

NIVELES DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENA (EPEC) EN AGUA DE MAR DE LA PLAYA AGUA DULCE DEL DISTRITO DE CHORRILLOS

por FABIOLA LOPEZ FANCY MIRANDA

Fecha de entrega: 19-oct-2018 11:01a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1013956430

Nombre del archivo: Tesis_Niveles_de_E._coli_Enteropatogena_19_Oct..docx (8.65M)

Total de palabras: 22026

Total de caracteres: 123327

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“NIVELES DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATÓGENA (EPEC) EN AGUA DE MAR DE LA PLAYA AGUA DULCE DEL DISTRITO DE CHORRILLOS”

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

TESISTAS:

Bachiller LÓPEZ MENDOZA, FABIOLA IRENE
Bachiller MIRANDA CASTILLO, FANCY LISSETH

ASESOR:

DR. Q.F. HÉCTOR ALEXANDER VILCHEZ CÁCEDA

LIMA – PERÚ
2018

ÍNDICE

Acta de sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Abreviaturas

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2. Problemas.....	4
1.2.1. Problema general.....	4
1.2.2. Problemas específicos.....	4
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación.....	6
1.5. Limitaciones metodológicas.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Estado del arte.....	7
2.1.1. Antecedentes nacionales.....	7
2.1.2. Antecedentes extranjeros.....	10
2.2. Bases teóricas y/o legales.....	15
2.2.1 Bases teóricas.....	15
2.2.1.1. Contaminación del mar.....	15

2.2.1.1.1. Contaminación bacteriana del medio marino.....	15
2.2.1.2. Calidad del agua.....	16
2.2.1.2.1. Descripción de parámetros de calidad de agua.....	16
2.2.1.2.1.1. Descripción de los parámetros físicos.....	17
2.2.1.2.1.2. Descripción de los parámetros microbiológicos.....	18
2.2.1.3. Grupo coliforme.....	18
2.2.1.4. Enterobacteriaceae.....	19
2.2.1.4.1. Generalidades.....	19
2.2.1.4.2. Características bioquímicas e identificación.....	21
2.2.1.5. <i>Escherichia</i>	22
2.2.1.5.1. <i>Escherichia coli</i>	22
2.2.1.5.1.1. Historia.....	22
2.2.1.5.1.2. Hábitat.....	23
2.2.1.5.1.3. Morfología.....	24
2.2.1.5.1.4. Morfología colonial.....	25
2.2.1.5.1.5. Componentes estructurales de la pared celular.....	25
2.2.1.5.1.6. Heterogeneidad antigénica.....	26
2.2.1.5.1.7. Taxonomía.....	27
2.2.1.5.1.8. Factores de virulencia.....	28
2.2.1.5.1.9. Patología – Síndromes clínicos.....	29
2.2.1.5.1.10. Identificación de <i>Escherichia coli</i>	31
2.2.1.5.1.11. Clasificación.....	32
2.2.1.6. <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC).....	35
2.2.1.6.1. Historia.....	35
2.2.1.6.2. Epidemiología de <i>Escherichia coli</i> patógeno en el mundo y Perú.....	35
2.2.1.6.3. Esquema patogénico de <i>Escherichia coli</i> enterovirulentas.....	36
2.2.1.6.4. Mecanismo de acción.....	38
2.2.1.6.5. Identificación de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena.....	38
2.2.1.6.6. Cuadro clínico.....	39
2.2.1.6.7. Diagnóstico.....	39
2.2.1.6.8. Tratamiento.....	40

2.2.2. Bases legales.....	40
2.3. Hipótesis.....	42
2.3.1. Hipótesis general.....	42
2.3.2. Hipótesis específicas.....	42
2.4. Definición de términos básicos.....	43
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	47
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	47
3.2. Población y muestra.....	47
3.3. Equipos, materiales y reactivos.....	48
3.4. Procedimiento experimental.....	50
3.5. Procesamiento de Datos.....	56
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	57
4.1. Presentación.....	57
4.2. Discusión.....	70
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	72
5.1. Conclusiones.....	72
5.2. Recomendaciones.....	73
REFERENCIAS.....	74
ANEXOS.....	90

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme culminar esta etapa en mi vida.

A mis padres, Eugenio Domingo López Piaggio y Julia Alicia Mendoza Fabián, que con todo su infinito amor, sabiduría y consejos supieron guiarme para ser la persona y la profesional que soy. Asimismo, siempre fueron los primeros en confiar en mí y me impulsaron a conseguir todas mis metas.

A mi abuelita, Ignacia Tomasa Fabián Turriate viuda de Mendoza, porque es como una segunda madre para mí, quien siempre se encuentra velando por mi bienestar y me demuestra todo su amor incondicional; así como a mi abuelito Juan Bautista Mendoza Soria que desde el cielo observa este logro y del cual nunca olvido todo lo que me enseñó y por todo su amor que hasta el día de hoy siento en cada momento.

A Hernán Santiago Valencia Carrillo, que con todo su amor siempre me alienta a alcanzar mis objetivos y a querer mejorar día a día tanto de forma personal como profesional, por todo el amor que me profesa con cada acción que realiza y con el cual siempre cuida de mí; además de apoyarme en todo momento y en cualquier situación, ser mi felicidad y por ser esa persona irremplazable en mi vida.

Fabiola.

A Dios, por bendecirme con salud, sabiduría y darme los conocimientos necesarios para mi formación como profesional.

A mis padres, Haydde Castillo Guerrero y Carlos Miranda Muñoz, por su amor puro y sincero, por educarme como la persona que soy actualmente con valores y principios.

A mi hermana Carlita, porque siempre está a mi lado en cada momento apoyándome, por su cariño y todo lo bueno que aporta a mi vida; a mi tía Elsitita por ser como una segunda mamá, por ayudarme todos los días y ese cariño inmenso que siempre me da.

A mis abuelitos Brígida Muñoz Paredes y José Castillo Guerrero quienes velan por mí desde el cielo.

A Willy Romaní Huamán por llenarme cada día de alegría y por estar siempre conmigo en los momentos buenos y malos brindándome su amor, paciencia y comprensión.

Fancy.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiar siempre nuestro camino y a nuestros padres por su amor infinito, el apoyo incondicional; así como por estar presentes en cada paso que hemos dado hasta llegar a este momento tan importante de nuestra carrera.

A todos nuestros familiares, quienes nos brindaron siempre su apoyo y muchas veces fueron nuestros segundos padres o hermanos.

A nuestro asesor Dr. Q.F. Héctor Alexander Vílchez Cáceda, por su orientación y sus conocimientos, así como por siempre darse un tiempo para nosotras a pesar de todas las responsabilidades que recaen en sus hombros.

A la Dra. Q. F. Melissa Hinostroza Yucra, por permitirnos realizar la tesis en las instalaciones del laboratorio KARIFRAN S.A.C. del cual es Director Técnico, así como a la Dra. Q. F. Elizabeth Rudas Alcantara, Jefe de Control de Calidad en dicho Laboratorio y es quién nos brindó su apoyo incondicional en todo momento para realizar la tesis, así como absolvió todas nuestras dudas y siempre nos guio; en este tiempo no solo fue nuestra mentora sino que se convirtió en una amiga muy querida para ambas.

A la Ing. Cynthia Zuñiga Ramos, por brindarnos su apoyo en la parte estadística y recibirnos siempre con una sonrisa y absolver todas nuestras dudas.

Muchas gracias a todos, por toda su paciencia, apoyo, generosidad, aliento, recomendaciones y el cariño siempre brindado. A todos y cada uno de Uds. muchísimas gracias, las palabras antes escritas son poco para todo lo que sentimos hacia Uds.

ABREVIATURAS

1. **DIGESA:** Dirección General de Salud Ambiental
2. **DS:** Decreto supremo
3. ***E. coli:*** *Escherichia coli*
4. **ECET:** *Escherichia coli* enterotoxigénica
5. **ECEH:** *Escherichia coli* enterohemorrágica
6. **ECEI:** *Escherichia coli* enteroinvasiva
7. **ECEA:** *Escherichia coli* enteroagregativa
8. **ECAD:** *Escherichia coli* de adherencia difusa
9. **ECEP/EPEC:** *Escherichia coli* enteropatógena
10. **Ed.:** Edición
11. **N^a:** Número
12. **NMP:** Número más probable
13. **m:** metro
14. **MINSA:** Ministerio de Salud
15. **mL.:** Mililitro
16. **UFC:** Unidades formadoras de colonias
17. **V.:** Versión

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Principales especies de enterobacterias de interés médico	20
Tabla N° 02: Géneros de la familia Enterobacteriaceae	21
Tabla N° 03: Especies del género <i>Escherichia</i>	22
Tabla N° 04: Serotipos de <i>Escherichia coli</i> diarreagénicos en humanos	27
Tabla N° 05: Predominio de EPEC en criaturas de nacionalidad peruana con diarrea fundamentada con procedimientos de diagnóstico no moleculares	37
Tabla N° 06: Tipos de <i>Escherichia coli</i> Enteropatógena A y B	39
Tabla N° 07: Determinación de control de la calidad microbiológica	41
Tabla N° 08: Cuadro de reacciones bioquímicas	54
Tabla N° 09: Turno mañana. Prueba física	57
Tabla N° 10: Turno tarde. Prueba física	57
Tabla N° 11: Turno mañana. Pruebas microbiológicas. Medio de cultivo (caldo lauril sulfato)	58
Tabla N° 12: Turno tarde. Pruebas microbiológicas. Medio de cultivo (caldo lauril sulfato)	58
Tabla N° 13: Turno mañana. Pruebas microbiológicas. (Coliformes totales)	58
Tabla N° 14: Turno tarde. Pruebas microbiológicas. (Coliformes totales)	59
Tabla N° 15: Turno mañana. Pruebas microbiológicas (Coliformes fecales)	59
Tabla N° 16: Turno tarde. Pruebas microbiológicas (Coliformes fecales)	59
Tabla N° 17: Numero más probable (NMP)	60
Tabla N° 18: Numero de coliformes totales	61
Tabla N° 19: Número de coliformes fecales	61
Tabla N° 20: Turno mañana. Prueba confirmativa de <i>Escherichia coli</i> en agar EMB	61
Tabla N° 21: Turno tarde. Prueba confirmativa de <i>Escherichia coli</i> en agar EMB	62
Tabla N° 22: Turno mañana. Prueba confirmativa. Tinción Gram	62
Tabla N° 23: Turno tarde. Prueba confirmativa. Tinción Gram	62
Tabla N° 24: Turno mañana. Prueba confirmativa. Prueba bioquímica	63
Tabla N° 25: Turno tarde. Prueba confirmativa. Prueba bioquímica	64
Tabla N° 26: Turno mañana. Prueba confirmativa. Prueba serológica	65

Tabla N° 27: Turno tarde. Prueba confirmativa. Prueba serológica	65
Tabla N° 28: Estadísticos descriptivos	66
Tabla N° 29: Promedio del nivel medio de <i>E.coli</i> (Coliformes totales)	66
Tabla N° 30: Promedio del nivel medio de <i>E. coli</i> (Coliformes fecales)	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01: Tinción de <i>Escherichia coli</i> Gram Negativo	24
Figura N° 02: <i>Escherichia coli</i> en medio de cultivo EMB	25
Figura N° 03: Taxonomía <i>Escherichia coli</i>	28
Figura N° 04: Método del número más probable	53
Figura N° 05: Gráfico de medias	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 01: Matriz de consistencia	90
Anexo 02: Imágenes	
Imagen N° 1: Lugar de la toma de muestra – playa Agua Dulce, Chorrillos	91
Imagen N° 2: Toma de muestra	91
Imagen N° 3: Control de temperatura (Prueba física)	91
Imagen N° 4: Conservación de las muestras con geles refrigerantes	92
Imagen N° 5: Transporte de las muestras al laboratorio para su análisis	92
Imagen N° 6: Muestras con tinción Gram	93
Imagen N° 7: Resultados de la tinción Gram observados al microscopio	93
Imagen N° 8: Resultados de la tinción Gram observados al microscopio	93
Imagen N° 9: Resultados de la tinción Gram observados al microscopio	93
Imagen N° 10: Resultados de la tinción Gram observados al microscopio	93
Imagen N° 11: Incubación de la muestra en caldo lauril – Turno mañana	94
Imagen N° 12: Incubación de la muestra en caldo lauril – Turno tarde	94
Imagen N° 13: Resultados en caldo lauril	95
Imagen N° 14: Resultados en caldo verde brillante bilis 2%	95
Imagen N° 15: Resultados en caldo verde brillante bilis 2%	95
Imagen N° 16: Resultados en caldo <i>E. coli</i>	96
Imagen N° 17: Resultados en agar EMB	97
Imagen N° 18: Resultados en agar EMB	97
Imagen N° 19: Resultados de la prueba bioquímica – Citrato	98
Imagen N° 20: Resultados de la prueba bioquímica – Indol	98
Imagen N° 21: Resultados de la prueba bioquímica – Agar Lisina	98
Imagen N° 22: Resultados de la prueba bioquímica – Motilidad	99
Imagen N° 23: Resultados de la prueba serológica – serotipo A	99
Imagen N° 24: Resultados de la prueba serológica – serotipo B	99
Imagen N° 25: Etiqueta de identificación de muestra	100
Anexo 03: Ficha de análisis del agua de mar	101
Anexo 04: Ficha de validación del instrumento	105
Anexo 05: Ficha de validación del instrumento	106
Anexo 06: Ficha de validación del instrumento	107

Anexo 07: Certificado de análisis de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	108
Anexo 08: Certificado de análisis del caldo lauril triptosa	109
Anexo 09: Certificado de análisis del caldo verde brillante bilis 2%	110
Anexo 10: Certificado de análisis del caldo <i>E. coli</i>	111
Anexo 11: Certificado de análisis del agar EMB	112
Anexo 12: Certificado de análisis del cristal violeta	113
Anexo 13: Certificado de análisis de lugol Gram	114
Anexo 14: Certificado de análisis del decolorante Gram	115
Anexo 15: Certificado de análisis de la safranina	116
Anexo 16: Certificado de análisis del suero <i>Escherichia coli</i> clásica polivalente A	117
Anexo 17: Certificado de análisis del suero <i>Escherichia coli</i> clásica polivalente B	118
Anexo 18: GUIA TÉCNICA Procedimiento de Tomas de Muestras del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación	119
Anexo 19: DS Nº 038/MINSA-DIGESA-V.02 DIRECTIVA SANITARIA QUE ESTABLECE EL PROCEDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LAS PLAYAS DEL LITORAL PERUANO	135

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar los niveles de *Escherichia Coli* Enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos, Lima, Perú, mediante tomas de muestras representativas en tres diferentes distancias (5 m, 10 m y 20 m) y en dos tiempos (mañana y tarde). Los métodos utilizados para la determinación de *Escherichia Coli* Enteropatógena en agua de mar fueron las siguientes: aislamiento e identificación de *Escherichia Coli*, técnica de diluciones en tubo múltiple (NMP), pruebas confirmativas como prueba bioquímica y prueba serológica de *Escherichia coli* enteropatógena con sueros anti-E. coli enteropatógena clásica. Los resultados obtenidos de la cuantificación de coliformes totales y fecales de las muestras fueron comparados con el rango de valor de la determinación de control de calidad microbiológica, con base en la Directiva Sanitaria (DS N°038/MINSA-DIGESA-V.02) que fundamenta el método para determinar la calidad saludable de las playas del litoral peruano. En los resultados se observó la presencia de *E. coli* en la mayoría de las muestras, mientras que para *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) los resultados obtenidos fueron desde 730 UFC/ml hasta 1100 UFC/ml. En la prueba serológica se determinó que más de la mitad de las muestras fueron positivas para el serotipo A y menos de la mitad de las otras muestras fueron positivas para el serotipo B.

Se arribó a la conclusión de que los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en el agua de la playa Agua Dulce, del distrito de Chorrillos, sobrepasó los rangos de valor permitidos, los cuales podrían provocar daños en la salud de las personas que frecuentan esa playa.

Palabras clave: Aislamiento, Identificación, *Escherichia coli* Enteropatógena, Playa Agua Dulce.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the levels of Enteropathogenic *Escherichia Coli* (EPEC) in seawater from the Agua Dulce beach of the Chorrillos District of Lima, Peru, performing the representative sampling at different distances (5 m, 10 m and 20 m) and in two times (morning and afternoon). The methods used for the determination of Enteropathogenic *Escherichia Coli* in seawater were the following: Isolation and Identification of *Escherichia Coli*, multiple tube dilution technique (NMP), confirmatory tests such as biochemical test and serological test of Enteropathogenic *Escherichia coli* with serums anti-E coli enteropathogenic Classical. The results of the quantification of total and fecal coliforms of the samples were compared with the range of value of the microbiological quality control determination, based on the Sanitary Directive (DS N ° 038 / MINSA-DIGESA-V.02) that fundamentally the method to determine the healthy quality of the beaches of the Peruvian coast. The results show the presence of *E. coli* in most of the samples; while for Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) the results have been from 730 CFU / mL. to 1100 CFU / mL. In the serological test it was determined that more than half of the samples were positive for serotype A and less than half of the other samples were positive for serotype B.

It was concluded that the levels of enteropathogenic *E. coli* (EPEC) in the seawater of the Agua Dulce beach of the district of Chorrillos, surpassed the permitted ranges of value; which could cause damage to the health of people who frequent that beach.

Key words: Isolation, Identification, Enteropathogenic *Escherichia Coli*, Agua Dulce Beach.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de agua de mar en las playas puede llevarse a cabo por la falta de compromiso de quienes están vinculados al emponzoñamiento microbiano de los ecosistemas marítimos y esto se debe a la existencia de microorganismos infecciosos. Los patrones infecciosos de esta clase toman agentes de infección determinados que les otorga provocar una serie de padecimientos intestinales y extraintestinales, incluso en personas de buenas condiciones sanitarias.¹

Los intermediarios incluidos en la trasmisión hídrica son las bacterias, virus y/o protozoos (gérmenes), aptos para provocar padecimientos en la humanidad.

El procedimiento de determinación de los microorganismos infecciosos, aprobado mundialmente, es utilizar aquellas bacterias que señalan la presencia de contaminación fecal. Dentro de los microorganismos más usados con estas finalidades se halla una agrupación bacteriana denominada Coliformes; dentro de estos se encuentra la especie *Escherichia Coli* que provoca daños en el intestino por todos los antes mencionados.^{2 - 4}

La presencia de concentraciones elevadas de microorganismos como *Escherichia coli*, asimismo se vincula claramente al peligro saludable por el empleo del agua.⁵

La investigación de las agrupaciones infecciosas por la agrupación de *Escherichia coli*, comenzando con los ecosistemas marítimos infectados ha ido aumentando últimamente en el transcurso del tiempo; además, origina a denominarse como aquel método utilizado con más frecuencia para la determinación de la calidad del agua de manera microbiológica.^{6 - 9}

Las personas que concurren a estas playas como acto recreativo, como por ejemplo, las playas del Perú, específicamente, Agua Dulce, deben tomar en cuenta que por más limpia que se ve la playa no es segura para la salud y puede llevar a contraer las enfermedades antes mencionadas. Por esta razón, este tema de estudio sobre la

determinación de los niveles de *Escherichia Coli* Enteropatógena (ECEP) en agua de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos que se desarrolló tomando como base la Directiva Sanitaria (DS N°038/MINSA-DIGESA-V.02) fundamenta el método para la determinar qué tan saludables son las playas pertenecientes a la costa del Perú, enfocándose en su calidad, de la cual se tomaron los parámetros establecidos para la determinación de control de calidad microbiológica.

La presente tesis expone, en cinco capítulos, el proceso científico realizado sobre el tema de la investigación, a saber:

El capítulo 1 plantea el problema de la investigación, los objetivos, justificación y limitaciones metodológicas.

El capítulo 2 aborda el marco teórico, los antecedentes de la investigación y las bases teóricas y/o legales.

El capítulo 3 desarrolla los procedimientos para la investigación, tipo y diseño de la investigación, población, procedimiento experimental, técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de datos.

El capítulo 4 presenta los resultados del estudio, contrastación de hipótesis y discusión de los resultados obtenidos.

El capítulo 5 expone las conclusiones a las que se arribó y las recomendaciones pertinentes.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Existen estudios realizados a nivel mundial para determinar la vinculación de la calidad de agua empleada para ocupaciones de entretenimiento y las consecuencias desfavorables que ocasionan a la salud de los individuos. Según Chacón et al. (2002)¹⁰, hay procedimientos o sistemas para el cálculo de estas bacterias, conforme a los distintos ejemplos de muestras. La localización y cálculo de microorganismos se fundamenta en el uso de procedimientos que implica el procedimiento de inocular las muestras del agua en ambiente de cultivación determinados (ya sean líquidos o sólidos) los cuales aseguran la mayor parte de requisitos subsistenciales de la asociación de bacterias con respecto y la selectividad de los mismos.¹¹

También los coliformes totales y coliformes fecales o también conocidos termotolerantes han sido los principales microorganismos que indican así la infección.¹² Por consiguiente Méndez (2004)¹³ afirma que los microorganismos que indican infección más comunes son: *Escherichia coli*, adicionando *Streptococos fecales*, bacterias coliformes (termotolerantes y totales), colífagos y clostridios que son capaces de reducir el sulfito.

Por ello, la existencia de *Escherichia coli* hallada en agua marina es una manifestación de una infección de aguas excedentes o por residuos de excremento de animales/humanos, ya que puede entrar en contacto con el agua de diferentes maneras.

Los orígenes de infección residuales de las personas y animales simbolizan un enorme riesgo para la salud porque es una elevada posibilidad de que existan intermediarios infecciosos en los sobrantes fecales.

Las playas del Perú son muy visitadas en el verano como acto recreativo pero las personas que más concurren a estas playas deben tener en cuenta que no todas son saludables. Por ende, los bañistas deben tomar conciencia que tiene que ser cuidadas durante y después de ser usadas.¹⁴

Una de las playas más privilegiadas por los limeños de estrato social bajo y provincianos en el verano es La playa de Agua Dulce, ubicada en el distrito Chorrillos con una población de 335.6 habitantes, según INEI.¹⁵ Se encuentra muy cerca una desembocadura de desagüe llamada La Chira, la cual también produce una contaminación al agua de mar. Por ello, es importante determinar los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena en la playa de Agua Dulce y así señalar si realmente es o no un foco infeccioso y esto se logrará determinar de acuerdo con lo normado en la Directiva Sanitaria N° 038-MINSA/DIGESA-V.02.

1.2. Problemas

1.2.1. Problema general:

¿Existirán niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos?

1.2.2. Problemas específicos:

1. ¿Existirán niveles de *Escherichia coli* en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo *E. coli*) en las muestras de agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos?
2. ¿Existirá presencia de *Escherichia coli* en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB)?

3. ¿Existirá presencia de *Escherichia coli* mediante pruebas bioquímicas aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB)?

4. ¿Existirá presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general:

Determinar los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.

1.3.2. Objetivos específicos:

1. Cuantificar mediante medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo *E. coli*) los niveles de *Escherichia coli* en las muestras de agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.
2. Aislar *Escherichia coli* en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).
3. Identificar mediante pruebas bioquímicas *Escherichia coli* aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB).
4. Determinar la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas.

1.4 Justificación

La presente investigación estudia la determinación de los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena en agua de mar de la playa Agua Dulce y el riesgo al que estaría expuesta la población debido a la alta concurrencia de ella en épocas de verano. La investigación cobra importancia debido a que los bañistas desconocen que diversas enfermedades de las que son víctimas en verano son producto de la asistencia a una playa con altos niveles de bacterias en ellas. Las diversas enfermedades que podrían contraer por asistir a una playa contaminada son: infecciones urinarias, infecciones de las vías biliares, gastroenteritis, peritonitis, etc.⁴⁴

Esta investigación servirá de guía para beneficiar a los futuros profesionales en búsqueda de información relacionada al tema tratado.

1.5 Limitaciones metodológicas

La ejecución de la presente investigación evidenció ciertas limitaciones a lo largo de su desarrollo, como el que se podía presentar un contratiempo antes de llegar al laboratorio desde la toma de muestra y que la temperatura controlada salga fuera del rango establecido durante el transporte de la muestra hacia el laboratorio. Además, se tuvo limitaciones operativas en cuanto a la recolección de datos, ya que estos solo se podrían llevar a cabo con una ficha de recolección de datos y obtener un mínimo porcentaje de significancia (5%) en el procesamiento de datos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Estado del arte

Todo estudio de investigación requiere ser refrendado con otros estudios, y para el caso de esta investigación, se han considerado estudios nacionales y extranjeros, los que a continuación se refieren:

2.1.1. Antecedentes nacionales

Benvenuto, V. (2017): “Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de playas de la Costa Verde-Perú”. El objetivo del trabajo fue señalar la existencia de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en el contorno del litoral de la Costa Verde perteneciente a Lima Metropolitana.¹⁴

En el estudio se analizaron 71 muestrarios adquiridos de 15 playas de Costa Verde; por consiguiente, se realizaron los siguientes análisis como herramientas eficaces en esta evaluación: apartamiento en un ambiente de cultivación de selección de Agar Mac Conkey, EMB y TBX, usando pruebas bioquímicas y especificación en serología de las cepas agresivas *Escherichia coli* enteropatógena, utilizando sueros anti-*E. coli* enteropatógena. Los datos obtenidos fueron analizados por el programa Excel 2013 y el sistema SPSS, versión 19, con el fin de abreviar los datos en testimonio estadístico abreviado. Se determinó que del resultado de cien cepas de *Escherichia coli* reconocidas, resultaron positivas 33 cepas para la especificación serológica.¹⁴

Se concluyó que del conjunto de cepas positivas para *Escherichia coli* enteropatógena, dieron positivas 7 cepas para el serogrupo A y 26 cepas dieron positivas para el serogrupo B.¹⁴

Frías, T. (2016): “Evaluación de los parámetros microbiológicos, químicos y físicos en el sector Puerto de Productores Río Itaya, departamento de Loreto del Perú, desde el 2014 al 2015”. El objetivo del presente estudio fue determinar la contaminación de las aguas que provienen de las diversas actividades portuarias, siendo este un problema ambiental frecuente en el Perú, teniendo en cuenta que la contaminación de los ríos es la problemática muy antigua en nuestro territorio (contaminación ambiental), atribuido al aumento de las poblaciones que se asientan cerca de los ríos, además de la ocupación de industrias industrial; por ello, en el presente estudio se evaluaron los parámetros microbiológicos, químicos y físicos relacionando con los patrones nacionales de calidad de ambiente para agua en la jerarquía 4, mantenimiento del entorno marítimo, y con dicha información recopilada poder realizar una proposición para disminuir la elevación de polución en la sección embarcadero de fabricantes río Itaya en el departamento de Loreto. Se recolectaron tres muestras y se seleccionaron tres lugares para recolectar la muestra en un periodo de un año, los meses de diciembre y julio encontrando que en esos periodos hay más concurrencia de los pobladores por los días no laborables. El estudio microbiológico realizado se llevó a cabo mediante el procedimiento de los tubos complejos de transformación (número más probable), el estudio físico químico se ejecutó conforme al parámetro contado.¹⁶

El trabajo concluyó que los parámetros físicos, químicos y microbiológicos se diferencian de los patrones precisados de calidad del ámbito para el agua.¹⁶

Romero, B. (2016): “Concentración de coliformes totales, fecales y *Escherichia Coli* en agua de mar de la playa de Salaverry, Trujillo-Perú”, cuyo propósito fue definir la aglutinación de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en la playa de Salaverry, teniendo como finalidad determinar la contaminación marina, contaminación marina con microorganismos y como influenciaría en los ecosistemas costeros, generándose dicha contaminación por un aumento considerable de las poblaciones, provocando de esta manera una contaminación que puede provocar enfermedades.¹⁷

Las muestras de agua obtenidas fueron analizadas entre los periodos de mayo a noviembre del 2015. Se obtuvieron los resultados mediante el método de Numero Más Probable (NMP) donde el rango para coliformes totales, fecales y para *Escherichia coli* fueron menor a los rangos permitidos.¹⁷

El trabajo concluyó en que todas las muestras no excedieron el Margen Supremo Tolerable, por lo que esta playa fue idónea para ser utilizado como esparcimiento, dando resultados alentadores.¹⁷

Calderón, K. (2014): “Contaminación fecal por enterococos en agua de mar de las playas de Huanchaco y Huanchaquito de agosto 2013 – enero 2014”. Cuyo objetivo fue determinar la categoría de la infección fecal de las playas mencionadas.¹⁸

Las muestras fueron tomadas cada 15 días, donde las muestras habían sido purificadas, e incubadas en agar mE, luego se desarrollaron pruebas bioquímicas de comprobación. En promedio se halló que la playa de Huanchaquito y Huanchaco obtuvieron 216 UFC/100 ml y 72 UFC/100 ml, respectivamente. El procedimiento estadístico ANAVA señala que no existe desigualdad característica entre las playas. Según la directiva peruana sólo Huanchaquito excedería, aunque si se toma en cuenta la norma de la OMS publicada en el 2002, todas excederían el término límite.¹⁸

Se concluyó que Huanchaquito padece de contaminación por heces y se debe tomar en cuenta ejecutar una readaptación de la directiva peruana debido a

que las dos playas no permanecerían totalmente aseadas, gracias a los orígenes de infección dadas para estas playas.¹⁸

Vergaray et al (2007): “*Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima”, cuyo objetivo fue señalar el provecho de *Escherichia coli* y *Enterococcus* como anunciadores de contaminación por heces.¹⁹

En el periodo del muestreo que fue realizado en enero se encontró que el agua de 3 playas eran inaceptables para uso de los servicios higiénicos, según la directiva del Perú; aunque si se toma en cuenta como indicador a *Escherichia coli* y *Enterococcus* todas las playas estarían consideradas inadmisibles. Y del muestreo en julio, dan como resultado que las muestras del agua de las 8 playas eran aceptables, según la directiva del Perú, aunque si se toma en cuenta los indicadores de *Escherichia coli* y *Enterococcus*, 2 playas serian inaceptables, concluyendo que la contaminación fecal se evidencia más en verano.¹⁹

2.1.2. Antecedentes extranjeros

Gómez, J. (2016): “Evaluación de la Calidad del agua en las Playas Turísticas de Puerto Colombia, Atlántico y su relación con las fuentes de contaminación, Barranquilla- Colombia”. El propósito del estudio fue determinar la calidad del agua en las playas turísticas de Sabanilla y Pradomar, en el municipio de Puerto Colombia, Atlántico en diferentes periodos de tiempo, determinando la presencia de bacterias “indicadoras” de la calidad sanitaria del agua²⁰, empleándose la metodología por Juicio de expertos, permitiendo llevar a cabo la construcción del índice, en el cual se identificaron los siguientes parámetros: Coliformes totales, coliformes fecales, oxígeno disuelto, DBO5, pH, temperatura y turbiedad.²⁰

Se arribó a la conclusión de que las playas de Pradomar en los meses 1 y 3 la calidad se ve influenciada por la carga microbiana, cargas en coliformes fecales a razón de la presencia de vertimientos. Por otra parte, en la playa Sabanilla no se identificaron fuentes de contaminación como vertimientos puntuales,

empero, se evidencia que el agua se ve afectada por una cercanía a la desembocadura del río Magdalena, concluyéndose que se halla una relación inversa entre la calidad del agua y el número de turistas que frecuentan estas playas.²⁰

Guevara, C. (2015): “Determinación de la Calidad microbiológica del Agua de 2 playas: El Tunco y el Sunzal, que se encuentran en la ciudad de La Libertad, El Salvador”. El objetivo de la tesis fue evaluar la calidad con respecto a la microbiología del agua de estas playas mencionadas, utilizando a la asociación de bacterias de los grupos coliformes fecales, coliformes totales, *Escherichia coli*, y Bacterias Heterótrofas.²¹

En cada temporada se analizaron 3 distintas distancias de diez, veinte y treinta metros a partir del límite de la playa y se determinó coliformes en las dos playas. Se registró en la asociación de las bacterias antes mencionadas un valor máximo superior en ambas playas, destacando que la totalidad de los promedios altos se inspeccionaron en la playa El Tunco, de igual modo; se registró en la playa el Tunco y el Sunzal la presencia de bacterias como: *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Vibrio parahaemolyticus*.²¹

Se concluye que las playas El Tunco y El Sunzal, no están dentro de los márgenes extremos permitidos por la normativa de México para aguas de empleo de entretenimiento, registrándose altos niveles de contaminación bacteriana.²¹

León, C. (2015): “Evaluación de la calidad sanitaria de cuatro playas recreativas ubicadas en el Nor-oeste mexicano”. El presente estudio tuvo la finalidad de evaluar la calidad sanitaria del agua y de la arena, en los periodos antes, durante y después de Semana Santa en cuatro playas recreativas del Estado de Sonora, teniendo en cuenta que la calidad del agua puede fácilmente alterarse por la contaminación con microorganismos patógenos que ocasionan enfermedades graves en la salud humana. La ubicación de las playas que fueron estudiadas son: municipios de Guaymas (Los Algodones, San Francisco, Miramar) y Empalme (El Cochórit).²²

Se realizó cuatro muestreos: 1) antes, 2) durante, 3) 25 días después y 4) 50 días después de Semana Santa 2014. En cada muestreo se recolectó seis muestras de agua y seis de arena con el motivo de evaluar la concentración de bacterias coliformes totales, coliformes fecales y enterococos, mediante la técnica de sustrato cromogénico definido utilizando sustrato Colilert para coliformes y Enterolert para enterococos. En cada playa estudiada, las concentraciones de estas bacterias en los periodos antes, durante y después de Semana Santa se compararon mediante un análisis de varianza no paramétrico con una significancia de $p < 0.05$. Los resultados obtenidos fueron analizados con el método multivariado de escalamiento multidimensional no-paramétrico (nMDS). Las concentraciones de coliformes y enterococos observadas en el agua de las playas se compararon con los criterios de la Organización Mundial de la Salud para calidad del agua de uso recreativo de contacto primario. Se pudo determinar que en los periodos de muestreo la afluencia de usuarios a las playas fue de 6368 personas con la siguiente distribución: antes (2%), durante (95%) y después (3%) de Semana Santa. Antes de Semana Santa la calidad sanitaria del agua de las playas no presentó riesgos a la salud pública, pero en los periodos durante y después de Semana Santa, el agua de las cuatro playas dio como resultado que no es apta para el desarrollo de actividades recreativas de contacto primario. Lo mismo ocurrió en la arena.²²

Se concluyó que el incremento de la afluencia de usuarios a las playas en Semana Santa afecta negativamente su calidad sanitaria y se recomienda implementar acciones para la prevenir riesgos a la salud pública.²²

Galván, A. (2013): “Calidad Bacteriológica y Riesgo Sanitario de las playas norte de Tuxpan, Ver”, cuyo objetivo fue estimar la calidad del agua de las playas del norte situadas en Tuxpan Veracruz para empleo de entretenimiento con trato primordial, teniendo como finalidad determinar las características químicas, físicas y biológicas del agua, estableciendo de esta manera los posibles riesgos para la salud humana asociada con el fin recreativo del uso del agua de las playas.²³

Para ello, se realizaron 9 puntos de muestreo que son las siguientes: 1) Frente a Restaurant Pinino, 2) Frente a Palapa de Pemex, 3) Frente a destacamento de Salvavidas, 4) Frente a Hotel Marabú, 5) Frente a Hotel Mediterráneo, 6) Frente a la Torre, 7) Frente a Cabaña, 8) Frente a Casa Habitación y 9) Frente a Hotel Isla Tajín. Los muestreos se efectuaron entre los años 2011 y 2012, mensualmente. Posteriormente, para determinar la calidad bacteriológica y el riesgo sanitario se compararon los resultados de enterococos que se obtuvieron con los criterios de clasificación para playas de uso recreativo con contacto primario de la Secretaria de Salud, encargada de la salud del pueblo mexicano.²³

Los resultados más relevantes fueron para el mes de julio que presentó el valor máximo de enterococos con 8505.36263 NMP/100 ml y el valor mínimo de 6.2996 para los meses de junio y diciembre, pero sin embargo, la calidad del agua de las playas se clasificó Apta para uso recreativo y sin riesgo sanitario.²³

Pucci, G. (2013): “Contaminación microbiológica por enterobacterias y coliformes totales de la playa de Stela Maris, Comodoro Rivadavia, Argentina, derivada de los efluentes cloacales”. El objetivo del trabajo fue tasar la infección debido a enterobacterias y coliformes totales concurrentes en la playa antes mencionada, y el periodo de subsistencia de las mencionadas clases en la arena, cuya finalidad es resolver la contaminación antrópica de las playas, siendo el *Escherichia coli*, el microorganismo más prevalente de la familia *Enterobacteriaceae*.²⁴

Se realizó en todas las temporadas durante un año, recolectándose muestras de agua y residuo en dos lugares, a las que se ejecutaron recuentos de enterobacterias, coliformes totales y bacterias mesófilas; a su vez se evaluó la conservación de coliformes totales y enterobacterias a diez grados Celsius mediante recuentos por semanas. Determinando e identificando cepas.²⁴

El trabajo concluyó en que los recuentos de microorganismos resultaron elevados de infección por heces en la playa evaluada. Las enterobacterias y coliformes tienen una elevada rapidez de destrucción por el estrés fisiológico cuando son incluidos en el ámbito marítimo. A pesar de ello, se demostró cierta

estancia de enterobacterias y coliformes en los residuos, pudiendo esta infección dar inicio a una serie de enfermedades humanas.²⁴

Romeu, B. (2012): “Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia Clínica humana aislada en ecosistemas dulceacuícolas de la Habana”. El objetivo fue evaluar la calidad de la microbiología del agua de los ríos Almendares, Quibú y Luyanó de la Habana y la localización de fuentes de contaminación de principio casero.²⁵

Se aislaron ciento trece cepas de *Escherichia coli* de esos tres ríos los que fueron serotipificados. El trío de ríos estudiados mostraron un alto foco infeccioso microbiano, cuyos rangos se hallan por arriba de los valores límite permitidos en la directiva de Cuba. Se hallaron cepas que poseen serotipos convenientes a los patotipos STEC (37%), ETEC (32%), EPEC (8%), EAEC (5%) y UPEC (18 %). Se alcanzó un aumento afirmativo en el treinta por ciento de los aislados analizados para al menos uno de los genes de virulencia investigados. ²⁵

Concluye que el 24% de las cepas analizadas resultaron ser fuertes al menos a uno de los quince antimicrobianos usados y trece cepas (11,5%) exhibieron resistencia ante tres antibióticos o más. El superior número de apartados presentó resistencia ante la ampicilina. El estudio de la variedad de genes de las cepas de *Escherichia coli* establecidas en los 3 ríos calculados demostró que las cepas mostraban patrones genéticos distintos o pulsotipos.²⁵

2.2. Bases teóricas y/o legales

2.2.1. Bases teóricas

2.2.1.1. Contaminación del mar

Las Naciones Unidas ha definido la contaminación en el mar como “La inserción del ser humano, de manera directa o indirecta, de sustancias o energía en el mar, que causan daño a todo ser viviente, son un amenaza para la salud de las personas, debido a la creación de impedimentos para las actividades que se llevan a cabo en el mar (como la pesca), en la disminución de la calidad del agua del mar, y de del uso de esa agua, además disminuyen las probabilidades de recreación.”²⁸

2.2.1.1.1. Contaminación bacteriana del medio marino

En el mar se encuentran bacterias que forman el primer eslabón de las cadenas alimentarias (cadenas tróficas). La existencia de estas bacterias es más recurrente en las aguas pertenecientes a la costa y en menor cantidad en alta mar. La contaminación de las aguas de la parte costera es causada por el aporte de aguas contaminadas en la zona del litoral provenientes emisores submarinos, sitios que desembocan el alcantarillado de las ciudades y los desagües de las industrias.²⁹

Un cuantioso crecimiento de desechos domésticos muy infectados bacteriológicamente por causa del aumento de la población y que, por sistema, terminan en el mar. La base de numerosos procesos bioquímicos está constituida por las bacterias que forman la mayor parte de los metabolismos del medio marino. La proliferación de elementos bacterianos es favorecida por la presencia de materia orgánica.²⁹

2.2.1.2. Calidad del agua

El acto del hombre y también las causas de la naturaleza depende la calidad de cualquier masa de agua, superficial o subterránea. Por lo tanto, la calidad del agua se define mediante la comparación de las propiedades químicas y físicas de un muestreo de agua con unas normas de la calidad del agua o estándares. Hay directivas establecidas para el control del agua potable para aseverar un abastecimiento de agua purificada y beneficiosa que consuma la humanidad; y de esta manera, cuidar la salud de la población. Estos reglamentos se fundamentan regularmente por niveles de toxicidad aprobados de forma científica tanto como para los organismos acuáticos y los humanos.³⁰

La imperfección de la calidad del agua se ha transformado en tema de intranquilidad a nivel ecuménico con el aumento de los habitantes, el crecimiento de la ocupación agrícola, industrial y la advertencia de la modificación climática como origen de considerables cambios en el ciclo del agua. Las amenazas microbiológicas son otro factor que continúa siendo la principal preocupación, tanto en países avanzados como en países que se encuentran en vías de desarrollo; cambio climático, que ocasiona cambios en los patrones de las precipitaciones y en la temperatura del agua, tiempos de sequía rigurosos y alargados, un incremento de las inundaciones, sus consecuencias sobre la calidad del agua y la insuficiencia, predominando de igual forma la consideración de dirigir estas colisiones como parte de las estrategias de gestión del agua; contaminantes que contienen algún químico en el agua considerada buena.³¹

2.2.1.2.1. Descripción de parámetros de calidad de agua

Cuando se habla de los parámetros de calidad de agua se está haciendo referencia a las causas físicas, químicas y microbiológicas:

Factores físicos: la calidad de agua innovada por elementos puede no ser dañina, pero sí cambiaría el aspecto del agua, entre ellas se pueden

encontrar a la turbidez, la temperatura, los sólidos suspendidos, la coloración, etc.³²

Factores químicos: los trabajos industriales producen contaminación al agua cuando hay existencia de metales pesados tóxicos. Además, la ocupación agronómica se vuelve un foco contaminante cuando utiliza fertilizantes que son trasladados a las aguas, principalmente nitritos y nitratos. Asimismo, la utilización inapropiada de agentes para combatir a las plagas ayuda a la contaminación del agua con sustancias dañinas para la salud.³²

Factores microbiológicos: el más grande peligro del agua es el que tiene relación con la adquisición de agua infectada con deposiciones de animales o humanos, sin embargo pueden existir otras vías y fuentes de exhibición característica. Los peligros para la sanidad que se encuentran vinculados con el agua apta para su consumo más extendidos y comunes son las enfermedades infecciosas provocadas por microorganismos perjudiciales para la salud como parásitos, bacterias y virus (por ejemplo, helmintos y protozoos).³³

2.2.1.2.1.1. Descripción de los parámetros físicos

Temperatura. Es considerado como uno de los parámetros físicos más relevantes en el agua, debido a que usualmente influye en la aceleración o en el retardo de la actividad biológica, la precipitación de compuestos, la absorción de oxígeno, los procesos de mezcla, la formación de depósitos y la desinfección. Floculación, sedimentación y filtración.³⁴

Transparencia. Es el margen de la claridad de un cuerpo de agua.³¹

Turbidez. Debido a la existencia de elementos en suspensión, los cuales se encuentran repartidos de manera fina; arcillas, partículas de sílice, materias orgánicas, limo, entre otros. Cuando se aprecia la abundancia de estos componentes es por el grado de turbidez.³⁵

2.2.1.2.1.2. Descripción de parámetros microbiológicos

Un principio de relevancia en la delimitación de la calidad de un cuerpo de agua es la presencia y la extensión de contaminación fecal. Los excrementos poseen una diversidad de microorganismos y formas de resistencia de los mismos, implicando organismos patógenos, que son un peligro para la sanidad de los habitantes cuando entran en contacto con las personas. Un indicador son los resultados obtenidos del examen de muestras de agua para identificar la existencia de microorganismos del grupo coliforme que residen por lo habitual en el intestino de las personas así como de algunos animales de sangre caliente.³⁶

Factores biológicos-bacteriológicos: hay diversidad de organismos que infectan el agua; los infectantes primordiales del agua son las bacterias, los coliformes son una señal biológica de las descargas de materia orgánica, las coliformes totales no son indicadores estrictos de contaminación por heces, pues hay en el entorno como organismos libres, empero, son buenos indicadores microbianos de la calidad del agua.³⁷

2.2.1.3. Grupo coliforme

Son enterobacterias Gram-negativas no esporulados, que poseen aspecto de bastoncillos, aerobios y anaerobios facultativos, con capacidad para fermentar la lactosa a una temperatura de 35°C - 37°C produciendo gas, ácido y aldehído en un periodo de 24-48 horas. Además no forman esporas y son oxidasa negativa.³⁸

Un indicativo de que el agua estaría infectada de materia proveniente de las heces u otro modelo de residuos es la existencia de bacterias coliformes en el abastecimiento de agua. Por lo general, las bacterias coliformes se encuentran en mayor cantidad en los sedimentos del fondo o en la capa superficial del agua.³⁹

Coliformes totales. Hace referencia a todas las bacterias Gram negativas que tienen aspecto de bacilos, con la capacidad de fermentar la lactosa en cultivos a temperaturas de 35°C - 37°C. Dando como resultado la producción de ácido y gas (CO₂) Los cuales son: *Citrobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Enterobacter*.⁴⁰

Coliformes fecales (termotolerantes). Se pueden definir como el grupo de organismos coliformes que pueden fermentar la lactosa desde 44°C hasta 45°C. Los coliformes fecales forman parte de un grupo muy pequeño de microorganismos; los cuales son indicativos de calidad, ya que tienen su origen de las heces.⁴¹ Asimismo, los coliformes fecales forman el grupo de los coliformes totales, sin embargo se pueden diferenciar de los otros microorganismos que hacen parte de este grupo, debido a que son indol positivo.⁴²

Para un análisis de infección por heces se realiza la determinación de coliformes fecales en agua, siendo el más nuevo en determinación de coliformes totales; debido a ello los coliformes fecales son el microorganismo guía usado por muchos laboratorios. Están relacionados a enfermedades gastrointestinales.⁴³

2.2.1.4. Enterobacteriaceae

2.2.1.4.1. Generalidades

La familia de las enterobacterias está conformada por más de cuarenta y siete géneros bacterianos dentro de los cuales están incorporadas varias bacterias no vinculadas con el ambiente del hombre; mientras que otras conservan estrecho vínculo con el individuo.⁴⁴ Sin embargo a pesar de la diversidad de esta familia son menos de veinte las especies causales del 95% de los contagios.⁴⁵ Se alojan estos bacilos gram negativos habitualmente en la parte gastrointestinal del hombre y de los animales, sin causar alguna enfermedad. Estas

enterobacterias a veces son responsables de neumonías, infecciones urinarias, bacteriemias, formación de abscesos, gastroenteritis, meningitis, y demás. También las enterobacterias son una de las primordiales fuentes de infección nosocomial. La especie *Escherichia coli* está dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, este microorganismo es responsable de ser el motivo más habitual de gastroenteritis bacteriana y de infecciones urinarias en personas saludables. (Tabla N° 01).

Tabla N° 01: Principales especies de enterobacterias de interés médico.

<p>Especies comensales más importantes (Oportunistas potenciales)</p>	<p><i>Citrobacter diversus</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Morganella morganii</i></p>	<p><i>Pantoea agglomerans</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Providencia alcalifaciens</i> <i>Providencia rettgeri</i> <i>Providencia stuartii</i> <i>Serratia marcescens</i></p>
<p>Especies patógenas (Todas)</p>	<p><i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i></p>	<p><i>Salmonella bongori</i> <i>Salmonella choleraesuis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i></p>

Fuente: Microbiología Médica. 6^{ta} Ed., 2006.⁴⁵

Los géneros de esta familia se enlistarán a continuación.⁴⁵

Tabla N° 02: Géneros de la familia *Enterobacteriaceae*.

<i>Alterococcus</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Proteus</i>
<i>Aranicola</i>	<i>Ewingella</i>	<i>Providencia</i>
<i>Arsenophonus</i>	<i>Grimontella</i>	<i>Rahnella</i>
<i>Averyella</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Raoultella</i>
<i>Brenneria</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Buchnera</i>	<i>Kluyvera</i>	<i>Samsonia</i>
<i>Budvicia</i>	<i>Leclercia</i>	<i>Serratia</i>
<i>Buttiauxella</i>	<i>Leminorella</i>	<i>Shigella</i>
<i>Candidatus</i>	<i>Margalefia</i>	<i>Sodalis</i>
<i>Calymmatobacteri</i>	<i>Moellerella</i>	<i>Tatumella</i>
<i>Cedecea</i>	<i>Morganella</i>	<i>Thorsellia</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Obesumbacterium</i>	<i>Tiedjei</i>
<i>Cronobacter</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Trabusiella</i>
<i>Dickeya</i>	<i>Pectobacterium</i>	<i>Wigglesworthia</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>Photorhabdus</i>	<i>Xenorhabdus</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Plesiomonas</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Pragia</i>	<i>Yokenella</i>

Fuente: Microbiología Médica. 6^{ta} Ed., 2006.⁴⁵

2.2.1.4.2. Características bioquímicas e identificación

En la familia *Enterobacteriaceae* se observó que está constituida por varios integrantes, los cuales pueden ser *Salmonella*, *Escherichia*, *Yersinia*, *Shigella*, y demás., las que se diferencian por fermentar la glucosa, no producen esporas, son competentes en crecer tanto en aerobiosis y de igual forma en anaerobiosis (anaerobios facultativos), producir catalasa, no producir oxidasa, reducir nitratos a nitritos (con excepción de ciertas cepas pertenecientes al género *Erwinia*, *Yersinia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, y demás).⁴⁵

2.2.1.5. *Escherichia*

La *Escherichia coli* es la especie aislada más frecuente, dentro del género *Escherichia* que se clasifica en 7 especies.

Tabla Nº 03: Especies del género *Escherichia*.^{46, 47}

Género	Especies
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia adecarboxylata</i> <i>Escherichia albertii</i> <i>Escherichia blattae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Escherichia fergusonii</i> <i>Escherichia hermannii</i> <i>Escherichia vulneris</i>

Fuente: List of prokaryotic names with standing in nomenclature, 2006.⁴⁶ y Biochemical properties of a newly described *Escherichia* species, *Escherichia albertii*, 2003.⁴⁷

2.2.1.5.1. *Escherichia coli*

2.2.1.5.1.1. Historia

Escherichia coli, originalmente llamada “*Bacillus coli communis*”, fue aislado por primera vez de las heces de un niño en 1885 por el alemán, pediatra y bacteriólogo Theodor Von Escherich, fue nombrado *Escherichia coli* después de su muerte. Hoy en día es la bacteria mejor estudiada; es un habitual residente del tracto gastrointestinal tanto de los animales como de los seres humanos. Hay cepas de *Escherichia coli* que resultan ser comensales inofensivos del tracto intestinal y algunos que son patógenos importantes de los seres humanos y animales. *Escherichia coli* patógena se divide en las cepas que causa la enfermedad en el

tracto gastrointestinal y algunos son capaces de infectar a otros lugares anatómicos del cuerpo humano. *Escherichia coli* se cultivan fácilmente en el laboratorio clínico; sin embargo para poder identificar a los diversos genotipos patógenos se necesita de procedimientos de detección de genes de virulencia. El microorganismo se puede encontrar secundariamente en el agua y en el suelo como resultado de contaminación por heces. Por lo general, la confirmación de su presencia se ha empleado como una señal de agua pobre y calidad de los alimentos.^{48 – 50}

2.2.1.5.1.2. Habitat

Escherichia coli es una de las especies de la microbiota anaerobia facultativa del tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente y que se descarta por los excrementos. Aunque es considerado el microorganismo facultativo que predomina simboliza un mínimo tamaño de la cantidad general de bacterias en ese lugar anatómico. *Escherichia coli* es empleada como señal de infección por heces. Es hallado en el medio ambiente ya que tiene la capacidad de resistir ciertos días en los alimentos y en el agua, de forma tal que su presencia es una señal de infección por heces contemporánea.⁴⁸

El intestino del hombre es invadido por *Escherichia coli* en las primeras 40 horas posteriores a su nacimiento, de manera tal que la bacteria se ingiere en alimentos y agua o es obtenida de forma directa otras personas en contacto con la criatura. La bacteria se une al moco que cubre el intestino grueso y una vez una misma cepa se establece puede permanecer ahí indefinidamente.^{9, 51}

2.2.1.5.1.3. Morfología

Escherichia coli son bacilos gramnegativos (Ver Fig. N° 01) de tamaño intermedio (0,3 a 1 a 6 μm), es móvil con flagelos peritricos que rodean su cuerpo, y no forma esporas. Todas las especies de *Escherichia* tienen la capacidad de desarrollarse velozmente de forma aerobia o anaerobia (anaerobios facultativos) en medios enriquecidos (como el agar sangre) y selectivos (Por ejemplo: Mac Conkey).⁵¹⁻⁵³

Escherichia coli tiene capacidad de movimiento mediante flagelos (antígeno H) son aquellas formas filiformes que pueden medir varias micras. Además cuenta con fimbrias (antígeno F) que son formas más reducidas, no poseen movimiento, sin embargo por contar con naturaleza proteica, cuenta con propiedades antigénicas y hemo aglutinantes. Además, tiene una pared celular (antígeno O) que se compone por lipopolisacáridos, esta pared es extremadamente antigénica y tiene la propiedad de segregar endotoxinas. Por último, *Escherichia coli* cuenta con una capsula (antígeno K) que le da ayuda contra la fagocitosis y la acción inmunitaria primaria.⁵⁴

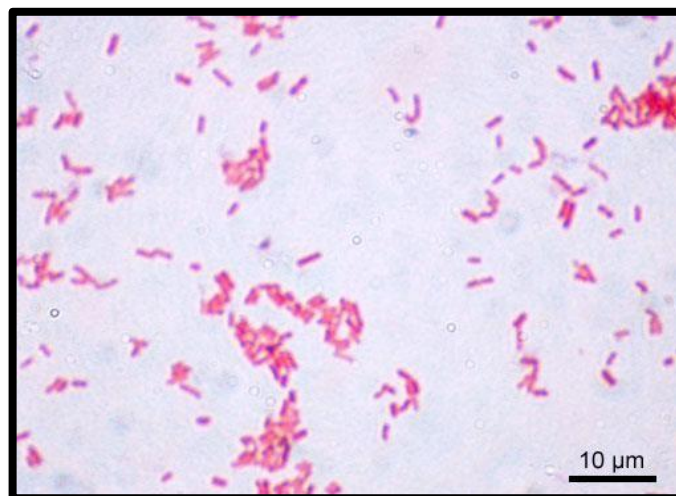


Figura N° 01: Tinción de *Escherichia coli* Gram Negativo.

Fuente: Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. 2002.⁵⁴

2.2.1.5.1.4. Morfología colonial

La colonización de la bacteria en estudio puede cambiar dependiendo del medio de cultivo donde se prolifere. Por ejemplo, en el medio de cultivo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Ver figura. N° 02A, 2B), se observa colonias con coloración verde-metálico, lo cual es típico de *Escherichia coli*, debido a que existen otras bacterias que logran realizar este color es muy tenue y escaso.⁵⁵

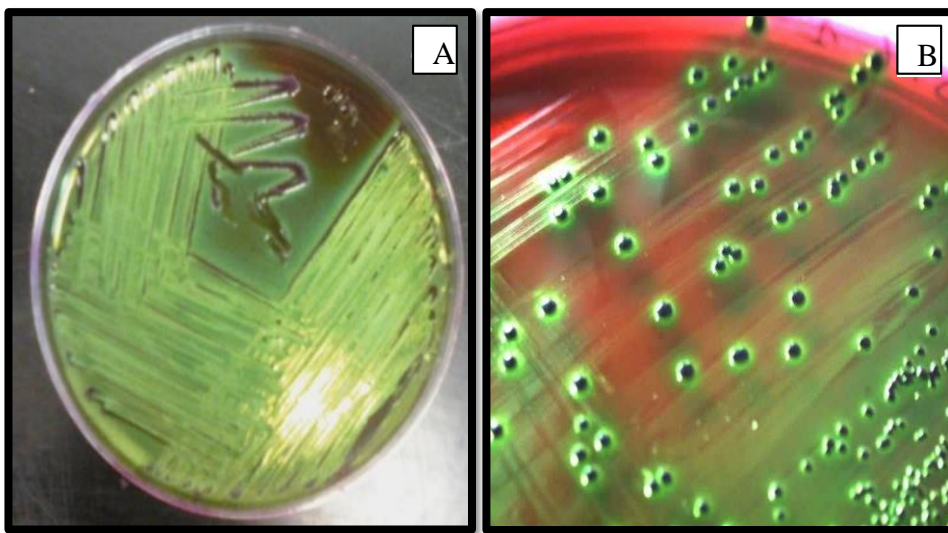


Figura N° 02: A y B. Colonias color verde metálico característico de *Escherichia coli* en medio de cultivo EMB.

Fuente: Microbiología médica. 6^{ta} ed. 2009.⁵⁵

2.2.1.5.1.5 Componentes estructurales de la pared celular del género *Escherichia*

La pared de *Escherichia coli* contiene tres constituyentes que se localizan en la parte externa de la capa de peptidoglucanos: membrana externa, lipopolisacáridos y lipoproteínas.

Membrana externa. Es una estructura con doble capa cuya hoja interna cuenta con una composición parecida a la de la membrana

celular, mientras que la hoja externa cuenta con distintos lipopolisacáridos.⁵¹

Lipoproteínas. Las lipoproteínas son las proteínas más abundantes desde el punto de vista numérico en la *Escherichia coli* (casi 700 000). La función de las lipoproteínas es afianzar la membrana externa y situarla en la capa de peptidoglucanos.⁵¹

Lipopolisacáridos. Los lipopolisacáridos constituyen el antígeno O y la endotoxina de la *Escherichia coli*. Se encuentran ubicados en la membrana externa y cumplen un papel muy primordial en la patogénesis de las infecciones.⁵¹

2.2.1.5.1.6. Heterogeneidad antigénica

La heterogeneidad antigénica se realiza por medio de la variación genética de los antígenos superficiales. Existe más de ciento cincuenta tipos de *Escherichia coli* O y más de cien tipos de *Escherichia coli* k (capsular).⁵¹

Tabla N° 04: Serotipos de *Escherichia coli* diarreagénicos en humanos.⁵⁴

ETEC	EIEC	EPEC	EAEC	STEC				
O6:H-	O28ac:H-	O18	O3:H2	O1:MN	O23:H7	O85:H10	O117:H7	O165:H-
O6:H16	O29:H-	O26:H-	O15:H18	O1:H1	O23:H16	O85:H23	O117:H7:K1	O165:H10
O8:H-	O112ac:H-	O26:H11	O44:H18	O1:H2	O25:H-	O86:H10	O117:H14	O165:H19
O11:H27	O124:H-	O55:H-	O77:H18	O1:H20	O25:H11	O88:H-	O117:H19	O165:H25
O15:H11	O124:H7	O55:H6	O86:H-	O1:HNT	O26:H-	O91:H-	O118:H16	O166:H15
O20:H-	O124:H30	O55:H7	O111:H21	O2:H1	O26:H2	O91:H10	O118:H30	O166:H28
O25:H-	O135:H-	O86:H-	O127:H2	O2:H2:K1	O26:H8	O91:H14	O119:H-	O168:H-
O27:H-	O143:H-	O86:H34	ONT:H10	O2:H6	O26:H11	O91:H21	O119:H5	O169:H-
O27:H7	O144:H-	O111:H-		O2:H7	O26:H21	O98:H-	O120:H19	O171:H2
O27:H20	O152:H-	O111ab:H2		O2:H27	O26:H32	O98:H-	O121:H-	O172:H-
O80	O167:H5	O119:H6		O4:H40	O27:H-	O98:H8	O121:H8	OX3:H2
O85:H7		O125ac:H21		O5:H-	O39:H4	O103:H-	O126:H-	ONT:H21
O114:H21		O126:H-		O5:H16	O39:H8	O103:H2	O126:H2	ONT:H25
O115:H21		O126:H2		O6:H-	O45:H-	O103:H4	O126:H8	ONT:H28
O126:H9		O126:H27		O6:H1	O45:H2	O103:H6	O126:H21	ONT:H47
O128ac:H27		O127:H21		O6:H29	O45:H7	O103:H25	O126:H27	OR:H-
O139		O128ab:H2		O8:H-	O50:H-	O104:H7	O128:H12	OR:H20
O148:H28		O128:H12		O8:H14	O55:H-	O109:H2	O137:H41	OR:H21
O149:H4		O142:H6		O8:H21	O55:H6	O110:H-	O141:H-	
O149:H10		O158:H23		O9ab:H-	O55:H7	O110:H19	O144:H-	
O153:H45				O11:H49	O55:H10	O111ab:H-	O145:H-	
O159:H-				O14:H-	O55:H?	O111:H2	O145:H16	
O159:H4				O15:H-	O60:H-	O111:H7	O145:H25	
O159:H20				O15:H27	O65:H16	O111ab:H8	O145:H28	
O166:H27				O16:H-	O70:H11	O111:H34	O146:H-	
O167:H5				O16:H6	O73:H34	O111:HNT	O146:H21	
O169:H41				O17:H18	O75:H-	O112:H21	O146:H28	
O173:H-				O18:H-	O75:H5	O113:H2	O150:H10	
				O18:H?	O76:H19	O113:H4	O153:H2	
				O20:H7	O79:H7	O113:H53	O153:H25	
				O21:H5	O80:H-	O114:H4	O154:H-	
				O22:H-	O82:H-	O114:H48	O157:H-	
				O22:H1	O82:H8	O115:H18	O157:H7	
				O22:H8	O83:H1	O116:H19	O161:H-	
				O22:H40	O84:H2	O117:H-	O163:H19	
ETEC E. coli enterotoxigenica				EAEC E. coli enteroagregativa				
EIEC E. coli enteroinvasiva				R. rugosa				
NT: no tipificable. EPEC E. coli enteropatogena				STEC E. coli productora de toxina shiga				
Modificado de: Bopp C. et al ¹ , Esteva C. et al ² , Nataro J et al ³ y World Health Organization ⁴								

Fuente: Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*; 2002.⁵⁴

2.2.1.5.1.7. Taxonomía

Esta bacteria se encuentra dentro del género *Escherichia*, además de formar parte de la tribu *Escherichieae*, correspondiente a *Enterobacteriaceae* como se puede notar en la figura N° 03.⁵⁶

Estas bacterias pueden transmitirse de forma indirecta a través de alimentos o agua contaminada. En la actualidad, comprenden

distintas cepas con la capacidad de ocasionar diferentes episodios de gastroenteritis.

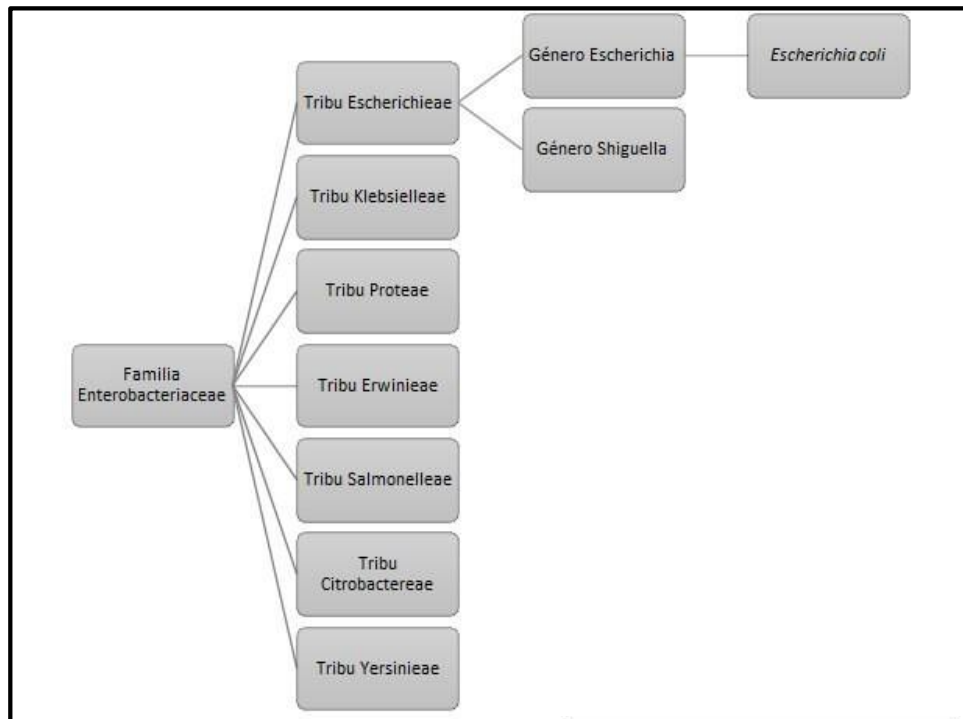


Figura N° 03: Taxonomía de *Escherichia coli*.⁵⁶

Fuente: Diagnostico Microbiológico. Texto y atlas color. 6^{ta} Ed., 2006.⁵⁶

2.2.1.5.1.8. Factores de virulencia

Los determinantes o factores de virulencia son propiedades bioquímicas, estructurales o genéticas de las bacterias que interactúan con factores del que lo hospeda y originan daño.^{56, 57}

Kauffman en 1947 logró desarrollar un esquema de serotipificación denominado "Kauffman- White"; en este esquema se sugiere una manera de distinguir las cepas de *Escherichia coli*; la tipificación serológica se basa primordialmente en la especificación del tipo de antígeno "O", "K" y "H".⁵⁸

En la actualidad se conocen 173 antígenos somáticos (O), 72 antígenos capsulares (K) y 53 antígenos flagelares (H). El antígeno somático delimita el serogrupo y la delimitación del O: H muestra el serotipo, el cual se relaciona con un cuadro clínico en específico;^{57,}

⁵⁸ por otro lado, los antígenos O y K cuenta con características antifagocitarias e inhibidoras de las sustancias bactericidas del suero. Poseen una endotoxina ligada al polisacárido (al lípido A), responsable de la acción pirógena.⁵⁸⁻⁶²

En los estudios epidemiológicos y de patogénesis de *Escherichia coli* esta forma para clasificar la parte serológica resultó ser muy beneficioso debido a que facilitó la diferenciación entre cepas virulentas e inocuas.⁵⁷

2.2.1.5.1.9. Patología- Síndromes clínicos

Las infecciones urinarias debido al microorganismo *Escherichia coli* son las infecciones más frecuentes. Además también puede ser el causante de infecciones de las vías biliares, meningitis neonatal, gastroenteritis, neumonía, y peritonitis, y demás.⁹

Aunque *Escherichia coli* forma parte de la flora comensal también puede ser el responsable de originar infecciones en contadas ocasiones, como son el desplazamiento desde el intestino hasta el tracto urinario, originando infecciones del tracto urinario.⁶³

Son muchos los síndromes clínicos que pueden estar siendo causados por *Escherichia coli*, entre ellos destacan los siguientes:

- **Infecciones urinarias**

Escherichia coli es un patógeno oportunista identificado en mayor cantidad en infecciones urinarias, identificándose como el culpable de todas las infecciones del tracto urinario conseguido en la comunidad ⁶⁴ y de la mayor parte de las adquiridas en el hospital. Las infecciones del tracto urinario son usualmente infecciones ascendentes provocadas por cepas presentes en la flora normal intestinal que representan factores de virulencia que les da la facilidad para invadir, colonizar y lesionar el tracto

urinario causando bacteriuria asintomática, cistitis o pielonefritis.⁴⁴

- **Gastroenteritis**

Escherichia coli se separó primeramente como intermediario ejecutor de diarrea infantil en 1920.⁶⁵ Por diversidades distintas de *Escherichia coli* pueden ocasionarse las infecciones intestinales, las cuales a su vez tienen distintos mecanismos patogénicos y se pueden dividir en 6 agrupaciones.

- **ECET: *Escherichia coli* enterotoxigénica**
- **ECEH: *Escherichia coli* enterohemorrágica**
- **ECEI: *Escherichia coli* enteroinvasiva**
- **ECEA: *Escherichia coli* enteroagregativa**
- **ECAD: *Escherichia coli* de adherencia difusa**
- **ECEP: *Escherichia coli* enteropatógena**

- **Meningitis neonatal**

Escherichia coli, unido a la *Listeria monocytogenes* y *Streptococcus agalactiae*, simbolizan el fundamento más frecuente de meningitis neonatal; el 75% de las cepas causales tienen el antígeno capsular K1. Se cree que el antígeno capsular K1 otorga insuficiente inmunogenicidad, lo que aminoraría la debilidad de estas cepas a la lisis por el complemento.⁴⁴ Sin embargo, es usual la invasión de los lactantes por *Escherichia coli* en el instante del alumbramiento, el padecimiento surge parcialmente poco común, pero si se ocasiona puede llevar a complejidades neurológicas severas o al deceso.⁶⁶

- **Septicemia- bacteriemia**

Conforme a un análisis ejecutado por la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica, *Escherichia coli* es el primer origen de bacteriemia de adquisición comunitaria (29%) y una de los primordiales motivos de bacteriemias nosocomiales (5,7%).⁴⁴

El foco de infección a partir de que los microorganismos se extienden al flujo sanguíneo, se ubica frecuentemente en el tracto urinario o en el tracto gastrointestinal. La mortalidad por septicemia a causa de *Escherichia coli* necesita de la enfermedad subyacente del paciente y la fuente de infección, y es considerablemente más elevada en los enfermos con infecciones por perforación intestinal o inmunodeprimidos.⁴⁴

- **Otras infecciones**

Además es intermediario en infecciones biliares, peritoneales, por cualquiera de las infecciones segregada, las cuales pueden ser: colangitis, peritonitis, colecistitis, infección de partes blandas, endoftalmitis, otitis, empiema, artritis, osteomielitis, neumonía, etc.⁴⁴

2.2.1.5.1.10. Identificación de *Escherichia coli*

Se tiene el propósito de determinar las cepas patógenas de *Escherichia coli* de las demás cepas no patógenas, y localizar desigualdades entre los distintos grupos patógenos de esta especie; hay procedimientos de organización intra específicos. Aunque, no hay un procedimiento ideal y frecuentemente se establecen de los recursos imprescindibles para emplear distintos procedimientos.²⁵ Hay métodos como:

- Métodos fenotípicos: biotipado, serotipado, antibiograma y ensayos de adherencia en cultivos celulares, nos permiten localizar características manifestadas por los microorganismos.

- Métodos genotípicos: reacción de la cadena polimerasa (PCR), electroforesis en campo pulsado (ECP), análisis plasmídicos, análisis de enzimas de restricción (REA), etc.

2.2.1.5.1.11. Clasificación

Actualmente se determinaron al menos seis categorías de *Escherichia coli* que ocasionan diarreas en las personas *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregante (EAEC), de adherencia difusa (DAEC) y enteropatógena (EPEC).⁶⁷

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

En los niños pequeños ocasionan una enfermedad habitualmente y muestra un elevado indicativo en los viajeros, porque se localiza repetidamente en países subdesarrollados; se contagia por vía oral, en otras palabras, por adquisición de alimentos o agua contaminados.⁶⁹

En general, los síntomas tienden a ser leves, con diarrea acuosa, puede estar acompañado con fiebre, escalofríos y vómitos. La enterotoxina estimula la secreción masiva de líquido por las células mucosas.⁶⁸ Su toxicidad se obtiene por dos enterotoxinas, una termoestable (ST) y otra termolábil (LT), asimismo tiene fimbrias, que ejecutan como antígeno de adherencia o factores de colonización.⁶⁹

- *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

Es aquella cepa de gran consideración a nivel epidemiológico y médico debido que es creadora de la toxina Shiga (STEC), causa

distintas enfermedades graves en el individuo como la colitis hemorrágica (CH), y púrpura trombocitopénica trombótica (PPT), que origina un síndrome urémico hemolítico (SUH), que es ejecutora de morbilidad y mortalidad en adultos e insuficiencia renal aguda en niños.⁷⁰

Fue descubierto como patógeno en 1982, siendo la STEC O157:H7 el causante de diferentes apariciones mundialmente, se sabe que su primordial reservorio frecuentan ser la manada ovina y vacuna, y se contagia por vía oral ya sea por consumir de vegetales o alimentos contaminados, por la relación directa del individuo con animales contagiados o con otros habitantes contagiados, es decir, debido a la disminución de dosis infecciosas que tiene esta agrupación bacteriana (100 bacterias/g).⁷¹

Están constituidos por una organización de tipo A1B5, la cual abarca una subunidad A catalítica de 32 kDa afiliada no covalentemente con un pentámero de subunidad B que se encuentra incluido en la fusión de la toxina a los receptores específicos de glucolípidos en la superficie de las células diana.⁷² Actualmente se muestra una variación de esta toxina, la STX 1 y la STX 2, las que pueden diferir en una consecuencia citotóxica. Asimismo, STX 2 es más dañina en personas y eleva el peligro de SUH.^{73, 74}

También, otra causa que se vincula con la patogenicidad de la bacteria es el gen *intimina*, se localiza afiliada a la unión íntima de las bacterias a los enterocitos estimulando el fenómeno llamado como "adherencia y destrucción" (lesión A/E).^{58 – 60}

- ***Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)**

Es la cepa que perjudica al total los grupos étnicos especialmente en países subdesarrollados, y su infección se ocasiona por

consumir agua o alimentos contaminados. Sin embargo no se saben manifestaciones habituales de este tipo de cepa, se conoce que figuran hasta el cinco por ciento de los sucesos agrupados a epidemias provocadas por *Escherichia coli* patógeno, asimismo esta cepa se esparcen entre las células intestinales, causando una diarrea sanguinolenta semejante a la disentería.⁷⁵

- ***Escherichia coli* enteroagregante (EAEC)**

Suele mostrarse esta cepa en niños en los países subdesarrollados, asimismo es la causante más usual de diarrea insistente en lactantes. Según Nataro y Scaletsky descubrieron cepas aisladas de pacientes con diarrea, las cuales por prueba serológica no pertenecerían al grupo EPEC, pero si mostraban un patrón propio de adherencia distinto.⁵⁸ En los siguientes estudios se hallaron el fenotipo de adherencia agregativa, diferenciada por autoaglutinación de las bacterias entre ellas mismas y por no ser específica.⁶¹

- ***Escherichia coli* de adherencia difusa (DAEC)**

Una de las últimas cepas en explicarse, la cual predomina en niños pequeños de cuatro o cinco años.¹⁸

Se conoce poco de su mecanismo de patogenicidad.⁶²

El grupo DAEC se puede aislar tanto a partir de muestras de individuos saludables como de personas con diarrea, siendo más considerables en niños de cuatro o cinco años.^{58, 62}

2.2.1.6. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)

Se producen con constancia en países subdesarrollados, se comienza a analizar desde un brote ubicado en Inglaterra a mediados de los cuarenta. Los habitantes infantiles menores de dos años fueron los más susceptibles

a la infección con una elevada predominación en lactantes hasta los seis meses y con una numerosa mortalidad.⁷⁶ Ninguna toxina es ocasionada por esta bacteria, esta diversidad ocasiona una diarrea acuosa, fiebre y con vómito.⁵⁴

2.2.1.6.1. Historia

Escherichia coli enteropatógena ha sido el principal patotipo de los seis en detallarse y es quizás, uno de los microorganismos mayormente analizado. A mitad del decenio de los 40, se reconocieron en Inglaterra brotes de diarrea en infantes de guarderías afiliados a *Escherichia coli*. Las bacterias fueron llamadas enteropatógenas (ECEP) para distinguir a este ejemplo virulento de la flora normal. A partir del año mil novecientos noventa y cinco, esta palabra se emplea para detallar cepas que realizan un perjudicial histológico típico en las células epiteliales famosas como “efecto de adhesión y barrido” (*attaching and effacing*, A/E) y no fabrican toxinas Shiga.^{77 – 79}

2.2.1.6.2. Epidemiología de *Escherichia coli* patógeno en el mundo y Perú

Se distribuye universalmente, siendo de particular interés en los lugares con clima tropical y en países en vías de desarrollo, en sitios con acumulación y con incorrectas situaciones de limpieza. Estuvo vinculado con brotes de diarrea en guarderías y hospitales infantiles y en naciones subdesarrollados; es el primordial foco infeccioso que produce diarrea en época veraniega entre población pediátrica, en donde se ha evaluado que origina entre el treinta y cuarenta por ciento de los sucesos de diarrea infantil. Un dato interesante es que muestra predilección por niños menores de 6 meses de edad alimentados con biberón, con un pico entre niños menores de 2 años de edad, lo que sugiere cierta protección en los niños alimentados al seno materno. Otros grupos de edad afectados son el

recién nacido y el adulto. El estado de portados asintomático es común (entre el 17 y el 20 %). La transmisión es fecal–oral, por las manos infectadas y probablemente por el aire.⁵⁵

El Ministerio de Salud, en el 2013 difundió un aviso para prevenir a los habitantes sobre la entrada al país de productos enlatados los que se encontraban infectados con *Escherichia coli* patógeno, donde a nivel universal que dio la FDA (Food and Drug Administration) sobre la pizza congelada Stuffed Crust Pizza Dippers y los snacks Mozzarella Bites al horno; donde señala que la sociedad encomendada de elaborar estos alimentos había decidido su apartamiento del mercado por deseo privativo. El aviso señalaba que la empresa ya había ejecutado la oferta de estos productos al Perú e inducía a las empresas que comercializan a separar del mercado de nacionalidad peruana estos productos y colocarlos a la orden de la esencia peruana con el fin de ejecutar su expulsión.⁸⁰

2.2.1.6.3. Esquema patogénico de *Escherichia coli* enterovirulentas

En el Perú, se han emitido informes (sin identificación mediante métodos moleculares) de Predominio de EPEC en criaturas y se señala que ésta cambiaría del uno al veintiocho por ciento.⁸¹

Tabla N° 05: Predominio de EPEC en criaturas de nacionalidad peruana con diarrea fundamentada en procedimientos de diagnóstico no moleculares.⁸¹

Referencia	Población/Descripción del estudio	Prevalencia de EPEC
------------	-----------------------------------	---------------------

Salazar – Lindo, 2004	179 niños hospitalizados con diarrea aguda (3 a 36 meses de edad). Ensayo clínico de <i>Lactobacillus</i> .	15.4
Salazar – Lindo, 2000	135 niños hospitalizados con diarrea aguda (3 a 35 meses de edad). Ensayo clínico Racecadotril.	19.3
Salazar – Lindo, 1998	36 niños hospitalizados con diarrea persistente (18 meses de edad en promedio) 64 niños hospitalizados con diarrea aguda (14 meses de edad promedio)	8.3 1.5
Castro – Rodríguez, 1997	80 niños hospitalizados con diarrea acuosa (3 a 24 meses de edad)	27.8
López, 1996	107 pacientes hospitalizados con diarrea persistente (< 1 año de edad)	10.5
Figueroa – Quintanilla, 1993	107 pacientes hospitalizados con diarrea persistente (< 1 año de edad)	26.9
Lanata, 1992	327 muestras de niños con diarrea aguda 304 muestras de niños con diarrea persistente Estudio longitudinal de diarrea aguda y persistente en niños con diarrea < 3 años de edad en área peri-urbana de Lima	3.4 4.9
Salazar – Lindo, 1993	72 niños con diarrea (10 meses de edad en promedio). Estudio clínico de Retinol y diarrea.	4.2
Greenberg, 1991	77 niños con diarrea aguda (< 5 años de edad). Estudio de diarrea asociada a sarampión.	22.1
Pazzaglia, 1991	391 niños hospitalizados con diarrea aguda (< 18 meses de edad). Estudio clínico de <i>Aeromonas</i> (datos de referencia)	11.0

Fuente: Alcances sobre la situación epidemiológica de las *Escherichia coli* diarrogénicas aisladas de niños peruanos.2017.⁸¹

2.2.1.6.4. Mecanismo de acción

La interacción entre ECEP y las células del comensal se ha fraccionado por los expertos en 3 estadios primordiales: a) adherencia inicial, b) transducción de señales y c) anclaje íntimo.⁸²

A la adhesión de la ECEP a la membrana de las células epiteliales, es conocida como “adherencia y esfacelamiento” (A/E).⁵⁴

Cuando la bacteria está asociada al enterocito incita un proceso de indicaciones intracelulares que son producidas por una agrupación de proteínas segregadas por el aparato de secreción tipo III y son translocadas hacia el enterocito, estas indicaciones tienen una representación significativa en la patogenicidad de ECEP.⁸²

Las consecuencias contiguas que se incitan en la transducción de señales mientras la patogénesis de ECEP adjunta modificaciones a nivel intracelular que influyen con la función fisiológica regular de la célula intestinal, suponen que estas modificaciones son los causantes de la diarrea acuosa.⁸²

2.2.1.6.5. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena

Para identificar *Escherichia coli* se realizan exámenes bioquímicas en tubo como TSI, LIA, MIO, urea, sorbitol, citrato, rojo de metilo, mucato, caldo manitol-rojo de fenol y malonato.

En los hospitales y laboratorios que tienen los antisueros polivalentes de tipo A, B o C de EPEC se desarrolla el examen de aglutinación en infantes con diarrea, principalmente de 1 año.⁵⁴

En los laboratorios clínicos para identificar al ECEP se fundamentan en describir los serotipos por aglutinación con antisueros H y O.⁸¹

La variación genética para la identificación de los antígenos de la *Escherichia coli* enteropatógena. Tabla N°06 son:

Tabla N°06: Tipos de *Escherichia Coli* Enteropatógeno A y B.

Polivalente A	Polivalente B
<i>Escherichia coli</i> 026	<i>Escherichia coli</i> 0114
<i>Escherichia coli</i> 055	<i>Escherichia coli</i> 0125
<i>Escherichia coli</i> 0111	<i>Escherichia coli</i> 0142
<i>Escherichia coli</i> 0119	<i>Escherichia coli</i> 0158

Fuente: Microbiología Médica. 6^{ta} Ed., 2006.⁴⁵ y Microbiología Médica. 6^{ta} Ed. 2009.⁵⁵

Otro método de identificación es la tinción de Gram, que fue inventada hace más de 100 años por Hans Christian Gram, suele utilizarse con mayor frecuencia para el estudio microscópico directo de muestras y subcultivos.⁵⁶

2.2.1.6.6. Cuadro clínico

Clínicamente la enfermedad es caracterizada por diarrea aguda, acuosa profusa con moco, se acompaña por fiebre no muy intensa y vómito, especialmente en bebés y lactantes.⁴⁸

Después de la colonización del intestino delgado los síntomas se desarrollan en un periodo de infección de 1 a 2 días. Aunque se autolimita (por lo menos de 5 a 15 días), la diarrea por ECEP puede persistir por semanas.⁸³

2.2.1.6.7. Diagnóstico

El diagnóstico se puede realizar mediante el cultivo a partir de los excrementos y la serotipificación de las cepas aisladas. La serotipificación sólo se recomienda con fines epidemiológicos.⁸⁴

2.2.1.6.8. Tratamiento

Este fundamentalmente se orientará a la corrección de la deshidratación y las complicaciones derivadas de ésta. Pocos datos

existen acerca de la utilidad de antibióticos en la terapia adjunta a la rehidratación y su uso aún es controversial.

Las excepciones son el recién nacido y el desnutrido de tercer grado, que tiene mayor riesgo de desarrollar las formas severas y graves de la enfermedad. La gentamicina parenteral, colistín (colimicina) y neomicina oral pueden reducir la morbimortalidad.⁸⁴

2.2.2. Bases Legales

Según la Guía Técnica “Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación” (RM N° 553-2010/MINSA)²⁶ se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- a) Para la realización de la correspondiente toma de muestra:
 - La tapa del envase y de igual manera el papel que lo protege deben estar levemente flojos, ambos serán manejados como una unidad y siempre se debe evitar que se logre contaminar la tapa o el cuello del frasco.
 - El frasco se debe introducir con la boca hacia abajo y debe llegar a una profundidad de 30 cm de la superficie.
 - El frasco se debe llenar hasta que sobre 1/3 de volumen libre y posteriormente se tapaná.
- b) Las anotaciones en la cadena de custodia, la codificación de campo de la muestra y la hora se deben realizar en la orilla de la playa.
- c) Los datos serán llenados en la etiqueta del envase junto con la fecha y la hora del muestreo, identificación de la muestra y las iniciales de la persona que realizó el muestreo.
- d) Posteriormente se procede a medir la temperatura del agua y del ambiente y esos datos se registran en la cadena de custodia.
- e) En la caja conservadora se guardan los frascos con las muestras, para poder ser transportados al laboratorio. Se debe tener en cuenta que siempre deben mantenerse las muestras a 4°C durante su transporte hasta su llegada al lugar de análisis.

- f) Las muestras deben ser trasladadas de forma inmediata al lugar de análisis. Es de suma importancia considerar que el tiempo para su traslado no puede ser superior a 6 horas a partir de que se tomó la muestra hasta la realización de la primera prueba.

De acuerdo con la Directiva Sanitaria que establece el procedimiento para la evaluación de la calidad sanitaria de las playas del litoral peruano (DS N°038/MINSA-DIGESA-V.02) ,²⁷ las consideraciones asumidas fueron:

Determinación de Control de Calidad Microbiológica.

- a. La calificación en cuanto a la microbiología del agua de mar, es determinada por la variante densidad de coliformes termotolerantes, que se encuentra en la muestra del agua de mar que el personal recolectó las veces que inspeccionó la playa.
- b. Dicha cualificación se puede dividir en 2 condiciones: Buena y Mala; ambas condiciones cuentan con un rango de valores de coliformes termotolerantes (NMP/100 mL), los que se establecieron en concordancia a las sugerencias dadas por la OMS y los Estándares Nacionales de Calidad respecto al ambiente para agua, debido a ello se les asignó un puntaje específico para cada categoría.
- c. Para la determinación de su categoría y puntaje, se deben comparar los resultados obtenidos del análisis de coliformes termotolerantes de una playa con el rango de valores de coliformes termotolerantes.

Tabla N° 07: Determinación de Control de la Calidad Microbiológica.

Variable	Rango de Valor	Puntaje	Calificación	Puntaje Máximo por Variable
Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)	0 -200	0.50	Buena	0,50
	> 200	0.00	Mala	

Fuente: DS. N° 038/MINSA-DIGESA-V.02.²⁷

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

- Existen niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.

2.3.2 Hipótesis específicas

1. Existen niveles incrementados de *Escherichia coli* en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo *E. coli*) en las muestras de agua de mar de la playa Agua dulce del distrito de Chorrillos.
2. Existe presencia de *Escherichia coli* en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).
3. Existe presencia de *Escherichia coli* aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas.
4. Existe presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas.

2.4 Definición de términos básicos

Agentes de infección. Microorganismo (virus, bacteria, hongo, o parásitos) capaz de producir una infección o una enfermedad en una persona.⁸⁵

Aglutinación. Reunión masiva de células portadoras de un antígeno, suspendidas en un líquido, en presencia de su correspondiente aglutinina.⁸⁶

Agua de mar. Líquido transparente, incoloro, inodoro, salado en estado puro, cuyas moléculas están formadas por dos átomos de hidrogeno y uno de oxígeno, y que constituye el componente más abundante de la superficie terrestre y el mayoritario de todos los organismos vivos.⁸⁷

Aislamiento. Acción y efecto de aislar.⁸⁸

Ambiente. Conjunto de todas las condiciones externas que influyen sobre la vida, el desarrollo y en última instancia, la supervivencia de un organismo.¹⁶

Anticuerpo. Sustancia producida en el organismo animal por la presencia de un antígeno, contra cuya acción reacciona específicamente.⁸⁹

Antígeno. Sustancia que, introducida en un organismo animal, da lugar a reacciones de defensa, tales como la formación de anticuerpos.⁹⁰

Apta. Idóneo, hábil, a propósito para hacer algo.⁹¹

Bioquímica. Ciencia que estudia la estructura química y las funciones de los seres vivos.⁹²

Calidad de muestra. Se refiere a las condiciones en que se encuentra el agua respecto a características físicas, químicas y biológicas, en su estado natural o después de ser alteradas por el accionar humano.¹⁶

Coliformes fecales. Se pueden definir como el grupo de organismos coliformes que pueden fermentar la lactosa desde 44°C hasta 45°C. Los coliformes fecales forman parte de un grupo muy pequeño de microorganismos; los cuales son indicativos de calidad, ya que tienen su origen de las heces.⁴¹

Coliformes totales. Hace referencia a todas las bacterias Gram negativas que tienen aspecto de bacilos, con la capacidad de fermentar la lactosa en cultivos a temperaturas de 35°C - 37°C.⁴⁰

Concurrencia. Conjunto de personas que asisten a un acto o reunión.⁹³

Contaminación. Alteración de las características físicas, químicas o biológicas del agua, resultante de la incorporación deliberada o accidental en la misma de productos o residuos que afectan los usos de agua.⁹⁴

Contraer. Adquirir algo como una costumbre, un vicio, una enfermedad o una deuda.⁹⁵

Cuantificar. Expresar numéricamente una magnitud de algo.⁹⁶

Diarrea. Síntoma o fenómeno morboso que consiste en evacuaciones de vientre líquidas y frecuentes.⁹⁷

Distrito. Cada una de las demarcaciones en que se subdivide un territorio o una población para distribuir y ordenar el ejercicio de los derechos civiles y políticos, o de las funciones públicas, o de los servicios administrativos.⁹⁸

Ecosistema. Comunidad de los seres vivos cuyos procesos vitales se relacionan entre sí y se desarrollan en función de los factores físicos de un mismo ambiente.⁹⁹

Emponzoñar. Corromper, dañar o echar a perder.¹⁰⁰

Enfermedad. Alteración más o menos grave de la salud.¹⁰¹

Enterobacterias. Llamadas también bacterias entéricas [del griego *enterikos*, perteneciente al intestino], degradan azúcares mediante la vía de Embden-Meyerhof y escinden el ácido pirúvico para producir ácido fórmico en fermentaciones del ácido fórmico.¹⁰²

Escherichia Coli. Es un habitual residente del tracto gastrointestinal tanto de los animales como de los seres humanos.⁴⁹

Fecal. Perteneciente o relativo al excremento intestinal.¹⁰³

Fiebre. Fenómeno patológico que se manifiesta por elevación de la temperatura normal del cuerpo y mayor frecuencia del pulso y la respiración.¹⁰⁴

Fuente. Manantial de agua que brota de la tierra.¹⁰⁵

Género. Es un grupo bien definido de una o más especies que está claramente separado de otros géneros.¹⁰²

Gérmenes. Microorganismos patógenos.¹⁰⁶

Identificar. Reconocer si una persona o cosa es la misma que se supone o se busca.¹⁰⁷

Infecioso. Que causa infección.¹⁰⁸

Medio de cultivo. Es una técnica muy importante para estudio e identificación de los microorganismos ya que son nutrientes que permiten el crecimiento en el laboratorio.¹⁰⁹

Método. Modo de decir o hacer con orden.¹¹⁰

Microbiología. Estudio de los organismos y agentes que son demasiado pequeños para ser observados con claridad a simple vista- esto es, el estudio de los microorganismos.¹⁰²

Microorganismo. Organismo unicelular solo visible al microscopio.¹¹¹

Muestra. Parte o cantidad pequeña de una cosa que se considera representativa del total y que se toma o se separa de ella con ciertos métodos para someterla a estudio, análisis o experimentación.¹⁶

Nivel. Medida de una cantidad con referencia a una escala determinada.¹¹²

Parámetros microbiológicos. Son los microorganismos indicadores de contaminación y/o microorganismos patógenos para el ser humano.¹⁶

Patógeno. [Del griego *patho*, enfermedad y *gennan*, generar] cualquier organismo o agente que causa una enfermedad.¹⁰²

Patrón. Modelo que sirve de muestra para sacar otra cosa igual.¹¹³

Playa. Ribera del mar o de un río grande, formada de arenas en superficie casi plana.¹¹⁴

Protozoo. Dicho de un organismo: Constituido por una sola célula o por una colonia de células iguales entre sí, y que casi siempre es microscópico.¹¹⁵

Salud. Estado en que el ser orgánico ejerce normalmente todas sus funciones.¹¹⁶

Sanitario. Pertenciente o relativo a las instalaciones de agua de mar empleada para limpieza y usos higiénicos.¹¹⁷

Serología. Estudio químico y bioquímico de los sueros, especialmente del suero sanguíneo.¹¹⁸

Serotipo. Variedad de un microorganismo identificada mediante un análisis serológico.¹¹⁹

Suero. Sueros de animales preparados convenientemente para inmunizar contra ciertas enfermedades, o el que procede de una persona curada de una enfermedad infecciosa que se inyecta a otra para inmunizarla o curarla de la misma enfermedad.¹²⁰

Técnica. Conjunto de procedimientos y recursos de que se sirve una ciencia o un arte.¹²¹

Temperatura. Es una medida del calor o energía térmica de las partículas en una sustancia.¹²²

Turbidez. Se define como la falta de transparencia en el agua debido a la presencia de sólidos disueltos en ella.¹²²

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

La presente investigación es básica, además de ser del área de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; y ser de enfoque cuantitativo.

El tipo de investigación es descriptivo, puesto que se basa en la determinación de los niveles de presencia de una bacteria en muestras de agua de mar. Según Sampieri et al. (2006), los estudios descriptivos tienen como objetivo obtener datos y hacer mediciones de las propiedades importantes de los hechos que se dan a la observación del investigador. Pueden ser hechos del comportamiento de las personas, de los grupos, comunidades o cualquier otro hecho que sea sometido a la observación del investigador. La investigación descriptiva utiliza conceptos métricos o cuantitativos.¹²³

La observación de las muestras ha sido efectuada en ambientes de laboratorio, mediante procedimiento experimental.

El diseño asumido es cuasi experimental, realizado en ambientes controlados de laboratorio microbiológico. Según este diseño no intervienen los investigadores ni manipulan las condiciones del estudio.

3.2. Población y muestra

Agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos, Lima, en medios de cultivo: caldo lauril triptosa, caldo verde brillante bilis 2% y caldo E. coli.

La selección de la muestra se realizó de manera no probabilística, con lo que se obtuvo:

- 250 mL. de agua de mar a 5 metros de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.
- 250 mL. de agua de mar a 10 metros de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.
- 250 mL. de agua de mar a 20 metros de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

- **Equipos**

- Balanza analítica.
- Autoclave.
- Termohigrómetro.
- Termómetro.
- Incubadoras.
- Microscopio.
- Medidor de pH.
- Micropipeta.

- **Materiales**

- Frascos de vidrio esterilizados traslúcido, con tapa rosca de abertura ancha, con aforo de 250 mL. debidamente rotulados.
- Etiqueta y plumón indeleble, para identificar la muestra.
- Papel kraft.
- Cinta indicadora.
- Tubos de ensayo con:
 - 10.0 mL de caldo Lauril triptosa concentración doble o triple con Campana de Durham.
 - 10.0 mL de Caldo Verde Brillante bilis 2% con campana de Durham.
 - 10.0 mL de Caldo E. Coli y campana de Durham.
- Campana de Durham.
- Placas Petri.

- Lámina Portaobjetos.
- Asa de siembra.
- Viales de vidrio.
- Gotero.
- Caja conservadora de poliestireno expandido para transportar las muestras.

- **Reactivos**

- Solución de Cristal violeta.
- Solución de Lugol.
- Solución de Alcohol-Acetona.
- Solución de Safranina.
- Aceite de inmersión.
- Reactivo de Kovacs.

- **Otros**

Medios de cultivo

- ✓ Caldo Lauril triptosa concentración doble o triple.
- ✓ Caldo Verde Brillante bilis 2%.
- ✓ Caldo E. Coli.
- ✓ Agar Eosina Azul de metileno (EMB).
- ✓ Agar Lisina.
- ✓ Citrato.
- ✓ Indol.
- ✓ Motilidad.

- **Sueros**

Suero fisiológico 9%

- ❖ Suero anti – *E.coli* enteropatógena clásica Grupo de suero polivalente A.
- ❖ Suero anti – *E.coli* enteropatógena clásica Grupo de suero polivalente B.

3.4. Procedimiento experimental

El procedimiento experimental se llevó a cabo en el Área de Microbiología de Control de Calidad del Laboratorio KARIFRAN S.A.C. y en el Laboratorio de Microbiología de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, con los materiales, reactivos y equipos óptimos para determinar los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos, cumpliendo las siguientes etapas:

Toma de muestra

Se realizaron las tomas de muestras representativas en tres diferentes distancias: 5 m, 10 m y 20m y en dos distintos tiempos: mañana y tarde. Para determinar los niveles de *E coli* enteropatógena (EPEC), fueron transportados en una caja térmica de poliestireno expandido, manteniendo la temperatura de 4°C, y luego, ser transportados al laboratorio donde se realizó el respectivo análisis.

El tiempo de transporte no debe pasar las 6 horas desde el muestreo hasta su primer análisis.

El procedimiento seguido es el siguiente:

- ✓ Distender sutilmente la cubierta del envase y el papel de protección como una unidad para que no se infecte la cubierta o el cuello del envase.
- ✓ Sumergir el envase con la boca hacia abajo hasta alcanzar el fondo de treinta centímetros de la superficie.
- ✓ Saturar el envase hasta que sobre un tercio del envase del volumen libre.
- ✓ Realizar la medición de la temperatura del agua y tapar el frasco.
- ✓ Escribir los datos en el rotulo del recipiente con fecha y hora del muestreo y también identificar las muestras y nombres del muestrador. (Ver imagen N° 25)

Análisis organoléptico

A todas nuestras muestras recolectadas se tomó en cuenta el color y olor.

Prueba física

A todas las muestras que fueron recolectadas se realizaron las pruebas físicas como temperatura y hora del muestreo.

Análisis microscópico

Tinción Gram

Realizar un frotis y pigmentarlo por Gram. Mirar al microscopio la existencia de bacilos cortos o cocobacilos Gram-negativos.

Preparación de las muestras para la tinción:

Extensión:

- Colocar en un portaobjeto limpio una pequeña gota de suero fisiológico 9 por ciento con el asa de siembra, previamente esterilizada.
- Fijar una pequeña cantidad de suspensión de bacterias o tomar una colonia aislada.
- Extender con el asa una gota de suero y las bacterias sobre el portaobjeto. Se fija la extensión dejando secar el portaobjeto.
- Colocar los portaobjetos en una bandeja de plástico con una pequeña malla para que los reactivos puedan drenar sobre esta.

Coloración:

- Teñir la extensión con solución de cristal violeta y se deja reposar durante 1 minuto.
- Lavar sutilmente con agua desionizada durante 10 segundos.
- Teñir con solución de lugol y dejar reposar por 1 minuto.
- Lavar sutilmente con agua desionizada durante 10 segundos.
- Decolorar con alcohol-acetona y dejar actuar durante 30 segundos.
- Lavar nuevamente con agua desionizada hasta retirar el excedente de color.
- Teñir con safranina y dejar reposar por 1 minuto.
- Lavar nuevamente con agua desionizada hasta retirar el excedente de color.
- Dejar secar la lámina portaobjeto a temperatura ambiente.

Prueba microbiológica

Consideraciones generales

Se usaron los agares, según sus especificaciones de cada uno dadas por el proveedor.

Los microorganismos específicos para *Escherichia coli* fueron aislados, después de que las muestras fueron llevadas al laboratorio en el cual se realizaron las pruebas microbiológicas y donde se utilizó como medios de cultivo: caldo lauril triptosa, caldo verde brillante bilis 2% (en el cual se encontraba una campana de Durham al revés colocada dentro de cada tubo) y caldo *Escherichia coli* para enriquecer y que se prolifere el microorganismo.

Fundamento

Por el método del Número más Probable (NMP) se determinan los microorganismos coliformes totales, se basa en fermentar la lactosa con obtención de ácido y gas al incubarlos a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas., empleando un medio de cultivo que incluya sales biliares. Esta evaluación consiste en dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa. En la fase presuntiva se emplea es el caldo lauril triptosa el que concede recuperar los microorganismos que se hallen presentes en la muestra.

Mientras que la fase confirmativa se utiliza el caldo verde brillante bilis 2% el cual es selectivo y sólo accede desarrollar ciertos microorganismos aptos de aceptar tanto las sales biliares como el verde brillante bilis 2%. Para determinar *Escherichia Coli* se ejecuta a partir de los tubos positivos de caldo E. Coli, los cuales se siembran en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey o Agar Eosina Azul de Metileno) y luego desarrollando las pruebas bioquímicas.¹²⁴

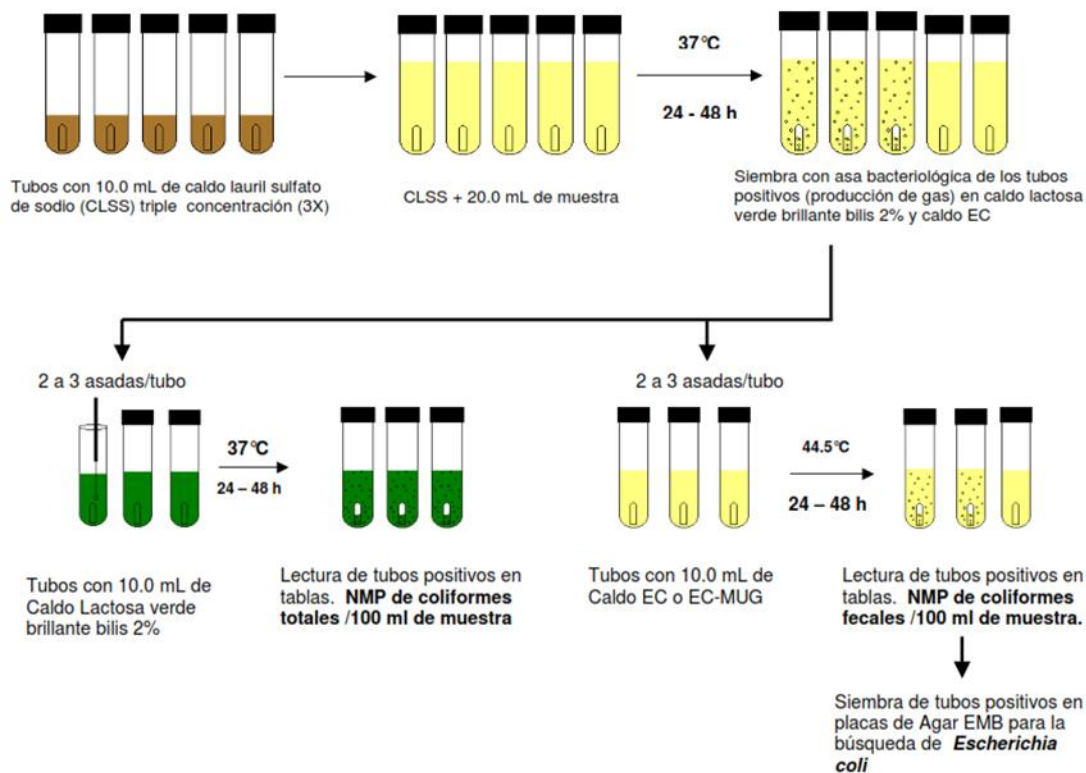


Figura N° 04 Método del Número más Probable.

Fuente: Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). 2^{da} ed. 2009.¹⁰⁷

Método del Número más probable

Del medio de cultivo, llamado Caldo Verde brillante bilis 2%, se usó para determinar el método del Numero más probable (NMP).

Procedimiento:

- ✓ Añadir a los tubos con 10.0 mL de Caldo Lauril Triptosa triple concentración (3X) y 20 mL de muestra. Llevar a la incubadora a 37°C de 24 a 48 h. Se considera positivo si hay producción de gas, que se visualiza con una burbuja dentro de la campana de Durham o si la campana flota en el caldo lauril triptosa.
- ✓ Los tubos positivos se siembran mediante dos o tres asadas con la ayuda de la Asa bacteriológica en Caldo Verde Brillante bilis 2% y Caldo *E coli*. Se

considera positivo en ambos casos si hay producción de gas, que se visualiza con una burbuja dentro de la campana de Durham o si la campana flota.

- ✓ Separar todos los tubos positivos después de haber sido incubado por 24-48 h a 37 °C en caso del Caldo Verde Brillante bilis 2%. Realizar la lectura de los tubos positivos en tablas de NMP de Coliformes totales.
- ✓ Separar todos los tubos positivos después de haber sido incubado por 24-48 horas a 44.5° C en caso del Caldo *E coli*. Para luego ser sembrado al Agar EMB.
- ✓ Sembrar a cada placa de EMB por Estría Cruzada todos los tubos positivos de Caldo *E. coli*. Incubar las placas a 35°C por 18-24 horas.

Pruebas Confirmatorias

Prueba bioquímica

Después de ser aisladas en el medio de cultivo EMB fueron seleccionadas y conservadas en cepario para el análisis confirmatorio mediante esta prueba bioquímica con el uso de los siguientes medios:

INDOL.

CITRATO.

MOTILIDAD.

LISINA.

Tabla Nº 08: Cuadro de Reacciones Bioquímicas.

	Medios				
	GAS	INDOL	CITRATO	MOTILIDAD	LISINA
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	+	+
<i>Salmonella</i>	+	-	+	+	+
<i>Enterobacter</i>	++	-	+	+	-

Leyenda: ++, reacción positiva fuerte; +, 90% o más cepas son positivas; -, 90% o más cepas son negativas.⁵⁶

Fuente: Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. 6^{ta} Ed., 2006.⁵⁶

Prueba Serológica

Se llevó a cabo la técnica diseñada por el Laboratorio PROBAC de Brasil para los sueros anti – E. coli enteropatógena clásica. Y desarrollando los siguientes pasos:

- ✓ Se debe realizar el aseo de las láminas portaobjetos con alcohol.
- ✓ Suspensión Bacteriana: las colonias se alcanzaron de forma directa de la superficie de cultivos de 48 horas y se pusieron en un vial de vidrio a la cual se agregó con micropipeta 0.2 mL de suero fisiológico 0.9%. Esto se realiza para cada muestra y debe ser una Suspensión Espesa.
- ✓ Se colocaron 0.2 mL de la Suspensión Espesa y se le añadió 0.3 mL de los sueros PROBAC. Luego se mezcla la muestra hasta lograr que ocupe un espacio aproximadamente un centímetro y se mantiene en desplazamiento de lado a lado por uno o dos minutos.

Técnicas e instrumentos utilizados

Técnicas:

- ❖ Análisis organolépticos y físicas.
- ❖ Técnica de tinción Gram
- ❖ Técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable o NMP).
- ❖ Prueba de siembra y asilamiento
- ❖ Prueba bioquímica
- ❖ Prueba serológica

Instrumentos:

En la presente investigación se utilizó una ficha de análisis del agua de mar de la Playa “Agua Dulce”, elaborada por las autoras (Ver Anexo 03. Ficha de recolección de datos); la cual permitió determinar los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce ubicado en Chorrillos, tomando en cuenta los valores establecidos en la Directiva Sanitaria °038/MINSA-DIGESA-V.02; que es la directiva sanitaria que fundamenta el método para determinar de la calidad saludable de las playas del litoral peruano.

3.5. Procesamiento de datos

El análisis estadístico de los datos de la investigación se realizó utilizando el programa estadístico SPSS versión 24 y el programa Microsoft Excel 2013 para Windows. Además se consideró un nivel de confianza del 95% y de significancia del 5%.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. Presentación

4.1.1. Análisis organoléptico / Prueba física

Tabla N° 09: Turno mañana.

Análisis Organoléptico / Prueba física				
Muestras a:	Aspecto	Olor	T (°C)	Hora de la toma de muestra:
5 metros	Translúcido	Característico	20 °C	09: 11 a.m.
10 metros	Translúcido	Característico	20 °C	09: 23 a.m.
20 metros	Translúcido	Característico	20 °C	09: 47 a.m.

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 10: Turno tarde

Análisis Organoléptico / Prueba física				
Muestras a:	Aspecto	Olor	T (°C)	Hora de la toma de muestra:
5 metros	Translúcido	Característico	24 °C	15: 17 p.m.
10 metros	Translúcido	Característico	24 °C	15: 31 p.m.
20 metros	Translúcido	Característico	24 °C	15: 50 a.m.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.2. Análisis microscópico

Tinción Gram.

Tabla N° 22: Turno mañana.

Muestras	Placa N°1	Placa N°2	Placa N°3	Placa N° 4
5 metros	Gram +	Gram +	Gram +	Gram +
10 metros	Gram -	Gram -	Gram +	N.A.
20 metros	Gram +	Gram +	Gram -	Gram -

Fuente: Elaboración propia

N.A. No aplica

Se sembraron muestras en porta objetos a partir de muestras aisladas en placa de agar EMB para diferenciar si es Gram (-) o Gram (+). Se observó un 33.4% de bacterias Gram (-) y un 63.6% de bacterias Gram (+).

Tabla N° 23: Turno tarde.

Muestras	Placa N°1	Placa N°2	Placa N°3	Placa N° 4
5 metros	Gram -	Gram -	Gram +	Gram -
10 metros	Gram -	Gram -	N.A.	N.A.
20 metros	Gram +	Gram -	Gram -	N.A.

Fuente: Elaboración propia

N.A. No aplica

Se sembraron muestras en porta objetos a partir de muestras aisladas en placa de agar EMB para diferenciar si es Gram (-) o Gram (+). Se observó un 77.8 % de bacterias Gram (-) y un 22.2 % de bacterias Gram (+).

4.1.3. Prueba microbiológica

a) Medio de cultivo (caldo lauril triptosa).

Tabla N° 11: Turno mañana

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De las muestras analizadas se observó un 100% de resultados positivos.

Tabla N° 12: Turno tarde.

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De las muestras analizadas se observó un 100% de resultados positivos.

- b) Determinación del número más probable (NMP) de coliformes con caldo verde brillante bilis 2% (Coliformes Totales).

Tabla N° 13: Turno mañana

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

En estas muestras analizadas se observó un 77.8% de resultados positivos en este medio enriquecido para coliformes totales.

Tabla N° 14: Turno tarde

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

En estas muestras analizadas se observó un 88.9% de resultados positivos en este medio enriquecido para coliformes totales.

- c) Determinación del Número más Probable (NMP) de coliformes con caldo *Escherichia coli* – (Coliformes Fecales).

Tabla N° 15: Turno mañana.

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	-	-
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

En estas muestras analizadas se observó un 88.9% de resultados positivos en este medio enriquecido para coliformes fecales.

Tabla N° 16: Turno tarde

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De estas muestras analizadas se observó un 88.9% de resultados positivos en este medio enriquecido para coliformes fecales.

Al momento de realizar los cálculos para cuantificar el número más probable (NMP) se deberá tomar en cuenta la siguiente Tabla N° 17:

Tabla N° 17: Numero más probable (NMP) para 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones 0,1; 0,01 y 0,001 g

Tubos Positivos				Tubos Positivos			
0,1	0,01	0,001	NMP	0,1	0,01	0,001	NMP
0	0	0	< 3	1	0	0	3,6
0	0	1	3	1	0	1	7,2
0	0	2	6	1	0	2	11
0	0	3	9	1	0	3	15
0	1	0	3	1	1	0	7,3
0	1	1	6,1	1	1	1	11
0	1	2	9,2	1	1	2	15
0	1	3	12	1	1	3	19
0	2	0	6,2	1	2	0	11
0	2	1	9,3	1	2	1	15
0	2	2	12	1	2	2	20
0	2	3	16	1	2	3	24
0	3	0	9,4	1	3	0	16
0	3	1	13	1	3	1	20
0	3	2	16	1	3	2	24
0	3	3	19	1	3	3	29

Tubos Positivos				Tubos Positivos			
0,1	0,01	0,001	NMP	0,1	0,01	0,001	NMP
2	0	0	9,1	3	0	0	23
2	0	1	14	3	0	1	39
2	0	2	20	3	0	2	64
2	0	3	26	3	0	3	95
2	1	0	15	3	1	0	43
2	1	1	20	3	1	1	75
2	1	2	27	3	1	2	120
2	1	3	34	3	1	3	160
2	2	0	21	3	2	0	93
2	2	1	28	3	2	1	150
2	2	2	35	3	2	2	210
2	2	3	42	3	2	3	290
2	3	0	29	3	3	0	240
2	3	1	36	3	3	1	460
2	3	2	44	3	3	2	1100
2	3	3	53	3	3	3	> 1100

Fuente: Official Methods of Analysis of AOAC Internacional, 18^{va} ed. 2005.¹²⁵

Para calcular el NMP en cantidades de muestra es necesario tener en cuenta la tabla N° 17.

Ejemplo 1:

Ejemplo 1	Cantidad de muestra (g o mL) ^(a)			Valores positivos reportados.	NMP estimado/g o mL ^(b)
	0,1	0,01	0,001		
A	1/3	1/3	1/3	1-1-1	110

^(a) Numerador/denominador = número de tubos positivos/número de tubos inoculados.

^(b) Multiplicar todos los valores de NMP/g (mL) por 100 para expresarlos como NMP/100 g (mL).

Fuente: Official Methods of Analysis of AOAC Internacional, 18^{va} Ed. 2005.¹²⁵

Teniendo los siguientes resultados:

Tabla N° 18: Numero de coliformes totales

Turnos:	NMP / mL
5 metros (mañana)	1100
5 metros (tarde)	1100
10 metros (mañana)	1100
10 metros (tarde)	1100
20 metros (mañana)	730
20 metros (tarde)	730

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 19: Número de coliformes fecales

Turnos:	NMP / mL
5 metros (mañana)	360
5 metros (tarde)	1100
10 metros (mañana)	1100
10 metros (tarde)	1100
20 metros (mañana)	730
20 metros (tarde)	730

Fuente: Elaboración propia

- d) Prueba confirmativa de *Escherichia coli* en agar EMB – Turno: Mañana/Tarde.

Tabla N° 20: Turno mañana

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De estas muestras analizadas se observó un 88.9% de resultados positivos. Todos los tubos que dieron positivos en caldo E. coli pasan mediante una estriada a agar EMB.

Tabla N° 21: Turno tarde

Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	+	+
10 metros	+	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De estas muestras analizadas se observó un 88.9% de resultados positivos. Todos los tubos que dieron positivos en caldo E. coli pasan mediante una estriada a agar EMB.

4.1.4. Pruebas confirmativas.

a) Prueba bioquímica

Tabla N° 24: Turno mañana

Citrato			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	-	-	-
10 metros	-	+	-
20 metros	+	-	-
Indol			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	-	+	+
10 metros	+	+	-
20 metros	+	-	+
Lisina			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	-	-	-
10 metros	-	+	-
20 metros	+	-	-
Motilidad			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	-	+	+
10 metros	+	+	-
20 metros	+	-	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Tabla N° 25: Turno tarde

Citrato			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	-	-	-
10 metros	-	+	-
20 metros	+	-	-
Indol			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	-	+
10 metros	-	+	+
20 metros	+	+	-
Lisina			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	-	+
10 metros	-	+	-
20 metros	+	-	-
Motilidad			
Muestras	Tubo N°1	Tubo N°2	Tubo N°3
5 metros	+	-	+
10 metros	-	+	+
20 metros	+	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

De cada muestra se dividieron en tres tubos que contiene cada medio para determinar cuáles son positivos en distinta prueba bioquímica.

b) Prueba serológica

Tabla N° 26: Turno mañana

Muestras	Placa	Serotipos	
		Serotipo A	Serotipo B
Distancia: 5 m	n° 2	-	-
Distancia: 5 m	n° 4	-	-
Distancia: 10 m	n° 1	+	+
Distancia: 10 m	n° 2	+	+
Distancia: 20 m	n° 3	+	-
Distancia: 20 m	n° 4	+	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Dieron positivos tales muestras: 10m n° 1, 10m n° 2 ,20m n° 3 y 20m n° 4 para serotipo A. (Ver Tabla N° 06 para especificación de códigos).

Dieron positivos tales muestras: 10m n° 1 y 10m n° 2 para serotipo B. (Ver Tabla N°06 para especificación de códigos).

Tabla N° 27: Turno tarde

Muestras	Placa	Serotipos	
		Serotipo A	Serotipo B
Distancia: 5 m	n° 1	-	-
Distancia: 5 m	n° 2	+	+
Distancia: 5 m	n° 4	-	-
Distancia: 10 m	n° 1	+	+
Distancia: 10 m	n° 2	+	+
Distancia: 20 m	n° 2	-	-
Distancia: 20 m	n° 3	-	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Dieron positivos tales muestras: 5m n° 2, 10m n° 1 y 10m n° 2 para serotipo A. (Ver Tabla N° 06 para especificación de códigos).

Dieron positivos tales muestras: 5m n° 2, 10m n° 1 y 10m n° 2 para serotipo B. (Ver Tabla N° 06 para especificación de códigos).

Las hipótesis fueron contrastadas mediante el siguiente proceso:

Prueba estadística: prueba T-Student, que sirve para comparar las medias de dos grupos independientes y llevar a cabo un análisis de la varianza unifactorial con la finalidad de comparar las medias.

Justificación: Utilización de la distribución T-Student, en el contraste de medias

a) Independencia: m.a.s. y población pequeña: 18

b) Normalidad: Si la muestra es pequeña se utiliza la distribución T-Student y no se puede asumir que la población es normal.

Hipótesis general

H₁: Existen niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de Mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.

H₀: No Existen niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de Mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.

Tabla N° 28: Estadísticos Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Niveles de E.Coli	6	915,00	309,564	360	1100

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 24

En la tabla N° 28, se observa que el promedio del nivel medio de *Escherichia coli* es de 915 y existe poca dispersión de los datos en relación al promedio (desviación típica: 309.564)

Tabla N° 29: Promedio del nivel medio de *Escherichia coli* (Coliformes totales)

Descriptivos

Niveles de E.Coli (Coliformes Totales)

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
mañana	3	976,67	213,620	123,333	446,01	1507,33	730	1100
tarde	3	976,67	213,620	123,333	446,01	1507,33	730	1100
Total	6	976,67	191,067	78,003	776,15	1177,18	730	1100

Fuente: Programa estadístico SPSS versión

Tabla Nº 30: Promedio del nivel medio de *Escherichia coli* (Coliformes fecales)

Niveles de E.Coli

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
mañana	3	853,33	427,239	246,667	-207,99	1914,65	360	1100
tarde	3	976,67	213,620	123,333	446,01	1507,33	730	1100
Total	6	915,00	309,564	126,379	590,13	1239,87	360	1100

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 24

Decisión: Como los promedios obtenidos en cada una de las categorías de la variable turno se encuentran dentro del intervalo de confianza, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que indica que “Existen niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de Mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos”, con un nivel de confianza del 95%.

También se observa que el promedio del nivel medio de *Escherichia coli* en el agua de mar en el grupo de la tarde es mayor al grupo de la mañana y hay un 95% de confianza que la estimación puntual se encuentre dentro del rango de los intervalos.

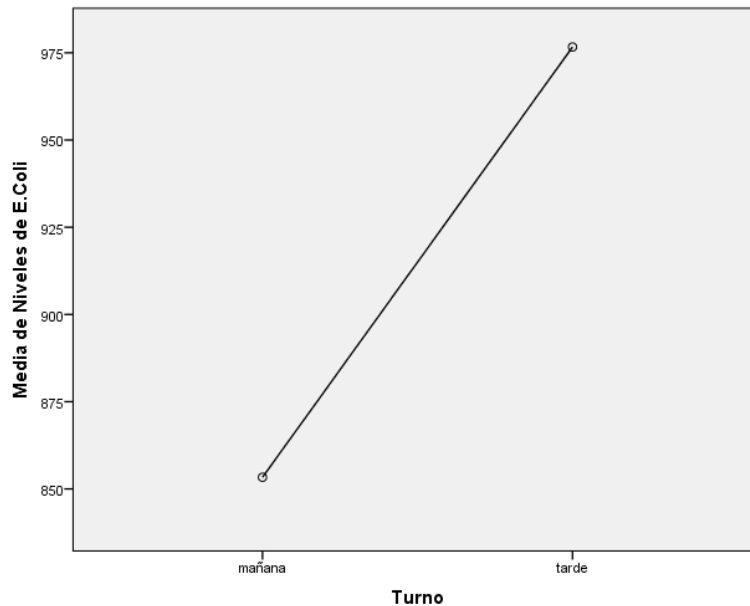


Figura N° 05: Gráfico de Medias

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 24

En la figura N° 05 de medias se observa que el promedio de nivel de *Escherichia coli* en agua de mar es mayor en la tarde.

Hipótesis específicas

Hipótesis específica 1:

H₁: Existen niveles incrementados de *Escherichia coli* en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo *E. coli*) en las muestras de agua de la playa Agua dulce del distrito de Chorrillos.

H₀: No existen niveles incrementados de *Escherichia coli* en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo *E. coli*) en las muestras de agua de la playa Agua dulce del distrito de Chorrillos.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula debido a que en los medios de cultivo con muestras se pudo cuantificar *Escherichia coli* de manera exitosa mediante la técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable o nmp).

Hipótesis específica 2:

H₁: Existe presencia de *Escherichia coli* en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).

H₀: No existe presencia de *Escherichia coli* en agua de Mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).

Decisión: se rechaza la hipótesis nula debido a que todos los resultados obtenidos fueron 88.9% positivos en medio de cultivo selectivo diferencial para aislar *Escherichia coli*.

Hipótesis específica 3:

H₁: Existe presencia de *Escherichia coli* aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas.

H₀: No existe presencia de *Escherichia coli* aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula debido a que los resultados obtenidos para determinar *Escherichia coli* aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas confirmaron su presencia.

Hipótesis específica 4:

H₁: Existe presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas.

H₀: No existe presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula debido a que mediante el método de la aglutinación en los resultados positivos se confirmó la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en las muestras analizadas.

4.2. Discusión

En la investigación realizada para la determinación de los niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en agua de la playa Agua Dulce, ubicada en el distrito de Chorrillos, se pudo comprobar la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) de serotipos A y B fuera de los rangos establecidos por la normativa D.S. N°038/MINSA-DIGESA-V.02 que tiene una calificación para la determinación de control de calidad microbiológica que establece que debe ser <200 ufc/mL. Para la determinación e identificación de *Escherichia coli* se utilizaron los siguientes métodos: identificación con caldo lauril triptosa, identificación con caldo verde Brillante, caldo *Escherichia coli*, agar EMB, tinción Gram y prueba bioquímica. En la determinación de *Escherichia coli* enteropatógena se empleó la prueba serológica para *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) serotipo A y serotipo B. Mientras que para la cuantificación de *Escherichia coli* enteropatógena se usó el método de dilución en tubo múltiple (NMP).

En la presente investigación mediante la técnica de tubo múltiple (NMP) se cuantificó la presencia de *Escherichia coli* en las muestras de agua de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos, teniendo como resultado para coliformes totales desde 730 UFC/mL. hasta 1100 UFC/mL. y para coliformes fecales los resultados fueron desde 360 UFC/mL, 730 UFC/mL. y 1100 UFC/mL. Se confirma de acuerdo a lo planteado por **Frías, T. (2016)**, quien presentó el trabajo de investigación titulado “Evaluación de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos en el sector Puerto de Productores Rio Itaya, Loreto-Perú 2014-2015”, cuyo objetivo fue determinar la contaminación de las aguas que provienen de las diversas actividades portuarias, donde también confirmó la existencia de coliformes totales mediante el método de tubo múltiple (NMP), obteniendo los resultados de 240 UFC/mL., 845 UFC/mL., y 410 UFC/mL.; además también confirmó la presencia de coliformes fecales obteniendo los resultados de 93 UFC/mL., 616 UFC/mL. y 255 UFC/mL.

Los resultados obtenidos en medio de cultivo selectivo diferencial (EMB) dieron positivo un 88.9% para *Escherichia coli* en las muestras de agua traídas de la playa de Agua Dulce del distrito de Chorrillos para ambos turnos (mañana y tarde), evidenciándose mediante un color verde metálico en todas las placas que contenían agar EMB. Mientras que **Vergaray et al (2007)**, en su estudio “*Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de

Lima”, cuyo objetivo fue señalar el provecho de *Escherichia coli* y *Enterococcus* como anunciadores de contaminación por heces y si se toma en cuenta los indicadores de *Escherichia coli* y *Enterococcus*, 2 playas serían inaceptables, concluyendo que la contaminación fecal se evidencia más en verano.

Mediante pruebas bioquímicas se identificó *Escherichia coli* aislada en medio de cultivo selectivo (Agar EMB), lo que se confirmó cuando los resultados obtenidos de ambos tiempos (mañana y tarde) fueron: a. negativo en la mayoría de los casos para citrato, b. positivo para indol en la mayoría de los casos, c. para Agar LIA, la mayoría de resultados fueron negativos y d. para la prueba de motilidad la mayoría de los resultados fueron positivos. Similares resultados encontró **Romero, B. (2016)**, quien presentó el trabajo de investigación titulado “Concentración de Coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en agua de mar de la Playa de Salaverry, Trujillo-Perú”, cuyo propósito fue describir la cuantificación de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en la playa de Salaverry.

Los resultados obtenidos en la prueba serológica para la identificación de los serotipos A y B para *Escherichia coli* enteropatógena, dieron positivo en un mayor porcentaje. Asimismo, se comparó los resultados presentados en la tesis de **Benvenuto, V. (2017)**, titulada “Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del circuito de playas de la Costa Verde-Perú”, que también identificó la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena (serotipos A y B) mediante la misma prueba serológica por medio de la aglutinación.

En la tabla N° 26 turno mañana y la tabla N° 27 turno tarde se evidencian los resultados obtenidos para la prueba de identificación serológica, de los cuales para el turno de la mañana las muestras 10 m n°1, 10 m n°2, 20 m n° 3 y 20 m n°4 dieron positivo para serotipo A; y las muestras 10 m n°1 y 10 m n°2 dieron positivo para serotipo B. Mientras que para el turno tarde las muestras 5 m n° 2, 10m n° 1 y 10m n° 2 dieron positivo para serotipo A; y las muestras 5 m n° 2, 10 m n° 1 y 10m n° 2 dieron positivo para serotipo B.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Se logró cuantificar *Escherichia coli* de manera exitosa mediante la técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable). Los resultados obtenidos para coliformes totales fueron: 730 UFC/ml hasta 1100 UFC/ml según se puede observar en la Tabla N° 18 y para coliformes fecales tiene una escala desde 360 UFC/ml, 730 UFC/ml y 1100 UFC/ml según se puede observar en la Tabla N° 19; evidenciándose presencia de *Escherichia coli* fuera del rango permitido y que afecta de forma directa a la salud de todos los bañistas.
2. Se obtuvo resultados positivos (88.9%) de aislamiento de *Escherichia coli* en medio de cultivo diferencial (agar EMB), presente en las muestras de agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.
3. Se confirma que *Escherichia coli* ha logrado ser aislada en medio de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas.
4. Los resultados de confirmación de la presencia de *Escherichia coli* en las muestras analizadas de los turnos mañana y tarde en la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos fueron positivos en las pruebas serológicas.

5.2. Recomendaciones

1. Se recomienda realizar estudios complementarios en el estudio de bacterias Gram + y continuar con la presente investigación, al evidenciarse en los resultados obtenidos de la prueba bioquímica presencia de otros microorganismos como *Salmonella spp.* y *Enterobacter spp.*

2. Se deben efectuar estudios, como el que se realizó en la presente investigación, a las demás playas aledañas al sitio de estudio o a las playas de más concurrencia; ya que podrían ser un foco infeccioso para la población.

REFERENCIAS

1. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2(2): 123-140.
2. Arcos M.P., Ávila S.L., Estupiñan S.M., Gómez A.C. Indicadores microbiológicos de las fuentes de agua. *NOVA.* 2005; 3(4): 69-79.
3. Rompre´ A, Servais P, Baudart J, de-Roubin M, Laurent P. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *J Microbiol Methods.* 2002; 49 (6): 31–54.
4. Ashbolt N.J., Grabow W.O.K., Snozzi M. Indicators of microbial water quality. World Health Organization (WHO). Fewtrell L. & Bartram J., editors. En: *Water Quality: Guidelines, Standards and Health.* 2001. World Health Organization and IWA Publishing, London, UK.
5. Fewtrell L y Bartram J. *Water quality: Guidelines, Standards and Health.* World Health Organization Water Series. IWA 2001. Publishing, London (UK).
6. Sinclair R.G., Rose J.B., Hashsham S.A., Gerba C.P., Haas C.N. Criteria for Selection of Surrogates Used To Study the Fate and Control of Pathogens in the Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78 (6): 1969-1977.
7. Chen B., Zheng W., Yu Y., Huang W., Zheng S., Zhang Y., Guan Y., Zhuang Y., Chen Y., Topp E. Class 1 Integrons, selected virulence genes, and antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from the Minjiang river, Fujian province, China. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77 (1): 148-155.

8. Bergholz P.W., Noar J., Buckley D.H. Environmental patterns are imposed on the population structure of *Escherichia coli* after fecal deposition. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77 (1): 211-219.
9. Orsi R.H., Stoppe N.C., Sato M.I.Z., Gomes T.A.T., Prado P.I., Manfio G.P., Ottoboni L.M.M. Genetic variability and pathogenicity potencial of *Escherichia coli* isolated from recreational water resevoirs. *Res. Microbiol.* 2007, 158 (14): 420-427.
10. Chacón, L., S. Villarreal y L. Villarreal. 2002. [En línea] Comparación de dos Métodos de Número Más Probable (NMP) Con la Cuenta viable En Placa (CVP) Y Evaluación de la Calidad del Agua de la Ciudad de Saltillo, Coahuila. Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C Saltillo, Coahuila. [Fecha de acceso 05 de diciembre de 2017]. URL disponible en:<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico13/034.pdf>.
11. DIGESA y MINSA 2011. [En Línea] Minsa Directiva Sanitaria N°038-MINSA/DIGESA-V.01. Directiva Sanitaria que establece el Procedimiento para la Evaluación de la Calidad Sanitaria de las Playas del Litoral Peruano. Lima. Perú. [Fecha de acceso 05 de diciembre de 2017]. URL disponible en: <http://www.digesa.sld.pe/publicaciones/descargas/DSPC%20Playas%20del%20Litoral%20Peruano.pdf>.
12. Núñez, M. y E. Gutiérrez. 2011. [En línea] La contaminación marina. Ecosistema marino de Gijón. [Fecha de acceso 09 de enero de 2018]. URL disponible en: https://kipdf.com/2011-bc2a-mario-alfonso-nuez-y-eduardo-lopez-gutierrez_5ad7bfef7f8b9a365d8b4614.html.
13. Méndez, R. 2004. [En línea] Desarrollo y Validación de una Prueba de Fácil Aplicación para Determinación de Enterococos en Agua de Consumo Humano. Informe de Tesis de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de

Ciencias Químicas Y Farmacia. Guatemala. [Fecha de acceso 13 de enero de 2018]. URL disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2252.pdf.

14. Benvenuto Vargas, V. Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde. [Tesis de Grado]. Lima: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma; 2017.
15. CPI. Perú: Población 2017[en línea] No 07. Lima; Agosto 2017. Pág. 09 [Fecha de acceso 13 de enero de 2018]. URL disponible en: http://cpi.pe/images/upload/paginaweb/archivo/26/mr_poblacion_peru_2017.pdf.
16. Frías, T., Montilla, L. Evaluación de los Parámetros Físicos, Químicos y Microbiológicos en el sector puerto de productores Rio Itaya, Loreto-Perú. [Tesis de Grado]. Lima: Facultad de Ciencias e Ingeniería, Universidad Científica del Perú; 2016.
17. Romero, B. Concentración de Coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en agua de mar de la playa de Salaverry. [Tesis de Grado]. Lima: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
18. Calderón, K. Contaminación Fecal por *Enterococos* en agua de mar de las playas de huanchaco y huanchaquito. [Tesis de Grado]. Lima: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo; 2014.
19. Vergaray, V.; Méndez, C.; Morante, H.; Heredia, V y Bejar, V. 2007. *Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 10(20):82-86.
20. Gómez, J., Salcedo, G. Evaluación de la calidad del agua en las Playas Turísticas de Puerto Colombia, Atlántico y su relación con las fuentes de

contaminación. [Tesis de Grado]. Colombia: Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad de la Costa, CUC; 2016.

21. Guevara, C. Determinación de la calidad microbiológica del agua de 2 playas: El tunco y el Sunzal, ubicadas en el departamento de La Libertad, El Salvador. [Tesis de Grado]. El Salvador: Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador; 2015.
22. León, C. Evaluación de la calidad sanitaria de cuatro playas recreativas en el Noroeste de México. [Tesis de Maestría]. México: Centro de investigaciones biológicas del Noroeste, S.C; 2015.
23. Galván, A. Calidad Bacteriológica y Riesgo Sanitario de las playas norte de Tuxpan, Ver. [Tesis de Grado]. México: Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana; 2013.
24. Pucci, G., Acuña, A., Pucci, O. Contaminación Microbiológica por enterobacterias y coliformes totales de la playa de Stela Maris, Comodoro Rivadavia, Argentina, derivada de los efluentes cloacales. *Higiene y Sanidad Ambiental*. 2013; 13 (5): 1102-1107.
25. Romeu, B. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. [Tesis Doctoral]. Cuba: Facultad de Biología, Universidad de la Habana; 2012.
26. DIGESA y MINSA 2011. [En línea] RM N° 553-2010/MINSA. Guía Técnica “Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación”. Lima. Perú. [Fecha de acceso 20 de enero de 2018]. URL disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Gu%C3%ADa%20Tecnica%20Proced_Tom_Muestras_Playas.pdf.

27. DIGESA y MINSA 2015. [En línea] Minsa Directiva Sanitaria DS N°038/MINSA-DIGESA-V.02. Directiva Sanitaria que establece el Procedimiento para la Evaluación de la Calidad Sanitaria de las Playas del Litoral Peruano. Lima. Perú. [Fecha de acceso 20 de enero de 2017]. URL disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/DEPA/Directiva_Sanitaria_playas.pdf
28. Estudio de la contaminación de las playas del término municipal de Alicante. Dispersión de contaminantes desde el emisario de La Albufereta. Universidad de Alicante. España. 106 pp.
29. Manual de contaminación marina y restauración del litoral. Ediciones Mundi-prensa. Madrid. 565 pp.
30. Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, Estudio de pre inversión: "instalación de los servicios de agua potable y alcantarillado sanitario en la nueva ciudad de Olmos, distrito de olmos, provincia de Lambayeque-región Lambayeque", SNIP 291552. Pág. 271. Lima, Febrero 2015.
31. OMS, 2006. Guía para la calidad del Agua Potable. Vol. 1. Organización Mundial de la Salud.
32. Lenntech. . [En línea] Agua residual & purificación del aire. Potable water. España. 2006. [Fecha de acceso 20 de enero de 2018] URL disponible en: <http://potablewater.iespana.es>.
33. Aspectos microbiológicos 2009. [En línea] [Fecha de acceso 22 de enero de 2018]. URL disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_7_fig.pdf.
34. Ministerio de salud; Dirección General de Salud Ambiental. Evaluación de los resultados de los monitoreos realizados a los Recursos Hídricos en la cuenca del río Rímac, en el marco del Convenio N° 002-2009/MINSA,

correspondiente al periodo de agosto a diciembre de 2009. Informe de un grupo de científicos de DIGESA. INFORME N° 001860-2010/DEPA-APRHI/DIGESA. Pág. 5 – 6. Lima, Mayo 2010.

35. Sawyer C.N. Química para Ingeniería Ambiental, 4^{ta} Ed. McGraw-Hill; 2000.
36. (WHO) World Health Organization. (2003). Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: Coastal and Fresh Waters.
37. Arellano LI. K. Retos de la Gestión del Agua ante dos políticas distintas: Conservación y Turismo” [Tesis de Maestría]. Tijuana. Universidad de Baja California. Facultad de Administración; 2008.
38. (CEPIS) Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. 2000. Historia y aplicación de normas microbiológicas de calidad de agua en el medio marino. Organización Mundial de la Salud (OMS). 25 pp.
39. Romero, J. 1999. Calidad del agua. México D.F. Alfa Omega, S.A. Págs. 154 – 156.
40. Organización Panamericana De La Salud. En: Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable., criterios relativos a la salud y otra información base. publicación científica N° 506. Volumen 2. Washington D.C; 1987.
41. Easton J. El Desarrollo de una Metodología de Evaluación de Riesgos para Evaluar los Efectos Adversos de la Salud Urbana de los Agentes Patógenos. Programa de Ingeniería de Salud Ambiental; 1998.
42. Goez M. Peña P. Vásquez M. Determinación y Diferenciación *Echerichia coli* y Coliformes totales usando un sustrato cromógeno. Laboratorio. Acuagest. Galicia, España; 1996.

43. Jawetz. 1996. Microbiología Médica. 15ª Ed. México D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. Págs. 250 – 251.
44. Tratado de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (S.E.I.M.C). (2005). Directores: Ruiz Auxina V. y Guillén Moreno S. Editorial Panamericana. España.
45. Murray R, Patrick S. Microbiología Médica. 6ª Ed. Barcelona: Elsevier; 2006.
46. Euzéby JP. (2006). [En línea] List of prokaryotic names with standing in nomenclature. [Fecha de acceso 23 de enero de 2018]. URL disponible en: <http://www.bacterio.cict.fr/classifgenerafamilies.html#Enterobacteriaceae>.
47. Abbott S.L., O'Connor J., Robin T., Zimmer B.L., Janda J.M. (2003). Biochemical properties of a newly described *Escherichia* species, *Escherichia albertii*. *Journal of Clinical Microbiology*.41 (10): 4852–4854.
48. Vidal E, González R, Gutiérrez J, Navarro G. [En línea] Molecular pathogenesis, epidemiology and diagnosis of enteropathogenic *Escherichia coli*. SPM. [En línea] octubre 2007 [Fecha de acceso 24 de enero de 2018]; 2. URL disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S003636342007000500008&script=sci_arttext.
49. Brenner J, Krieg R, Stley T. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2ª Ed. Vol.3 EUA: Springer; 2009.
50. Romero C. Síndrome diarreico infeccioso. México: Editorial medica panamericana; 2002. p. 93-109.
51. Brooks F, Carrol C, Butel J, Morse A. Mietzner. Microbiología médica. 25ª Ed. México: McGraw Hill; 2011. p. 24-32, 148-150, 213-219, 747-748.

52. Bennett JC, Plum F. Cecil Tratado de Medicina Interna. 20^{ma} Ed. Vol. 1. México: McGraw-Hill Interamericana; 1997.
53. Vélez AH, Rojas MW, Borrero RJ, Restrepo MJ. Fundamentos de medicina enfermedades infecciosas. 6^{ta} Ed. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2003.
54. Rodríguez, G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública de México. 44(5):464-475.
55. Murray P, Rosenthal S, Pfaller A. Microbiología médica. 6^{ta} Ed. Barcelona, España: Elsevier; 2009. p. 301-306. 314-315.
56. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. 6^{ta} Ed. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana; 2006.
57. Chuco E. Caracterización Fenotípica y Genotípica de *Escherichia coli* enterotoxigénica en alimentos frescos. [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014.
58. Rodriguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública. 2002; 44: 464-75.
59. Blanco M, Schumacher S, Tasara T, Zweifel C, Blanco J, Dahbi G, y col. Serotypes, intimin variants and other virulence factors of eae positive *Escherichia coli* strains isolated from healthy cattle in Switzerland. Identification of a new intimin variant gene (eae-n2). BMC Microbiology. 2005; 5: 23-4.
60. Bretscheider G, Pérez S. Enterohemorrhagic *E. coli*: Virulence factors and infection in Cattle. Analecta Vet. 2010; 30 (2): 45-6.

61. Diarrea causada por *E. coli* enteroagregativa (EAEH). En el control de las enfermedades transmisibles J Chin, OPS / OMS, 17^{ma} Ed., WashingtonDC, 2001:127-28.
62. Diarrea causada por *E. coli* de adherencia difusa (ADEH). En el control de las enfermedades transmisibles J Chin, OPS / OMS, 17^{ma} Ed., Washington DC, 2001:128-29.
63. García Aguado JM. & Bermejo Lumbreras C. (1998). Infecciones por enterobacterias. *Medicine*. 7(78): 3622-3628.
64. Naber K. G. (2000). Treatment options for acute uncomplicated cystitis in adults. *J Antimicrob Chemother* 46 Suppl 1: 23-7.
65. Adam A. (1923). Biology of colon bacillus dyspepsia and its relation to pathogenesis and to intoxication. *Jahrb Kinderberth*. 101: 295. En MandellG, Girdon R Bennett, J. infect diseases. pp 1671. 3^{ra} Ed. New York, 1990.
66. Stenutz R., A. Weintraub, G. Widmalm. (2006). The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev* 30: 382–403.
67. Vidal, J. 2003. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): Una causa frecuente de diarrea infantil. *Salud en Tabasco*. 9(1):188-193.
68. Puerta G, Mateos Rodríguez F. Enterobacterias [en línea] 2010 [fecha de acceso 24 de enero de 2018]; URL disponible: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf.
69. Chavez E, Martinez L, Cedillo M, Juárez C, Flores F, Castañeda E. Identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientes. *Enf Inf Microbiol*. 2007; 27 (3): 70-4.

70. WHO. [En línea] E. coli enterohemorrágica. WHO. 03 de diciembre del 2011. [fecha de acceso 25 de enero de 2018]; URL disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>.
71. Jure M, Condori M, Pérez G, Catalán M, López A, Zolezzi G, et al. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157 en productos cárnicos bovinos y medias reses en la provincia de Tucumán. Rev Argent Microbiol. 2015; 47(2): 125-31.
72. James N, James K. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 1998; 11: 142-01.
73. Pistone V, Nuñez P, Boccoli J, Silberstein C, Zotta E, Golstein J y col. Papel de la toxina shiga en el Síndrome Urémico Hemolítico. Rev Argent Microbiol, 2006; 66 (3): 11-5.
74. Pistone V, Nuñez P, Zotta E, Ibarra C. Efecto citotóxico de la toxina shiga tipo 2 y su subunidad b en células epiteliales tubulares renales humanas en cultivo. Rev Argent Microbiol, 2005; 65: 147-50.
75. Diarrea causada por cepas enteroinvasoras (EIEH). En el control de las enfermedades transmisibles J Chin, OPS / OMS, 17^{ma} Ed., Washington DC, 2001:123-24.
76. Vidal J, Canizales A, Gutiérrez J, Navarro F. Patogénesis Molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. Salud Pública. 2007; 49:376-86.
77. Moreno F. Prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico y *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en cerdos sin manifestación clínica de diarrea de la provincia de Buenos Aires [Tesis Doctoral]. Buenos Aires: Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas y Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, FCV, UNLP; 2012.

78. Guadalupe R. [En línea] Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. SPM 2002 [Fecha de acceso 09 de febrero de 2018]; 44:464-475. URL disponible en <http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo.php?id=000363>.
79. Tortora F. Introducción a la Microbiología. 9ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007.
80. Perú 21 [En línea]. Perú: Retiran snacks por posible contaminación de bacteria *E. coli*; 2013. [Fecha de acceso 10 de febrero de 2018]. URL disponible en: <https://peru21.pe/lima/retiran-snacks-posible-contaminacion-bacteria-e-coli-101775>.
81. Ochoa, T.; Contreras, C. y Mosquito, J. 2010. Alcances sobre la situación epidemiológica de las *Escherichia coli* diarrogénicas aisladas de niños peruanos. Instituto de Medicina Tropical "Alexander Von Humbolt", Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2017; 34 (3): 133-138.
82. Zambrano, A. Implementación de un ensayo PCR Multiplex para la identificación de las enterovariedades de *Escherichia coli* patógenas. [Tesis de Grado]. Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército; 2012.
83. Zamora CA. Diarrea aguda. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004. p. 83-118.
84. Freeman A. Microbiología de Burrons. 22ª Ed. México: Ed. Interamericana McGraw-Hill; 1985.
85. Observatorio de Salud y Medio Ambiente de Andalucía. (2018). [En línea] Agentes de infección. Diccionario de salud y medio ambiente. [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://www.osman.es/diccionario/definicion.php?id=11497>

86. Real Academia Española. (2014). [En línea] Aglutinación. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=aglutinaci%C3%B3n>.
87. Real Academia Española. (2014). [En línea] Agua de mar. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=1BKpQj3>
88. Real Academia Española. (2014). [En línea] Aislamiento. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=1LYlqL4>
89. Real Academia Española. (2014). [En línea] Anticuerpo. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=2r0x9ls>.
90. Real Academia Española. (2014). [En línea] Antígeno. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 09 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=ant%C3%ADgeno>.
91. Real Academia Española. (2014). [En línea] Apta. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=apto>.
92. Real Academia Española. (2014). [En línea] Bioquímica. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=bioqu%C3%ADmico>.
93. Real Academia Española. (2014). [En línea] Concurrencia. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=AAkKXT5>.

94. Gonzáles Leal, G. (2012). Microbiología del Agua conceptos y aplicaciones (primera ed.). Colombia: Escuela Colombiana de Ingeniería Jario Garavito.
95. Real Academia Española. (2014). [En línea] Contraer. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 12 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=AYRHYWJ>
96. Real Academia Española. (2014). [En línea] Cuantificar. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 12 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=BS67y2r>
97. Real Academia Española. (2014). [En línea] Diarrea. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 21 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=DfcCTpg>.
98. Real Academia Española. (2014). [En línea] Distrito. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 21 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=distrito>.
99. Real Academia Española. (2014). [En línea] Ecosistema. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 22 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=ELjRufE>
100. Real Academia Española. (2014). [En línea] Emponzoñar. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 22 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=EsDoZd9>
101. Real Academia Española. (2014). [En línea] Enfermedad. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 22 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=FHA3D3L>
102. Wiley J, Sherwood L, Woolverton Microbiología de Prescott, Harley y Klein. 7^{ma} Ed. Madrid: McGraw-Hill; 2008.

103. Real Academia Española. (2014). [En línea] Fecal. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 26 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=HhmeHdK>
104. Real Academia Española. (2014). [En línea] Fiebre. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 26 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=HrnTNj4>.
105. Real Academia Española. (2014). [En línea] Fuente. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 26 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=IYZhVtl>.
106. Real Academia Española. (2014). [En línea] Gérmenes. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 05 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=J9CBwrs>
107. Real Academia Española. (2014). [En línea] Identificar. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 05 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search?m=30&w=identificar>
108. Real Academia Española. (2014). [En línea] Infeccioso. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 05 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=LVEFBqoP>
109. Merck M. Manual de Medios de Cultivo. Alemania: Darmstadt, 2004.
110. Real Academia Española. (2014). [En línea] Método. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 05 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=P7dyaFK>
111. Real Academia Española. (2014). [En línea] Microorganismo. Diccionario de la lengua española (23ra Ed.). [Fecha de acceso 12 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=PBTNZZm>

112. Real Academia Española. (2014). [En línea] Nivel. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de abril 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=QXQuTmp>
113. Real Academia Española. (2014). [En línea] Patrón. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=SBler1T>
114. Real Academia Española. (2014). [En línea] Playa. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=TNj4Tug>.
115. Real Academia Española. (2014). [En línea] Protozoo. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 12 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=UTEXXrp>
116. Real Academia Española. (2014). [En línea] Salud. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=X7MRZku>
117. Real Academia Española. (2014). [En línea] Sanitario. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/search/search?w=sanitario>.
118. Real Academia Española. (2014). [En línea] Serología. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/?id=XfkGEcK>
119. Real Academia Española. (2014). [En línea] Serotipo. Diccionario de la lengua española (23^{ra} Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=Xg6799p>.

120. Real Academia Española. (2014). [En línea] Suero. Diccionario de la lengua española (23^a Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=YeKYIDG>.
121. Real Academia Española. (2014). [En línea] Técnica. Diccionario de la lengua española (23^a Ed.). [Fecha de acceso 13 de abril de 2018]. URL disponible en: <http://dle.rae.es/srv/fetch?id=ZlkyMDs>.
122. OCASIO, F. 2008. Evaluación de calidad del agua y posibles fuentes de contaminación en un segmento del río Piedras. San Juan, Puerto Rico.
123. Sampieri R, Fernández C y Baptista P .2014. Metodología de la investigación. 6ta Ed. México D.F. Editorial McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
124. Camacho, A., Giles M., Ortigón A., Palao M., Serrano B., Velázquez O. [En línea]. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). 2^{da} Ed. México: 2009. [Fecha de acceso 23 marzo de 2018]. URL disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf.
125. AOAC Official Methods of Analysis (1995). Microbiological Methods. Capítulo 17.

ANEXOS

Anexo 01. Matriz de consistencia.

TITULO: Niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en el agua de Mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos,

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL: ¿Existirán niveles de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos?</p>	<p>GENERAL: Determinar los niveles de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.</p>	<p>GENERAL: Existen niveles de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.</p>	<p>V1:</p>	<p>Organolépticas Físicas.</p>	<p>Color Olor Temperatura, Volumen Distancia</p>	<p>Tipo y diseño de investigación: Descriptivo. Cuasi experimental.</p> <p>Población y muestra: Agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos. Las muestras fueron:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 250 ml agua de mar a 5 metros. ● 250 ml agua de mar 10 metros. ● 250 ml agua de mar 20 metros. <p>Técnicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pruebas organolépticas y físicas. 2. Técnica de tinción Gram 3. Técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable o NMP). 4. Prueba de siembra y Aislamiento. 5. Prueba bioquímica. 6. Prueba serológica. <p>Instrumentos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Ficha de análisis del agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos- Lima.
<p>ESPECÍFICOS.</p> <p>1. ¿Existirán niveles de <i>Escherichia coli</i> en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo <i>E. coli</i>) en las muestras de agua de mar de la playa Agua dulce del distrito de Chorrillos?</p> <p>2. ¿Existirá presencia de <i>Escherichia coli</i> en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB)?</p> <p>3. ¿Existirá presencia de <i>Escherichia coli</i> mediante pruebas bioquímicas aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB)?</p> <p>4. ¿Existirá presencia de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas?</p>	<p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1. Cuantificar mediante medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo <i>E. coli</i>) los niveles de <i>E. coli</i> en las muestras de agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos.</p> <p>2. Aislar <i>Escherichia coli</i> en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).</p> <p>3. Identificar mediante pruebas bioquímicas <i>Escherichia coli</i> aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB).</p> <p>4. Determinar la presencia de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas.</p>	<p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1. Existen niveles incrementados de <i>Escherichia coli</i> en medios de cultivo selectivo (Caldo verde brillante y caldo <i>E. coli</i>) en las muestras de agua de mar de la playa Agua dulce del distrito de Chorrillos.</p> <p>2. Existe presencia <i>Escherichia coli</i> en agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos en medio de cultivo selectivo diferencial (Agar EMB).</p> <p>3. Existe presencia de <i>Escherichia coli</i> aislada de medios de cultivo selectivo (Agar EMB) mediante pruebas bioquímicas</p> <p>4. Existe presencia de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC) mediante pruebas serológicas</p>	<p>Agua de mar de la playa Agua Dulce del distrito de Chorrillos</p> <p>V2:</p> <p>Niveles de <i>Escherichia coli</i> Enteropatógena (EPEC)</p>	<p>Aislamiento e identificación</p> <p>Cuantificación Bacteriana</p> <p>Serología</p>	<p>Presencia. Ausencia.</p> <p>ufc/mL</p> <p>Aglutinación (+)</p> <p>Aglutinación (-)</p>	

Anexo N° 2 Imágenes

Imagen N° 1: Lugar de la toma de muestra - Playa Agua Dulce, Chorrillos



Imagen N° 2: Toma de muestra



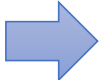
Imagen N° 3: Control de Temperatura (Prueba física).



Imagen N° 4: Conservación de las muestras con geles refrigerantes.



Imagen N° 5: Transporte de las muestras al laboratorio para su análisis.



Las muestras estuvieron en el rango de 2°C a 8°C durante su traslado al laboratorio.

Imagen N° 6: Muestras con tinción Gram.

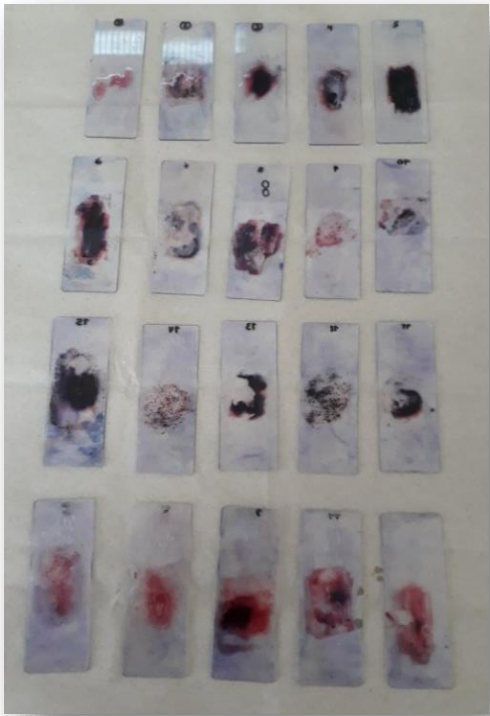


Imagen N° 7, 8, 9 y 10: Resultados de la tinción Gram observados al microscopio.

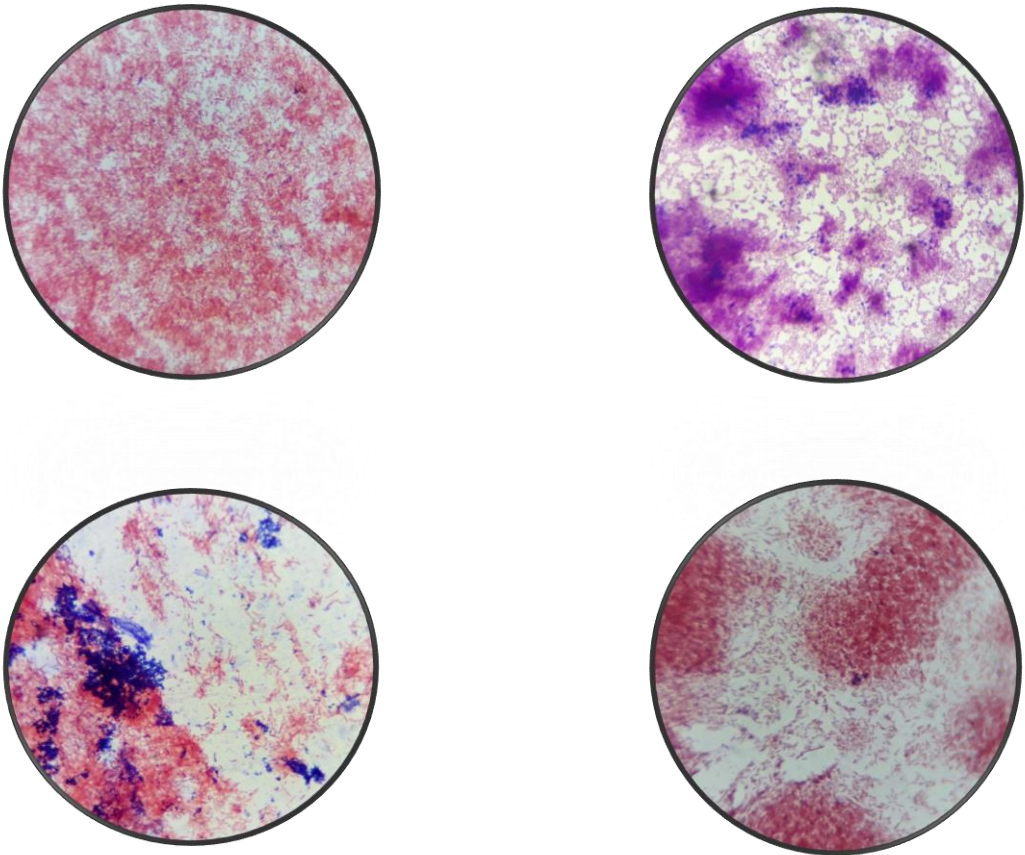


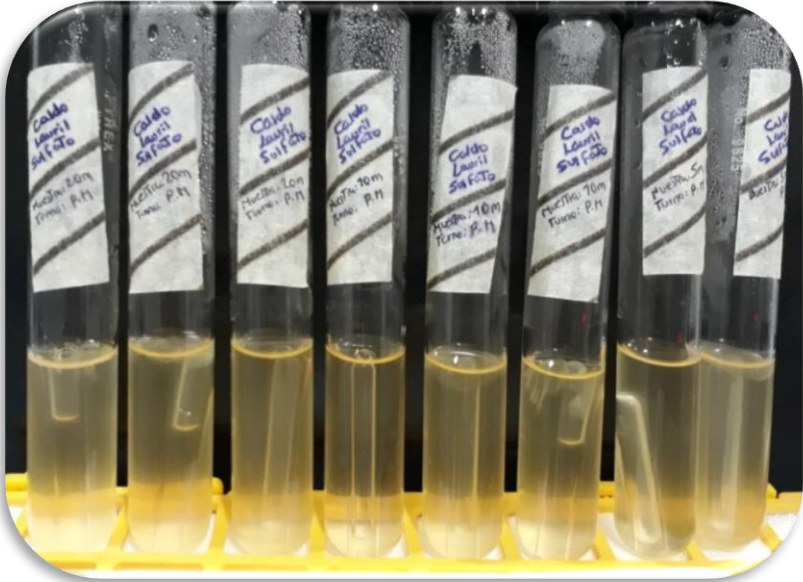
Imagen N° 11: Incubación de la muestra en caldo lauril sulfato - Turno mañana.



Imagen N° 12: Incubación de la muestra en caldo lauril sulfato - Turno tarde.

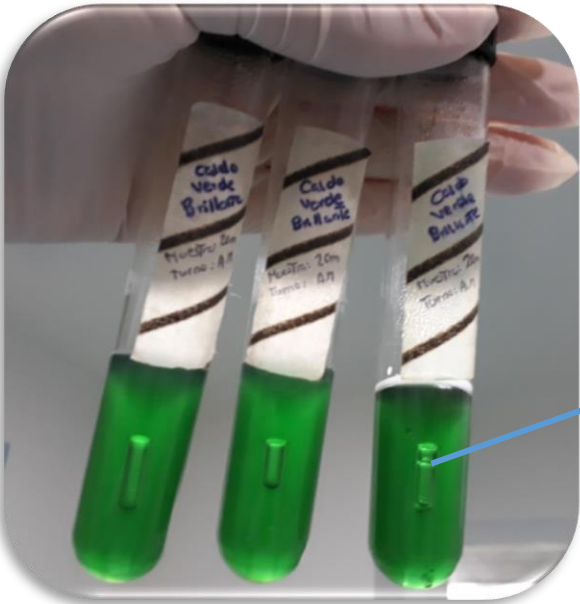


Imagen N° 13: Resultados en caldo lauril triptosa.



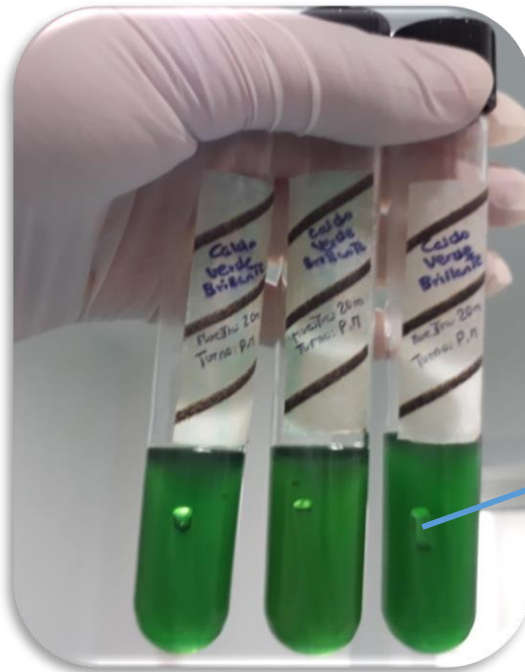
Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 11 y Tabla N° 12.

Imagen N° 14 y 15: Resultados en caldo verde brillante bilis 2%.



Producción de gas

Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 13.



Producción de gas

Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 14.

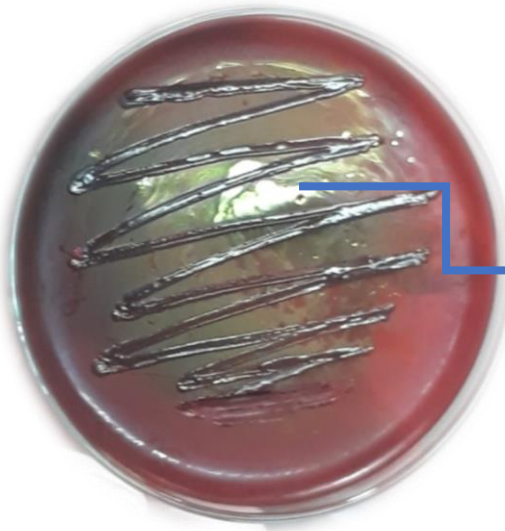
Imagen N° 16: Resultados en caldo *E. coli*.



Producción de gas

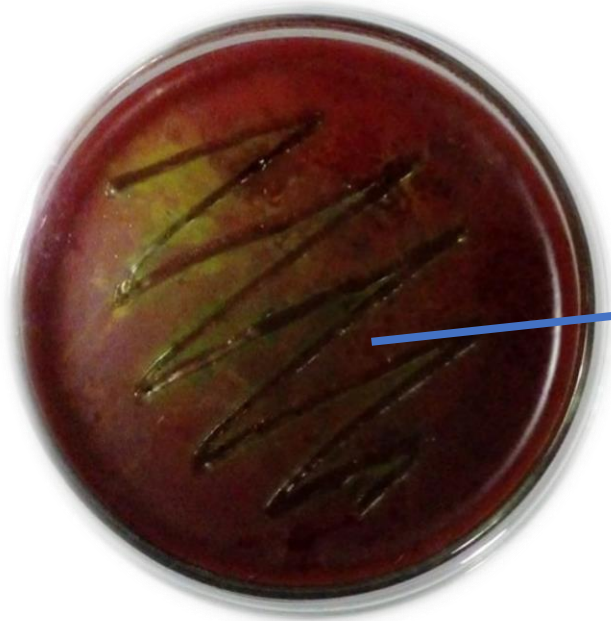
Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 15 y N° 16.

Imagen N° 17 y 18: Resultados en agar EMB.



Muestra positiva de m y del turno (Color negro verdoso con brillo metálico).

Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 20.



Muestra positiva de 20 m del turno tarde (Color negro verdoso con brillo metálico).

Ver resultados de acuerdo a la Tabla N° 21.

Imagen N° 19: Resultados de la prueba bioquímica – Citrato.



Imagen N° 20: Resultados de la prueba bioquímica – Indol.



Imagen N° 21: Resultados de la prueba bioquímica – Agar Lisina.



Imagen N° 22: Resultados de la prueba bioquímica – Motilidad.



Imagen N° 23: Resultados de la prueba serológica – Serotipo A.

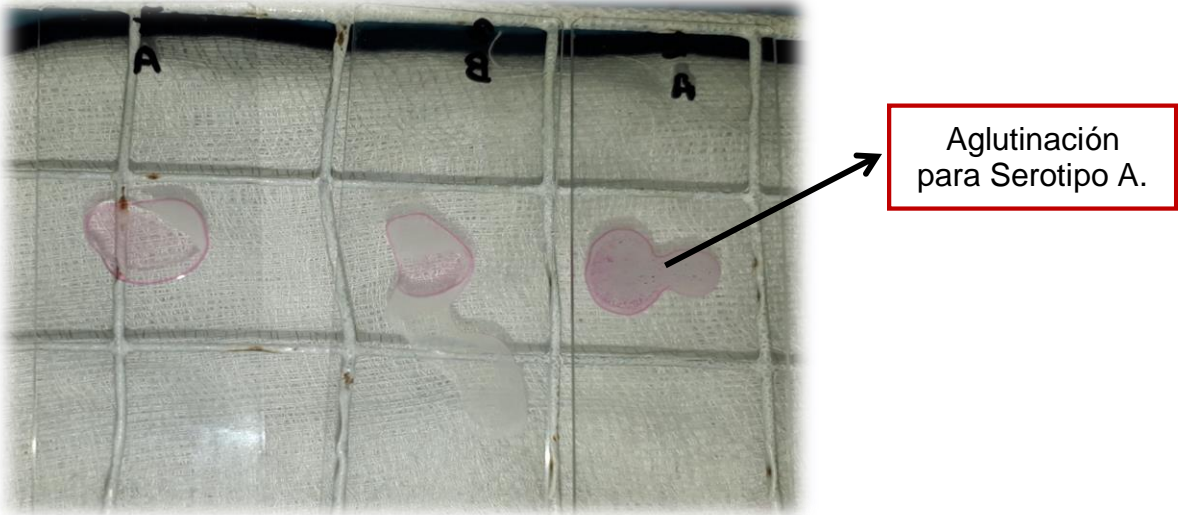


Imagen N° 24: Resultados de la prueba serológica – Serotipo B.

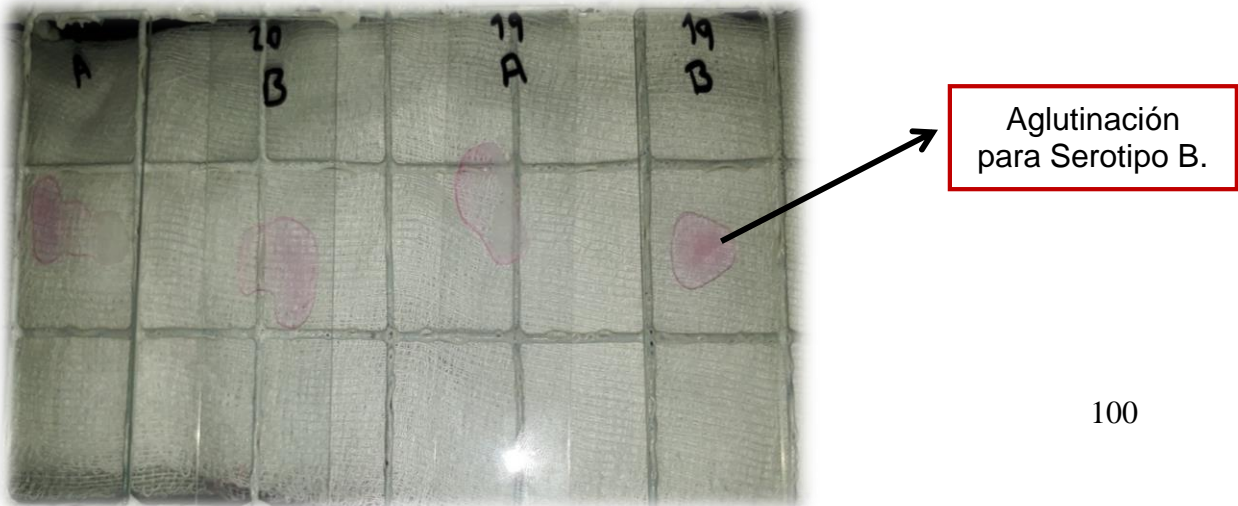


Imagen N°25: Etiqueta de identificación de Muestra.

Etiqueta de Identificación de Muestra

 PERÚ Ministerio de Salud Dirección General de Salud Ambiental	
Punto de Muestreo	
Hora de Muestreo	
Fecha de Muestreo	
Nombre del Muestreador	

Anexo 03: Ficha de recolección de datos.

Ficha de análisis del Agua de Mar de la Playa “Agua Dulce”

1. Análisis organoléptico / Prueba física

Análisis Organoléptico / Prueba física				
Muestras a:	Aspecto	Olor	Temperatura (°C)	Hora de toma de muestra
5 metros				
10 metros				
20 metros				

2. Análisis microscópico

Tinción Gram

Turno: Mañana

Muestras a:	Placa N° 1	Placa N° 2	Placa N° 3	Placa N° 4
5 metros				
10 metros				
20metros				

Leyenda: (+) Gram positivo (-) Gram negativo N.A. Ninguno de los anteriores

Turno: Tarde

Muestras a:	Placa N° 1	Placa N° 2	Placa N° 3	Placa N° 4
5 metros				
10 metros				
20metros				

Leyenda: (+) Gram positivo (-) Gram negativo N.A. Ninguno de los anteriores

3. Prueba microbiológica

a) Medio de cultivo (caldo lauril sulfato)

Turno: Mañana

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

- b) Determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales con caldo verde brillante bilis 2%.

Turno: Mañana

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

- c) Determinación del número más probable (NMP) de coliformes fecales con caldo *E. coli*

Turno: Mañana

Muestras a:	N° Coliformes Fecales NMP/100ml		
	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Muestras a:	N° Coliformes Fecales NMP/100ml		
	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

- d) Prueba confirmativa de *Escherichia coli* en agar EMB

Turno: Mañana

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

4. Pruebas confirmativas

a) Prueba bioquímica

Turno: Mañana

Citrato			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Indol			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Agar Lisina			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Motilidad			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Citrato			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Indol			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Agar Lisina			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			
Motilidad			
Muestras a:	Tubo N° 1	Tubo N° 2	Tubo N° 3
5 metros			
10 metros			
20 metros			

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

b) Prueba serológica

Turno: Mañana

Muestra a:	Serotipos	
	Serotipos A	Serotipos B
5 metros		
10 metros		
20 metros		

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Turno: Tarde

Muestra a:	Serotipos	
	Serotipos A	Serotipos B
5 metros		
10 metros		
20 metros		

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Anexo 04, 05 y 06: Ficha de validación del instrumento.



Universidad
Inca Garcilaso de la Vega
Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: Cano Perez Cerbo Alfredo
 1.2 Cargo e institución donde labora: Universidad Inca Garcilaso de la Vega
 1.3 Grado académico: Magister registro colegio profesional: 07767
 1.4 Nombre del instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
 1.5 Autores del instrumento: LÓPEZ MENDOZA FABIOLA IRENE
MIRANDA CASTILLO FANCY LISSETH
 1.6 Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.					x
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					x
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					x
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					x
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					x
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar la variable en mención.					x
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					x
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y la variable.					x
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					x
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					x
	Total parcial					50
	Total					50

2. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Valido aplicar

3. PROMEDIO DE VALORACION: 50

Puntuación:

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

Mg. Carlos A. Cano Pérez
 QUÍMICO FARMACÉUTICO
 C.O.F. 97767

 Firma del Experto



Universidad Inca Garcilaso de la Vega

Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: Muguruza López, Oscar Alberto
- 1.2 Cargo e institución donde labora: Universidad Inca Garcilaso de la Vega
- 1.3 Grado académico: Magister registro colegio profesional: C.O.F.P. 06268
- 1.4 Nombre del instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
- 1.5 Autores del instrumento: LÓPEZ MENDOZA FABIOLA IRENE
MIRANDA CASTILLO FANCY LISSETH
- 1.6 Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.				x	
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					x
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					x
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					x
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					x
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar la variable en mención.					x
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					x
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y la variable.					x
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					x
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					x
Total parcial				4		44
Total						49

2. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Valido aplicar

3. PROMEDIO DE VALORACION: 49

Puntuación:

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar

Firma del Experto



OSCAR A. MUGURUZA LÓPEZ
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.O.F.P. 06268



Universidad Inca Garcilaso de la Vega

Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: ARANGUREN BELAUNDE LUIS ANTONIO
- 1.2 Cargo e institución donde labora: DOCENTE - FAC. DE CS. PS. Y B. I. Q. Q. U. I. G. V.
- 1.3 Grado académico: DOCENTE registro colegio profesional: C.C.F.P. 06901
- 1.4 Nombre del instrumento y motivo de evaluación: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
- 1.5 Autores del instrumento: LÓPEZ MENDOZA FABIOLA IRENE
MIRANDA CASTILLO FANCY LISSETH
- 1.6 Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia de la presente, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional, valide dicho instrumento para su aplicación.

1.- Muy poco	2.- Poco	3.- Regular	4.- Aceptable	5.- Muy aceptable
--------------	----------	-------------	---------------	-------------------

INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACIÓN				
		1	2	3	4	5
1.- Claridad	El instrumento está formulado con un lenguaje apropiado.				X	
2.- Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					X
3.- Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y tecnológicos.					X
4.- Organización	El instrumento tiene una organización lógica.				X	
5.- Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					X
6.- Intencionalidad	Es adecuado para relacionar la variable en mención.					X
7.- Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					X
8.- Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y la variable.					X
9.- Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					X
10.- Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					X
Total parcial					8	40
Total						48

2. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

VÁLIDO APLICAR

3. PROMEDIO DE VALORACION: 48

Puntuación:

11-20	No válido, reformular
21-30	No válido, modificar
31-40	Válido, mejorar
41-50	Válido, aplicar


 Luis Antonio Aranguren Belaunde
 QUÍMICO FARMACÉUTICO
 CQFP 06901

Anexo 07

Certificado de análisis de la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-572 Reference Number: ATCC® 8739™ Purity: > 99.9% of Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2018/6/30 Release Information: Quality Control Technologist: Jennifer Holub Release Date: 2016/6/4</p>
<p>Performance</p>	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex.</p>	<p>Medium: SBAP</p>
<p>Microscopic Features: Gram negative straight rod.</p>	<p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive</p> <div style="text-align: center;">  Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE </div>
<p><small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>1. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="271 1310 414 1377"> </div> <div data-bbox="510 1310 1340 1355"> <p><small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="271 1400 462 1556"> </div> <div data-bbox="510 1400 821 1422"> <p><small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005</small></p> </div> </div>	

Liofilchem®
Certificate of Analysis

Product	Batch	Expiration date
Lauryl Tryptose Broth Ref. 610085 – 620085 – 6100855	082676501	2020.08.24

Physical quality control	Specification	Results
Expected pH-value (25°C)	6.8 ± 0.2	6.8
Appearance of powder	Free-flowing, homogeneous	Conforms
Colour of powder	Beige	Conforms
Appearance of prepared medium	Clear to very slightly opalescent	Conforms
Colour of prepared medium	Light amber	Conforms

Microbiological Performance

Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133

Growth performance testing with *E.coli* and *E.faecalis* are carried out both at 30°C and 37°C**Productivity, Method of control: Qualitative**

Inoculum: ≤100 CFU

Control strains	Incubation	Specification	Results
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	24 ± 2 h up to 48 ± 2 h 30 ± 1°C	Growth, good turbidity, gas in Durham tube	Conforms
	24 ± 2 h up to 48 ± 2 h 37 ± 1°C	Growth, good turbidity, gas in Durham tube	Conforms
<i>Citrobacter freundii</i> WDCM 00006	24 ± 2 h up to 48 ± 2 h 30 ± 1°C	Growth, good turbidity, gas in Durham tube	Conforms

Selectivity, Method of control: QualitativeInoculum: >10⁵ CFU

Control strains	Incubation	Specification	Results
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009	24 ± 2 h up to 48 ± 2 h 30 ± 1°C	Inhibition	Conforms
	24 ± 2 h up to 48 ± 2 h 37 ± 1°C	Inhibition	Conforms

Batch Release

Approved

Date

05.09.2016

Signature

Quality Control
(D. Vitagliano)*Dario Vitagliano*

The results reported were obtained at the time of release.

Anexo 09

Certificado de análisis del caldo verde brillante bilis 2%

Liofilchem®
Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
Brilliant Green Bile Broth 2%	112816505	2020.07.26
Ref. 610010 – 620010 – 6100105		

Physical quality control	Specification	Results
Expected pH-value (25°C)	7.2 ± 0.2	7.3
Appearance of powder	Free-flowing, homogeneous	Conforms
Colour of powder	Green-beige	Conforms
Appearance of prepared medium	Clear	Conforms
Colour of prepared medium	Green	Conforms

Microbiological Performance

Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133
Reference media: Violet Red Bile Lactose Agar

Productivity, Method of control: Qualitative

Inoculum: 10^8 CFU

Control strains	Incubation	Specification	Results
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	24-48 h 30 ± 1°C	Good growth, visible turbidity with gas production	Conforms
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	24-48 h 30 ± 1°C	Good growth, visible turbidity with gas production	Conforms
<i>Citrobacter freundii</i> WDCM 00006	24-48 h 30 ± 1°C	Good growth, visible turbidity with gas production	Conforms

Selectivity, Method of control: Qualitative

Inoculum: >math>10^8</math> CFU

Control strains	Incubation	Specification	Results
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009	24-48 h 30 ± 1°C	Partial to complete inhibition, no gas production	Conforms
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	24-48 h 30 ± 1°C	Partial to complete inhibition, no gas production	Conforms

Batch Release

Approved			
Date	06.12.2016	Signature	Quality Control (D. Vitagliano)
The results reported were obtained at the time of release.			<i>Dario Vitagliano</i>

Anexo 10

Certificado de análisis del caldo *E. coli*

Liofilchem S.r.l.	CERTIFICATO CONTROLLO QUALITÀ	N°610063 - 620063
	QUALITY CONTROL CERTIFICATE	Revisione 5 del 09.10.2013 Pag. 1 di 1

PRODOTTO / PRODUCT : E.C. BROTH

LOTTO / BATCH : 113016501

DATA PRODUZIONE / PRODUCTION DATE : 30.11.2016

DATA SCADENZA / EXP. DATE : 2020.10.12

CARATTERISTICHE FISICHE / PHYSICAL CHARACTERISTICS

Terreno / Medium	Aspetto / Appearance	Colore / Colour
Disidratato / Dehydrated	Omogeneo / Homogeneous	beige chiaro / Light beige
Pronto / Ready	Leggermente opalescente / Slightly opalescent	Ambra chiaro / Light amber

CARATTERISTICHE BIOLOGICHE / BIOLOGICAL CHARACTERISTICS

Tempo di incubazione / Incubation time	18 h - 24 h
Temperatura / Temperature	37 °C ± 2 °C
Modalità di incubazione / Procedure of incubation	√ O ₂ CO ₂

Medium	E.C. BROTH				
	Microorganism	Theoretical results		Result of conformity	
		Growth	Gas	Growth	Gas
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	☒	☒	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	+	+	☒	☒	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	+	-	☒	☒	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	±	-	☒	☒	
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	±	-	☒	☒	
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	+	-	☒	☒	
pH at 25 °C	6.9 ± 0.2		6.8		

(+) = Crescita / Growth (-) = Inibizione / Inhibition (±) = Inibizione parziale / Partial inhibition

LOTTO/BATCH : Idoneo / Approved

Non idoneo / Not approved

DATA / DATE : 05.12.2016

Responsabile Controllo Qualità
Quality Control Manager
(D. Vitagliano)
Donio Vitagliano

Certificado de análisis del agar EMB

Liofilchem®
Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
E.M.B. LEVINE AGAR Ref. 610019 – 620019*	071117505	2021.06.20

Physical quality control	Specification	Results
Expected pH-value (25°C)	7.1 ± 0.2	7.0
Appearance of powder	Fine, homogeneous, may contain dark red purple particles	Conforms
Colour of powder	Reddish	Conforms
Appearance of prepared medium	Slightly opalescent	Conforms
Colour of prepared medium	Green orange brown	Conforms

Microbiological Performance

Tested according to CLSI M22-A3, ISO 11133-1 and ISO 11133-2
Reference media: Tryptic Soy Agar

Productivity, Method of control: Quantitative
Inoculum: 10-100 CFU/ml

Control strains	Incubation	Expected Results	Specification	Results
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Aerobic, 18-24 h 35 ± 2°C	P _R ≥ 0.1	Good growth, blue-black colonies with green metallic sheen	Conforms
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	Aerobic, 18-24 h 35 ± 2°C	P _R ≥ 0.1	Good growth, colourless to amber	Conforms
<i>Shigella flexneri</i> ATCC® 12022	Aerobic, 18-24 h 35 ± 2°C	P _R ≥ 0.1	Good growth, colourless to amber	Conforms

Selectivity, Method of control: Qualitative
Inoculum: 10⁸-10⁹ CFU/ml

Control strains	Incubation	Specification	Results
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Aerobic, 18-24 h 35 ± 2°C	Inhibition (partial)	Conforms

Batch Release

Approved Date	17.07.2017	Signature	Quality Control (D. Vitagliano) <i>Dario Vitagliano</i>
------------------	------------	-----------	---

The results reported were obtained at the time of release.

©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia - Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy - Tel +39 0858930745 - Fax +39 0858930330
CoA Ref. 610019 – 620019* Rev. 7 of 10.02.2014

DIAGTEST®

Uso Exclusivo de Laboratorio

CERTIFICADO DE ANALISIS

I.- INFORMACIÓN DEL PRODUCTO:

NOMBRE DE PRODUCTO	:	CRISTAL VIOLETA
FORMA DE PRESENTACION	:	100 ML
LOTE N°	:	CV-0317
VENCIMIENTO	:	30/12/2019
TIPO DE ENVASE:	:	Frasco de Polietileno de alta densidad
NORMA TECNICA	:	NORMA TÉCNICA PROPIA

II.- ENSAYOS :	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
A) ORGANOLEPTICOS:		
Apariencia	liquido	conforme
Color	azul caracteristico	conforme
B) TINCIONAL:		
Núcleos	rojo a violeta	conforme
Linfocitos	citoplasma azul	conforme
monocitos	citoplasma azul grisáceo	conforme
Bacterias gram positivas	azul intenso	conforme

III.- CONCLUSION: APROBADO

DIRECCION DIAGTEST S.A.S.

 OFICINA DE SERVICIO AL CLIENTE

 DIRECTOR TÉCNICO

Lima, 06 de Abril del 2017

DIAGTEST®

Uso Exclusivo de Laboratorio

CERTIFICADO DE ANALISIS

I.- INFORMACIÓN DEL PRODUCTO:

NOMBRE DE PRODUCTO	:	LUGOL GRAM
FORMA DE PRESENTACION	:	100 ML
LOTE N°	:	LG-0617
VENCIMIENTO	:	30/12/2019
TIPO DE ENVASE:	:	Frasco Marrón de Polietileno de alta densidad
NORMA TECNICA	:	NORMA TÉCNICA PROPIA

II.- ENSAYOS :	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
A) ORGANOLEPTICOS:		
Apariencia	liquido	conforme
Color	ámbar	conforme
Olor	característico	conforme
B) APLICACION:		
Mordiente	bacterias	conforme

III.- CONCLUSION: APROBADO

DIRECCION DIAGTEST S.A.O.

 CP PERSONAL Y SERVICIOS

 DIRECTOR TÉCNICO

Lima, 02 de Junio del 2017

DIAGTEST®

Uso Exclusivo de Laboratorio

CERTIFICADO DE ANALISIS

I.- INFORMACIÓN DEL PRODUCTO:

NOMBRE DE PRODUCTO	:	DECOLORANTE GRAM
FORMA DE PRESENTACION	:	100 ML
LOTE N°	:	DE-0617
VENCIMIENTO	:	30/12/2019
TIPO DE ENVASE:	:	Frasco de Polietileno de alta densidad
NORMA TECNICA	:	NORMA TÉCNICA PROPIA

II.- ENSAYOS :	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
A) ORGANOLEPTICOS:		
Apariencia	liquido	conforme
Color	inoloro	conforme
Olor	característico	conforme
B) TINCIONAL:		
No aplica		conforme

III.- CONCLUSION: APROBADO

DIRECTOR TÉCNICO

Lima, 02 de Junio del 2017

DIAGTEST®

Uso Exclusivo de Laboratorio

CERTIFICADO DE ANALISIS

I.- INFORMACIÓN DEL PRODUCTO:

NOMBRE DE PRODUCTO	:	SAFRANINA COLORANTE
FORMA DE PRESENTACION	:	100 ML
LOTE N°	:	SC-0617
VENCIMIENTO	:	30/12/2019
TIPO DE ENVASE:	:	Frasco de Polietileno de alta densidad
NORMA TECNICA	:	NORMA TÉCNICA PROPIA

II.- ENSAYOS:	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
A) ORGANOLEPTICOS:		
Apariencia	liquido	conforme
Color	rojo caracteristico	conforme
Olor	característico	conforme
B) APLICACION:		
Bateria gram	contraste	conforme
Bacterias gram negativas	rojo característico	conforme

III.- CONCLUSION: APROBADO


 DROGUERIA DIAGTEST S.A.C.
 S.F. PUNTA FLOR DE NEGRITA
 C.O. 07881
 DIRECTOR TÉCNICO

Lima, 02 de Junio del 2017

Anexo 16

Certificado de análisis del suero *Escherichia coli* clásica polivalente A



CERTIFICADO DE CALIDAD

PRODUCTO: *E. coli* classica polivalente A

TÍTULO: 1:10

FECHA DE PRODUCCIÓN 26/01/18	LOTE: SOCLA012618	FECHA DE ANALISIS 29/01/18
	VENCIMIENTO 26/07/2019	

CEPAS DE CONTROL	LECTURA
<i>E. coli</i> O26:H- 200-82 HSP / 7-81 HSP	++++ i
<i>E. coli</i> O55:H6 25-81 HSP / 21-81 HSP	++++ i
<i>E. coli</i> O111:H- 4-81 HSP / 169-82 HSP	++++ i
<i>E. coli</i> O119 H6 42-81 HSP / H- 300/13CII	++++ i

Representaciones Hospitalarias
NACHAGOV EIRL
 Importación - Distribución E.I.R.L.
 Tel: 255-0372 / 265-0373

CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS	VOLUMEN	ASPECTO
		N

OBSERVACIONES / COMENTARIOS:

N = Normal
 H = Homogéneo
 ++++ = Máxima Aglutinación
 i = Inmediata

Biomédico analista:

Fecha: Enero / 2018

Claudete Silvia Ciola
 CRM 3968

REPRESENTACIONES HOSPITALARIAS
 NACHAGOV EIRL

 GIGI ROCIO HARO MARIÑOS
 DIRECTOR TÉCNICO - DQFR, 16158

Anexo 17

Certificado de análisis del suero *Escherichia coli* clásica polivalente B



CERTIFICADO DE CALIDAD

PRODUCTO: *E. coli classica polivalente B*
TÍTULO: 1:10

FECHA DE PRODUCCION	LOTE	FECHA DE ANALISIS
26/01/18	SOCLB012618	29/01/18
	VENCIMIENTO	
	26/07/2019	

CEPAS DE CONTROL	LECTURA
<i>E. coli</i> O114:H32 26W	+++ i
<i>E. coli</i> O125:H21 215.83 Fav	+++ i
<i>E. coli</i> O142:H6 6016 CDC	+++ i
<i>E. coli</i> O158 E 1020-72	+++ i

Representaciones Hospitalarias
HACHICOV
 Importación - Distribución E.I.R.L.
 Tel.M.: 265-9372 / 265-0373

CARACTERISTICAS MACROSCÓPICAS	VOLUMEN	ASPECTO
	N	H

OBSERVACIONES / COMENTARIOS:

N = Normal
 H = Homogéneo
 ++++ = Máxima Aglutinación
 i = Inmediata

Biomédico analista:

Fecha: Enero / 2018

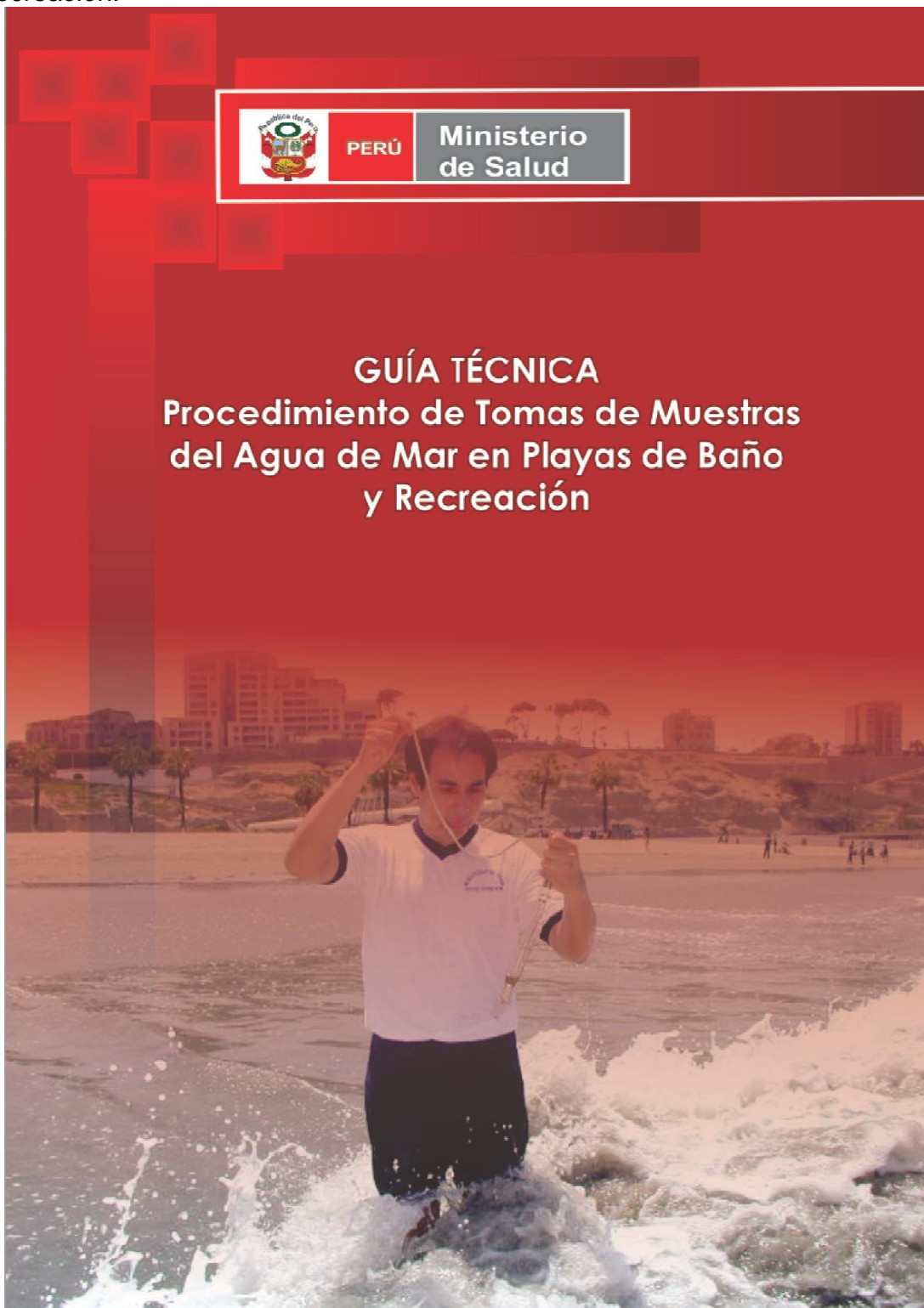

 Claudete Silvia Ciola
 CRBM 3968

REPRESENTACIONES HOSPITALARIAS
 HACHICOV E.I.R.L.

 GIGI ROCIO HARO MARIÑOS
 DIRECTOR TÉCNICO - COFR. 16158

Anexo 18
GUÍA TÉCNICA

Procedimiento de Tomas de Muestras del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación.





Guía Técnica
“Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de
Mar en Playas de Baño y Recreación”

RM N° 553-2010/MINSA.

Dirección General de Salud Ambiental
Ministerio de Salud
Lima – Perú
2011

Catalogación hecha por la Biblioteca Central del Ministerio de Salud

Guía Técnica "Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación" / Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental – Lima: Ministerio de Salud; 2011.
15p.; ilus.

SALUD AMBIENTAL / MUESTRAS DE AGUA / AGUA DE MAR, análisis / SANEAMIENTO DE PLAYAS / INSPECCIÓN SANITARIA / LEGISLACIÓN SANITARIA / CONTROL DE CALIDAD

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2011-02557

Guía Técnica "Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación"

Elaborado por: Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud

© MINSA, Febrero 2011

Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental
Las Amapolas N°350-Lince- Lima 14-Perú
Telef. : (51-1) 4428353
[http:// www.digesa.minsa.gob.pe](http://www.digesa.minsa.gob.pe)
<http://webmaster@digesa.minsa.gob.pe>

1ra. Edición, 2011
Tiraje: 1000 unidades

Imprenta: JB GRAFIC EIRL
Dirección: AV. IGNACIO MERINO 1681
Distrito: LINCE
Teléfono: 470 0108

Versión digital disponible:
<http://www.minsa.gob.pe/bvsminsa.asp>
<http://www.minsa.gob.pe/webftp.asp?ruta=normaslegales/2010/RM553-2010-MINSA.pdf>

DR. ALAN GARCÍA PÉREZ
Presidente de la República

DR. ÓSCAR UGARTE UBILLUZ
Ministro de Salud

DRA. ZARELA SOLIS VÁSQUEZ
Vice Ministra de Salud

DR. EDWARD CRUZ SÁNCHEZ
Director General
Dirección General de Salud Ambiental

MINISTERIO DE SALUD

No. 553-2010/MINSA



Resolución Ministerial

Lima, 16 de Julio del 2010

Visto el Expediente N° 10-016620-001, que contiene los Informes N° 00733-2010/DEPA/DIGESA y N° 1676-2010/DEPA/DIGESA, de la Dirección General de Salud Ambiental y el Informe N° 506-2010-OGAJ/MINSA, de la Oficina General de Asesoría Jurídica del Ministerio de Salud;

CONSIDERANDO:



M. Arce R.

Que, el literal a) del artículo 25° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, establece que la Dirección General de Salud Ambiental es el órgano técnico normativo en los procesos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente, señalando además en el literal b) que la referida Dirección norma y evalúa el Proceso de Salud Ambiental en el Sector;

Que, en ese mismo sentido, el artículo 48° del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud, aprobado por Decreto Supremo N° 023-2005-SA, señala que la Dirección General de Salud Ambiental es el órgano técnico normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente;



E. Cruz G.

Que, mediante los documentos del visto, la Dirección General de Salud Ambiental remite para su aprobación el proyecto de Guía Técnica: "Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación", cuya finalidad es estandarizar la técnica para el procedimiento de toma de muestra del agua de mar en las playas destinadas al baño y recreación;



N. Olivera A.

Estando a lo propuesto por la Dirección General de Salud Ambiental;

Con el visado del Director General de la Dirección General de Salud Ambiental, del Director General de la Oficina General de Asesoría Jurídica, y del Viceministro de Salud;



D. León Ch.

De conformidad con lo dispuesto en el literal i) del artículo 8° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud;



SE RESUELVE:

M. Arco R.

Artículo 1°.- Aprobar la Guía Técnica Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación que en documento adjunto forma parte integrante de la presente Resolución.



E. CRUZ S.

Artículo 2°.- La Dirección General de Salud Ambiental, las Direcciones de Salud de Lima y las Direcciones Regionales de Salud o las que hagan sus veces, son los responsables de la difusión, implementación, supervisión y aplicación de la presente Guía Técnica, dentro del ámbito de sus respectivas jurisdicciones.



W. Olivera

Artículo 3°.- Disponer que la Oficina General de Comunicaciones del Ministerio de Salud publique la presente Resolución Ministerial en la dirección electrónica http://www.minsa.gob.pe/transparencia/dqe_normas.asp del Portal de Internet del Ministerio de Salud.

Regístrese, comuníquese y publíquese.



D. León Ch.


OSCAR UGARTE UBULUZ
Ministro de Salud



ÍNDICE

	Pág.
Presentación	08
I. Finalidad	09
II. Objetivo	09
III. Ámbito de Aplicación	09
IV. Procedimiento a Estandarizar	09
V. Consideraciones Generales	09
VI. Consideraciones Específicas	11
VII. Conclusiones y/o Recomendaciones	12
VIII. Referencia Bibliográfica o Bibliografía	15

Presentación

La presente guía ha sido diseñada para dar las pautas técnicas que deben seguir los responsables de hacer una toma de muestra del agua de mar de las playas, que son utilizadas para el baño y recreación.

En este documento se indica los materiales y equipos que deben emplearse en el proceso de la toma de muestra y las condiciones de transporte de la misma para que llegue al laboratorio sin ninguna alteración para su respectivo análisis microbiológico, donde se determina la densidad de coliformes fecales.

Con esta guía, proporcionamos una herramienta técnica al personal de las Direcciones de Salud de Lima y las Direcciones Regionales de Salud de la zona costera del país, para ser empleada en la Vigilancia de la Calidad Sanitaria de las Playas del Litoral Peruano.

Edward Cruz Sánchez
Director General
Dirección General de Salud Ambiental.

I. Finalidad.

Estandarizar la técnica para el procedimiento de toma de muestra del agua de mar en las playas destinadas al baño y recreación.

II. Objetivo.

Estandarizar el procedimiento, las condiciones de transporte, el almacenamiento y materiales que se deben utilizar para realizar una adecuada toma de muestra del agua de mar en las playas del litoral peruano, que son utilizadas para el baño y recreación, las que se utilizarán para determinar su calidad microbiológica.

III. Ámbito de Aplicación.

La presente Guía Técnica es de aplicación obligatoria para la Dirección General de Salud Ambiental, las Direcciones Regionales de Salud, Direcciones de Salud Ambiental o las que hagan sus veces y Direcciones de Salud de Lima, que cuenten con playas dedicadas al baño y recreación, donde se realiza la vigilancia sanitaria de conformidad con la Norma Técnica aprobada. En el caso de los clubes de playas deberán coordinar con la Diresa/Disas de su jurisdicción, para realizar su vigilancia sanitaria de acuerdo a la Norma Técnica.

IV. Procedimiento a Estandarizar.

Procedimiento de toma de muestra de agua de mar en zona de mayor afluencia de bañistas en playas dedicadas al baño y recreación en el litoral peruano.

V. Consideraciones Generales.

1. Definiciones Operativas.

- a. **Cadena de Custodia:** Formato donde se registra la información relacionada con la toma de muestra, como son: punto de muestreo georeferenciado, fecha y hora, nombre de la persona que la realizó, ubicación geográfica, como son: localidad, distrito, provincia, departamento, región; parámetros a analizar, la que será entregada al laboratorio para su posterior análisis.
- b. **Caja Conservadora:** Caja térmica que permite mantener la temperatura de 4°C, para el transporte de la muestra al laboratorio, para su posterior análisis.
- c. **Clubes de Playas:** Son aquellas sedes de los club que cuenten con playas en su respectivo local.

- d. **Codificación de Campo:** Es la identificación de la muestra, que puede ser con números o letras, con la cual va ser reconocida para su posterior análisis.
- e. **Coliformes Fecales:** Bacterias que forman parte del total del grupo coliformes, que son definidas como bacilos gran-negativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a $44,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ dentro de las 24 hrs. ± 2 hrs. la mayor especie del grupo de coliformes fecales (termotolerantes) es la *Escherichia coli*.
- f. **Contracorriente:** Este término se emplea cuando el personal que muestrea se coloca en sentido contrario a la corriente del cuerpo de agua, para realizar la toma de muestra.
- g. **Frasco para el Muestreo:** Son botellas de vidrio borosilicato o de plástico de boca ancha con tapa rosca, que resisten la esterilización por autoclave a una temperatura de $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos.
- h. **Gel Refrigerante:** Es una sustancia coloidal protegida en bolsas o recipientes plásticos, que se congela y se coloca en la caja conservadora de frío, ayudando a conservar la temperatura a 4°C .
- i. **Tubos Múltiples de Fermentación:** Método de análisis que se emplea para la determinación de los coliformes fecales, basado en pruebas probabilísticas, cuyos resultados se expresan en Número más Probable – NMP/100 mL de muestra.
- j. **Número más Probable:** Es el cálculo de la densidad probable de bacterias coliformes basadas en la combinación de resultados positivos y negativos obtenidos en cada dilución. La precisión de cada prueba depende del número de tubos utilizados. Tres diluciones son necesarias para la obtención del código del NMP. Las tablas de NMP se basan en la hipótesis de una distribución de Poisson (dispersión aleatoria). La densidad bacteriana se obtiene a través de tablas en las que se presenta el límite de confianza de 95% para cada valor determinado y se expresa como NMP de coliformes/100 mL.

2. **Conceptos Básicos.**

- a. **Toma de Muestra:** La toma de muestra es el conjunto de procedimientos destinados a obtener una parte representativa cuantitativamente a partir de un todo.
- b. **Zona de Baño:** Área del agua de mar donde se observa una mayor afluencia o número de bañistas que se encuentran bañándose.
- c. **Playas de Baño y Recreación:** Son aquellas playas de arena o piedra, donde hay facilidades de acceso de ingreso de bañistas, no presentan descarga directa de agua residual y donde pueden descansar y bañarse sin ningún peligro los usuarios.

3. Requerimientos Básicos.

- a. **Recursos Humanos:** Personal que este capacitado en toma de muestra de agua de mar.
- b. **Materiales:**
 - Caja Conservadora para el transporte de la muestra al laboratorio donde se colocan los geles refrigerantes, que permitirán mantener la temperatura a 4°C.
 - Frascos de vidrio estéril de color transparente, con tapa rosca de boca ancha, con capacidad de 250 mL.
 - Termómetro, se emplea para medir la temperatura del agua de mar y del ambiente.
 - Etiqueta y plumón indeleble, para anotar los datos de identificación de la muestra.
 - Laboratorio de microbiología: Ambiente donde se procesan las muestras de agua de mar, para los análisis correspondientes, aplicando el método de Tubos Múltiples de Fermentación de acuerdo al Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 21 th edition, 2005, parte 9221 E2, para la determinación del número más probable de coliformes fecales (NMP/100 mL).

VI. Consideraciones Específicas.**1. Descripción del Proceso o Procedimiento.**

- a. Las muestras se tomarán en los lugares donde haya más afluencia de bañistas (zona de baño) de acuerdo a las siguientes consideraciones:
 - En playas donde el oleaje es tranquilo, se debe tomar la muestra en la zona donde la profundidad del agua llegue a 1 m aproximadamente (cintura del muestreador), la muestra debe tomarse a contracorriente del flujo entrante y a 30 cm aproximadamente bajo la superficie del agua.
 - En playa con rompiente cercana a la orilla, pasar la rompiente a una profundidad del agua de 1m. El muestreador debe colocarse a contracorriente del flujo entrante y tomar la muestra de agua a 30 cm bajo la superficie del agua. Si la pendiente del fondo es pronunciada tomar la muestra en la orilla, donde la profundidad del agua esté entre el tobillo y la rodilla, llenar el frasco de muestreo procurando que contenga un mínimo de arena.

- b. Para realizar la respectiva toma de muestra se debe tener las siguientes consideraciones:
 - Aflojar levemente la tapa del frasco y el papel de protección, manejándolos como una unidad y evitando que se contamine la tapa o el cuello del frasco.
 - Introducir el frasco con la boca hacia abajo hasta la profundidad de 30 cm de la superficie.
 - Llenar el frasco hasta que quede 1/3 del frasco del volumen libre y tapar.
- c. En la orilla de la playa se realiza las anotaciones en la cadena de custodia, la codificación de campo de la muestra y la hora.
- d. Llenar los datos en la etiqueta del envase con fecha y hora del muestreo, identificación de la muestra e iniciales del muestreador. **(ver anexo 1)**
- e. Realizar la medición de la temperatura del agua y del ambiente y registrar en la cadena de custodia.
- f. Los frascos con las muestras son guardados en la caja conservadora, para ser transportados al laboratorio, las muestras deben mantenerse a 4°C durante su transporte al laboratorio.
- g. Las muestras deberán ser enviadas inmediatamente al laboratorio, el tiempo de transporte no debe pasar las 6 horas desde la toma de muestra hasta su análisis.
- h. El laboratorio debe realizar el análisis de coliformes fecales, por el método de Tubos Múltiples de Fermentación de acuerdo al Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 21 th edition, 2005, parte 9221 E2

2. **Diagrama o Flujograma del Proceso, ver el anexo 2.**

VII. Conclusiones y/o Recomendaciones.

Para realizar la determinación de la calidad microbiológica del agua de mar de una playa de baño y recreación, se debe tener el procedimiento adecuado para realizar la toma de muestra de agua de mar, cumpliendo la metodología estándar recomendada por instituciones internacionales.

Por tal motivo se recomienda que el personal que realice la toma de muestra, deba ser capacitado previamente para cumplir adecuadamente el procedimiento.

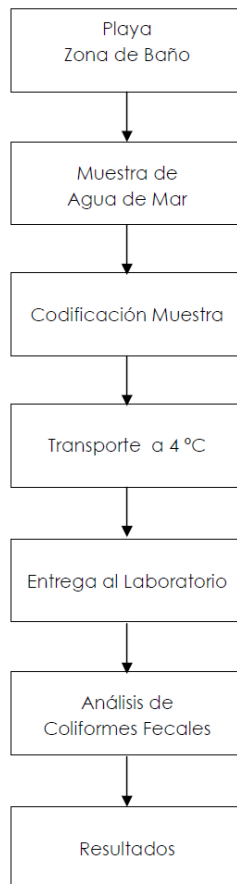
ANEXO N° 1

Etiqueta de Identificación de Muestra

	
Punto de Muestreo	
Hora de Muestreo	
Fecha de Muestreo	
Nombre del Muestreador	

ANEXO Nº 2

Diagrama de Flujo del Proceso de Toma de Muestra de Agua de Mar



VIII. Referencia Bibliográfica o Bibliografía.

1. Real Decreto 1341/2007, de 11 de octubre, Gestión de la Calidad de las Aguas de Baño - España.
2. Norma Mexicana – NMX-AA-120-SCFI-2006, Establece los Requisitos y Especificaciones de Sustentabilidad de Calidad de Playas.
3. Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero de 2006 – Relativa a la Gestión de la Calidad de las Aguas de Baño y por la que se deroga la Directiva 76/160/CEE.
4. Guía "Esquema de Certificación de Calidad de Playas con Base a Criterios de Desempeño Sustentable" Dirección General de Fomento Ambiental Urbano y Turístico. Coordinación de Asesores del C. Secretario – SEMARNAT y Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua – CONAGUA – México.
5. Guía para Ambientes Seguros en Aguas Recreativas Vol. 1 Aguas Costeras y Aguas Dulces. Organización Mundial de la Salud 1998.
6. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 21 th edition, 2005, Método para la Determinación de Coliformes Fecales 9221 E2 pag. 9-57.



Av. Salaverry N° 801 Jesús María
INFOSALUD 0800-10828

www.minsa.gob.pe

Anexo 19

DS N°038/MINSA-DIGESA-V.02. DIRECTIVA SANITARIA QUE ESTABLECE EL PROCEDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LAS PLAYAS DEL LITORAL PERUANO.

Directiva Sanitaria N° 038/MINSA-DIGESA-V.02.
Directiva Sanitaria que establece el Procedimiento para la Evaluación de la Calidad Sanitaria de las Playas del Litoral Peruano

DIRECTIVA SANITARIA N°038/MINSA-DIGESA-V.02. DIRECTIVA SANITARIA QUE ESTABLECE EL PROCEDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LAS PLAYAS DEL LITORAL PERUANO

I. FINALIDAD

Contribuir a prevenir y controlar los diferentes factores de riesgo de contaminación que se presentan en las playas, que ponen en riesgo la salud de las personas que concurren a ellas.

II. OBJETIVO

Establecer el procedimiento técnico para realizar la evaluación de la calidad sanitaria de las playas a nivel nacional.

III. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Directiva Sanitaria es de aplicación obligatoria por la autoridad de salud del nivel nacional y regional, según corresponda, en todas las playas que forman parte del litoral peruano, administradas por la municipalidad o clubes de playa, destinadas para el baño y recreación.

IV. BASE LEGAL

1. Ley N° 26842 - Ley General de Salud.
2. Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud.
3. Ley N° 27314 - Ley General de Residuos Sólidos.
4. Ley N° 29338 - Ley de Recursos Hídricos.
5. Ley N° 27783 - Ley de Bases de la Descentralización.
6. Ley N° 27867 - Ley Orgánica de Gobiernos Regionales.
7. Ley N° 27972 - Ley Orgánica de Municipalidades.
8. Decreto Supremo N° 023-2005-SA - Aprueban el Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud.
9. Decreto Supremo N° 0002-2008 - MINAM - Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Aguas.
10. Decreto Supremo N° 023-2009-MINAM - Aprueban disposiciones para la implementación de los Estándares Nacionales de la Calidad Ambiental (ECA) para Agua.
11. Decreto Supremo N° 98-60-DGS - Reglamento para el Control Sanitario de Playas y Establecimientos.
12. Resolución Jefatural N° 0291-2009-ANA "Disposiciones para Implementar el Otorgamiento de Autorización de Vertimiento y Rehuso de Aguas Residuales Industriales Tratadas".

V. DISPOSICIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

- a. **Marea Roja:** Es un fenómeno natural caracterizado por un aumento de la concentración de ciertos organismos componentes del plancton. Bajo ciertas condiciones ambientales se produce un aumento exagerado de organismos fitoplanctónicos (especialmente dinoflagelados), lo que se conoce como florecimiento, floraciones algales o "Bloom", causando grandes cambios de coloración del agua debido a que poseen pigmentos con los que captan la luz del sol. Estos pigmentos pueden ser de color rojo, amarillo, verde, café o combinaciones, siendo la más frecuente la coloración rojiza. De ahí que se generalizó mundialmente el término "Marea Roja".
 - b. **Muestreo:** Actividad por la cual se toman muestras representativas del agua de mar para verificar que su calidad microbiológica cumpla con lo dispuesto en la presente Directiva Sanitaria.
 - c. **Residuos Sólidos:** Son aquellas sustancias, productos o subproductos en estado sólido o semisólido, cuyo generador dispone o está obligado a disponer en determinadas condiciones, en virtud de lo establecido en la normatividad nacional o de los riesgos que causan a la salud y el ambiente.
 - d. **Vigilancia Sanitaria:** Actividad realizada por el personal autorizado de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), Direcciones Regionales de Salud (DIREAS), Gerencias Regionales de Salud (GERESAS), Direcciones de Salud (DISAS) o quien haga sus veces para verificar la calidad sanitaria de las playas.
- 5.2. La inspección y la vigilancia de las playas estará a cargo del personal de salud de las DISAS, DIREAS y GERESAS o las que hagan sus veces en el ámbito regional; capacitados en la toma de muestra e inspección sanitaria de las playas.
- 5.3. En el caso de los clubes que cuentan con playas, los responsables de la administración de estos establecimientos deberán coordinar con la DISAS, DIREAS o GERESAS o las que hagan de sus veces, para que el personal de salud pueda ingresar a las sedes de los clubes a realizar la vigilancia de sus playas; la cual consistirá en hacer una inspección de la limpieza de las playas, verificar la situación de los servicios básicos presentes en ellas; y así mismo, tomarán las muestras del agua de mar, las cuales serán enviadas para su respectivo análisis por los clubes a laboratorios acreditados por INDECOPI. Los resultados serán enviados a la autoridad sanitaria, para hacer la calificación sanitaria de la playa. En caso que no hubieran laboratorios acreditados, las muestras serán procesadas por el laboratorio de muestras ambientales de las DIREAS.
- 5.4. La inspección tendrá una frecuencia semanal en la temporada de verano, la cual va desde la primera semana del mes de diciembre y termina la segunda semana del mes de abril y en forma quincenal los demás meses del año. Esta disposición aplica tanto para las playas administradas por los gobiernos locales como en el caso de los clubes de playa.
- 5.5. Para valorar los resultados de la inspección sanitaria de las playas, se usará el Índice de Calidad Sanitaria de las Playas –ICSP, el mismo que se detalla en la presente Directiva Sanitaria. El Índice de Calidad Sanitaria de las Playas (ICSP) es la valoración objetiva de las condiciones sanitarias en que se encuentra una playa, y que es utilizada por la autoridad de salud para la calificación sanitaria de las mismas, en resguardo de la salud de los usuarios.

- 5.6. El reporte de la vigilancia sanitaria de playas incluirá los resultados de la inspección y el cálculo del Índice de Calidad Sanitaria de las Playas –ICSP, el cual deberá ser remitido a la Dirección General de Salud Ambiental, siguiendo el cronograma establecido anualmente.
- 5.7. La Dirección General de Salud Ambiental en coordinación con las DISAS, DIREAS, GERESAS, o quien haga sus veces, deben de trabajar en coordinación con los gobiernos locales brindándoles asesoramiento técnico a fin de que cumplan con la limpieza, la colocación de los servicios básicos, como los servicios higiénicos y recipientes para los residuos sólidos; y así mismo la realización de la inspección a los locales de expendio de alimentos ubicados en la playa, para verificar el cumplimiento de los requerimientos sanitarios vigentes.
- 5.8. La Aplicación de la presente Directiva de Salud estará a cargo del responsable de salud ambiental dentro de las DISAS, DIREAS y GERESAS o las que hagan de sus veces.
- 5.9. La coordinación nacional de la vigilancia sanitaria de las playas a nivel nacional, estará a cargo de la Dirección General de Salud Ambiental, siendo su responsabilidad trabajar en forma conjunta con las DISAS, DIREAS y GERESAS o quien haga sus veces, para la ejecución de la vigilancia sanitaria, la supervisión del trabajo que vienen realizando respecto a la inspección y cálculo del Índice de Calidad Sanitaria de Playas; así mismo se encargará de la elaboración del boletín informativo de la calificación sanitaria de las playas a nivel nacional y su difusión a la población.
- 5.10. La publicación de los resultados de la vigilancia de la calidad sanitaria de las playas, se hará cada viernes, en temporada de verano y en forma quincenal en los demás meses del año, a través de la página web de la Dirección General de Salud Ambiental, www.digesa.minsa.gob.pe, para conocimiento de la población; asimismo, la información será enviada a las DISAS, DIREAS y GERESAS o las que hagan sus veces en el ámbito nacional.

VI. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

6.1. METODOLOGÍA PARA EL CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIDAD SANITARIA DE PLAYAS

La Calificación Sanitaria de las Playas se realizará aplicando el Índice de Calidad Sanitaria de Playas (ICSP), el cual será calculado utilizando la tabla de calificación del Anexo 02 y teniendo en consideración los criterios que se detallan:

- 6.1.1. El cálculo del ICSP, se trabaja con 3 criterios de evaluación tales como: Calidad Microbiológica, Calidad de Limpieza (Limpieza de playa y recipientes para residuos sólidos) y Presencia de Servicios Higiénicos.
- 6.1.2. Cada uno de los criterios de evaluación adquirirá un puntaje que sumados deben dar la unidad (1=100%), quedando distribuidos de prioridad de la siguiente manera:

a. Control de Calidad Microbiológica	0,50
b. Control de Calidad de Limpieza	0,45
- Limpieza de Playa	0,40
- Recipientes para Residuos Sólidos	0,05
c. Control de Presencia de Servicios higiénicos	0,05
	1,00

6.1.3. Determinación de Control de Calidad Microbiológica

- a. La calificación microbiológica del agua de mar, queda establecida por la variable densidad de coliformes termotolerantes, determinada en la muestra del agua de mar recolectada por el personal de la salud, en cada inspección de la playa.
- b. Esta calificación se divide en 2 categorías: Buena y Mala; cada una de estas categorías tiene un rango de valores de coliformes termotolerantes (NMP/100 mL), los cuales se han establecido de acuerdo a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para agua, a los cuales se les ha asignado un puntaje a cada categoría.
- c. Los resultados del análisis de coliformes termotolerantes obtenidos de una playa, deben compararse con el rango de valores de coliformes termotolerantes, para determinar su categoría y puntaje.

Determinación de Control de la Calidad Microbiológica

Variable	Rango de Valor	Puntaje	Calificación	Puntaje Máximo por Variable
Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)	0 -200	0.50	Buena	0,50
	> 200	0.00	Mala	

- d. El resultado alcanzado sería el puntaje correspondiente al Control de la Calidad Microbiológica del agua de la playa, que se aplica en el cálculo final del ICSP.

6.1.4. Determinación de Control de Calidad de Limpieza

- a. Este criterio de calificación, se divide en 2 variables de evaluación: limpieza de la playa y la existencia de recipientes para el depósito de residuos sólidos en la playa, los que deben estar en buen estado. Cada una de estas variables tiene un puntaje, el que sumado debe dar hasta 0,45
- b. La variable Limpieza de Playa, se trabaja con 3 categorías de calificación: Buena, Regular y Mala, las que se determinan por la cantidad de residuos sólidos que se observan en la playa en el día de la inspección.
- c. Se considera la calificación de Buena cuando la arena esta rastrillada, la cual puede ser en forma manual o con maquinaria, esta actividad es de responsabilidad de los gobiernos locales o particulares, de ser el caso, así mismo no debe observarse residuos sólidos en la superficie tanto para las playas de arena como las de piedras.
- d. Para la calificación de Regular, la expresión de residuos sólidos disperso, está referida a un máximo de 15 unidades por 10 m².
- e. Para la calificación de Mala, los residuos sólidos se encuentran por toda la playa y está referida a que superan las 15 unidades por 10 m².
- f. Los resultados de la inspección de la limpieza de una playa, deben compararse con el rango de valores establecidos para cada categoría y su respectivo puntaje.

Determinación de Control de la Calidad de Limpieza

Variable	Rango de Valor	Puntaje	Calificación	Puntaje Máximo por Variable
Limpieza de la Playa (Residuos sólidos / 10 m ²)	Ausencia de residuos sólidos.	0.40	Buena	0.40
	Residuos sólidos hasta 1 a 15, en 10 m ²	0.20	Regular	
	Residuos sólidos mayor de 15 , en 10 m ²	0.00	Mala	
Recipientes para Residuos Sólidos	Disponibles y en buen estado.	0.05	Presencia	0.05
	No disponibles o en mal estado.	0.00	Ausencia	

- g. Obtenido el puntaje de cada variable, se procederá a sumarlos, el resultado alcanzado sería el puntaje correspondiente al criterio Control de la Calidad de Limpieza, que se aplica en el cálculo final del ICSP.

6.1.5. Determinación de Control de Presencia de Servicios Higiénicos

- a. Este criterio debe evaluarse en el momento de la inspección y en cada monitoreo que se realiza de acuerdo a la frecuencia de muestreo establecida.
- b. Se establece el siguiente puntaje para la verificación del funcionamiento de los servicios higiénicos, los cuales deben estar limpios y operativos:

Determinación del Control de la Presencia de Servicios Higiénicos

Variable	Rango de Valor	Puntaje	Calificación	Puntaje Máximo por Variable
Disponibilidad de Servicios Higiénicos	Disponibles, limpios y en funcionamiento	0.05	Presencia	0.05
	No disponibles o están sucios o no funcionan	0.00	Ausencia	

- c. El puntaje obtenido de la presencia o ausencia, se procederá a sumarlos, el resultado alcanzado sería el puntaje correspondiente al criterio Control de la Presencia de Servicios Higiénicos, que se aplica en el cálculo final del ICSP

6.1.6. Cálculo del Índice de Calidad Sanitaria de Playas

Para la determinación del ICSP, se suman los resultados obtenidos en cada uno de los criterios: Calidad Microbiológica, Calidad de Limpieza y Presencia de Servicios Higiénicos.

6.2. CALIFICACIÓN SANITARIA DE LAS PLAYAS

- a. Las playas obtienen la calificación sanitaria de: Saludable y No Saludable, de acuerdo a los puntajes obtenidos del ICSP
- b. Las playas que presenten los siguientes valores de ICSP tendrán la siguiente Calificación Sanitaria:

Calificación Sanitaria	Rango de valores de ICSP
Saludable	1
No Saludable	<1

- 6.3. El personal de salud, deberá realizar el muestreo del agua de mar siguiendo lo estipulado en la Guía Técnica "Procedimiento de Toma de Muestra del Agua de Mar en Playas de Baño y Recreación, aprobada con R.M. N° 553- 2010/MINSA.
- 6.4. Cuando en la superficie del agua de mar se observen películas de grasa o aceite, debe reportarse y proceder a la toma de muestra, a efectos de determinar si están dentro de lo establecido por los estándares de calidad ambiental del agua y tomar las medidas de prevención para los veraneantes.
- 6.5. En el caso que se presente marea roja (cambio de color del mar), debe tomarse una muestra para realizar los respectivos análisis hidrobiológicos, para determinar la microalga causante de este fenómeno. Como parte preventiva debe informarse a la población que no debe bañarse en esta playa, hasta nuevo aviso de la autoridad sanitaria.
- 6.6. Las DISAS, DIRESAS y GERESAS o las que hagan sus veces, deberán enviar a la DIGESA a partir de la publicación de la presente Directiva Sanitaria, el nombre, dirección electrónica y número telefónico del responsable de la vigilancia sanitaria de las playas de sus respectivas direcciones, a fin de asegurar la continua coordinación intersectorial.

VII. RESPONSABLES

1. NIVEL NACIONAL

El Ministerio de Salud, a través de la Dirección General de Salud Ambiental, es responsable de la difusión de la presente Directiva Sanitaria hasta el nivel regional; así como de efectuar la supervisión de las acciones desarrolladas por las DISAS, DIRESAS y GERESAS en aplicación de lo dispuesto. Asimismo, brindará la asistencia técnica en el marco de la presente Directiva Sanitaria y recepcionará los resultados obtenidos de la calificación en cada monitoreo en cada región, para la publicación del boletín informativo de la calidad sanitaria de las playas del litoral y su respectiva difusión al público en general.

2. NIVEL REGIONAL

Las Direcciones de Salud de Lima (DISAS), Direcciones Regionales de Salud (DIRESAS) y las Gerencias Regionales de Salud (GERESAS), o las que hagan sus veces, según corresponda, serán responsables de dar cumplimiento y aplicar lo dispuesto en la presente Directiva Sanitaria, para el logro de los objetivos y finalidad descritas, así como de establecer las coordinaciones necesarias con las instancias correspondientes del nivel local y de las administraciones de los clubes que cuenten con playas.

3. NIVEL LOCAL:

La intervención de las redes, micro redes, centros y puestos de salud, para la aplicación de lo dispuesto en la presente Directiva Sanitaria se realizará en coordinación con las Direcciones de Salud (DISAS), Direcciones Regionales de Salud (DIREAS) y Gerencias Regionales de Salud (GERESAS), o las que hagan sus veces.

Los responsables de los gobiernos locales, así como los propietarios y administradores de las playas pertenecientes a clubes privados que cuenten con playas, son responsables de brindar las facilidades y colaboración necesaria para el cumplimiento de lo dispuesto en la presente Directiva Sanitaria.

VIII. DISPOSICIONES FINALES

La presente Directiva Sanitaria, debe ser implementada por las Direcciones de Salud (DISAS), Direcciones Regionales de Salud (DIREAS) y Gerencias Regionales de Salud (GERESAS), o las que hagan sus veces, a partir de su aprobación por parte del Ministerio de Salud.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Ficha de Inspección Técnica de Playas

Anexo 2: Tabla para el cálculo del índice de Calificación Sanitaria de Playas (ICSP)

Anexo 3: Formato de Reporte del Índice de Calidad Sanitaria de Playas.

ANEXO 1
FICHA DE INSPECCIÓN TÉCNICA DE PLAYAS

Departamento:

Provincia:

Fecha:

Semana:

Código	Punto de Muestreo	Hora de Muestreo	Temp. Agua	Temp. Amb	Limpieza de Playa			Recipiente/ R.S		SSH		Observación
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	
					B	R	M	SI	NO	SI	NO	

Responsable

Firma

ANEXO 2

TABLA PARA EL CÁLCULO DEL ÍNDICE DE CALIFICACIÓN SANITARIA DE PLAYAS (ICSP)

Criterio	Variable	Rango de Valor	Puntaje	Calificación	Puntaje Máximo por variable
a. Control de Calidad Microbiológica	Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)	0 -200	0.50	Buena	0.50
		>200	0.00	Mala	
b. Control de Calidad de Limpieza	Limpieza de la Playa	Ausencia de residuos sólidos.	0.40	Buena	0.40
		Residuos sólidos hasta 1 a 15, en 10 m ²	0.20	Regular	
		Residuos sólidos mayor de 15, en 10 m ²	0.00	Mala	
	Recipientes para Depósito de Residuos Sólidos	Disponibles y en buen estado.	0.05	Presencia	0.05
		No disponibles o en mal estado.	0.00	Ausencia	
c. Control de Presencia de Servicios Higiénicos	Disponibilidad de Servicios Higiénicos	Disponibles, limpios y en funcionamiento	0.05	Presencia	0.05
		No disponibles o están sucios o no funcionan	0.00	Ausencia	

NIVELES DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENA (EPEC) EN AGUA DE MAR DE LA PLAYA AGUA DULCE DEL DISTRITO DE CHORRILLOS

INFORME DE ORIGINALIDAD

29%

INDICE DE SIMILITUD

28%

FUENTES DE
INTERNET

7%

PUBLICACIONES

13%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Ricardo Palma Trabajo del estudiante	3%
3	repositorio.ucp.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	acceda.ulpgc.es:8443 Fuente de Internet	2%
5	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	2%
6	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	2%
7	tesis.repo.sld.cu Fuente de Internet	2%
8	www.archive.org Fuente de Internet	1%

9	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
10	www.digesa.minsa.gob.pe Fuente de Internet	1%
11	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%
12	issuu.com Fuente de Internet	1%
13	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1%
14	Submitted to Universidad Santo Tomas Trabajo del estudiante	<1%
15	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	<1%
16	www.24horaslibre.com Fuente de Internet	<1%
17	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Trabajo del estudiante	<1%
18	repositorio.utea.edu.pe Fuente de Internet	<1%
19	depa.fquim.unam.mx Fuente de Internet	<1%

sedici.unlp.edu.ar

20	Fuente de Internet	<1%
21	revistas.uladech.edu.pe Fuente de Internet	<1%
22	www.salud-publica.es Fuente de Internet	<1%
23	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1%
24	muestrasaguademar.blogspot.com Fuente de Internet	<1%
25	www.itesca.edu.mx Fuente de Internet	<1%
26	T. Enriquez-Acevedo, Camilo M. Botero, R. Cantero-Rodelo, A. Pertuz, A. Suarez. "Willingness to pay for Beach Ecosystem Services: The case study of three Colombian beaches", Ocean & Coastal Management, 2018 Publicación	<1%
27	repository.ucatolica.edu.co Fuente de Internet	<1%
28	Submitted to Universidad Pontificia de Salamanca Trabajo del estudiante	<1%
29	www.losdeliriosdepandora.com Fuente de Internet	<1%

30	tokland.googlecode.com Fuente de Internet	<1%
31	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1%
32	www2.scielo.org.ve Fuente de Internet	<1%
33	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
34	dspace.unach.edu.ec Fuente de Internet	<1%
35	bibliotecavirtual.unl.edu.ar Fuente de Internet	<1%
36	"Beach Management Tools - Concepts, Methodologies and Case Studies", Springer Nature, 2018 Publicación	<1%
37	www.curiosidario.es Fuente de Internet	<1%
38	www.ingenieros.es Fuente de Internet	<1%
39	250605082016tecnicasdeinvestigacion.blogspot.com Fuente de Internet	<1%
40	dspace.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	<1%

41	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Perú Trabajo del estudiante	<1%
42	docplayer.es Fuente de Internet	<1%
43	Submitted to Universidad Wiener Trabajo del estudiante	<1%
44	www.diccionariosdigitales.net Fuente de Internet	<1%
45	ruidera.uclm.es Fuente de Internet	<1%
46	bolivialegal.com Fuente de Internet	<1%
47	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
48	bibdigital.epn.edu.ec Fuente de Internet	<1%
49	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1%
50	repositorio.unam.edu.pe Fuente de Internet	<1%
51	www.usfx.bo Fuente de Internet	<1%

52	Submitted to CONACYT Trabajo del estudiante	<1 %
53	www.peru.com Fuente de Internet	<1 %
54	www.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
55	www.veterinaria.org Fuente de Internet	<1 %
56	documents.mx Fuente de Internet	<1 %
57	Gisela García Morales, José Alfredo Arreola-Lizárraga, Pedro Rosales Grano. "Integrated Assessment of Recreational Quality and Carrying Capacity of an Urban Beach", Coastal Management, 2018 Publicación	<1 %
58	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
59	Submitted to Universidad Inca Garcilaso de la Vega Trabajo del estudiante	<1 %
60	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	<1 %
61	José Cardona-Álvarez, Marlene Vargas-Vilória,	<1 %

Joaquín Patarroyo-Salcedo. "Pythiosis cutánea en equinos tratados con acetona de triamcinolona. Parte 1. Caracterización clínica", Revista MVZ Córdoba, 2016

Publicación

62	repository.lasalle.edu.co Fuente de Internet	<1%
63	www.canilec.org.mx Fuente de Internet	<1%
64	arthritisresearchuk.org Fuente de Internet	<1%
65	www.digesa.sld.pe Fuente de Internet	<1%
66	repositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	<1%
67	www.oceandocs.org Fuente de Internet	<1%
68	www.upc.edu Fuente de Internet	<1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

< 20 words

Excluir bibliografía

Apagado