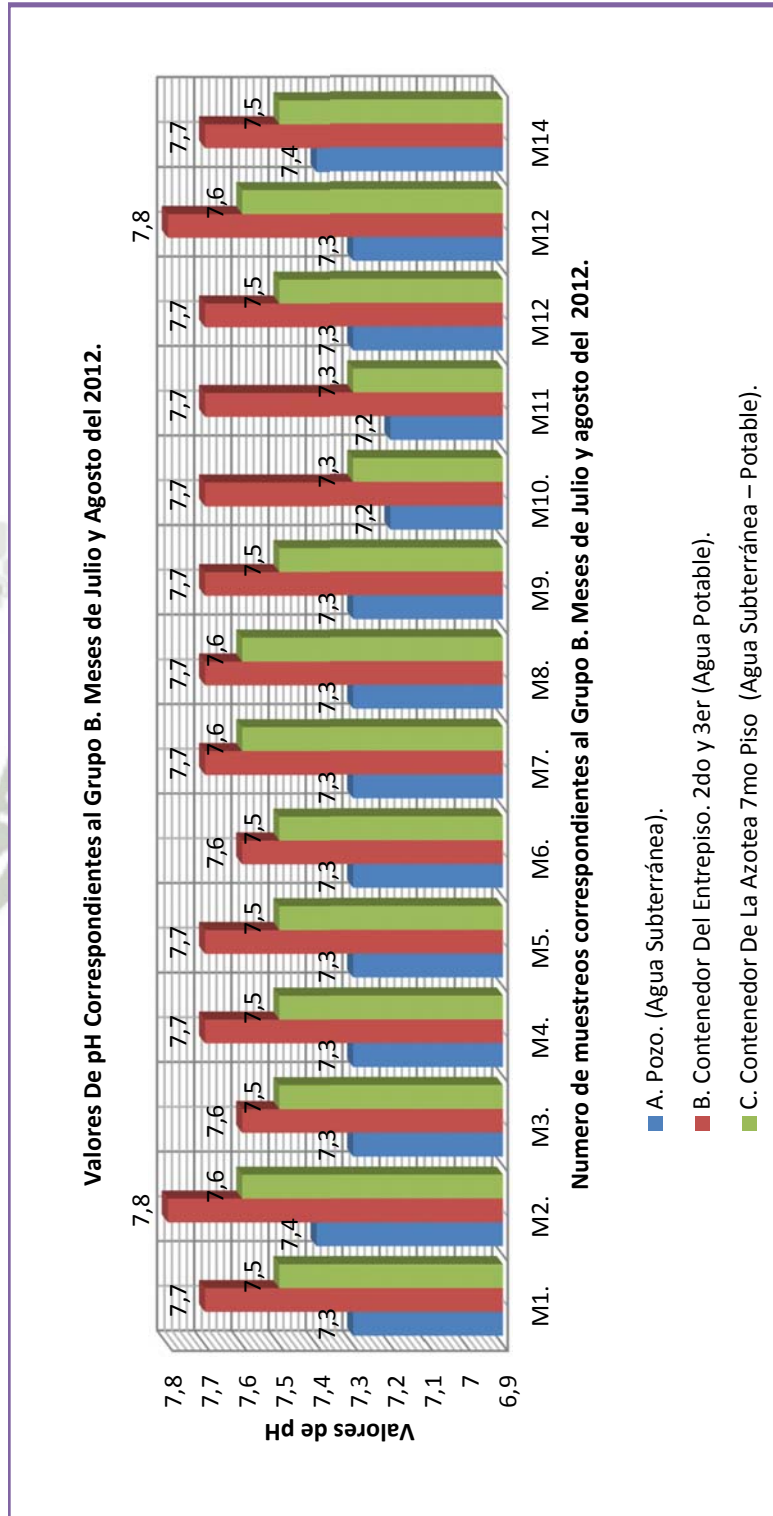


2.2.3. Cuadro 3: Valores de pH correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto Del 2012.

Ubicación y tipo de agua analizada para valores de pH.	Fecha y número de muestra.													
	2 de Julio.	5 de Julio.	9 de Julio.	12 de Julio.	16 de Julio.	19 de Julio.	23 de Julio.	6 de Agosto.	9 de Agosto.	13 de Agosto.	16 de Agosto.	20 de Agosto.	23 de Agosto.	27 de Agosto.
A.	M1. 7.3	M2. 7.4	M3. 7.3	M4. 7.3	M5. 7.3	M6. 7.3	M7. 7.3	M8. 7.3	M9. 7.3	M10. 7.2	M11. 7.2	M12. 7.3	M12. 7.3	M14. 7.4
B.	7.7	7.8	7.6	7.7	7.7	7.6	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.8.	7.7
C.	7.5	7.6	7.5	7.5	7.5	7.5	7.6	7.6	7.5	7.3	7.3	7.5	7.6	7.4
A. Pozo. (Agua Subterránea).		B. Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er Piso (Agua Potable).					C. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. (Agua Subterránea – Potable)							
M 1-14: Número de muestras simples.														

Grafica N° 5.

Valores de pH correspondientes al Grupo B. Meses de Julio y Agosto del 2012.



Se analizaron un total de 14 muestras simples, incluyendo 42 sub ensayos individuales, de los lugares de recolección anteriormente mencionados, correspondientes al Grupo II, durante los meses de Julio y Agosto del 2012, en donde procederemos a interpretar los siguientes resultados según cada punto de muestreo:

1. Con respecto a los Indicadores Bacteriológicos:

- A. Pozo. -- (Agua Subterránea):** De las 14 muestras analizadas, cada una en su lugar de muestreo fueron de carácter positivas, para indicadores con un índice de contaminación por lo cual, si dicha agua se utilizaría para uso potable no cumpliría con el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS - 031- 2010-SA.
- B. Contenedor del Entrepiso 2do y 3er Piso -- (Agua Potable):** De las 14 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo, fueron de carácter negativas en 12 oportunidades M 1-2-3-4-5-6-7-8-9-12-13-14 y de carácter positivos en 2 oportunidades M 10-11, para indicadores con un índice de contaminación, lo que nos hace suponer de una fuente de contaminación, relacionada a factores externos que modifica los parámetros de potabilidad del agua en este punto de muestreo, establecidos según el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS -031- 2010-SA.
- C. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. -- (Agua Subterránea – Potable):** De las 14 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo, fueron de carácter positivas en todas las oportunidades, para indicadores con un índice de contaminación por lo cual, si dicha agua se utilizaría para uso potable no cumpliría con el Decreto Supremo De Salud Ambiental DS -031- 2010-SA.

2. Con respecto a los valores de Cloro Residual Libre (CRL) y pH.

- A. Pozo. -- (Agua Subterránea):** De las 14 muestras analizadas fueron de carácter negativo para la medición de CRL, por lo cual si dicha agua se utilizaría para uso potable requeriría de un tratamiento de potabilización adecuado para uso, por tal manera no cumple con los parámetros establecidos en el DS - 031- 2010-SA, referido a la calidad del agua potable y de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).
- B. Contenedor del Entrepiso 2do y 3er Piso -- (Agua Potable):** De las 14 muestras analizadas fueron de carácter positivo para la medición de CRL, presentando valor min de 0.66 ppm y valor máx. de 0.89 ppm cumpliendo así con los requerimientos de dosificación adecuada cuyos valores fluctúan entre > 0.50 ppm a más, por lo cual dicha agua puede ser empleada para uso potable cumpliendo así con los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).
- C. Contenedor de la Azotea 7mo Piso. -- (Agua Subterránea – Potable):** De las 14 muestras analizadas, fueron de carácter negativo para la medición de CRL, en 2 oportunidades M 10-11 y de carácter positivo en 12 oportunidades M 1-2-3-4-5-6-7-8-9-12-13-14, presentando valor min de 0.01 ppm y un valor máx. de 0.03 ppm, pero estos últimos valores de CRL al encontrarse muy por debajo en rango de medición en dosificación mínima cuyo valor es de 0.30 ppm, según los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país, (Anexo N° 30). no la consideraría como tal, para uso potable.

3. Con respecto a los valores de pH.

Los valores de pH de las 42 muestras analizadas cada una en su lugar de muestreo de agua Subterránea, Potable, Y Subterránea – Potable, durante el segundo periodo de muestreo correspondiente al Grupo II. de los meses de Julio y Agosto del 2012, presentan un valor min de 7.2 y valor máx. De 7.8 por lo cual dichos tipos de agua cumplen así con los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país. (Anexo N° 30).

En resumen se presume que el punto de muestreo “A” Agua Subterránea, presenta índices de contaminación bacteriana, por lo cual se le debe someter a un tratamiento adecuado y específico para uso potable, muy a pesar de presentar valores de pH adecuados,

En tanto que el punto de muestreo “B” agua potable del contenedor del Entrepiso (2do y 3er Piso) reúne los parámetros de valores de Cloro Residual Libre CRL y de pH, para su uso como tal, a pesar de presentar indicadores de índice de contaminación en 2 oportunidades M 10-11, pero se cree que está, es producto de la contaminación en sus condiciones de almacenamiento, no del agua potable en sí.

Mientras que en relación al punto de muestreo “C” Agua Subterránea - Agua Potable, la primera afecta directamente los índices de contaminación bacteriana, por no poseer tratamiento de desinfección alguno, haciendo perder al agua potable su calidad como tal, descritos en el reglamento DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país, en el cual se establecen parámetros de potabilización estrictos, a pesar de encontrarse en algunas muestras concentraciones de CRL, las cuales serían insuficientes para inhibir el índice de concentración y crecimiento bacteriano por estar muy por debajo de los valores de CRL para su desinfección y alcanzar parámetros de potabilización, en tanto los valores de pH se hallan dentro de los valores normales, de tal manera se explica y se mantiene relación con los resultados obtenidos y analizados.

2.2.5. Cuadro 4.2: Número de indicadores bacteriológicos presentes por muestreo a partir de muestras simples correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto del 2012, del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique” - XI DIRTEPOL – Arequipa – 2012

Microorganismo	Fecha y número de muestra.												Número Presente	Total de microorganismos: Grupo II. Por ubicación.																																
	2 de Julio			5 de Julio			9 de Julio			12 de Julio					16 de Julio			19 de Julio			21 de Julio			6 de Agosto			9 de Agosto			13 de Agosto			16 de Agosto			20 de Agosto			23 de Agosto			27 de Agosto				
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C			A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C					
1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	04A+04C=08P
2	P	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	09A+09C=18P			
3	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	2A+2C=04P			
4	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0			
5	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	06A+06C=12P			
6	P	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	14A+14C=28P						
7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	02B+02C=04P			
8	P	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	5A+5C=10P						

Coliformes Totales:	
1.- <i>Enterobacter aerogenes</i> ; 2.- <i>Enterobacter cloacae</i> ; 3.- <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	
Bacteria epidemiológica:	
4.- <i>Salmonella spp.</i>	
Coliformes Fecales:	
5.- <i>Enterococcus faecalis</i> ; 6.- <i>Escherichia coli</i> .	
Bacterias de vida libre perjudiciales para la salud:	
7.- <i>Staphylococcus aureus</i> ; 8.- <i>Pseudomona aeruginosa</i>	

A.	B.	C.
Pozo. (Agua Subterránea).	Contenedor del Entrepiso. 2do y 3er (Agua Potable).	Contenedor de la Azotea 7mo Piso (Agua Subterránea – Potable)
P: Positivo.	N: Negativo.	M 1-14: Número de muestras simples.

Se investigó la presencia de 8 indicadores de índice contaminación entre agentes bacteriológicos y agentes contaminantes oportunistas de vida libre, encontrándose que de un total de 14 muestras, de cada punto de recolección mencionado anteriormente y siendo las mismas analizadas de forma individual, para cada tipo agua; Subterránea (A), Potable (B), y Subterránea – Potable (C), se apreciaron los siguientes resultados de identificación:

- **En la M 1 – 8 – 4 – 12 se identificaron:** *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*.
- **En la M 2 - 7 se identificaron:** *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.
- **En la M 3 – 14 se identificaron:** *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.
- **En la M 13 – 9 se identificaron:** *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*.
- **En la M 5 se identifico:** *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.
- **En la M 10 se identifico:** *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.
- **En la M 11 se identifico:** *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.
- **En la M 6 se identifico:** *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*.

Nota.- Para mayor referencia apreciar la Grafica N° 6.

Como se observa en el **Cuadro 2.2.5:** “Número De Indicadores Bacteriológicos Presentes Por Muestreo A Partir De Muestras Simples Correspondientes Al Grupo II. Mes De Julio Y Agosto Del 2012”. Los identificados fueron: *Escherichia coli*.”28 oportunidades”, *Enterobacter cloacae*, “18 oportunidades”, *Enterococcus faecalis*.”12 oportunidades”, *Enterobacter aerogenes*.”8 oportunidades”, *Pseudomona aeruginosa*.”10 oportunidades”, *Klebsiella pneumoniae*.”4 oportunidades”,

Staphylococcus aureus.”4 oportunidades”, no se halló *Salmonella spp.* en ninguno de los muestreos realizados, observándose mayor presencia del grupo de *Coliformes fecales* y *Escherichia coli* en dos puntos de muestreo que son el Agua Subterránea “A” y el Subterránea – Potable “C”, esto quiere decir que la contaminación al mesclar el agua Potable “B” con el Subterránea “A”, es evidente, haciéndola perder su característica de Agua Potable, pudiendo causar problemas a la salud de los pacientes y del personal hospitalario, en la aparición de:

- infecciones del tracto urinario “ITU”, que se producirían, por el paso del germen del tubo digestivo a la zona periuretral, y con posterioridad a la vejiga a través de la uretra.
- En pacientes inmunodeprimidos (VIH, cirróticos, con problema en el sistema inmunológico), hay un paso directo desde el tubo digestivo a la sangre produciendo bacteriemias.
- En enfermos colonizados en el tracto respiratorio superior se pueden producir microaspiraciones de secreciones faríngeas ocasionando neumonía.

Además teniendo en cuenta que se han realizado numerosos estudios de bacteriología en coliformes fecales y totales, además de existir numerosas normas legales, con parámetros específicos y vinculadas al saneamiento ambiental, según la comunidad que estás rijan, para que el agua sea o adquiera un uso potable, al examinar numerosa bibliografía, en análisis de campo de otras localidades en donde su desarrollo urbano es exponencialmente alto, como en Lima Metropolitana la conclusión de estos estudios refiere, que hoy en día no solo el grupo Coliforme debe ser incluido como indicador bacteriológico sino que existen otras bacterias que son agentes patógenos también transmitidos por el agua (I “6,” “7”; II “2”), además de la contribución de factores favorables como el tipo de agua el sistemas de distribución y almacenamiento, tipo de nutrientes, oxígeno, temperatura, pH, concentración de desinfectante y material de las tuberías (II “11”).

Y es así que con el apoyo de mi asesora Dra. Mercedes Javé M. creyó conveniente poner en práctica dichos estudios de campo para análisis de agua en nuestra ciudad de Arequipa y verlos reflejados en mi proyecto de investigación así pues, en el Perú, en un estudio realizado para la convención en: **Lucha Contra La Contaminación Del Agua En Los Países En Desarrollo**. (Serie De Informes Técnicos N° 404. Pág. 14- 20. O.M.S. Ginebra, 1996). (1“20”), se indica que la ausencia de bacterias Coliformes en las muestras de agua de cisternas y tanques, no significan la ausencia de riesgo microbiológico, pudiéndose encontrar *Pseudomona aeruginosa* como patógeno oportunista.

Las Bacterias Heterotróficas están presentes en todos los cuerpos de agua y constituyen un grupo de bacterias ambientales de amplia distribución, éstas son indicadoras de la eficacia de los procesos de tratamiento, principalmente de la desinfección (descontaminación).

Mientras que el grupo Coliforme abarca los géneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*. Cuatro de estos géneros (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*) se encuentran en grandes cantidades en el ambiente (fuentes de agua, vegetación y suelos) (1“7”),

Además el grupo *Pseudomona* está constituido por bacilos aerobios gramnegativos y móviles, algunos de los cuales producen pigmentos solubles en agua. Las especies del género *Pseudomona* se identifican sobre la base de varias características fisiológicas. Una de las propiedades más notables de *Pseudomona* es la gran variedad de compuestos orgánicos que utilizan como fuentes de carbono y energía *Pseudomonas aeruginosa*, no es un parásito obligatorio, puede ser fácilmente encontrada en el suelo y se comporta como desnitrificante, teniendo un papel importante en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza (1“28”).

Se ha demostrado que *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de sobrevivir y multiplicarse

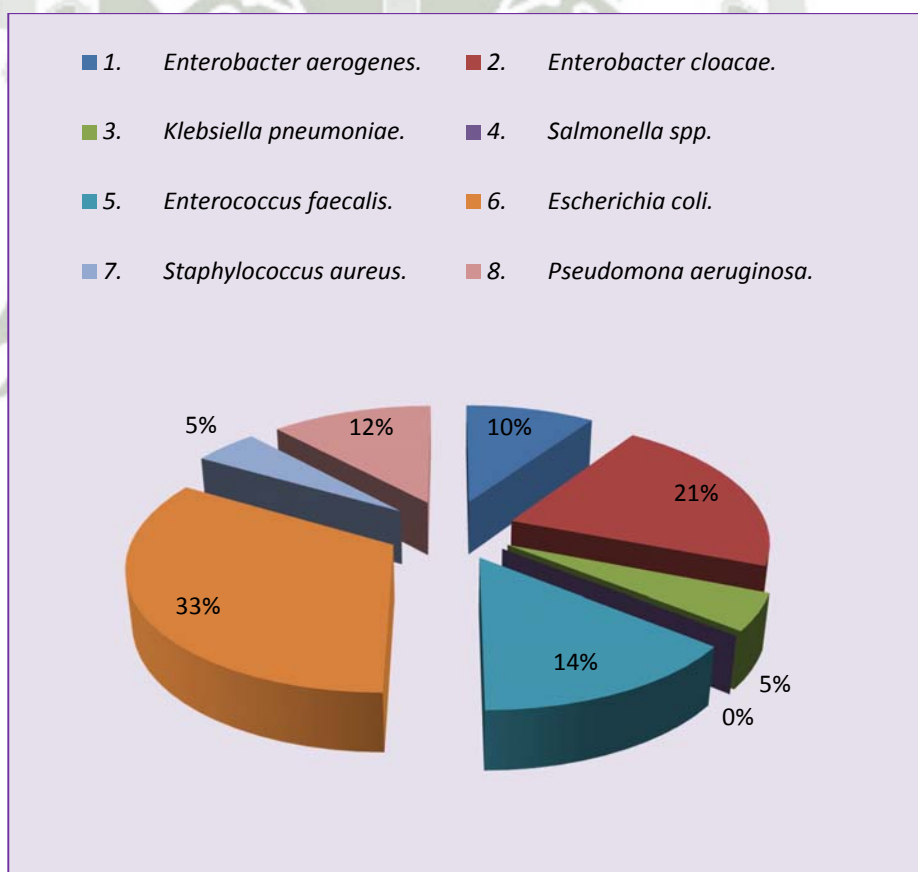
en aguas tratadas, esto debido a una densa capa polisacárida la cual establece una barrera no solo física sino química capaz de proteger a la bacteria de las moléculas e iones de CLORO LIBRE RESIDUAL (CRL), (II “9”). En el Perú, se evalúa la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* al CLORO LIBRE RESIDUAL (CRL) obteniendo resultados que la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el agua potable es de alto riesgo para la salud, en especial de los neonatos, pacientes hospitalizados e inmunodeficientes; debiendo ser considerado como un indicador de eficiencia de la desinfección, y ser incluida su detección y cuantificación en los análisis de rutina. En resumen, la presencia de este microorganismo es un indicador de la calidad del agua ya que su resistencia al cloro es superior a la de otros microorganismos aislados del agua.

La importancia de *Pseudomonas* se tornó mayor cuando se comprobó su capacidad de inhibir los Coliformes, siendo los indicadores de contaminación de agua más usados en el mundo, se corre un gran riesgo de consumir agua con índice de Coliformes cero los cuales podrían estar inhibidos por *Pseudomonas* porque producen una sustancia denominada "Pseudocin" (PLS). Asimismo, realizando un estudio poblacional de *Pseudomonas aeruginosa* y Coliformes totales y fecales en agua de consumo humano, encontrando que al aumentar la proporción entre *Pseudomonas aeruginosa* y en un medio que contenga Coliformes fecales, éstos últimos disminuyen, demostrando que los catabolitos de *Pseudomonas aeruginosa* (piocinas) tienen efecto bactericida sobre coliformes, pero que dicho efecto puede ser variable si las *pseudomonas aeruginosa* se halla en su fase estacionaria o de declive del crecimiento bacteriano o simplemente es superada en número por los Coliformes fecales y totales estos seguirán sobreviviendo, y multiplicándose incluso con la presencia de la *Pseudomonas* en el medio, como es el caso de mi estudio realizado (I “23”, “15”), recalando que el ser humano en sus desechos fecales elimina *Pseudomonas* si es que la persona se halla enferma o contaminada con la misma, mientras que en los animales no lo hacen, haciendo pensar además que la contaminación del agua subterránea de nuestro lugar de muestreo se deba a deficiencias del sistema o red de alcantarillado de las inmediaciones contaminando así la napa freática

de acuífero terrestre. Por lo cual se aprecia el incumplimiento de los parámetros establecidos en el DS -031- 2010-SA, de carácter vigente en nuestro país.

Grafica N° 6.

Número de indicadores bacteriológicos presentes expresado porcentualmente a partir de muestras simples correspondientes al Grupo II. Meses de Julio y Agosto del 2012, del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa – 2012.



3.3.1 Cuadro 1: número porcentual de Indicadores Bacteriológicos presentes, a partir de muestras simples, correspondientes al Grupo I. y II. (Mayo, Junio, Julio y Agosto del 2012), del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

Indicador Bacteriológico Identificado.	Total Del Grupo I.	Total Del Grupo II.	Nº De Veces Encontrado	Representación Porcentual Total.
1. <i>Enterobacter aerogenes.</i>	8	8	16	9%
2. <i>Enterobacter cloacae.</i>	20	18	38	22%
3. <i>Klebsiella pneumoniae.</i>	4	4	8	5%
4. <i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0%
5. <i>Enterococcus faecalis.</i>	16	12	28	16%
6. <i>Escherichia coli.</i>	28	28	56	33%
7. <i>Staphylococcus aureus.</i>	4	4	8	5%
8. <i>Pseudomona aeruginosa.</i>	8	10	18	10%
Total positivos.	88	84	172	100%

Coliformes Totales: <i>1.-Enterobacter aerogenes; 2.-Enterobacter cloacae; 3.-Klebsiella pneumoniae.</i>	
Bacteria epidemiológica: <i>4.-Salmonella spp.</i>	
Coliformes Fecales: <i>5.-Enterococcus faecalis; 6.-Escherichia coli.</i>	
Bacterias de vida libre perjudiciales para la salud: <i>7.-Staphylococcus aureus; 8.-Pseudomona aeruginosa</i>	

Del análisis un total de 28 muestras simples, incluyendo 84 sub ensayos individuales, en los lugares de recolección anteriormente mencionados, se halló que del total de ensayos positivos:

El **9%** corresponde a *Enterobacter aerogenes*, y el **22%** corresponde a *Enterobacter cloacae*, apreciándose presencia de coliformes totales, que es causante de síntomas comunes de enfermedades, como diarreas, dolor abdominal, náuseas, dolor de cabeza y colitis, en estos casos las heces son acuosas y no son sanguinolentas, pero estos síntomas de enfermedades en algunos casos no son tomados en cuenta por la población o el individuo, que las aqueja pero al combinarse con otro tipo de padecimientos desencadenan un efecto sinérgico patológico, poniendo en riesgo la vida de las personas que las padecen.

El **5%** corresponde a *Klebsiella pneumoniae*, también perteneciente al grupo de los coliformes totales, es una bacteria gramnegativa de la familia *Enterobacteriaceae*, y es la especie más dominante del genero *klebsiella* pero es un microorganismo relevante a tomar en cuenta, por ser causante de infecciones nosocomiales, infecciones del tracto urinario, sepsis, infecciones de tejidos blandos, asociadas en mayor número a pacientes con diabetes mellitus o con problemas de alcoholismo, y mas aún la mayor importancia de este patógeno es por ser causante de alrededor del 1% de las neumonías bacterianas con condensación hemorrágica extensa, del pulmón. Además, en ocasiones provoca lesiones focales en pacientes debilitados que puede terminar con la vida del paciente. Algunas de las complicaciones más frecuentes son el absceso pulmonar y el empiema. (Acumulación de pus en las cavidades orgánicas).

El **33%** corresponde a *Escherichia coli*, es también conocida como *E.Coli*, y quizás es el organismo procarionta mas estudiado por el ser humano, por estar asociado a un número de infecciones transmitidas especialmente por el agua, pertenece al grupo de los coliformes totales de la familia de las *Enterobacteriaceae*, su presencia en nuestro análisis en un gran porcentaje de resultados positivos, revela directamente contaminación por

origen fecal, y aunque todos la poseemos en nuestro organismo y es necesaria para el proceso de digestión y sintetizar vitaminas B y K, la sobre infección de ésta que a su vez se vincula en mayor número en personas infectadas, o con su presencia en las heces y intestinos de animales, genera serias complicaciones como Infecciones del tracto urinario, meningitis neonatal, enfermedades intestinales diarrea acuosa con presencia de sangre, dolores de cabeza, fiebre, uremia, daños hepáticos, se dice que puede permanecer en el agua en condiciones favorables por más de décadas si no se le perturba, pero someterla a temperaturas mayores de 70°C pierden su capacidad de infección.

El **16%** corresponde a *Enterococcus faecalis*. es una bacteria gram positiva comensal, su presencia en los resultados de nuestros análisis, no da más que confirmar la presencia de contaminación fecal puesto que dicho patógeno habita en el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos. *E. faecalis* puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospitales, su hábitat normal es el tubo digestivo de animales de sangre caliente. su presencia nos indica falta de desinfección o defectuosas condiciones de conservación del agua, el consumo de la misma en estas condiciones puede causar endocarditis, infecciones de vejiga, próstata, epidídimo; a la vez que infecciones de sistema nervioso son menos comunes para este patógeno.

El **5%** corresponde a *Staphylococcus aureus*, es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella, aunque su habitat natural es la piel y las mucosas de las personas estas pueden llegar al agua a través del aire, si es que no se protege a la misma de las condiciones ambientales, aunque en nuestros resultados obtenidos solo se le encontró en un 5% de puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales.

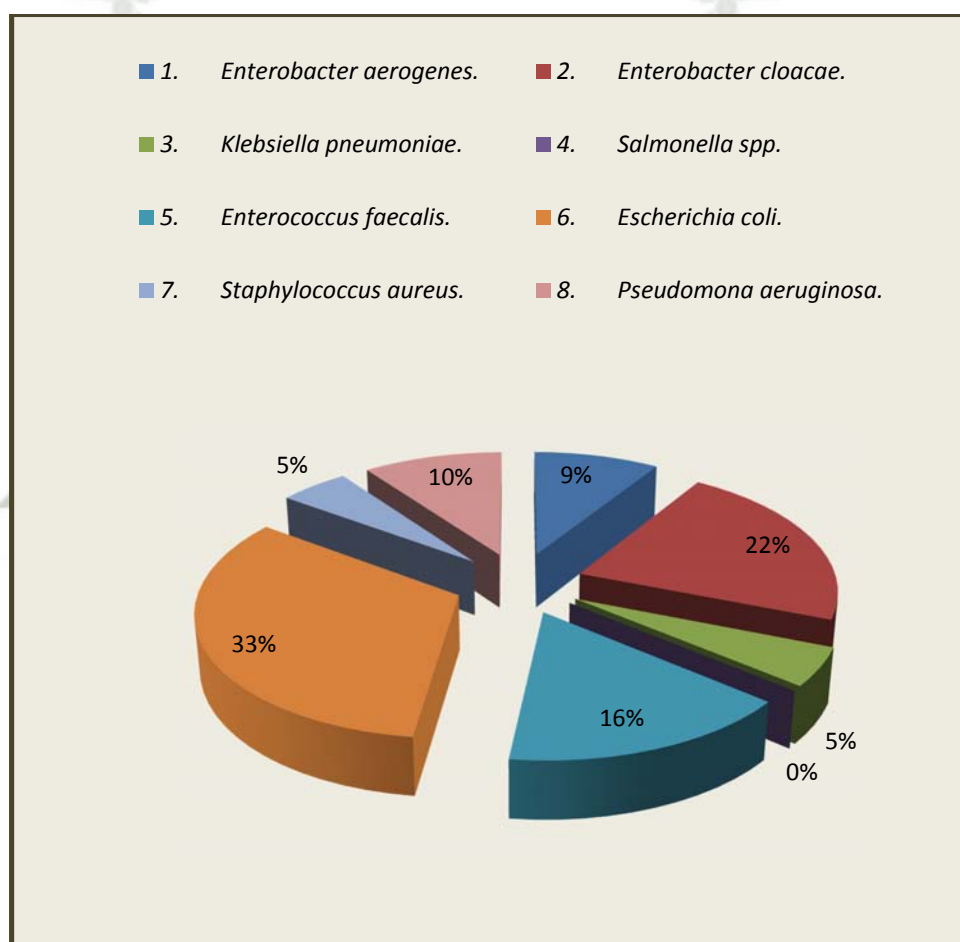
El 10% corresponde a *Pseudomona aeruginosa*, es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, pertenece al grupo de los patógenos oportunistas están presentes naturalmente en el medio ambiente y por consiguiente en algunos casos en el agua, causa afecciones en personas cuyos mecanismos de defensa locales o generales son deficientes, por ejemplo a los ancianos, a los lactantes, quienes han sufrido quemaduras o heridas extensas, a los enfermos sometidos a un tratamiento inmunosupresor o a los que padecen el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Entre las enfermedades nosocomiales más comunes destacan: Neumonía, fibrosis quísticas, dermatitis, infecciones y sepsis generalizadas, se han realizado estudios de la presencia de la *pseudomona* en agua potable almacenadas en tanques, y de aguas subterráneas de tal manera que comprobó que está libera una sustancia denominada "Pseudocin" que posee características inhibitorias para el grupo de las *Enterobacteriaceae*, pero en el presente trabajo de investigación se apreció que dicha característica mencionada, no se aplicaría si hubiese mayor índice de contaminación por coliformes en el medio que de *psudomona* en el mismo, pero aún así no bastaría para eliminar su presencia y sus características patógenas.

No se encontró ningún indicador bacteriológico correspondiente a *Salmonella spp*, es importante recalcar la ausencia de la misma como importancia de patógeno epidemiológico, asociado a problemas como diarreas acuosas con sangre, y salmonelosis.

En base a los resultados hallados se debe tener en cuenta que de las 37 enfermedades más comunes entre la población de América Latina, 21 están relacionadas con la falta de agua y con agua contaminada. En todo el mundo éstas enfermedades representan 25 millones de muertes anuales.

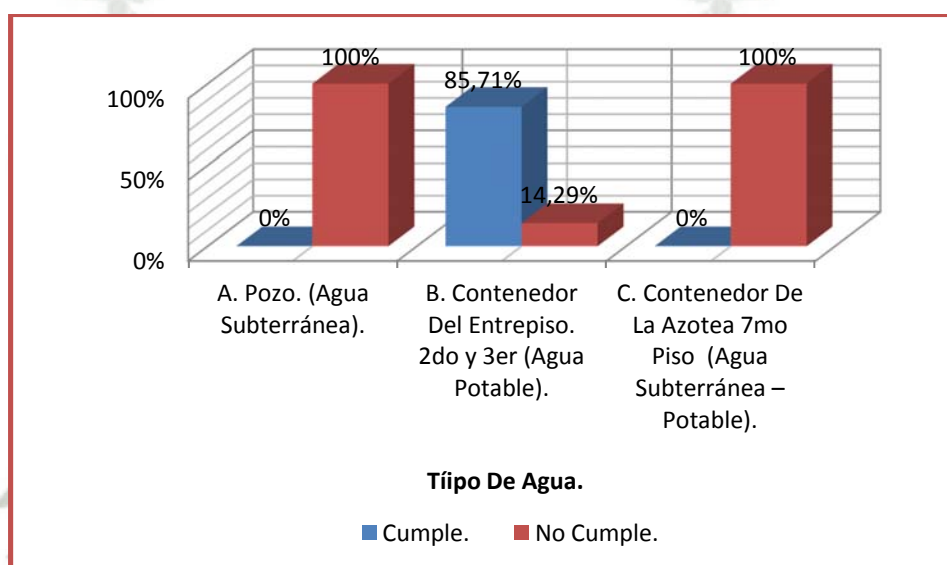
Grafica N° 7.

Porcentaje de indicadores bacteriológicos identificados a partir de muestras simples, correspondientes al grupo I. y II. (Mayo, Junio, Julio y Agosto del 2012), del Agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.



Grafica N° 8.

Frecuencia de cumplimiento de los parámetros bacteriológicos establecidos, a partir de muestras simples, correspondientes al Grupo I. y II. (Mayo, Junio, Julio y Agosto del 2012), del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.



- En relación a los resultados analizados del punto A, correspondiente al Agua Subterránea, se apreció una frecuencia de incumplimiento del 100% en relación a los muestreos realizados, por lo tal su uso como agua potable no es aceptable según reglamento vigente.
- En relación a los resultados analizados del punto B, correspondiente al Agua Potable se apreció una frecuencia de cumplimiento de 85.71%, y de un incumplimiento del 14.29% en relación a los muestreos realizados, a la vez de presumirse que dicha inconformidad se deba a sus condiciones de almacenamiento, mas no a su calidad de agua potable en si, por tanto su uso es aceptable según reglamento vigente.

- En relación a los resultados analizados del punto C, correspondiente al Agua Subterránea - Potable se apreció una frecuencia de incumplimiento del 100% en relación a los muestreos realizados por lo tal su uso como agua potable no es aceptable según reglamento vigente.

4. Deficiencias observadas en la infraestructura de las ubicaciones de los puntos de muestreo del agua Subterránea, Potable, y Subterránea – Potable de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa.

Con las mejores intenciones de ayudar a mejorar la calidad del agua de uso diario en el Hospital Cívico Policial “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL – Arequipa, se hace hincapié en lo siguiente:

A. Observaciones correspondientes al Punto A. “Pozo”, Agua Subterránea.

- No recibe ningún método de potabilización, exceptuando la de ser mezclada con agua potable, proveniente de la planta de tratamiento de agua de la TOMILLA - SEDAPAR.
- No se precisa información si otras personas o instituciones, hacen uso del mismo método para la obtención del recurso hídrico, cerca al hospital, y si en caso las hubiese, aquellas poseen y practican procedimientos o normas para la preservación, e evitar factores alterantes en los parámetros concernientes calidad de la misma.
- El mantenimiento del pozo y de su equipo de bombeo, se realiza en forma anual si es que este no presenta avería alguna, a la vez que no se han establecido

controles después de la limpieza que garantice la no contaminación del agua subterránea.

- El acceso al pozo se halla ubicado al nivel del suelo, siendo también puerta de entrada a la contaminación ambiental especialmente en época de lluvia, porque a pesar de poseer una cubierta de acero, la misma no es de naturaleza hermética por lo cual no asegura el paso de interferentes y contaminantes, hacia el nivel freático.



- Se noto la presencia de oxido en las paredes de recubrimiento del pozo hacia el flujo del agua subterránea, por el paso del tiempo y factores ambientales.



B. Observaciones correspondientes al Punto B. “Entrepiso”, Agua Potable.

- El mantenimiento contenedor, se realiza en forma anual si es que este no presenta avería alguna, a la vez que no se han establecido controles después de la limpieza que garantice la no contaminación del agua Potable.
- El contenedor de agua potable no cuenta con un recubrimiento termo hermético, que lo proteja de las condiciones naturales del medio ambiente.
- Se observo presencia de oxido y suciedad, en las paredes de contenedor.



- Al acceder por la escalera derecha frontal, se aprecia que el contenedor no posee una tapa para proteger al agua potable del medio ambiente.



C. Observaciones correspondientes al Punto C. “Azotea”, Agua Subterránea - Potable.

- El mantenimiento contenedor, se realiza en forma anual si es que este no presenta avería alguna, a la vez que no se han establecido controles después de la limpieza que garantice la no contaminación del agua Subterránea - Potable.
- El contenedor de agua Subterránea - Potable no cuenta con un recubrimiento termo hermético, que lo proteja de las condiciones naturales del medio ambiente.
- Se observo presencia de oxido y suciedad, en las paredes de contenedor.



- Al acceder por la escalera izquierdo frontal, se aprecia que el contenedor si posee una tapa para proteger al agua Subterránea - Potable del medio ambiente, pero no se aprecio el uso de la misma los días de recolección de muestra y tampoco durante el periodo de duración del estudio.
- Además se aprecio que el equipo de bombeo encargado de hacer llegar el agua potable al contenedor de acoplo, (7mo piso) del agua subterránea – potable, presenta fugas y la red de cañerías del mismo presenta daños.

-



- Así mismo no se maneja un adecuado tiempo de abastecimiento de cada punto de almacenamiento, del agua Subterránea (Sin tratamiento de desinfección); Potable (Con tratamiento de desinfección); e Subterránea - Potable (Mezcla de ambas); esto quiere decir que la proporción del mezclado no es equitativa, ni se maneja un parámetro de desinfección adecuado expresado volumétricamente.
- Además se debe poner en manifiesto que se eligió los meses de muestreo de Mayo a Agosto del 2012, para tener una perspectiva más adecuada del índice de contaminación de los lugares de muestreo ya mencionado, sin presencia de interferentes internos (limpieza y mantenimientos por parte del personal del hospital); así como interferentes externos (lluvia y aumento del caudal del agua de la napa freática).

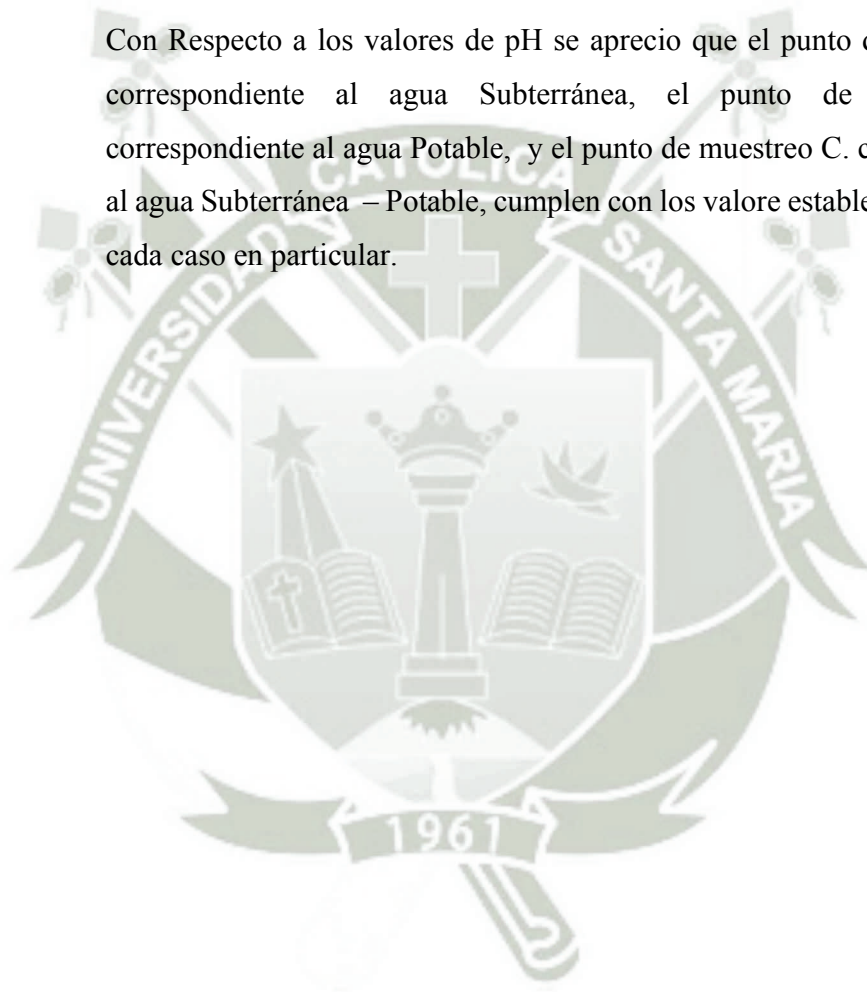
CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas después del desarrollo y evaluación de técnicas analíticas, durante los meses de Mayo a Agosto (Grupo I y II de muestreo); del presente trabajo de tesis son las siguientes:

1. Se encontró que el 36% de los resultados obtenidos pertenecen al grupo de los Coliformes Totales “*Enterobacter aerogenes.*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae.*”; el 33% pertenece al grupo de los Coliformes fecales “*Escherichia coli*”, mientras que el 16% corresponde a “*Enterococcus faecalis*”; el 10% pertenece a patógenos oportunistas “*Pseudomona aeruginosa*”. El 5% a microorganismos de vida libre “*Staphylococcus aureus*”, además de no encontrarse “*Salmonella spp*”, en ninguno de los muestreos realizados, comprobándose así que el origen de la contaminación del agua Subterránea y el agua Subterránea - Potable de las muestras, obtenidas de los lugares de recolección son de origen fecal.
2. No cumplen con los parámetros bacteriológicos establecidos, a lo largo del proceso de investigación, el punto de muestreo A. correspondiente al agua Subterránea, el punto de muestreo C. correspondiente al agua Subterránea – Potable, y el punto de muestreo B. correspondiente al agua Potable, cumple en un 85.71%, de la cantidad de veces que fue analizado, concluyendo así que el 14.29%, de su incumplimiento se deba a sus malas condiciones de almacenamiento.
3. Apreciando los resultados obtenidos de la evaluación de desinfección por medio de los valores de CRL, el punto de muestreo A. correspondiente al agua Subterránea, no presenta valores de CRL, el punto de muestreo C.

correspondiente al agua Subterránea – Potable, presenta valores de CRL muy por debajo de la dosificación mínima de 0.30 ppm, no alcanzando los parámetros de desinfección, según la norma vigente en nuestro país, y el punto de muestreo B. correspondiente al agua Potable, cumple con los valores de CRL de 0.50 ppm a mas, lo que le acredita su calidad de potabilidad.

Con Respecto a los valores de pH se aprecio que el punto de muestreo A. correspondiente al agua Subterránea, el punto de muestreo B. correspondiente al agua Potable, y el punto de muestreo C. correspondiente al agua Subterránea – Potable, cumplen con los valore establecidos de pH en cada caso en particular.



SUGERENCIAS

1. Se recomienda realizar una investigación acerca del origen de la contaminación del agua Subterránea, especialmente en la cercanías al hospital, así como una limpieza periódica del pozo y mantenimiento a su equipo de bombeo. Además de implementar un sistema de purificación de agua adecuado para este, se recomienda un equipo de cloración.
2. Seguir realizando mediciones de CRL y de pH en el contenedor de agua Potable a fin de preservar el cumplimiento, ya demostrado de los parámetros de desinfección, Y en el caso de haber implementado un sistema de purificación adecuado para el agua Subterránea, realizar el mismo procedimiento en el contenedor de agua Subterránea – Potable.
3. Mejorar las instalaciones y infraestructura de los contenedores del agua Potable y el agua Subterránea –Potable, a fin de cumplir con los normas establecidos en el DS – 031 – 2010 –SA de carácter vigente en nuestro país.
4. Capacitar acerca de temas de potabilización, métodos de conservación y métodos alternativos de desinfección del agua, al personal encargado de la red hídrica del hospital, y hacer llegar a las autoridades del mismo, el incumplimiento de la normativa vigente, con fin de ayudar a mejorar y salvaguardar la imagen, la salud, del personal y en especial de los pacientes, de una institución de muchos años de labor y funcionamiento como es el **“HOSPITAL CÍVICO POLICIAL “Julio Pinto Manrique”- XI DIRTEPOL - AREQUIPA”**

BIBLIOGRAFÍA

I. Bibliografía de Textos.

1. **Alonso Urmeneta B. Aragon V.** (Manuel Practico De Microbiología. 2da Edición 1999).
2. **Apella Maria; Araujo Paula.** (Microbiología De Agua. Conceptos Básicos. Universidad Nacional De Tucumán. Chacabuco, Argentina. 2001).
3. **APHA, Awwa Ywpcf.** (Métodos Normalizados Para El Análisis De Aguas Potables Y Residuales. 17ª Edición. Ed. Díaz De Santos, S.A. Madrid. 1992).
4. **Atkins, J.** (Panorama De La Situación De La Salud En América Latina. Salud Pública De México N° 2 Vol. 15 Época V Pags.223- 225, Marzo- Abril 1993).
5. **Bolívar R., Andueza F.** (Relación Entre La Presencia De Células De Aeromona SSP. Y La Presencia De Coliformes Totales Y Fecales En Muestras De Agua. Memorias Del XII Congreso Latinoamericano De Microbiología. Venezuela. 2005).
6. **Burrows, W.** (Tratado De Microbiología. Edit. Interamericana. 2004).
7. **Cabo De La Fuente, C.** (Bacteriología Y Potabilidad Del Agua. Madrid. 2010).

8. **Collins, C.** (Métodos Microbiológicos 4º Edición, México. Edit. Interamericana, 2009).
9. **Concepción M., Gómez M., González-López J.** (Fecal Coliformre Lated Bacterial Andcoli Phage Population Infivelakesof Southeastern Spain. Microbiologica Lresearch. 1998).
10. **Crispin, P Y Salcedo, C.** (Medios De Cultivo, Interpretación Bioquímica. Universidad Mayor De San Marcos. Dpto. Académico De Microbiología Y Parasitología. Programa Académico De Farmacia Y Bioquímica. Lima- Perú. 2011).
11. **Charles, R.** (Práctica Y Vigilancia De Las Operaciones De Tratamiento Del Agua. O.M.S. Ginebra, 2006).
12. **Daguet, C. & Col** (Técnicas De Bacteriología. Tomo I, II Y III. Barcelona. 1977).
13. **Environment Agency, Standing Committee Of Analysts. The Microbiology Of Drinking Water Part 1 - Water Quality And Public Health, Methods For The Examination Of Waters And Associated Materials.** (Estádos Unidos. 2002).
14. **Fernández M., Navajas C., Moreno Abril, Pérez López J. A.** (Determinación De Cloro Residual. Método Del DPD Higiene Sanitaria. Ambiental México. 2001).

15. **Gloynd, E.** (Estánque De Estabilización De Agua Residuales. O.M.S. Ginebra. 1993).
16. **Informe CARE.** “Abastecimiento De Agua Segura Para Consumo Humano Y Disposición Sanitaria De Excretas En Las Zonas Periféricas De Los Centros Urbanos Del País” – (Documentos Técnicos De Riesgo De Salud Ambiental Agua Y Saneamiento) Para La Convención CARE 2002 – **Autor:** Ing. Oscar Cáceres López.
17. **Jave Márquez Jesús Mercedes.** (Guía De Prácticas De Microbiología Farmacéutica De La Facultad De Farmacia Y Bioquímica De La UCSM. Arequipa. 2008).
18. **Jawetzr. D.** (Microbiología Medica 15 Edición – España 1998).
19. **Kourany, M.** (Obtención Y Manejo De Muestras Para Exámenes Microbiológicos De Las Enfermedades Transmisibles. O.P.S. Póublicación Científica N° 326. Págs. 119- 146. Washington, 1996).
20. **Lucha Contra La Contaminación Del Agua En Los Países En Desarrollo.** (Serie De Informes Técnicos N° 404. Pág. 14- 20. O.M.S. Ginebra, 1996).
21. **Merck.** (Manual De Microbiología. Bogotá 1992).
22. **Millipore.** (Análisis Microbiológico. Madrid, España. 2005).
23. **Montes, L.** Bromatología. Tomo I, II Y III. Segunda Edición. Buenos Aires, L981

24. **N.F Lightfoot; E.A Maier** (Análisis microbiológico De Alimentos Y Aguas – Directivas Para El Aseguramiento De La Calidad 1998).
25. **OMS.** (Guías Para La Calidad Del Agua Potable; 1. Recomendaciones. Washington, Usa. 1985).
26. **OPS.** (Condiciones De Salud En Las Américas. Washington, D.C. 1990).
27. **Pulido Mireya Del Pilar, Arcos Sara Lilia, Ávila De Navia. Estupiñán Sandra Mónica.** (Indicadores Microbiológicos De Contaminación De Las Fuentes De Agua. División De Investigaciones, Universidad Colegio Mayor De Cundinamarca.2005).
28. **Raquel Granados Y Carmen Villaverde.** (Microbiología Bacteriología, Medios De Cultivo Y Pruebas Bioquímicas, Micología General, Parasitología General 2007).
29. **R. Diaz; C.Gamazo; F. Lopez Goñi.** (Manual Práctico De Microbiología – Segunda Edición 2003).
30. **Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.** (Diagnostico Microbiológico.1987).
31. **Who And Unicef.** (Water For Life, Making It Happen. Francia. 2005).

II. Bibliografía Electrónica. (WWW “World Wide Web”)

1. Agencia De Protección Ambiental De Los Estádos Unidos– EPA.
[Http://Www.Epa.Gov/Espanol/Sobreepa.Htm](http://Www.Epa.Gov/Espanol/Sobreepa.Htm)
2. APHA (American Public Health Association - Asociación Americana De Salud Pública).
[Http://Www.Apha.Org/](http://Www.Apha.Org/)
3. CARE. (Defending Dignity, Fighting Poverty – Defender La Dignidad, Lucha Contra La Pobreza)
[Http://Www.Care.Org.Pe/Quien.Htm](http://Www.Care.Org.Pe/Quien.Htm)
4. Centros Para El Control Y Prevención De Enfermedades.
[Http://Www.Cdc.Gov/Spanish/](http://Www.Cdc.Gov/Spanish/)
5. DIGESA (Dirección General De Salud Ambiental).
[Http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp](http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp)
6. FAO, (Organización De Las Naciones Unidas Para La Alimentación Y La Agricultura).
[Http://Www.Fao.Org/Index_Es.Htm](http://Www.Fao.Org/Index_Es.Htm)
7. GWP (Global Water Partnership - Asociación Mundial Para El Agua).
[Http://Www.Gwp.Org/](http://Www.Gwp.Org/)
8. Hannainstruments–Argentina.
[Http://Www.Hannaarg.Com/](http://Www.Hannaarg.Com/)

9. Informe Del Ministerio De Salud Del Perú.
[Http://Www.Minsa.Gob.Pe](http://Www.Minsa.Gob.Pe)

10. INEI (Instituto Nacional De Estadística E Informática) – Porcentajes A Nivel Nacional De Afecciones Mas Comunes Causadas Por Enfermedad Diarreicas 2007.
[Http://Desa.Inei.Gob.Pe/Censos2007/Tabulados/](http://Desa.Inei.Gob.Pe/Censos2007/Tabulados/)

11. Manual De Microbiologia Cultimed.
[Http://Issuu.Com/Fpalaci/Docs/Manual_Microbiologia_2002__Medios_De_Cultivo](http://Issuu.Com/Fpalaci/Docs/Manual_Microbiologia_2002__Medios_De_Cultivo)

12. Organización Mundial De La Salud.
[Http://Www.Who.Int/Es/](http://Www.Who.Int/Es/)

13. Ph.Eu Farmacopea Europea.
[Http://Www.Merckmillipore.Es/Pharmaceutical-Ingredients/European-Pharmacopoeia/C_Ct6b.S1leg0aaaew.Swfvhtn?Portalcatalogid=Merck4pharma&Countryname=Spain](http://Www.Merckmillipore.Es/Pharmaceutical-Ingredients/European-Pharmacopoeia/C_Ct6b.S1leg0aaaew.Swfvhtn?Portalcatalogid=Merck4pharma&Countryname=Spain)

14. USP (United States Pharmacopoeia – Farmacopea De Los Estados Unidos)..
[Http://Www.Usp.Org/Es/Products/Uspnf/Usp34nf29.Html](http://Www.Usp.Org/Es/Products/Uspnf/Usp34nf29.Html)

ANEXOS

ANEXO N° 1.


CALDO BHI (AL 5% DE ClNa)

Fundamento.

Por la presencia de peptona y la infusión de cerebro de ternera e infusión de corazón de res, se tienen los componentes necesarios para nutrir microorganismos exigentes. La glucosa se emplea para la fermentación y el fosfato como tampón.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para la preparación de 1lt de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI con ClNa al 5%), concentración expresada en gr x lt.

- Infusión de Cerebro de Ternera (a partir de 200 gr).	12,5gr.	
- Infusión de Corazón de Res (a partir de 250 gr).	5,0gr.	
- Glucosa.	2,0gr.	
- Peptona de Gelatina.	10,0gr.	
- Sodio Cloruro.	10,0gr.	
- Sodio Hidrógeno Fosfato.	2,5gr.	
pH final: 7,4 ±0,2.		

Pesar y suspender 37gr en polvo de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) en 1 lt de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y disolución total de las partículas en polvo del medio, para posteriormente colocar el medio a esterilización a 121°C durante 15 minutos en el autoclave, dejar enfriar el caldo BHI a unos 35°C para su

traslado a frascos estériles de preferencia de material de vidrio protegiéndolos de la luz, y conservando el medio entre 2 – 25°C de T° (No congelar ni sobrecalentar el medio), haciéndolo propicio el medio para momento de su utilización, con la colocación de muestra membrana de celulosa de 0,45 µm, conteniendo nuestros microorganismos a identificar previamente filtrada al vacío.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio se apreciarían los siguientes resultados:

Microorganismo	Crecimiento
<i>Escherichia coli.</i>	Positivo.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positivo.
<i>Pseudomona aeruginosa.</i>	Positivo.
<i>Enterococcus Feacalis.</i>	Positivo.

Además la presencia y desarrollo de microorganismos, se observa por la turbidez del medio, para posteriormente los microorganismos desarrollados deban ser sub cultivados en medios específicos, y realizarse las pruebas bioquímicas de identificación correspondientes.



Caldo BHI (Color del medio ámbar claro).



Caldo BHI + Membrana de celulosa de 0.45 micras. (Apreciándose el enturbiamiento del medio).

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 2

CALDO BHI (AL 6.5% DE ClNa)


Fundamento.

El caldo BHI es un medio de cultivo nutritivo tamponado que contiene infusiones de tejido cerebro y corazón, así como peptona para suministrar proteínas y otros nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de microorganismos exigentes y no exigente.

En la formulación de BHI con ClNa al 6.5%, la sal actúa como agente de diferenciación o selección interfiriendo con la permeabilidad de la membrana y los equilibrios osmóticos y electrolíticos en los organismos no tolerantes a la sal.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para la preparación de 15ml de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI con ClNa al 6.5%), concentración expresada en gr x ml.

- Infusión de Cerebro de Ternera (a partir de 200 gr).	12,5gr.	
- Infusión de Corazón de Res (a partir de 250 gr).	5,0gr.	
- Glucosa.	2,0gr.	
- Peptona de Gelatina.	10,0gr.	
- Sodio Cloruro.	10,0gr.	
- Sodio Hidrógeno Fosfato.	2,5gr.	
pH final: 7,4 ±0,2.		

Pesar y suspender 0.555gr en polvo de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) en 15ml de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y disolución total de las partículas en polvo del medio, para posteriormente añadir 0.097gr de ClNa al 99% y agitar nuevamente hasta total disolución en el medio, así variaremos el porcentaje de de ClNa de 5% con el cual proviene al agar inicialmente a 6.5% de ClNa que es lo que necesitamos, posteriormente colocar el medio a esterilización a 121°C durante 15 minutos en el autoclave, dejar enfriar el caldo BHI con ClNa a 6.5% a unos 35°C de T°, trasladando nuestro caldo estéril, en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, hasta una tercera parte de los mismos, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con ayuda de nuestra asa de Kolle circular, por la técnica de licuación a un tercio de profundidad del tubo de ensayo conteniendo nuestro caldo BHI con ClNa al 6.5%.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio se apreciarían los siguientes resultados:

Microorganismo.	Crecimiento.
<i>Enterococcus faecalis</i>	Positivo.

Además la presencia y desarrollo de microorganismos, se observa por la turbidez del medio, para posteriormente los microorganismos desarrollados deban ser sub cultivados en medios específicos, y realizarse las pruebas bioquímicas de identificación correspondientes.



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 3


AGAR CETRIMIDE.

Fundamento.

En el medio de cultivo, la peptona de gelatina aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la glicerina favorece la producción de pigmentos, las sales de magnesio y potasio estimulan la producción de pirocianina y piorrubina; e inhiben la producción de fluoresceína para otro tipo de microorganismo.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación correspondiente a 1lt de agar Cetrimide para la identificación de Pseudomona y sus distintos géneros, concentración expresada en gr x lt.

- Peptona de gelatina	20.0gr.	
- Cloruro de magnesio	1.4gr.	
- Sulfato de potasio.	10.0gr.	
- Agar.	13.6 gr.	
- Cetrimide.	0.3 gr.	
pH final: 7.2 ± 0.2		

Pesar y Suspender 45,3gr de agar Cetrimide en 1lt de agua destilada, y agregar 10 ml de glicerol, dejar reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto. autoclavar a 121°C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml aproximadamente del agar, para su posterior utilización,

sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

Las colonias de *Pseudomona aeruginosa*, presentan un pigmento verde azulado, debido a la presencia de pigmentos como la piocianina, que al observarse a una lámpara UV de 254nm puede apreciarse fluorescencia en el medio.

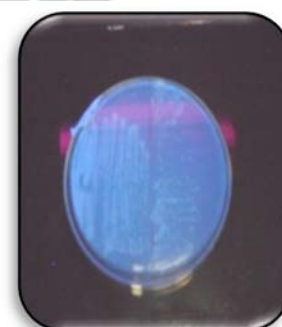
Microorganismos.	Crecimiento.	Fluorescencia En Lámpara UV de 254nm.
<i>Pseudomona aeruginosa</i> .	Bueno - excelente	+



Agar Cetrimide.
(Color amarillo claro).



Agar Cetrimide.
(Color verde).



Agar Cetrimide.
(Observado bajo UV de 254nm).

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 4

AGAR CITRATO DE SIMMONS.

 **Fundamento.**

En dicho medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad. El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarbóxico. El desdoblamiento del citrato da progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa.

 **Componentes del medio y su preparación.**

Formulación para 1lt de agar Citrato de Simmons concentración expresada en grx lt.

- Citrato de sodio.	2.0gr	
- Cloruro de sodio.	5.0gr.	
- Fosfato dipotásico.	1.0gr.	
- Fosfato monoamónico.	1.0gr.	
- Sulfato de magnesio.	0.2gr.	
- Azul de bromotimol.	0.08gr.	
- Agar.	15.0gr.	
pH final: 6.9 ± 0.2		

Pesar y suspender 24,2gr del medio deshidratado por litro de agua destilada, dejar reposar 5 minutos y calentar cuidadosamente, agitando con frecuencia y hervir durante un minuto hasta la disolución completa del medio, autoclavar a 121°C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C , y colocar en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, hasta una tercera parte en forma de pico de flauta, para su posterior utilización de identificación bioquímica, sembrando nuestro microorganismo por punción con el asa de Kolle a la mitad del tubo, y luego por estría en superficie del medio.

Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 18 a 24 hrs a 37°C , en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

- A. Positivo:** Crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad.
- B. Negativo:** El medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano y no hay cambio de color.

Tipos de posibles microorganismos, identificados con agar Citrato de Simmons.

Microorganismo	Citrato Permeasa	Color del medio
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo	Azul
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	Verde



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 5.

AGAR EMB (EOSINA AZUL DE METILENO).

Fundamento.

Por la combinación de los colorantes (Eosina y Azul De Metileno), inhiben parcialmente el crecimiento de microorganismos Gram (+), haciendo posible la diferenciación de las lactosa positivo de las lactosa negativo, y los dos hidratos de carbono (Lactosa e Sacarosa), permiten determinar los géneros existentes en el medio de cultivo.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de agar EMB (Eosina Azul de Metileno), concentración expresada en gr x lt.

- Eosina Amarillenta	0,4gr.	
- Azul de Metileno	0,065gr.	
- Lactosa	5,0gr.	
- Peptona Bacteriológica	10,0gr.	
- Di-Potasio Hidrógeno Fosfato	2,0gr.	
- <u>S</u> acarosa.	5,0gr.	
- Agar	13,5gr.	
pH final: 7,2 ± 0,2		

Pesar y suspender 36 gr. en 1lt de agua destilada; calentar y agitar hasta la disolución total de las partículas en polvo del medio; “No sobre calentar”, autoclavar a 121° C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml

aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 a 48 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados: Las bacterias lactosa negativas y sacarosa negativas (Salmonella y Shigella) dan colonias incoloras Las bacterias lactosa y/o sacarosa-positivas dan colonias púrpura violeta negruzco, con o sin un centro oscuro y quedan rodeadas de una zona incolora.

Tipos de posibles Microorganismos, identificados Agar EMB (Eosina Azul de Metileno).

Microorganismo.	Desarrollo.	Color De colonia.
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Satisfactorio.	Rosa.
<i>Escherichia coli.</i>	Satisfactorio.	Púrpura violeta con brillo verde metálico.
<i>Staphylococcus aerus.</i>	Inhibido.	Negativo



Agar EMB. (Color del medio rojo cerezo).



Agar EMB. (Colonias rosa – Lactosa positivo).



Agar EMB. (Colonias purpuras con brillo verde metálico – Lactosa positivo).

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (

ANEXO N° 6

AGAR LIA (HIERRO LISINA AGAR).

 **Fundamento.**

Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, especialmente *Salmonella* spp., basado en la decarboxilación / desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico. En el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas decarboxilasa y deaminasa. El citrato de hierro y amonio, y el tiosulfato de sodio, son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico. El purpura de bromocresol, es el indicador de pH, el cual es de color amarillo a pH igual o menor a 5.2, y de color violeta a pH igual o mayor a 6.8.

Por decarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta. La decarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada.

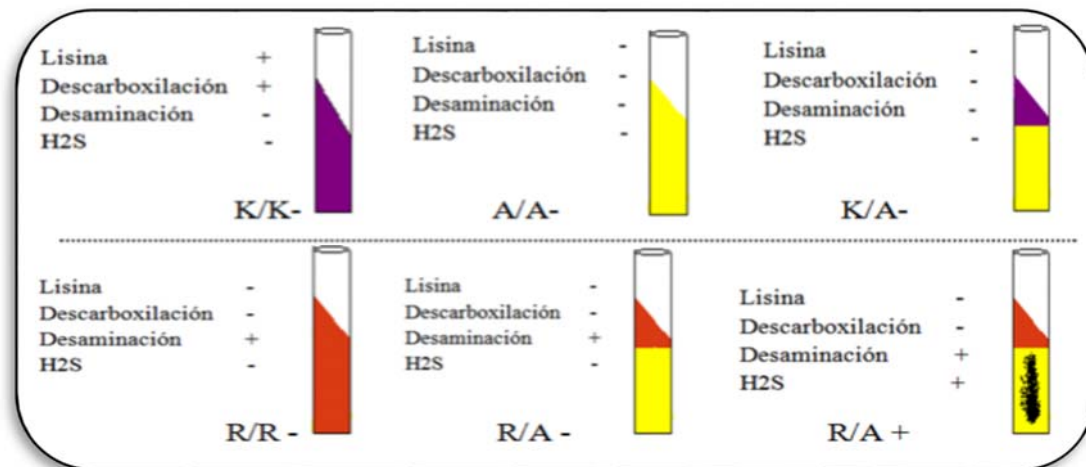
Los microorganismos que no producen lisina decarboxilasa, pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al amarillo, pero a las 24 hs de incubación se observa el pico de color violeta debido al consumo de las peptonas, y el fondo amarillo. La producción de sulfuro de hidrógeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro. Las cepas de los géneros *Proteus*, *Providencia* y algunas cepas de *Morganella*, desaminan la lisina, esto produce un ácido alfa-ceto-carbónico, el cual, con la sal de hierro y bajo la influencia del oxígeno forma un color rojizo en la superficie del medio.

 **Componentes del medio y su preparación.**

Formulación para la preparación de 1lt de agar LIA, (Hierro Lisina Agar), concentración expresada en gr x lt.

- Peptona de gelatina.	5.0 gr.	
- Extracto de levadura.	3.0gr.	
- Glucosa.	1.0gr.	
- Lisina.	10.0gr.	
- Citrato de hierro y amonio.	0.5gr.	
- Tiosulfato de sodio.	0.04gr.	
- Púrpura de bromocresol.	0.02gr.	
- Agar.	15.0gr.	
pH final: 6.7 ± 0.2		

Pesar y suspender 35gr del medio deshidratado en un litro de agua destilada, dejar embeber unos 15 minutos. Calentar cuidadosamente, agitando con frecuencia y hervir durante un minuto hasta la disolución completa del medio, autoclavar a 121°C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C , y colocar en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, hasta una tercera parte en forma de pico de flauta, para su posterior utilización de identificación bioquímica, sembrando nuestro microorganismo por taco profundo de nuestro tubo de ensayo, y luego por estría en superficie.



Fuente: Diagnostico microbiológico. **Autor:** Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.

Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio se apreciarían las siguientes identificaciones:

Decarboxilación de la lisina:

- Prueba Positiva: Pico violeta/fondo violeta. (K/K)
- Prueba Negativa: Pico violeta/fondo amarillo. (K/A)

Desaminación de la lisina:

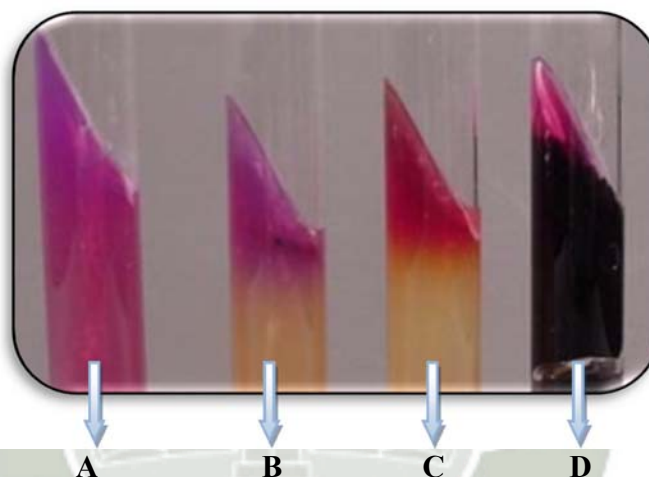
- Pico rojizo/fondo amarillo. (R/A)

Producción de ácido sulfhídrico:

- Prueba positiva: Ennegrecimiento del medio (especialmente en el límite del pico y fondo)

Tipos de posibles microorganismos, identificados con Agar LIA, (Hierro Lisina Agar),

Microorganismos.	Color en el pico de flauta.	Color en la base del tubo.	Ennegrecimiento del medio.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Púrpura	Púrpura	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	Púrpura	Púrpura	Negativo



- A.** K/K, H₂S -. (lisina +, descarboxilación de la lisina produce alcalinidad en todo el medio)
- B.** K/A, H₂S -. (lisina -, no se produce descarboxilación ni desaminación)
- C.** R/A, H₂S -, (lisina -, la desaminación empieza en la parte inclinada)
- D.** K/A, H₂S +. (lisina -, no se produce descarboxilación ni desaminación)

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 7


AGAR MANITOL SALADO.

Fundamento.

El efecto inhibitor se debe a la alta concentración cloruro de sodio del medio, Con la fermentación de la D (-)-Manitol se genera ácido que ocasiona el viraje del rojo de fenol al amarillo, permitiendo así una mayor claridad en el momento de establecer el diagnóstico, ya que la mayoría de los Estáfilococos patógenos fermentan este azúcar.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de agar Manitol salado, concentración expresada en gr x lt.

- Extracto de carne	1gr.	
- Cloruro de sodio.	75gr.	
- D (-) Manitol.	10gr.	
- Peptona.	10gr.	
- Rojo de fenol.	0,025gr.	
- Agar agar	15gr.	
pH final :7,4 ±0,2		

Pesar y suspender 108gr. de agar Manitol Salado en 1lt de agua destilada; calentar en baño maría y/o someter al calor, haciéndolo con agitación hasta completa disolución del medio, autoclavar a 121° C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando

muestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

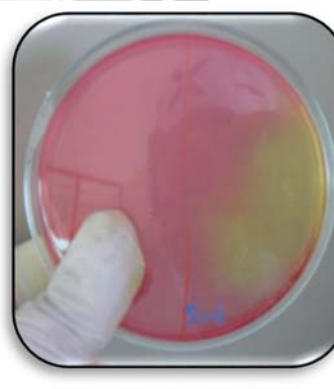
Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

- Los *Staphylococcus aureus*, por la degradación del manitol harán virar el color medio de un color beige rosáceo a un color amarillo, con presencia de colonias del mismo color, siendo el resultado positivo en este caso.

Microorganismo.	Desarrollo.	Color De La Colonia.
<i>Enterobacter aerogenes.</i>	Inhibido	-----
<i>Escherichia coli.</i>	Inhibido.	-----
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Satisfactorio.	Amarillo.



Agar Manitol Salado. (Beige - Rosáceo).



Agar Manitol Salado. (Viraje de color del medio a amarillo).

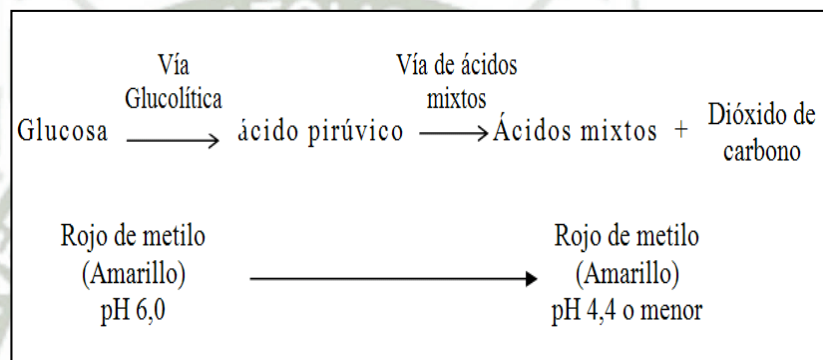
Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 8

CALDO MRVP (ROJO DE METILO -- VOGES PROSKAUER).

Fundamento.

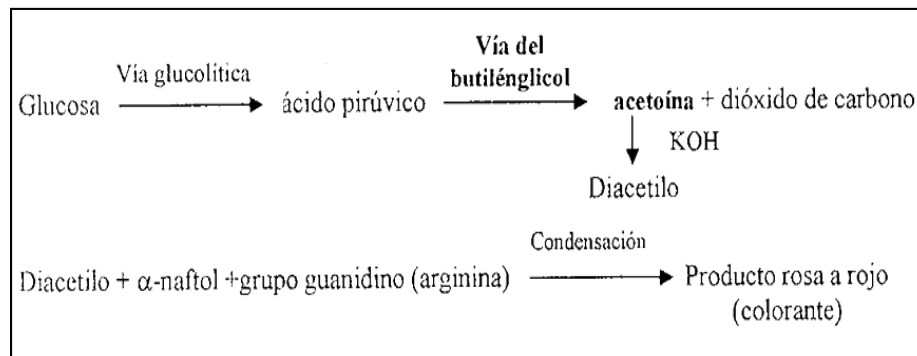
- A. Rojo de Metilo:** Este medio permite comprobar la capacidad de los microorganismos de degradar la glucosa contenida en el medio con la producción de una serie de ácidos mixtos, que llevan el pH del medio por debajo de 4.4



Fuente: Diagnostico microbiológico.

Autor: Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.

- B. Voges Proskauer:** Este medio líquido bufferado, contiene peptona y glucosa, y sirve para evidenciar la capacidad bacteriana de degradar la glucosa contenida en el medio con la producción de un compuesto denominado acetil-metil-carbinol (acetoína), este compuesto reacciona con el hidróxido de potasio formando diacetilo. El diacetilo y el α -naftol sufren condensación formando un compuesto de color rosa a rojo.

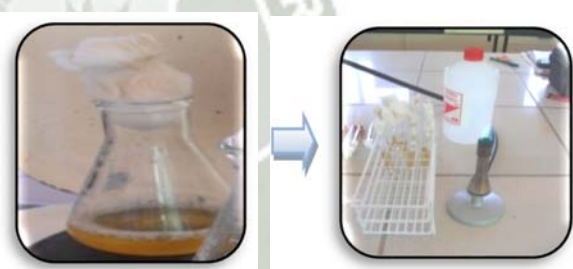


Fuente: Diagnostico Microbiológico.

Autor: Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer), concentración expresada en gr x lt.

- Pluripeptona	7.0 gr.	
- Glucosa	5.0 gr.	
- Fosfato dipotásico	5.0gr.	
pH final: 6.9 ± 0.2		

Pesar y suspender 17 gr del polvo por litro de agua destilada y Calentar suavemente agitando hasta disolver, para esterilizar posteriormente a 121°C por 15 minutos en el autoclave, dejar enfriar a unos 35°C, y colocar en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, para su posterior utilización de identificación bioquímica, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por el método de licuación enjuagando el asa en el caldo MRVP.

Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

A. Prueba del rojo de metilo: Añadir unas gotas de una solución de Rojo de Metilo al 0.04%, observar el color del medio.

A.1. Resultado prueba del rojo de metilo: Positivo: Color rojo; Negativo: Color amarillo.

B. Prueba del Voges Proskauer: Añadir 0,6 ml de alfa naftol al 5% en alcohol etílico absoluto y 0.2 ml de hidróxido de potasio al 40% a 2.5 ml de cultivo. Agitar vigorosamente el tubo, y dejar a temperatura ambiente durante 10-15 minutos. Observar el color de la superficie del medio.

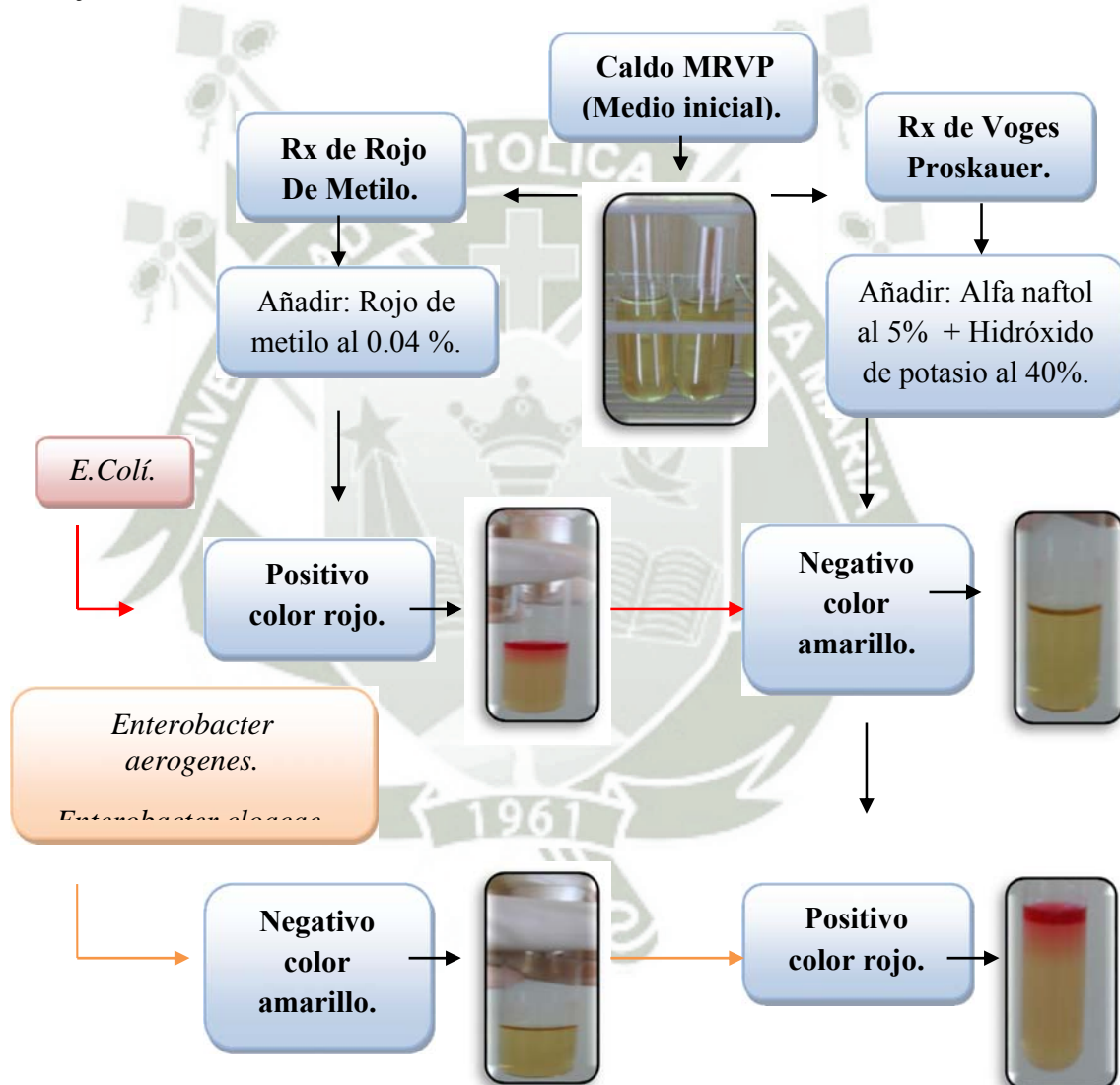
B.1. Resultado prueba del Voges Proskauer: Positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo; Negativo: ausencia de color rojo.

Tipos de posibles microorganismos, identificados con caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer).

Microorganismo	Crecimiento	RM	VP
<i>E. coli</i>	Bueno	+	-
<i>K. pneumoniae</i>	Bueno	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bueno	-	+

C. Limitaciones Del Caldo MRVP (Rojo de Metilo Voges Proskauer).

En algunas cepas positivas para la prueba VP, pueden no desarrollar el color rojo en la superficie mediante el revelado por la metodología descrita anteriormente. En estos casos, se recomienda calentar el medio de cultivo para favorecer el desarrollo de color rojo.



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 9.

MEDIO O-F (MEDIO BASAL DE HUGH Y LEIFSON).

Fundamento.

Su fundamento se basa en el reconocimiento del metabolismo oxidativo y fermentativo de microorganismos, utilizando para ello carbohidratos (glucosa, lactosa, sacarosa, etc).

La degradación de los azúcares se pone de manifiesto por el viraje del indicador azul de bromotimol, a color amarillo. La degradación se realiza tanto oxidativamente en presencia del oxígeno del aire, así como fermentativamente.

En cambio en condiciones anaeróbicas sólo ocurrirá degradación fermentativa. Si el indicador vira a azul indica una degradación desaminante del material orgánico.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación correspondiente a 700ml de Medio O-F (Medio Basal De Hugh Y Leifson), para reconocimiento de microorganismos degradadores de hidratos de carbono, concentración expresada en gr x ml.

- Peptona de caseína.	2gr.	
- Extracto de levadura.	1gr.	
- Cloruro de sodio.	5gr.	
- Fosfato dipotásico.	0,3gr.	
- Azul de bromotimol.	0,08gr.	
- Agar agar.	2,5gr.	
pH final = 7,1.± 0.2		

Pesar y suspender 11gr de medio O-F, en 700 ml de agua destilada, mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto, para esterilizar posteriormente a 121°C por 15 minutos en el autoclave, dejar enfriar a 50°C y añadir los azúcares en solución acuosa a razón de 10ml por cada 100ml, de medio base. Los azúcares son esterilizados por filtración de membrana (membrana de celulosa de 0.45um), en caliente, seguidamente se distribuyen en tubos de 13x100 a razón de 5 ml por tubo y se deja enfriar en posición vertical. Los tubos que van a ser destinados para la prueba de fermentación anaeróbica se cubren con parafina, inmediatamente que hallan enfriado (espesor de la capa de parafina 1 cm), recordar que la siembra de los microorganismos se realiza por punción con ayuda del asa de Kolle en la parte profunda del tubo de ensayo.

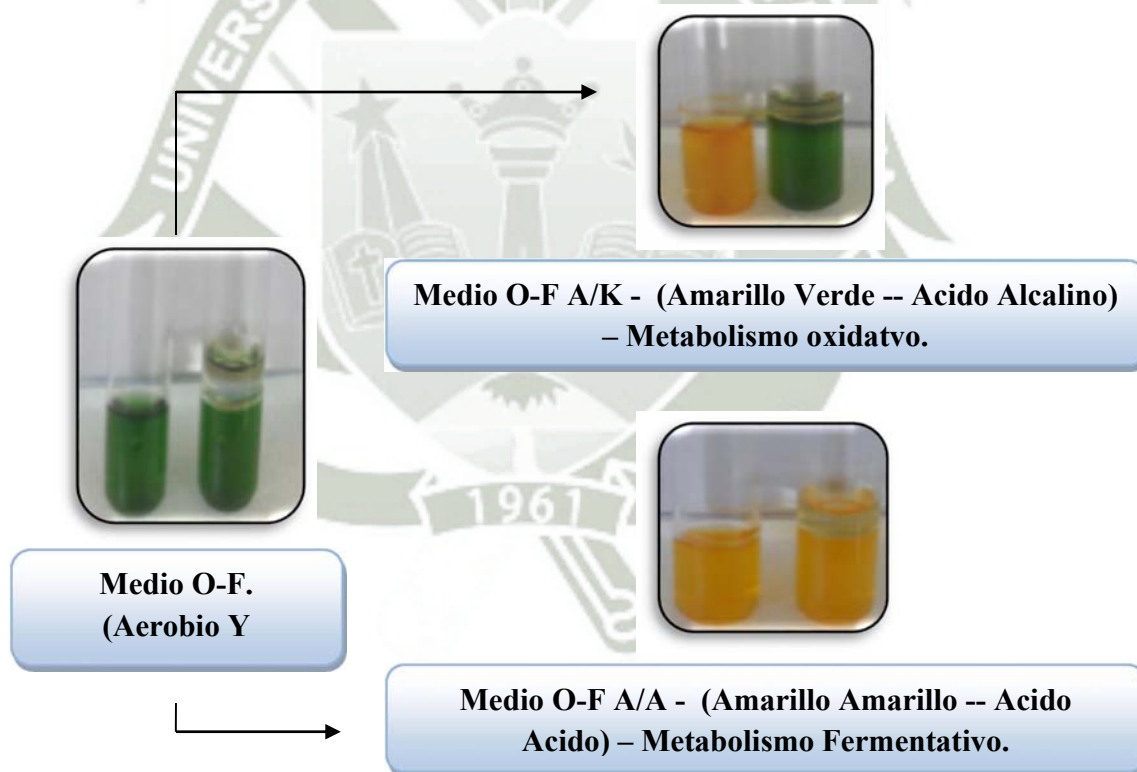
Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 18 a 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

- La aparición del color amarillo en los tubos sembrados tanto en los protegidos por la capa de parafina como en los abiertos, lo cual significa que hay degradación Fermentativa o Sacarolítica.
- Si la coloración amarilla ocurre únicamente en los tubos abiertos, este viraje se manifiesta cerca de la superficie y los tubos cerrados son de color verde a azul, entonces se trata de una degradación Oxidativa del azúcar.
- Además, si se observa que todos los tubos (abiertos y cerrados) presentan coloración verde a azul, entonces se trata de un metabolismo No Sacarolítico o No Fermentativo.
- Si se observa un enturbamiento en el medio se puede afirmar que el germen es además móvil.

Tipos de posibles microorganismos, identificados con medio O-F (Medio basal de Hugh y Leifson). Acido

Metabolismo.	Aerobio. Medio OF	Anaerobio. Medio OF + Parafina.	Microorganismo.
Oxidativo.	(+) Amarillo. (A = Acido).	(-) Verde. (K =Alcalino).	<i>Pseudomona aeruginosa.</i>
Fermentativo sacarolítico.	(+) Amarillo. (A = Acido).	(+) Amarillo. (A = Acido).	<i>Staphylococcus aureu.</i>
No fermentativo o no sacarolítico.	(-) Verde. (K =Alcalino).	(-) Verde. (K =Alcalino).	<i>Alcaligenes Faecalis.</i>



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 10.


AGAR BASE SANGRE.

Fundamento.

Dada la excelente base nutritiva, permite el crecimiento de prácticamente todos los microorganismos que pudieran estar presentes. Si se añade sangre se pueden determinarlas distintas formas de hemólisis que pudieran tener lugar. Si se calienta se obtiene el Agar Chocolate, también muy empleado. Por la adición de distintos antibióticos se obtienen medios con caracteres selectivos

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de Agar Base Sangre, concentración expresada en gr x lt.

- Infusión del Músculo Cardíaco (a partir de 375g).	10,0gr	
- Peptona de Carne.	10,0gr.	
- Sodio Cloruro.	5,0gr.	
- Agar.	15,0gr.	
pH final: 7,3 ±0,2		

Pesar y suspender 40gr.de Agar Base Sangre en 1lt de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición y disolución total de las partículas en polvo del medio, autoclavar a 121° C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, retirar del autoclave y controlar la T° de medio hasta unos 45°C, para añadir la proporción de 5% de sangre, de la proporción total del preparado; en nuestro caso sangre humana fresca (La sangre puede ser obtenida de caballo, carnero, conejo, etc).

Posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

Identificación de la Hemólisis:

- A) α - hemólisis: Lisis parcial de los eritrocitos que rodean una colonia, que produce un cambio de color gris-verdoso o amarronado del medio de cultivo.
- B) β - hemólisis: Lisis completa de los glóbulos rojos que rodean una colonia, que produce la eliminación total de la sangre del medio de cultivo.
- C) γ - hemólisis: Ausencia de hemólisis y, en consecuencia, ninguna alteración del color del medio que rodea a una colonia. Los microorganismos que no producen hemólisis se denominan habitualmente “no hemolíticos”, en lugar de γ – hemolíticos.

Microorganismo.	Desarrollo.	Transparencia.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Bueno.	Beta.
<i>Streptococcus Pneumoniae.</i>	Bueno.	Alfa.



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 11.

AGAR SULFATO DE BISMUTO.

Fundamento.

Su fundamento es explícito el Bismuto Sulfito y el Verde Brillante inhiben conjuntamente a las bacterias Gram + y coliformes, no restringiendo en absoluto el crecimiento de las Salmonellas. A su vez por la presencia de azufre en el medio, los microorganismos capaces de producir Hidrógeno Sulfuro precipitan Hierro (II) Sulfuro, que da lugar a tonalidades marrones más o menos oscuras e incluso negras. También se puede reducir el bismuto a metal dando un brillo metálico alrededor de las colonias correspondientes. Es recomendable hacer un enriquecimiento previo en caldo.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de Agar Sulfato de Bismuto, concentración expresada en gr x lt.

- Indicador De Sulfito Bismuto	8,0gr.	
- Extracto De Carne	5,0gr.	
- D (+)-Glucosa	5,0gr.	
- Hierro (II) Sulfato	0,3gr.	
- Peptona	10,0gr.	
- Di-Sodio Hidrógeno Fosfato	4,0gr.	
pH final: 7,7 ±0,2		

Pesar y Suspender 52gr de agar Sulfato de Bismuto en 1lt de agua destilada, y calentar agitando frecuentemente, durante 1 minuto, no es necesario el sometimiento del

medio en el autoclave, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kille circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

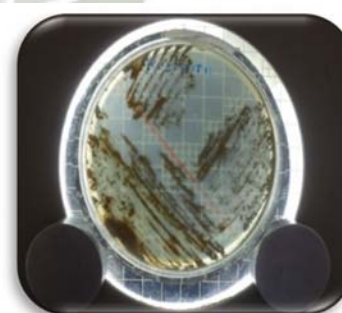
Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 a 48 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

- La Salmonella typhi se presenta en colonias con centro negro y borde claro y traslúcido.

Microorganismos	Desarrollo	Color De La Colonia
<i>Enterobacter aerogenes.</i>	Normal.	Marrón A Verde.
<i>Salmonella.</i>	Abundante.	Negro Con Brillo Metálico.



Agar Sulfato de Bismuto (Color amarillo intenso).



Agar Sulfato de Bismuto. (Presencia de colonias marrones).

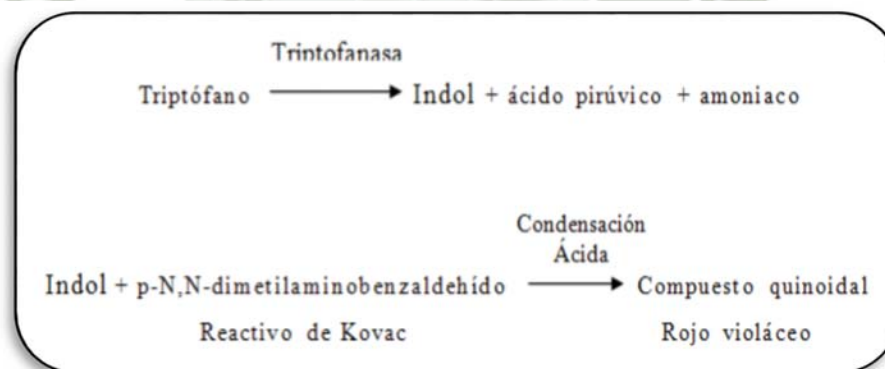
Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 12

MEDIO SIM (SULFURO - MOVILIDAD – INDOL).

 **Fundamento.**

Se fundamenta en la reacción del triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas, y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol. En el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Kovacs o de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas productoras de sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2.



Fuente: Diagnostico microbiológico.

Autor: Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.

 **Componentes del medio y su preparación.**

Formulación para 1lt de Medio SIM (Sulfuro - Movilidad – Indol), concentración expresada en gr x lt.

- Tripteína.	20.0gr.	
- Peptona.	1 gr.	
- Sulfato de hierro y amonio.	0.2gr.	
- Tiosulfato de sodio.	0.2gr.	
- Agar.	3.5gr.	
pH final: 7,3 +/- 0,1.		

Pesar y suspender 30gr. del agar en polvo por 1 litro de agua destilada, mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto, para esterilizar posteriormente a 121°C por 15 minutos en el autoclave, dejar enfriar a unos 35°C, y colocar en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, hasta una tercera parte en forma horizontal, para su posterior utilización de identificación bioquímica, sembrando nuestro microorganismo por punción y a la mitad del tubo.

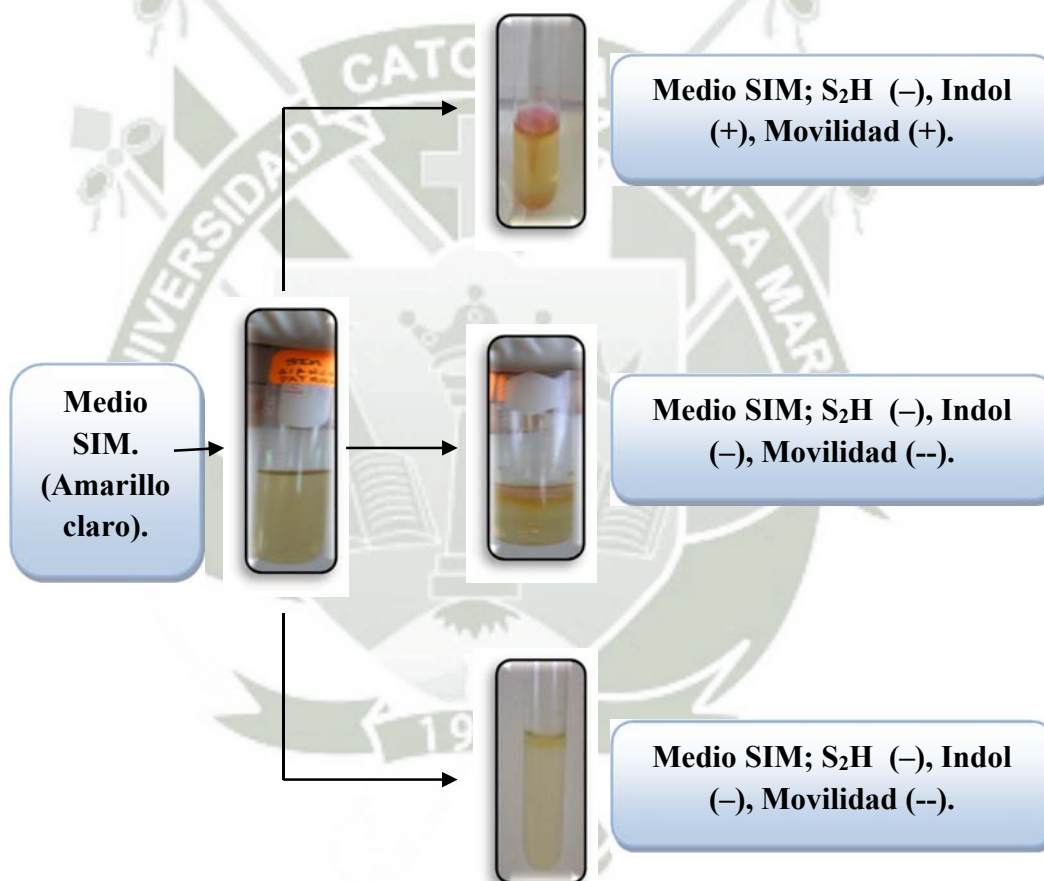
Interpretación.

Después de la adecuada incubación en un periodo de 18 a 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

- **Cepas móviles:** producen turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra.
- **Cepas inmóviles:** el crecimiento se observa solamente en la línea de siembra.
- **Cepas S₂H positivas:** ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.
- **Cepas S₂H negativas:** el medio permanece sin cambio de color.
- **Cepas indol positivas:** desarrollo de color rojo luego de agregar el reactivo de Kovacs.
- **Cepas indol negativas:** sin cambio de color.

Tipos de posibles microorganismos, identificados con medio SIM (Sulfuro - Movilidad – Indol).

Microorganismo	Producción de ácido sulfhídrico	Indol	Movilidad
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+/-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> .	-	-	+



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 13.


AGAR KF.

Fundamento.

Su fundamento se relaciona directamente con la maltosa y la lactosa que son los hidratos de carbono fermentables, que con la peptona y el extracto de levadura constituyen el conjunto nutriente del medio. El Sodio Azida es el agente selectivo. La adición del 2,3,5-Trifenil-2H- Tetrazolio Cloruro da lugar a que los Enterococos, sean capaces de reducirlo, y puedan desarrollarse.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de Agar KF, concentración expresada en gr x lt.

- Extracto de Levadura	10,0gr	
- Lactosa	1,0gr.	
- Maltosa	20,0gr.	
- Mezcla de Peptonas	10,0gr.	
- Sodio Azida	0,4gr.	
- Sodio Cloruro	5,0gr	
- Sodio Glicerofosfato	10,0gr.	
- Agar	20,0gr.	
pH final: 7,2 ± 0,2		

Pesar y Suspender 76,4gr de agar Streptococos KF en 1lt de agua destilada, calentar y agitar hasta ebullición y disolución total de las partículas en polvo del medio, autoclavar a 121°C durante 15 minutos, para la esterilización del medio, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml

aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 a 48 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados:

Microorganismos.	Desarrollo.	Color de la colonia.
<i>Enterobacter aerogenes.</i>	Inhibido.	-----
<i>Escherichia coli.</i>	Inhibido.	-----
<i>Enterococcus faecalis.</i>	Satisfactorio	Amarillas puntoformes.



**Agar KF.
(Color Rojo Vino).**



**Agar KF. (Presencia de
colonias amarillas puntiformes)**

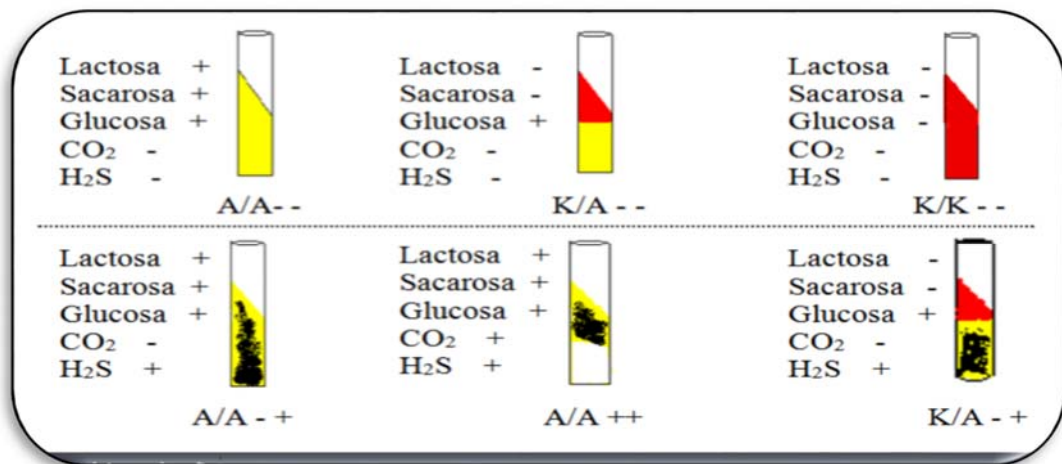
Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 14

AGAR TSI (TRIPLE AZÚCAR HIERRO).

 **Fundamento.**



En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripectona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.



Fuente: Diagnostico Microbiológico. **Autor:** Stephen D. Allen, V.R Dowell, Herbert M Sommers.

 **Componentes del medio y su preparación.**

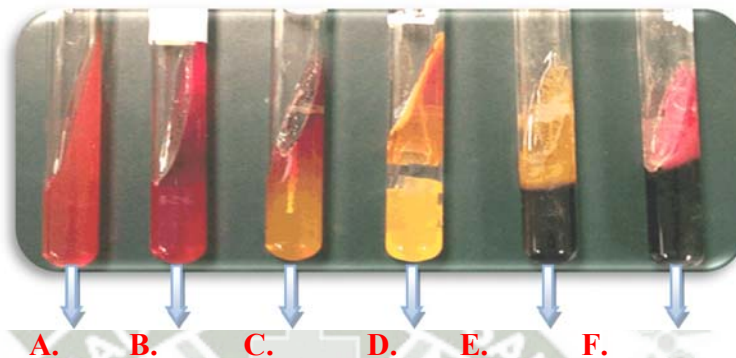
Formulación para la preparación de 1lt de Agar TSI, concentración expresada en gr x lt.

- Extracto de carne	3.0gr.	 
- Pluripeptona	20.0gr.	
- Cloruro de sodio	5.0 gr.	
- Lactosa	10,0gr.	
- Sacarosa	10.0gr.	
- Glucosa	1.0gr.	
- Sulfato de hierro y amonio	0.2gr.	
- Tiosulfato de sodio	0.2gr.	
- Rojo de fenol	0.025gr.	
- Agar base	13.0gr.	
pH final: 7,3 ± 0,2		

Pesar 62,5gr del agar TSI y disolverlo en un 1lt de agua destilada, mezclar bien y calentar con agitación frecuente, hervir 1 o 2 minutos hasta disolución total del medio, para esterilizar posteriormente a 121°C por 15 minutos en el autoclave dejar, enfriar a unos 35°C, y colocar en tubos de ensayo de 13 x 100 mm, hasta una tercera parte en forma de pico de flauta, para su posterior utilización de identificación bioquímica, sembrando nuestro microorganismo por punción y a la mitad del tubo, y la parte superior por estría.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio se apreciarían las siguientes identificaciones:



- A.** Control.
- B.** K/K: Lactosa (-), Sacarosa (-), Glucosa (-), Gas CO₂ (-), H₂S (-).
- C.** K/A: Lactosa (-), Sacarosa (+), Glucosa (+), Gas CO₂ (-), H₂S (-).
- D.** A/A: Lactosa (+), Sacarosa (+), Glucosa (+), Gas CO₂ (+), H₂S (-).
- E.** A/A: Lactosa (+), Sacarosa (+), Glucosa (+), Gas CO₂ (+), H₂S (+).
- F.** K/A: Lactosa (-), Sacarosa (-), Glucosa (+), Gas CO₂ (+), H₂S (+).

Tipos de posibles Microorganismos, identificados con Agar TSI, (Triple Azúcar Hierro),

Microorganismo	Pico/Fondo	Producción de gas	Producción de ácido sulfhídrico
<i>Escherichia coli</i>	A/A	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	+	-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	K/K	-	-

A: ácido

K: alcalino

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 15

AGAR UREA.

Fundamento.

Es un medio de diferenciación bioquímica y sirve también para el aislamiento de los microorganismos degradadores de la úrea. La úrea contenida en el medio es hidrolizada y los metabolitos producidos, el CO₂ y el amoniaco, alcalinizan al medio haciendo virar el indicador rojo de fenol a un color rojo cereza. Es un medio altamente tamponado.

Componentes del medio y su preparación.

Formulación para 1lt de agar Urea, concentración expresada en gr x lt.

- Tripteina	1.0gr.	
- Glucosa	1.0gr.	
- Cloruro De Sodio	5.0gr.	
- Fosfato Mono Potasico	2.0gr.	
- Rojo Fenol	0.012gr.	
- Agar	15gr.	
pH final: 6,8-7,0		

Pesar y disolver 24gr del agar, y someter al calor hasta que todas las partículas solidas en polvo se hallen disueltas, excepto la úrea, y controlar el pH a 6.8 - 7,0 autoclavar a 121°C por 15min, y pasar la cantidad indicada de urea en proporción de 50ml de solución de urea al 40% x 1lt , agregándola cuando el medio este a 50°C, dejar enfriar a 35°C y colocar el medio en tubos de ensayo de 13x100 mm en forma de pico de flauta para por posterior sembrado con asa de Kolle a profundidad de los mismos.



 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 37°C, en una estufa de laboratorio, los microorganismos que tienen la enzima ureasa desdoblan la úrea en amoniaco y en CO₂, los que hacen virar el rojo de fenol a un color fucsia.

Tipos de posibles microorganismos, identificados con agar Urea.

<i>Microorganismos</i>	Desarrollo	Ureasa
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Satisfactorio	-
<i>Escherichia coli</i>	Satisfactorio	-
<i>Klebsiella pneumonie</i>	Satisfactorio	+



Agar Urea. (Amarillo).



Agar Urea. (Color fucsia).

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 16

AGAR VRBA (AGAR BILIADO – ROJO NEUTRO – CRISTAL VIOLETA). **Fundamento.**

La presencia simultánea de violeta cristal y sales biliars asegura la inhibición del crecimiento de las bacterias Gram positivas; A su vez la fermentación de la lactosa da lugar por un lado a la formación de ácido, haciendo virar el indicador rojo de metilo, que junto a la precipitación de las sales biliars que ocurre siempre alrededor de las colonias, hacen que se aprecie un color rosa purpura rodeadas de una franja rojiza.

 **Componentes del medio y su preparación.**

Formulación para 1lt de agar VRBA (Agar Biliado – Rojo Neutro – Cristal Violeta), concentración expresada en gr x lt.

- Mezcla de Sales Biliars.	1,5gr.
- Violeta Cristal.	0,002gr.
- Rojo Neutro.	0,03gr.
- Lactosa.	10,0gr.
- Extracto de Levadura.	3,0gr.
- Peptona de Gelatina.	7,0gr.
- Sodio Cloruro.	5,0gr.
- Agar.	15,0gr.
pH final: 6,8-7,0	



Pesar y suspender 41.5gr. en 1lt de agua destilada; calentar y agitar hasta ebullición durante 1 minuto; repetir el proceso de hervido con sumo cuidado hasta la completa

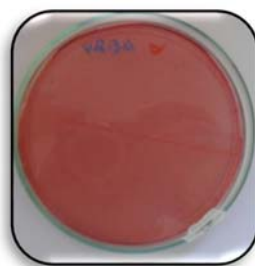
disolución del medio. No es necesario someter el medio a esterilización por autoclave, posteriormente enfriar a unos 35°C, y colocar en placas petri estériles de 100 x 150 mm, unos 22 - 25ml aproximadamente del agar, para su posterior utilización, sembrando nuestro microorganismo con el asa de Kolle circular por la técnica de agotamiento por estría en superficie.

 **Interpretación.**

Después de la adecuada incubación en un periodo de 24 hrs a 44°C, en una estufa de laboratorio, se apreciarían los siguientes posibles resultados: Las colonias de coliformes fecales son lactosa positiva, presentan una coloración rosa purpura.

Tipos de posibles microorganismos, identificados agar VRBA (Agar Biliado – Rojo Neutro – Cristal Violeta).

Microorganismo.	Desarrollo.	Color De colonia.
<i>Escherichia coli.</i>	Bueno.	Rosa Purpura.
<i>Enterobacter aerogenes.</i>	Bueno.	Rosa Purpura.
<i>Enterobacter cloacae.</i>	Bueno.	Rosa Purpura.



Agar VRBA. (color rojo).



Agar VRBA. (Color rosa purpura) – Lactosa (+).

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e Electrónica: II (11).

ANEXO N° 17

ENSAYO BIOQUÍMICO.

PRUEBA DE LA CATALASA Y COAGULASA.

 **Introducción De Ensayos bioquímicos**

La prueba o ensayo bioquímicos, es una prueba simple que se ha desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc.

 **Prueba De La Catalasa.****- Fundamento.**

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua químicamente la catalasa es una hemoproteína de estructura similar a la de la hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro de la molécula están en estado oxidado (Fe^{+3}), en lugar del estado reducido (Fe^{+2}).

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo o aeróbico de los hidratos de carbono.



- **Procedimiento:**

Con una aguja de inoculación o con la parte posterior de un hisopo de madera estéril, transferir parte del centro de una colonia a la superficie de un portaobjetos. Agregar una gota de peróxido de hidrógeno a 10 volúmenes y observar la formación de burbujas.

- **Interpretación:**

La rápida aparición y producción sostenida de burbujas de gas o efervescencia indica una reacción positiva. Debido a que algunas bacterias poseen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrógeno, la observación de unas pocas burbujas pequeñas después de 20 a 30 segundos no se considera como resultado positivo.



Catalasa (+) -- *Staphylococcus aureus*.

Catalasa (-) – *Streptococcus faecalis*

 **PRUEBA DE LA COAGULASA.**

- **Fundamento.**

La coagulasa es una proteína de composición química desconocida, que tiene actividad similar a la protrombina, capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina, lo que da como resultado la formación de coagulo visible en los sistemas apropiados.

La coagulasa se halla presente en dos formas "libre y fija", cada una de ellas posee diferentes propiedades que requieren el uso de técnicas separadas.

a) La Coagulasa Fija (Portaobjetos):

Conocida como factor de aglutinación está unida a la pared celular bacteriana y no está presente en los filtrados de cultivo. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas suspendidas en el plasma (fibrinógeno) provocan su aglutinación. La cual se indica por la aparición de agregados visibles en el portaobjeto.

b) Procedimiento.

Colocar dos gotas de agua o suero fisiológico estériles sobre un portaobjetos de vidrio. Emulsificar suavemente material de colonias del microorganismo a identificar. Colocar una gota de plasma y mezclar con un palillo de madera. Rotar el portaobjeto hacia delante y hacia atrás, buscando aglutinación.

c) La Coagulasa Libre (Prueba En Tubo):

Es una sustancia semejante a la trombina, que se halla presente en los cultivos de filtrados. Cuando una suspensión de bacterias productoras de coagulasa se mezclan con partes iguales de plasma, se forma un coagulo visible como consecuencia de los factores de coagulación del plasma.

d) Procedimiento:

Extraer sangre humana en un tubo de ensayo según la cantidad de plasma que se desea obtener y añadir el EDTA las siglas para denominar el etilendiaminotetraacetato, sódico o potásico el cual forma quelatos con el calcio y secuestra los iones de Fe y Mg, se utiliza, en dilución 1:50. Ejemplo: 0,05 ml EDTA + 2,50 ml de sangre, posteriormente centrifugar 2500rpm durante 5 a 10min, retirando finalmente el plasma sanguíneo con sumo cuidado del tubo de ensayo, que se halla separado del resto de los componentes sanguíneos en la parte superior del mismo.



Sembrar las colonias seleccionadas en caldo de infusión cerebro corazón (BHI) e incubar los tubos a 37°C por 20 a 24 horas, Adicionar 0,1mL de cultivo a tubos que contengan 0,3mL de plasma humano e incubar a 35 – 37°C durante 4 horas y observar si se forma un coágulo inclinado ligeramente el tubo. Si en ese momento no se observan coágulos, reincubar el tubo a temperatura ambiente y leer nuevamente después de 18 horas.

Interpretación.	
	
<p>Coagulasa (-). Ningún signo de formación de fibrina.</p>	<p>Coagulasa (+). Pequeños coágulos no organizados.</p>

Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (1) I (6) I (21); e
Electrónica: II (11).

ANEXO N° 18

TINCIÓN DE GRAM.

Fundamento

Desarrollada empíricamente por Christian Gran en 1884 los fundamentos de esta técnica se basan en las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

La pared celular de las bacterias Gram positivas posee una gruesa capa de peptidoglucano, además de dos clases de ácidos teicocicos. Anclado en la cara interna de la pared celular y unida a la membrana plasmática, se encuentra el ácido lipoteicoco, y más en la superficie, el ácido teicoco que está anclado solamente en el peptidoglucano.

Por el contrario, la capa de peptidoglucano de las Gram negativas es delgada y se encuentra unida a una segunda membrana plasmática exterior por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglucano unida a una membrana exterior de lipoproteínas. La membrana exterior está hecha de proteínas, fosfolípido y lipopolisacárido. El cristal violeta actúa como un colorante primario, que se une a la pared celular bacteriana luego de un tratamiento con una solución débil de yodo (lugol) (mordiente). Algunas bacterias debido a su naturaleza química de sus paredes celulares, poseen la capacidad de retener el cristal violeta, aún luego del tratamiento con un decolorante orgánico, tal como una mezcla de alcohol y acetona. Tales bacterias se denominan Gram positivas. Las bacterias Gram negativas debido a su mayor contenido lipídico en su pared celular, pierden la coloración primaria del cristal violeta cuando son tratadas con el decolorante. El colorante secundario o de contraste utilizado es la safranina. Las bacterias Gram negativas que han perdido el cristal violeta, aparecen rojas o rosadas vistas al microscopio, habiendo fijado la safranina como contracolor a sus paredes celulares.

FUNDAMENTO DE LA REACCIÓN DE TINCIÓN DE GRAM.

GRAM POSITIVAS.



GRAM NEGATIVAS.



 **Tinción de Gram experimentalmente.**

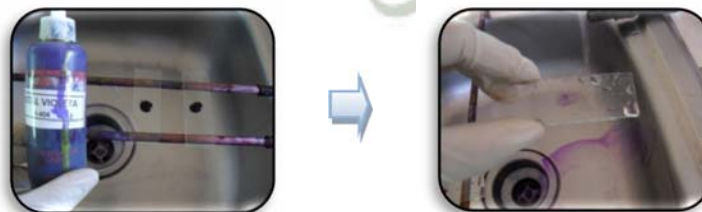
Esterilizar la zona de trabajo donde se extraerá la muestra con alcohol de 70° y colocar una azada de un cultivo a observar, que contenga una mezcla de bacterias Gram positivas y Gramnegativas, sobre una lámina portaobjeto limpia y de preferencia también desinfectada con alcohol de 70°, con ayuda de nuestra asa de Kolle esterilizada al calor y procurando que la misma se halle fría para no dañar las colonias del medio de cultivo.



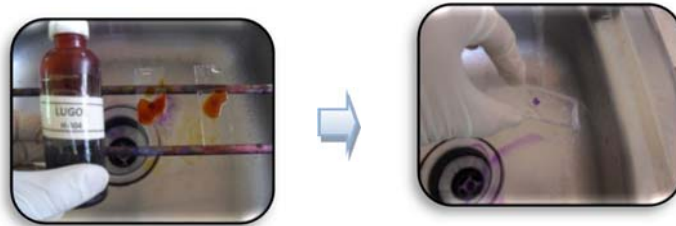
Dejar secar la lámina porta objetos a temperatura ambiente o pasando por la llama suavemente para obtener la fijación del frotis.



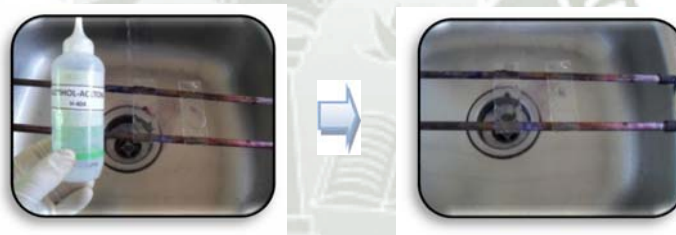
Colocar la lámina porta objetos sobre un soporte de tinción, y cubrir la superficie con solución cristal violeta por 1 minuto, inmediatamente después lavar y retirar el exceso de cristal violeta con agua de grifo, o con agua destilada



Colocar nuevamente la lámina porta objetos sobre un soporte de tinción, y cubrir la superficie con el preparado con Iodo de Gram (Lugol) durante 1 minuto, inmediatamente después lavar y retirar el exceso del preparado de Iodo Gram (Lugol) con agua de grifo, o con agua destilada



Colocar nuevamente la lámina porta objetos sobre un soporte de tinción, y cubrir la superficie con unas gotas del decolorante alcohol - acetona hasta no dejar residuos de colorantes anteriores unos 10 a 20 segundos. Inmediatamente después lavar y retirar el exceso del decolorante alcohol - acetona con agua de grifo, o con agua destilada



Colocar nuevamente la lámina porta objetos sobre un soporte de tinción, y cubrir la superficie con safranina durante 1 minuto, inmediatamente después lavar y retirar el exceso del decolorante alcohol - acetona con agua de grifo, o con agua destilada, y dejar secar nuestra lámina porta objetos a T° ambiente.

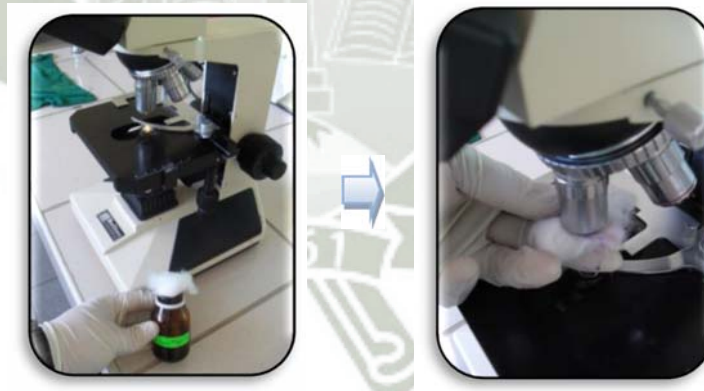


Colocar la lámina porta objetos, en la platina del microscopio y ajustar el revólver con los objetivos de aumento del mismo a 100X, para la observación de la muestra con aceite de inmersión.



Recomendación:

Siempre es importante recordar que para una buena observación al microscopio óptico, debemos de revisar el haz de luz que proviene del diafragma, así como el correcto aseo de los objetivos con alcohol isopropídico, para evitar interferentes en la observación de nuestra muestra.



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (2) I (6) I (9) I (10) I (12); e Electrónica: II (2).

ANEXO N° 19

PREPARACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE MATERIAL DE VIDRIO. **Introducción.**

El calor y otros agentes físicos se suelen utilizar para esterilizar objetos, como demuestra el uso que todavía tiene el autoclave en todos los laboratorios de microbiología. Los cuatro agentes empleados con más frecuencia como agentes físicos son: calor, filtración, radiación ultravioleta y radiación ionizante.

 **Esterilización**

Implica la total inactivación de todas las formas de vida microbiana en términos de la capacidad del organismo para reproducirse. El calor es el método más confiable y universalmente aplicable de esterilización y cuando sea posible debe ser el método de elección. La esterilización de una población bacteriana por medio del calor es un proceso gradual, y la cinética de destrucción es exponencial.

El tiempo para la esterilización está inversamente relacionado con la temperatura de exposición, esta relación puede expresarse como tiempo de muerte térmica, que refiere al mínimo de tiempo requerido para destruir una suspensión de organismos con una temperatura determinada.

 **Diferentes Métodos Adecuados De Esterilización.**

- **Calor húmedo.**

Destruye rápidamente los virus, las bacterias y los hongos. El calor actúa desnaturalizando y coagulando las proteínas. Estos efectos se deben principalmente a dos razones:

- El agua es una especie química muy reactiva y muchas estructuras biológicas son producidas por reacciones que eliminan agua.

- El vapor de agua posee un coeficiente de transferencia de calor mucho más elevado que el aire.
- o **Autoclave:** Se realiza la esterilización por el vapor de agua a presión. El modelo más usado es el de Chamberland. Esteriliza a 121° a 1.5 atmósferas de presión (estas condiciones pueden variar) y se deja el material durante 15 a 20 minutos.

Equipo: Consta de una caldera de cobre, sostenida por una camisa externa metálica, que en la parte inferior recibe calor por combustión de gas o por una resistencia eléctrica, está se cierra en la parte superior por una tapa de bronce. Esta tapa posee tres orificios, uno para el manómetro, otro para el escape de vapor en forma de robinete y el tercero, para una válvula de seguridad que funciona por contrapeso o a resorte.



Funcionamiento: Se coloca agua en la caldera, procurando que su nivel no alcance a los objetos que se disponen sobre una rejilla de metal. Se cierra asegurando la tapa, sin ajustar los bulones y se da calor, dejando abierta la válvula de escape hasta que todo el aire se desaloje y comience la salida de vapor en forma de chorro continuo y abundante.



✓ **Ventajas del calor húmedo:**

- Rápido calentamiento y penetración
- Destrucción de bacterias y esporas en corto tiempo
- No deja residuos tóxicos
- Hay un bajo deterioro del material expuesto
- Económico

✓ **Desventajas del calor húmedo:**

- No permite esterilizar soluciones que formen emulsiones con el agua.
- Es corrosivo sobre ciertos instrumentos metálicos.

 **Calor Seco:**

Se requiere temperaturas elevadas y un período más prolongado de calentamiento que la esterilización con vapor. El calor seco produce desecación de la célula, es esto tóxicos por niveles elevados de electrolitos, fusión de membranas. Estos efectos se deben a la transferencia de calor desde los materiales a los microorganismos que están en contacto con éstos.

La acción destructiva del calor sobre proteínas y lípidos requiere mayor temperatura cuando el material está seco o la actividad de agua del medio es baja.

- **Estufas:** Doble cámara, el aire caliente generado por una resistencia, circula por la cavidad principal y por el espacio entre ambas cámaras, a temperatura de 170° C para el instrumental metálico y a 140° C para el contenido de los tambores. Se mantiene una temperatura estable mediante termostatos de metal, que al dilatarse por el calor, cortan el circuito eléctrico.

✓ **Ventajas del calor seco:**

- No es corrosivo para metales e instrumentos.
- Permite la esterilización de sustancias en polvo y no acuosas, y de sustancias viscosas no volátiles.

✓ **Desventajas del calor seco:**

- Requiere mayor tiempo de esterilización, respecto al calor húmedo, debido a la baja penetración del calor.



Recomendación:

Una vez terminada el proceso de control de microorganismos, se se tendrá que esterilizar nuevamente el material de vidrio especialmente placas y tubos de ensayo, en el autoclave (15min a 121 °C, 1.5 atm) con el fin eliminar los microorganismos antes de proceder a eliminar el medio contaminado a la basura, igual de importante es eliminar el mismo en contenedores especiales de riesgo biológico color rojo, a fin de evitar la contaminación ambiental, inmediatamente el material procederá a lavarse con detergente y legía para nuevamente ser esterilizado está vez a calor seco (160 – 170 °C durante 1hr), claro después de ser correctamente seco y envuelto en papel kraft.



Fuente: Elaboración propia, resumen de Bibliografía de Textos: I (17) I (18) I (24); e
Electrónica: II (4).

ANEXO N° 20

PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION DE LAS ESPECIES DE ENTEROBACTERIAS MAS FRECUENTES.

DIFFERENTIATION OF ENTEROBACTERIACEAE BY BIOCHEMICAL TESTS

	Citrus bacter			Shewanella			Enterobacter			Serratia			Penitentes		Fransibacteria		Yersinia	
	Enterobacteriaceae	Shewanella	Other	Shewanella	Other	Shewanella	Shewanella	Other	Shewanella	Other	Shewanella	Other	Shewanella	Other	Shewanella	Other	Shewanella	Other
Inoculo	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Koch's Red	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Voges-Proskauer	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Slime test	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Hydrogen Sulfide (HS)	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Urea	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
IND	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Motility	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Catalase (37°C)	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Lysine Decarboxylase	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Arginine Dihydrolyase	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Citric Acid Decarboxylase	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Phenylalanine Deaminase	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Nitroreductase	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Gas from D-Glucose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Lactose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Sucrose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
D-Glucitol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Dulcitol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Sorbitol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Adonitol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
D-2 (methyl) Inositol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
D-Sorbitol	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
L-Arabinose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Saffranose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
L-Rhamnose	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V

Key: V = 90% or more positive within 48 h. + = less than 10% positive within 48 h. - = 10% to 89.9% positive within 48 h. (N) = more than 80% positive within 48 h. (V) = more than 90% positive in 3 to 7 days. This chart is designed to be a brief guide to the members of the major enteric bacterial species of Enterobacteriaceae. Other 74 of the 80 or more tests used to distinguish between species are found. Specific biochem. tests of each enteric bacterium are listed. Enterobacteriaceae, enteric, fermentative strains and principal characteristics are not indicated. For a more detailed treatment of these and other topics of Enterobacteriaceae, the reader should consult special publications.

Fuente: Guía de Practicas de Microbiología Farmacéutica I. – UCSM.
 Autor(a): Jave Márquez, Mercedes.

ANEXO N° 21

PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION DE LAS ESPECIES DE ENTEROBACTERIAS MAS FRECUENTES.

GRUPO 1 HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) POSITIVO				GRUPO 1 HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) NEGATIVO			
ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)				ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)			
TSI	GAS	H ₂ S	ENTEROBACTERIA	TSI	GAS	H ₂ S	ENTEROBACTERIA
K/A	-	+/- ó +	Salmonella Typhi	K/A	-	-	Shigalla
AEROGENICOS (GAS POSITIVO)				AEROGENICOS (GAS POSITIVO)			
TSI	GAS	H ₂ S	INDOL	A/A ó K/A	-	-	Escherichia
K/A	2+	-4 +	Salmonella	A/A ó K/A	-	-	Enterobacter (*)
K/A o A/A	2+	-4 +	Arzonia	K/K	-	-	Serratia
K/A o A/A	2+	-4 +	Citrobacter	R/A	-	-	Prótesis
K/A o A/A	2+	4 +	Proteus	R/A	-	-	Providencia
K/A	2+	4 +	Edwardiella	A/A ó K/A	-	-	Yersinia
AEROGENICOS (GAS POSITIVO)				AEROGENICOS (GAS POSITIVO)			
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
A/A ó K/A	2+	-	K/K ó K/A	+	K/K ó K/A	+	Escherichia
A/A	4+	-	K/K	-	K/K	-	Klabiulla
A/A ó K/A	3+	-	K/K ó K/A	-	K/K ó K/A	-	Enterobacter
K/A ó A/A	2+	-	K/K	-	K/K	-	Serratia
K/A	(+)	-	K/A ó R/A	+	K/A ó R/A	+	Proteus (*)
K/A	+	-	K/A ó A/A	-	K/A ó A/A	-	Paratyphi A (*)

*, 90% de aislamientos positivos; -, 90% de aislamientos negativos; positiva tardía (3-5); W, reacción débil; +/- mayoría positiva del 90 %; -/+ mayoría negativa pero menos del 90% negativas.

K=Alcalino, A=Acido, R=Rojo, N=Neutro, (°) Ver Texto.

Fuente: Guia de Practicas de Microbiología Farmacéutica I. – UCSM.

Autor(a): Jave Márquez, Mercedes.

ANEXO N° 22

PRUEBAS PARA IDENTIFICAR LAS ESPECIES DE STREPTOCOCCUS.

Nombre	Grupos de Lancefield	Tipo de hemólisis	Pruebas bioquímicas
<i>S. pyogenes</i>	A	Beta	PYR positivo Bacitracina S
<i>S. agalactiae</i>	B	Beta	Hidrólisis de hipurato CAMP positivo
<i>Enterococcus sp.</i>	D	Alfa o beta	Crece en bilis e hidrolizan la esculina Crece en NaCl al 6,5 % Son PYR positivos
<i>S. anginosus</i>	A (C, F, G) y no tipable	Beta	Colonias diminutas (<1 mm de diámetro) Los del grupo A son bacitracina R y PYR negativos
	No tipable	Alfa o ninguna	Fermentación de azúcares
<i>S. bovis</i>	D	No hemólisis	Crece en bilis e hidrolizan la esculina. No crece en NaCl al 6,5 % Hidrolizan el almidón
<i>S. grupo viridans</i>	No tipable	Alfa o ninguna	Optoquina R Colonias solubles en bilis Fermentación de azúcares
<i>S. pneumoniae</i>	No tipable	Alfa	Optoquina S Colonias solubles en bilis Reacción de «Quellung» positiva

Fuente: Guía de Practicas de Microbiología Farmacéutica I. – UCSM.

Autor(a): Jave Márquez, Mercedes.

ANEXO N° 23

PRUEBAS PARA IDENTIFICAR LAS ESPECIES DE STAPHYLOCOCCUS.

Carácter	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. schleiferi</i>
Tamaño de la colonia (grande)	+	-	+	+	V	-
Pigmento de la colonia	+	-	V	V	V	-
Producción de ácido por fermentación de manitol	+	-	V	V	-	-
Coagulasa	+	-	-	-	-	-
Hemólisis	+	-	-	+	+	+
Resistencia a la novobiocina	-	-	+	-	-	-
Fosfatasa	+	+	-	-	-	+
Desoxirribonucleasa	+	-	-	-	-	+
Hidrólisis del PYR	-	-	-	+	+	+
Ureasa	V	+	+	-	V	-

+, positivo. -, negativo. V, variable.
PYR: L-pirrolidonil-β-naftilamida

Fuente: Guía de Practicas de Microbiología Farmacéutica I. – UCSM.

Autor(a): Jave Márquez, Mercedes.

ANEXO N° 24

PRUEBAS PARA IDENTIFICAR LAS ESPECIES DE PSEUDOMONAS.

Especies de Pseudomonas	Desnitrificación	Citocromo oxidasa	Pigmentos	
			Piocianina	Fluoresceína
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
<i>P. fluorescens</i>	-/(+)	+	-	+
<i>P. putida</i>	-	+	-	+
<i>P. cepacia</i>	-	+	-	-
<i>P. stutzeri</i>	+	+	-	-
<i>P. maltophila</i>	-	-	-	-
<i>P. pseudomallei</i>	+/-	+	-	-

Especies de Pseudomonas	Reacciones OF		Movilidad	Desarrollo a 42°C
	Glucosa	Maltosa		
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	+	+
<i>P. fluorescens</i>	+	+/-	+/-	-
<i>P. putida</i>	+	+	+	-
<i>P. cepacia</i>	+	WK	+	-
<i>P. stutzeri</i>	+	+	+	+
<i>P. maltophila</i>	+	+	+	+/-
<i>P. pseudomallei</i>	+	+	+	+

Fuente: Guía de Practicas de Microbiología Farmacéutica I. – UCSM.

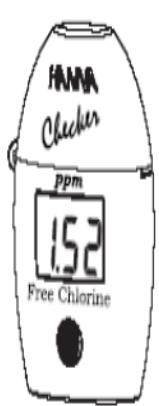
Autor(a): Jave Márquez, Mercedes.

ANEXO N° 25

**MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL FOTOMETRO DIGITAL PARA
DETERMINACION DE CLORO RESIDUAL LIBRE. MODELO HI-701.
FREE CHLORINE – HANNA INSTRUMENTS.**

HI 701

Cloro Libre



HANNA
instruments
www.hannainst.com


Estimado Cliente:

Gracias por elegir un producto Hanna Instruments. Por favor lea este manual de instrucciones cuidadosamente antes de utilizar el instrumento. Si usted necesita información técnica adicional, no dude en enviarnos un e-mail a tech@hannainst.com.

Examen Preliminar:

Por favor examine este producto cuidadosamente. Asegúrese que el instrumento no este dañado. Si hubiese ocurrido cualquier daño durante el embarque, por favor notifique a su Distribuidor. Cada medidor HI 701 es suministrado completo con:

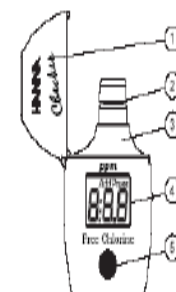
- Dos Cubetas de Muestra y sus Tapas
- Seis reactivos en polvo para Cloro Libre
- 1 Batería 1.5 V AAA
- Manual de instrucciones

 **Para mas detalles relacionados con partes de repuestos y accesorios ver "Accesorios"**

Especificaciones Técnicas

Rango	0.00 a 2.50 ppm
Resolución	0.01 ppm
Exactitud	±0.03 ppm ±3 % de lectura @25°C
Derivación	
EMC Típica	±0.01 ppm
Fuente de Luz	Diodo Emisor de Luz @ 525 nm
Detector Luz	Fotocelda de Silicio
Método	Adaptación del método 330.5 USEPA. La reacción entre el cloro libre y el reactivo DPD causa un tinte rosado en la muestra.
Ambiente	0 a 50°C (32 a 122°F); HR no condensada max. 95%
Tipo Batería	1 x 1.5V AAA
Auto-Apagado	Luego de 2 minutos sin uso y 10 segundos luego de la lectura.
Dimensiones	81,5 x 61 x 37,5 mms (3,2 x 2,4 x 1,5")
Peso	64 g (2,25 oz)

Descripción Funcional:



1. Tapa Cubeta
2. Cubeta con tapa
3. Sostenedor cubeta
4. Pantalla LCD
5. Botón

Errores y Advertencias:

Luz Alta: Existe mucha luz para realizar una medición. Por favor chequee la preparación de la cubeta cero.

Luz Baja: No hay suficiente luz para realizar una medición. Por favor chequee la preparación de la cubeta cero.


Cubetas Invertidas: Las cubetas de muestra y cero están invertidas.

Bajo Rango: Un "0.00" parpadeando indica que la muestra absorbe menos luz que la referencia cero. Chequee el procedimiento y asegúrese que usted utilizo la misma cubeta para la referencia (cero) y la medición.













Sobre Rango: Un valor parpadeando de la máxima concentración, indica una condición de sobre carga. La concentración de la muestra esta mas allá del rango programado: diluya la muestra y vuelva a ejecutar la prueba.

Batería Baja: La batería debe ser reemplazada lo antes posible.

Batería Agotada: Esto indica que la batería esta agotada y debe ser reemplazada. Una vez que esta indicación es desplegada, es interrumpida la operación normal del instrumento. Cambie la batería y reinicie el medidor.



Procedimiento de Medición:

- Encienda el medidor por medio de presionar el botón. Luego que todos los segmentos han sido desplegados, "C.1"; "Add" aparecerán parpadeando con "Press", el medidor esta preparado.
 

- Llene la cubeta con 10 mL de muestra sin reaccionar y vuelva a colocar la tapa. Coloque la cubeta dentro del medidor y cierre la tapa del medidor.
 

- Presione el botón. Cuando la pantalla muestre "Add", "C2" junto con "Press" parpadeando, el medidor esta en cero.
 

- Remueva la cubeta, ábrala y agregue el contenido de un paquete de reactivo HI 701-25. Vuelva a colocar la tapa y agite suavemente por 20 segundos. Vuelva a colocar la cubeta dentro del medidor.
 

- Espere por 1 minuto y luego presione el botón o presione y sostenga el botón hasta que sea desplegado el medidor de tiempo en la pantalla de LCD.
 

- El instrumento desplegará en forma directa la concentración de cloro libre en ppm. El medidor se apagará en forma automática luego de 10 segundos.
 



Pistas para una medición exacta

- Es importante que la muestra no contenga suciedad.
- Siempre que la cubeta es colocada dentro de la celda de medición, esta debe estar seca en su exterior y completamente libre de huellas dactilares, aceite o suciedad. Limpie cuidadosamente con HI 7311318 o con un paño sin pelusas previo a la inserción.
- Agitar la cubeta puede generar burbujas, que causan lecturas más altas. Para obtener lecturas exactas, remueva tales burbujas por medio de agitar o golpear suavemente la cubeta.
- No permita que la muestra reaccionada permanezca mucho tiempo luego que ha sido agregado el reactivo, o se perderá la exactitud.
- Luego de la lectura es importante desechar la muestra inmediatamente, de otra manera el vidrio se podrá manchar en forma permanente.

Cuidado de la Batería

Para ahorrar batería, el instrumento se apaga luego de 2 minutos sin uso y 10 segundos luego de la lectura. Una batería nueva dura al menos para 5000 mediciones, dependiendo del nivel de luz. Cuando la capacidad de la batería esta bajo el 10%, "bAt" aparecerá en la pantalla LCD en el inicio. Si la batería esta descargada y no pueden ser tomadas mediciones exactas, el instrumento muestra "bAt" luego "bAt" cada uno por 1 segundo y luego se apagará. Para reiniciar el instrumento, la batería debe ser reemplazada por una nueva. Para reemplazar la batería siga los pasos siguientes:

- Apague el instrumento por medio de sostener el botón hasta que el medidor se apague.
- Coloque el instrumento boca abajo y remueva la cubierta de la batería con un desatornillador.



- Remueva la batería desde su ubicación y reemplácela por una nueva.
- Inserte la cubierta de la batería y vuelva a colocar el tornillo con un desatornillador.

Accesorios:

JUEGOS DE REACTIVOS
HI 701-25 Reactivos para 25 pruebas Cloro Libre


OTROS ACCESORIOS
HI 740028 Baterías 1.5V AAA (4 piezas)
HI 731318 Pañuelos para limpiar cubetas (4 piezas)
HI 731321 Cubetas de vidrio (4 piezas)
HI 731353 Tapas para cubetas (4 piezas)
HI 93703-50 Solución limpieza cubetas (230 mL)

Recomendaciones para los usuarios
Antes de utilizar estos productos, asegúrese que ellos son completamente adecuados para sus aplicaciones específicas y para el ambiente en el cual ellos van a ser utilizados. La operación de estos instrumentos puede causar interferencias no aceptables en equipos electrónicos, requiriendo de esta manera que el operador tome las medidas necesarias para corregir estas interferencias. Cualquier variación introducida por el usuario al equipo suministrado podrá degradar el desempeño EMC del instrumento. Para evitar daños o quemaduras, no coloque el instrumento en un horno microondas. Para la seguridad de usted y del instrumento no lo utilice o almacene en ambientes peligrosos.

Hanna Instruments se reserva el derecho a modificar el diseño, construcción y apariencia de sus productos sin previo aviso.

Para información adicional, contacte a su distribuidor o Centro de Servicio al Cliente Hanna más cercano. Para encontrar una oficina Hanna en su área, visite nuestro sitio web.

www.hannainst.com





Fuente: Bibliografía Electrónica II (8): Hannainstruments – Argentina.

[Http://Www.Hannaarg.Com/](http://Www.Hannaarg.Com/)

ANEXO N° 26

**CERTIFICADO DE CALIDAD DEL REACTIVO HI 93701-0 – HANNA
INSTRUMENTS.**

			
Reagent Quality Certificate			
Parameter	FREE CHLORINE		
Reagent code:	HI 93701-0		
Lot number:	H474		
Expiry date:	10/2015		
Measuring range:	0.00 – 5.00 mg/L Free Chlorine		
Standard:	Standards of Certified KMnO_4 , according to Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20 th ed. 1998, p. 4-64. All Standards are prepared in a temperature conditioned environment at 20°C using deionized water for analytical use ISO3696/BS397, balances periodically checked with certified weights and Class-A glassware		
Photometer:	Reference		
Reported values are traceable to NIST 930e S/N 2370			
	Target value	Mean lot value	Passed
Reagent blank	0.00±0.03	0.00	✓
Standard 1	0.50±0.03	0.50	✓
Standard 2	2.00 ±0.06	2.02	✓
Calibration reference	1.000 ± 0.040	1.010	✓
File number:	CERT93701- H474		
Chemist:	Tinteanu Gabriel		
Hanna Instruments S.R.L Com. Nusfalau, Str. Hanna 457260 - Jud. Salaj - ROMANIA			
			

Fuente: Bibliografía Electrónica II (8): Hannainstruments – Argentina.

ANEXO N° 27

MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL pH METRO DIGITAL. MODELO HI -
HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207.

Checker®	Checker®	Checker®	Checker®
<p>Checker® 1: with HI 1270 screw-type pH electrode</p> <p>Checker® 2: with HI 1207 screw-type pH electrode</p> <p>Checker® 3: with HI 1208 BNC-type electrode</p> <p>SPECIFICATIONS: Range 0.00 to 14.00 pH Resolution 0.01 pH Accuracy ±0.2 pH (@20°C/68°F) Typical EMC ±0.1 pH Deviation</p>	<p>Calibration Manual two points</p> <p>Electrode: combination stick pH electrode</p> <p>Checker® 1: HI 1270 (Included)</p> <p>Checker® 2: HI 1207 (Included)</p> <p>Checker® 3: HI 1208 (Included)</p> <p>Environment 0 to 50°C (32 to 122°F); 95% RH max.</p> <p>Battery Type 2 x 1.5V alkaline</p> <p>Life approx. 3,000 hours of continuous use</p> <p>Dimensions 66 x 50 x 25 mm (2.6 x 2 x 1")</p> <p>Weight (meter) 70 g (2.5 oz.)</p> <p>INITIAL PREPARATION: The pH electrode is shipped dry. Prior to using the Checker®, remove the protective cap and condition the electrode by soaking the tip (bottom 4 cm/1") in pH 7.01 buffer solution for a couple of hours. Then follow the calibration procedure below.</p>	<p>OPERATION:</p> <ul style="list-style-type: none"> Do not be alarmed if white crystals appear around the cap. This is normal with pH electrodes and they dissolve when rinsed with water. If the electrode is dry, soak it in tap water for a few minutes, prior to use. Connect the electrode to the meter. <ul style="list-style-type: none"> Switch the Checker® on. Remove the protective cap and immerse the tip of the electrode (bottom 4cm/1") into your sample. 	<ul style="list-style-type: none"> Stir gently and wait until the display stabilizes. For best results, recalibrate periodically. NEVER IMMERSER THE ELECTRODE UP TO THE CONNECTOR ALWAYS KEEP THE CONNECTOR CLEAN AND DRY. After use, rinse the electrode with water to minimize contamination. Store the electrode with a few drops of HI 70300 Storage Solution in the protective cap. DO NOT USE DISTILLED OR DEIONIZED WATER FOR STORAGE PURPOSES. Always replace the protective cap after use.

Checker®	Checker®	Checker®	Checker®
<p>CALIBRATION:</p> <ul style="list-style-type: none"> Dip the tip of the electrode (bottom 4cm/1") in a sample of pH 7.01 buffer at room temperature. Allow the reading to stabilize. Use a small screwdriver to adjust the pH 7 trimmer until the display reads "7.01". Rinse the electrode with water and dip it in a sample of pH 4.01 (or 10.01) buffer solution. Allow the reading to stabilize. With a small screwdriver adjust the pH 4/10 trimmer until the display reads the chosen buffer value. 	<ul style="list-style-type: none"> Calibration is now complete. ALWAYS USE FRESH BUFFERS FOR CALIBRATION <p>BATTERY REPLACEMENT: Replace the batteries when the display fades, or Checker® cannot be switched on. Remove the battery cover on the back of the meter. Insert 2 new 1.5V batteries while paying attention to their polarity. Batteries should only be replaced in a safe area using the battery type specified in this instruction manual.</p> <p>ACCESSORIES: HI 1287 Combination pH electrode 12 mm diameter with screw-type connector</p>	<p>HI 1208 Combination pH electrode 12 mm diameter with BNC connector</p> <p>HI 1270 Combination pH electrode, 9 mm diameter with screw-type connector</p> <p>HI 70300M Storage solution (230 mL)</p> <p>HI 76504/P2 2x1.5V alkaline batteries</p> <p>Choose from the following 20 mL sachet solutions:</p> <p>HI 70000P Electrode cleaning/ rinse solution (20ml, 25 pcs.)</p> <p>HI 70004P pH 4 buffer solution (25 pcs.)</p> <p>HI 70007P pH 7 buffer solution (25 pcs.)</p> <p>HI 70010P pH 10 buffer solution (25 pcs.)</p>	<p>SUGGESTIONS FOR USERS: Before using this product, make sure that it is entirely suitable for the environment in which it is used. Operation of this instrument in residential areas could cause interference to radio and TV equipment. The glass bulb at the end of the pH electrode is sensitive to electrostatic discharges. Avoid touching this glass bulb at all times. During operation of instrument, ESD wrist strap should be worn to avoid possible damage to the pH electrode by electrostatic discharges. Any variation introduced by the user to the supplied equipment may degrade the instrument's EMC performance. To avoid electrical shocks, do not use this instrument when voltage at the measurement surface exceeds 24 VAC or 60 VDC. To avoid damage or burns, do not perform any measurement in microwave ovens.</p> <p>Checker® is a registered Trademark of "Hanna Instruments"</p> <p>Visit our Internet Home Page: www.hannainstr.com</p>

Fuente: Bibliografía Electrónica II (8): Hannainstruments – Argentina.

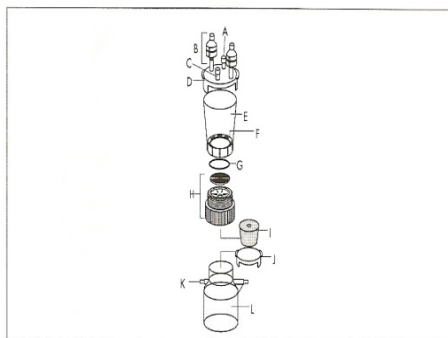
[Http://Www.Hannaarg.Com/](http://Www.Hannaarg.Com/)

ANEXO N° 28

MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL PORTA FILTRO MILLIPORE FILTER
HOLDER De 47 mm DE DIÁMETRO.

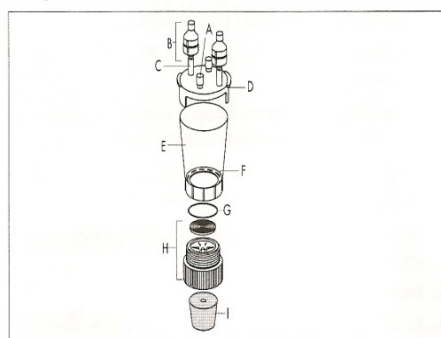


Diagram of the Sterifil System



Part	Description	Part	Description
A	Rubber cap (qty 4)	G	O-ring
B	Swinnex 13 mm filter holder (sold separately)	H	Filter holder base with support screen
C	Port	I	Stopper
D	Funnel cover	J	Receiver flask cover
E	Graduated funnel	K	Side arm
F	O-ring groove	L	Receiver flask

Diagram of the 47 mm Sterifil Filter Holder



Part	Description	Part	Description
A	Rubber cap	F	O-ring groove
B	Swinnex 13 mm filter holder	G	O-ring
C	Port	H	Filter holder base with support screen
D	Funnel cover	I	Stopper
E	Graduated funnel		

Fuente: Bibliografía de Textos: Manual para el usuario del producto.

ANEXO N° 29.

MANUAL Y DESCRIPCIÓN DE LAS MEMBRANAS DE CELULOSA
ESTÉRILES DE 0.45µM DE DIÁMETRO DE POROS, PALL CORPORATION
METRICEL 47 MM DE DIÁMETRO.

PALL Life Sciences

**GN-6 Metricel® S-Pack
Membrane Disc Filters**

- Ideal for microbiological analysis of aqueous solutions.
- White, hydrophilic mixed cellulose ester membrane.
- Available with or without grid lines.

Ordering Information		Packaging
Prod. No.	Description	
Individual Sterile Packs (S-packs)		
66278	0.45 µm, 47 mm, grid, sterile	200/pkg
66068	0.45 µm, 47 mm, grid, sterile	1000/pkg
66191	0.45 µm, 47 mm, grid, sterile	2000/pkg
66539	0.45 µm, 50 mm, grid, sterile	200/pkg
66265	0.45 µm, 47 mm, plain, sterile	200/pkg
Autoclave Packages (packages of 10 membranes and 10 absorbent pads, ready for autoclaving)		
63077	0.45 µm, 47 mm, grid, sterile	100/pkg

Lot No. **112269**

Specifications

Pall Life Sciences certifies that GN-6 Metricel membrane has been manufactured for the microbiological analysis of potable, waste, process and natural waters in accordance with the Membrane Filtration Technique referenced in *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, current edition, and the U.S. Environmental Protection Agency's *Microbiological Methods for Monitoring the Environment*, 600/9-78-017.

Representative samples from the above lot were tested and met the parameters set forth below:

Filter Media
Hydrophilic mixed cellulose ester, white

Pore Size
0.45 µm

Diameter
47 mm

Typical Thickness
152 µm (6 mils)

Recommended Integrity Test
Minimum Bubble Point-Water
1.8 bar (180 kPa, 26.0 psf)

Typical Water Flow Rate
≈ 65 mL/min/cm² at 0.7 bar (10 kPa, 10 psf)

Wetting Time — 47mm
≈ 15s

Recovery
Average ≈ 90% as measured against pour plates. Recovery rates of total and fecal coliform bacteria indicate that there is no influence on bacterial growth and development due to chemical extractables.

pH
The membrane will not significantly affect the pH of the media in which it is incubated and will therefore not alter the pH out of a ± 0.2 unit range.

Sterility
Sterilized by gamma irradiation. The sterilization process does not enhance or inhibit subsequent growth of organisms.

Extractables (Boiling Water)
≤ 2%

Grid Lines
Bacterial recovery testing shows that grid lines do not enhance or inhibit the growth of organisms.

Larry Henderson, Director Quality Assurance/Regulatory Affairs

Applications

Typical application of GN-6 Metricel membrane is the isolation and enumeration of bacteria by the Membrane Filter Technique. This method is accepted by many waste water, drinking water, and industrial process water testing laboratories for monitoring water quality.

PALL Life Sciences

WARNING

Employment of the products in applications not specified, or failure to follow all instructions contained in this product information insert, may result in improper functioning of the product, personal injury, or damage to property or the product. See Statement of Warranty in our most recent catalog.

ATTENTION

L'utilisation de nos produits dans des applications pour lesquelles ils ne sont pas spécifiés ou le non-respect du mode d'emploi qui figure sur ce document, peut entraîner un dysfonctionnement du produit, endommager le produit ou d'autres biens matériels ou représenter un risque pour l'utilisateur. Se référer à la clause de garantie de notre catalogue le plus récent.

ACHTUNG

Der Einsatz dieses Produktes in Anwendungen für die es nicht spezifiziert ist, oder das Nichtbeachten einiger, in dieser Bedienungsanleitung gegebenen Hinweise kann zu einem schlechteren Ergebnis, oder Zerstörung des Produktes oder anderer Dinge oder gar zu Verletzungen führen. Beachten Sie auch unsere Garantiebedingungen im aktuellen Katalog.

ADVERTENCIA

El uso de este producto en aplicaciones no especificadas o el no considerar las instrucciones indicadas en la hoja de información del producto puede ocasionar un mal funcionamiento del producto, daños en las instalaciones o en el producto y riesgo para el personal del laboratorio. Consulte el apartado de Garantía en nuestro último catálogo.

ATTENZIONE

L'impiego dei prodotti in applicazioni non specificate, o il mancato rispetto di tutte le istruzioni contenute nel presente bollettino tecnico, potrebbero portare ad un utilizzo improprio del prodotto, ferire gli operatori, o danneggiare le caratteristiche del prodotto stesso. Consultare la dichiarazione di garanzia pubblicata nel nostro più recente catalogo.

警告

当製品情報に記載されていないアプリケーションにおいて製品を使用した場合、あるいは当製品情報に記載されている使用方法に従わない場合は、製品の機能上の不具合、人体への危害、あるいはお客様の財産や製品への損害をまねく恐れがあります。必ず、最新のカタログに記載してある保証約款をご覧ください。

Pall Life Sciences
600 South Wagner Road
Ann Arbor, MI 48103-9019 USA

For ordering or technical information:
In USA and Canada
Tel: 734-665-0651
800-521-1520
Fax: 734-613-6114
Outside USA and Canada
+800 PALL LIFE
+800 7255 5433

Visit Pall Life Sciences on the
Web at www.pall.com/Lab or
E-mail us at Lab@pall.com

Offices:
Australia, Cheltenham, VIC, 03 8586 8150
Austria, Wien, 01 49 192 0
Canada, Ontario, 905-542-0330
Canada, Quebec, 514-532-7255
China, P.R., Beijing, 86-10-8458 4010
France, St. Germain-en-Laye, 01 30 61 39 92
Germany, Dirsch, 06103-307 333
India, Mumbai, 91 (0) 22 55895555
Italy, Milano, 02 47 79 61
Japan, Tokyo, 03-6901-5800
Korea, Seoul, 82-2-560-7834
Malaysia, Selangor, +60 3 5569 4892
New Zealand, Hamilton, +64 7 957 9510
Poland, Warszawa, 22 610 0100
Russia, Moscow, 5 01 787 76 14
Singapore, (65) 389-6500
South Africa, Johannesburg, +27-11-2062300
Spain, Madrid, 91-657-9876
Sweden, Lund, (0)46 158400
Switzerland, Basel, 051-638 39 00
Taiwan, Taipei, 886 2 2545 5991
Thailand, Bangkok, 66 2937 1055
United Kingdom, Farington, 02392 302600

Pall, Metricel, and Measure are trademarks of Pall Corporation.
® indicates a registered trademark in the USA.
© 2007, Pall Corporation, 10/07 PN 82343V

Fuente: Bibliografía de Textos: Manual para el usuario del producto.

ANEXO N° 30

Reglamento Y Valores Permisibles En La Calidad Del Agua Para Consumo Humano Según El DS N° 031-2010-SA.
De La Dirección General De Salud Ambiental Ministerio De Salud Lima –Perú 2010.

MINISTERIO DE SALUD No. 031-2010-SA

REPÚBLICA DEL PERÚ

Decreto Supremo

APRUEBAN REGLAMENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

CONSIDERANDO:

Que, el numeral 22 del artículo 2º concordante con el artículo 7º de la Constitución Política del Perú, establece que toda persona tiene derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado al desarrollo de su vida, teniendo derecho a la protección de su salud, la del medio familiar y la de la comunidad, así como el deber de contribuir a su promoción y defensa;

Que, el artículo 107º de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establece que el abastecimiento del agua para consumo humano queda sujeto a las disposiciones que dicte la Autoridad de Salud competente, la que vigilará su cumplimiento;

Que, la Décima Primera Disposición Complementaria, Transitoria y Final de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, dispone que el Ministerio de Salud, continuará teniendo competencias en los aspectos de saneamiento ambiental, debiendo formular las políticas y dictar las normas de calidad sanitaria del agua y de protección del ambiente;

Que, mediante Resolución Suprema del 17 de diciembre de 1946, se aprobó el "Reglamento de las Aguas de bebida para ser consideradas potables", el cual se encuentra desactualizado y obsoleto en el contexto actual;

Que, resulta necesario establecer un nuevo marco normativo para la gestión de la calidad del agua para consumo humano, sustentado en un enfoque de análisis de riesgo que proporcione a la Autoridad de Salud instrumentos de gestión modernos y eficaces para controlar la política y la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano;

W. OLIVERA A.

De conformidad con lo dispuesto en el numeral 8 del artículo 118º de la Constitución Política del Perú, la Ley N° 26842 – Ley General de Salud, y la Ley N° 29156 – Ley Orgánica del Poder Ejecutivo;

DECRETA:

Artículo 1º.- Aprobación
Apruébase el Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano, que consta de diez (10) títulos, ochenta y un (81) artículos, doce (12) disposiciones complementarias, transitorias y finales, y cinco (05) anexos, cuyos textos forman parte integrante del presente Decreto Supremo.

El presente Decreto Supremo con el texto del Reglamento y sus anexos deberán ser publicados en el Portal Institucional del Ministerio de Salud (<http://www.minsa.gob.pe>) el mismo día de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

Artículo 2º.- Derogación
A la norma que establece el presente dispositivo legal, quedará derogada la Resolución Suprema del 17 de diciembre de 1946 que aprobó el "Reglamento de los requisitos oficiales físicos, químicos y bacteriológicos que deben reunir las aguas de bebida para ser consideradas potables", así como toda aquella disposición que se le oponga.

Artículo 3º.- Refrendo
El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro de Salud y de Vivienda, Construcción y Saneamiento.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veinticuatro días del mes de septiembre del año dos mil diez.

W. OLIVERA A.
E. CRUZ S.
D. LUCHI G.
M. ALVARO R.
ALAN GARCÍA PÉREZ
JUAN SUSMUNTO SOTO

Fuente: Bibliografía Electrónica II (5): DIGESA (Dirección General De Salud Ambiental).Http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp

**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

Nota 2: Para una desinfección eficaz en las redes de distribución la concentración residual libre de cloro no debe ser menor de 0,5 mgL⁻¹.

Fuente: Bibliografía Electrónica II (5): DIGESA (Dirección General De Salud Ambiental).[Http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp](http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp)

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE PARÁMETROS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICA		
Parámetros	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1. Olor	--	Aceptable
2. Sabor	--	Aceptable
3. Color	UCV escala Pt/Co	15
4. Turbiedad	UNT	5
5. pH	Valor de pH	6,5 a 8,5
6. Conductividad (25°C)	µmho/cm	1 500
7. Sólidos totales disueltos	mgL ⁻¹	1 000
8. Cloruros	mg Cl ⁻ L ⁻¹	250
9. Sulfatos	mg SO ₄ ⁼ L ⁻¹	250
10. Dureza total	mg CaCO ₃ L ⁻¹	500
11. Amoniaco	mg N L ⁻¹	1,5
12. Hierro	mg Fe L ⁻¹	0,3
13. Manganeso	mg Mn L ⁻¹	0,4
14. Aluminio	mg Al L ⁻¹	0,2
15. Cobre	mg Cu L ⁻¹	2,0
16. Zinc	mg Zn L ⁻¹	3,0
17. Sodio	mg Na L ⁻¹	200

UCV = Unidad de color verdadero
UNT = Unidad nefelométrica de turbiedad

Nota 2: Para una desinfección eficaz en las redes de distribución la concentración residual libre de cloro no debe ser menor de 0,5 mgL⁻¹.

Fuente: Bibliografía Electrónica II (5): DIGESA (Dirección General De Salud Ambiental).[Http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp](http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp)

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE PARÁMETROS QUÍMICOS INORGÁNICOS Y ORGÁNICOS

Parámetros Inorgánicos	Unidad de medida	Límite máximo permisible
1. Antimonio	mg Sb L ⁻¹	0,020
2. Arsénico (nota 1)	mg As L ⁻¹	0,010
3. Bario	mg Ba L ⁻¹	0,700
4. Boro	mg B L ⁻¹	1,500
5. Cadmio	mg Cd L ⁻¹	0,003
6. Cianuro	mg CN ⁻ L ⁻¹	0,070
7. Cloro (nota 2)	mg L ⁻¹	5
8. Clorito	mg L ⁻¹	0,7
9. Clorato	mg L ⁻¹	0,7
10. Cromo total	mg Cr L ⁻¹	0,050
11. Flúor	mg F L ⁻¹	1,000
12. Mercurio	mg Hg L ⁻¹	0,001
13. Níquel	mg Ni L ⁻¹	0,020
14. Nitratos	mg NO ₃ L ⁻¹	50,00
15. Nitritos	mg NO ₂ L ⁻¹	3,00 Exposición corta 0,20 Exposición larga
16. Plomo	mg Pb L ⁻¹	0,010
17. Selenio	mg Se L ⁻¹	0,010
18. Molibdeno	mg Mo L ⁻¹	0,07
19. Uranio	mg U L ⁻¹	0,015

Nota 2: Para una desinfección eficaz en las redes de distribución la concentración residual libre de cloro no debe ser menor de 0,5 mgL⁻¹.

Fuente: Bibliografía Electrónica II (5): DIGESA (Dirección General De Salud Ambiental). [Http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp](http://Www.Digesa.Minsa.Gob.Pe/Index.Asp)

ANEXO N° 31

EQUIPOS DE LABORATORIO.

		
<p>Autoclave EASTERN.</p>	<p>Balanza Analítica. SCOUT PLUS</p>	<p>Bomba de Vacío M.E</p>
		
<p>Cabina de Seguridad Biológica. ESCO MOD: IBC 61010 – 1.</p>	<p>Estufa Incubadora. BM - CLIMATEC.</p>	<p>Horno de Esterilización .FANEN MOD: 31558.</p>

Fuente e imágenes: Elaboración propia.

		
<p>Baño María. CLIMATED.</p>	<p>Lámpara UV de 254nm. LAMAG.</p>	<p>Microscopio. BELTEC MOD: 020446.</p>
		
<p>Phmetro Digital. HANNA INSTRUMENTS MOD: 1207.</p>	<p>Cocina Eléctrica.</p>	<p>Refrigeradora BOSCH MOD: KDN 43.</p>

Fuente e imágenes: Elaboración propia.