

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE
PISCINAS UBICADAS EN EL COMPLEJO DEPORTIVO DE CIUDAD
MERLIOT Y EL POLIDEPORTIVO DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
DURANTE TRES MESES DEL AÑO 2011.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
GUILLERMO EMILIO ALVARENGA MARROQUIN
ENRIQUE JOSE ARAGON DEL VALLE

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO 2012

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ.

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: MICROBIOLOGICO:

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

ASESORA DE AREA DE MICROBIOLOGIA:

MSc. Coralia González de Díaz

DOCENTE DIRECTORA:

MSc. Norma Esthela Molina Velásquez

AGRADECIMIENTOS

A nuestro amado padre Dios Yahvé en la unidad de su hijo Jesús el Cristo y del Espíritu Santo; por otorgarnos todo su apoyo para la realización de nuestro trabajo de graduación.

A mis padres, Ana Yesenia Marroquín de Miranda y Alexander Miranda Peña, por el amor y su apoyo brindado durante el desarrollo de la carrera y en la realización del trabajo de graduación.

A mis hermanos, Melvin Alexander Miranda Marroquín y Xiomara Noemi Miranda Marroquín, por llenarme de mucha alegría en cada día de mi vida.

A mi compañero de trabajo de graduación y su familia por el gran apoyo brindado durante el desarrollo de nuestro trabajo de graduación.

A nuestra docente directora, MSc. Norma Esthela Molina Velásquez, por la accesoria de primera calidad brindada.

Al Ingeniero José Wilfredo Sánchez presidente de la Federación de Natación con sede en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y al Licenciado Roberto Hernández administrador del Polideportivo de la Universidad de El Salvador por habernos abierto las puertas para realizar satisfactoriamente el estudio.

Emilio Alvarenga Marroquín

AGRADECIMIENTOS

A la Trinidad, Dios Padre, Hijo y Espíritu Santo; por darme la fuerza y la paciencia necesaria para perseverar en todas las empresas que cada etapa de mi vida ha presentado.

A mis papás por darme todos los medios necesarios para poder completar mi formación, por su guía y apoyo.

A mi novia Lissette, no puedo pedir un apoyo más incondicional que el que tu me das.

A mi docente Norma Molina, por tener la paciencia para transmitirme parte de sus conocimientos y guiar éste trabajo de graduación.

A mi compañero Guillermo Emilio, más que compañero, amigo; por poner todo de su parte para poder completar nuestro trabajo sin percances.

Al Ingeniero José Wilfredo Sánchez presidente de la Federación de Natación, por permitirnos hacer uso de las instalaciones del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot para recolectar muestras de las piscinas que ahí se encuentran.

Al Licenciado Roberto Hernández administrador del Polideportivo de la Universidad de El Salvador permitirnos tomar muestras de la piscina de las instalaciones a su cargo.

Al Sr. Coreas y Wilber, por toda su paciencia.

Enrique Aragón del Valle

DEDICATORIA

Este trabajo de graduación esta dedicado especialmente a nuestro amado padre Dios Yahvé en la unidad de su hijo Jesús el Cristo y del Espíritu Santo santificador porque me han dado la fuerza para vencer en todo.

A mis padres y a toda mi familia pues han sido siempre la fuente de inspiración para triunfar en la vida.

A mí gente de mí querido Cantón La Fuente, Tonacatepeque, San Salvador; pues en el habitan las personas que me han visto crecer personal y profesionalmente.

A mí compañero de trabajo de graduación y su familia.

A mí querida Facultad de Química y Farmacia.

Emilio Alvarenga Marroquín

DEDICATORIA

A la Trinidad, Dios Padre, Hijo y Espíritu Santo; por ser guía en mi camino.

A mis papás: Carlos Enrique y Carmen por estar siempre pendientes del proceso de éste trabajo, por todo su cariño, apoyo, guía y sacrificios para poder darme lo mejor. No puedo pedir mejores padres.

A mi Lissa, por todo tu amor, cariño, apoyo y comprensión, por el sacrificio, la paciencia y por estar siempre ahí y darme la fuerza aun cuando ya no veía un final a este proyecto, ¡Lo logramos!

A Guillermo Emilio, todos los sacrificios y esos desvelos al final si que valieron la pena, ¡buen trabajo!.

A todos los licenciados de mi Facultad que estuvieron pendientes del progreso de este trabajo, gracias por su apoyo, se les agradece y se les quiere.

Enrique Aragón del Valle

INDICE

	Pág.
Resumen.	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
Capitulo III	
3.0 Marco Teórico	30
3.1 Aguas recreativas	30
3.1.1 Piscinas	30
3.1.2 Importancia del monitoreo	30
3.1.3 Piscinas desinfectadas a la intemperie	32
3.2 Transmisión de enfermedades por aguas recreativas contaminadas	32
3.3 Calidad bacteriológica	33
3.3.1 Bacterias indicadoras de contaminación	34
3.3.2 Coliformes como indicadores	35
3.3.2.1 Características bioquímicas	36
3.3.2.2 Coliformes totales	36
3.3.2.3 Coliformes fecales	37
3.3.3 <i>Escherichia coli</i>	37
3.3.4 Género <i>Pseudomonas</i>	39
3.3.4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
3.3.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	42
3.3.6 Streptococcus β hemolíticos	43
3.3.7 <i>Enterococcus faecalis</i>	44
3.4 Fundamento de análisis microbiológico de agua	45

3.5 Cantidad de cloro en la piscina	46
3.5.1 Cloro residual libre	47
3.5.2 Método rápido de identificación de cloro residual libre	48
3.5.3 Fundamento del método rápido de identificación de cloro residual libre	48
3.5.4 Precauciones con la cantidad de cloro en piscinas	49
3.6 Generalidades de las instituciones en estudio	50
3.6.1 Complejo Deportivo de Ciudad Merliot	50
3.6.2 Polideportivo de la Universidad de El Salvador	50
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	52
4.1 Tipo de estudio	52
4.2 Investigación bibliográfica	52
4.3 Universo y muestra	52
4.4 Desarrollo metodológico	53
4.4.1 Investigación de campo	53
4.4.2 Parte experimental	54
4.5 Cálculo del número de muestras	55
4.5.1 Para Complejo Deportivo de Ciudad Merliot	55
4.5.2 Para Polideportivo de la Universidad de El Salvador	55
4.6 Toma de muestras para determinar indicadores bacteriológicos	56
4.6.1 Ubicación de puntos de muestreo para piscina A	56
4.6.2 Ubicación de puntos de muestreo para piscina B	57
4.6.3 Ubicación de puntos de muestreo para piscina C	58
4.6.4 Toma de muestra	59
4.7 Metodología de análisis bacteriológico del agua	61
4.7.1 Cuantificación de Coliformes Totales	61
4.7.2 Cuantificación de Coliformes Fecales	62
4.7.3 Cuantificación de <i>Escherichia coli</i>	62

4.7.4	Conteo Total de Bacterias Heterótrofas Aerobias	62
4.7.5	Determinación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
4.7.6	Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	64
4.7.7	Determinación de <i>Streptococcus pyogenes</i>	64
4.7.8	Determinación de <i>Enterococcus faecalis</i>	65
Capítulo V		
5.0	Resultados	67
5.1	Revisión de documentación de limpieza y sanitización	67
5.2	Verificación del registro de las mediciones de Cloro residual libre y pH	67
5.2.1	Cloro residual libre según bitácoras	68
5.2.2	Cloro residual libre según medición	69
5.2.3	Potencial de Hidrógeno	70
5.2.3.1	pH según bitácoras	70
5.2.3.2	pH según mediciones	71
5.3	Determinación de la calidad bacteriológica del agua	72
5.3.1	Cuantificación de Coliformes Totales	73
5.3.2	Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias	75
5.3.2.1	Piscina olímpica del Complejo deportivo de Ciudad Merliot (Piscina A)	76
5.3.2.2	Piscina infantil del Complejo deportivo de Ciudad Merliot (Piscina B)	78
5.3.2.3	Piscina olímpica de la Universidad de El Salvador (Piscina C)	81
5.3.3	Otros microorganismos patógenos	83
5.3.3.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83
5.3.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	85
5.3.3.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	86
5.3.3.4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	88

5.4 Entrega de informes	90
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	92
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	96
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Instalaciones objeto de análisis.
- 2 Recursos para sanitización y lectura de parámetros.
- 3 Formato de encuesta.
- 4 Esquemas de sitio de muestreo.
- 5 Norma Salvadoreña Obligatoria para agua potable (NSO13.07.01:08) tabla de límites máximos permisibles para calidad microbiológica del agua potable.
- 6 Tabla de frecuencia de muestreo recomendada y límites recomendados según frecuencia de muestreo y microorganismo buscado.
- 7 Tabla del Número Más Probable para determinación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* al utilizar cinco tubos con 20mL de cada muestra.
- 8 Metodología esquematizada.
- 9 Información sobre caldo HiCrome Rapid Coliform.
- 10 Información sobre caldo EC.
- 11 Información sobre agua peptonada bufferada.
- 12 Información sobre agar Plate Count.
- 13 Información sobre agar Cetrimide.
- 14 Información sobre agar Baird Parker.
- 15 Información sobre agar sangre.
- 16 Preparación de agar dextrosa azida según APHA.
- 17 Información sobre agar dextrosa azida.
- 18 Información sobre caldo infusión cerebro y corazón.
- 19 Visita de campo.

- 20 Toma de muestra.
- 21 Procesamiento de muestra.
- 22 Análisis de la muestra.
- 23 Resultados del análisis.
- 24 Documento de limpieza y mantenimiento perteneciente a empleados del Complejo deportivo de Ciudad Merliot, para mantenimiento de piscinas (Reseña).
- 25 Prueba para determinar ausencia de ***Staphylococcus aureus*** y ***Pseudomonas aeruginosa***.
- 26 Reporte de resultados de las piscinas del Complejo deportivo de Ciudad Merliot.
- 27 Reporte de resultados de la piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

INDICE DE TABLAS

Tabla N°

1	Cloro libre residual en función del pH	48
2	Dimensiones de los estratos medidos a lo largo de las piscinas en estudio	56
3	Ubicación de puntos de muestreo para piscina A	57
4	Ubicación de puntos de muestreo para piscina B	58
5	Ubicación de puntos de muestreo para piscina C	59
6	Número de muestras a tomar por piscina para el análisis bacteriológico durante tres meses	60
7	Resultados de cloro libre residual obtenidos por revisión de bitácora de control de piscinas.	68
8	Resultados de cloro libre residual registrados antes de cada muestreo en las tres piscinas	69
9	Resultados de pH obtenidos por revisión de bitácora de control de piscinas	70
10	Resultados de pH obtenidos antes de cada muestreo en piscinas	71
11	Resultados de coliformes totales obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la norma NSO 13.07.01:08	73
12	Coliformes totales encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio	74
13	Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias obtenidas en muestras de piscinas, comparada con la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS)	75
14	Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y respectiva correlación de la piscina A	77

15	Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y su respectiva correlación para la piscina B	80
16	Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y su respectiva correlación para la piscina C	82
17	Resultados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> obtenidas en muestras de piscinas, comparada con la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y NSO 13.07.01:08	83
18	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> en la totalidad de muestras analizadas durante el estudio	84
19	Resultados de <i>Staphylococcus aureus</i> obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de la OMS y NSO 13.07.01:08	85
20	<i>Staphylococcus aureus</i> en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio	85
21	Resultados de <i>Enterococcus faecalis</i> obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de la OMS y NSO 13.07.01:08	87
22	<i>Enterococcus faecalis</i> en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio	87
23	Resultados de <i>Streptococcus pyogenes</i> obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de la OMS y NSO 13.07.01:08	89
24	<i>Streptococcus pyogenes</i> en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio	89

INDICE DE FIGURAS

Figura N°

1	Resultados cloro libre residual obtenido de bitácoras de control.	69
2	Resultado de cloro libre residual registrado antes de cada muestreo.	70
3	Resultados de pH obtenidos de la bitácora de control de piscinas.	71
4	Resultados de pH obtenidos antes de cada muestreo.	72
5	Resultados de coliformes totales obtenidas en muestras de la piscina A, comparados con la guía de la OMS y NSO13.07.01:08	72
6	Grafica porcentual de frecuencia de resultado del análisis de coliformes totales en las muestras estudiadas	74
7	Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina A	76
8	Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina B	78
9	Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina C	81
10	Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en la totalidad de las muestras	84
11	Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de <i>Staphylococcus aureus</i> en la totalidad de las muestras	86

- 12 Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de
Enterococcus faecalis en la totalidad de las muestras 88
- 13 Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de
Streptococcus pyogenes en la totalidad de las muestras 89

Abreviaturas

APHA:	American Public Health Association
E1.1:	Estrato primero, muestra uno
E1.2:	Estrato primero, muestra dos
E1.3:	Estrato primero, muestra tres
E2.1:	Estrato segundo, muestra uno
E2.2:	Estrato segundo, muestra dos
E2.3:	Estrato segundo, muestra tres
E3.1:	Estrato tercero, muestra uno
E3.2:	Estrato tercero, muestra dos
E3.3:	Estrato tercero, muestra tres
L:	Litros
m:	metros
mL:	mililitros
NMP/100mL:	Número más probable por cada 100 mL

NMP:	Número más probable
NSO:	Norma Salvadoreña Obligatoria
OMS:	Organización Mundial de la Salud
pH:	Potencial de Hidrógeno
ppm:	Partes por millón
UFC:	Unidades Formadoras de Colonias
USP30:	United States Pharmacopeia 30th Edition

RESUMEN

La presente investigación surgió de la iniciativa de conocer el estado sanitario del agua de las piscinas utilizadas por atletas y bañistas que asisten al Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y al Polideportivo de la Universidad de El Salvador. A estas aguas recreativas se les realizó análisis microbiológicos para determinar su calidad y garantizar la seguridad de los usuarios. El agua analizada fue recolectada en tres piscinas: dos ubicadas en el Complejo deportivo de Ciudad Merliot y una en el Polideportivo de la Universidad de El Salvador, durante los meses de mayo a julio del año 2011, realizando un muestreo al mes.

En la investigación de campo, se visitaron los complejos seleccionados, donde se realizó una encuesta al personal y se investigó si contaban con manuales de procedimientos de limpieza y sanitización.

Cada piscina se distribuyó en tres estratos de los que se tomaron tres muestras por cada uno, obteniendo en total nueve muestras simples por mes, que fueron refrigeradas y transportadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, donde se mezclaron para originar tres muestras compuestas por piscina. Antes de recolectar muestras, se midió el nivel de cloro libre residual y pH.

Los parámetros microbiológicos medidos son los establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable y en la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas recreacionales seguras, los cuales fueron: Cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales,

Escherichia coli, bacterias heterótrofas aerobias e identificación de patógenos. Usando la metodología establecida en el APHA y la USP 30 como referencia.

Los resultados de la investigación determinaron que el conteo de Coliformes totales, coliformes fecales y ***Escherichia coli*** en el agua de las tres piscinas estaban dentro de los límites máximos permisibles según la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable (<1.1 NMP/100mL); demostrando que el pH y cloro libre residual, mantienen los niveles de coliformes dentro de los límites máximos permitidos por tanto no representan peligro para los bañistas. No así la presencia de ***Enterococcus faecalis***, procedente de la liberación rectal involuntaria. Además el conteo de heterótrofas aerobias está por encima del límite máximo recomendado por la guía de la OMS para aguas recreacionales (200 UFC/mL), estos microorganismos son procedentes del reblandecimiento y descamación cutánea de los bañistas. Por lo tanto indica que el agua no era apta para uso recreativo durante el periodo de Mayo a Julio de 2011.

Para estudios posteriores, se recomienda hacer muestreos no solo durante las horas pico, sino también durante las horas de menor afluencia para hacer un contraste del comportamiento del crecimiento de los microorganismos cuando hay alta y baja presencia de bañistas.

I. INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

El agua es el recurso más utilizado por los seres humanos y entre los usos que se le da se encuentra el recreacional; en especial en las piscinas, cuyas aguas son objeto de la presente investigación.

El agua de uso recreacional, especialmente la utilizada en piscinas, es tratada con sustancias químicas, como el Hipoclorito de Calcio ⁽⁶⁾, el cuál al no ser adicionado en la concentración adecuada, no puede reducir o eliminar la carga microbiana potenciando la propagación de enfermedades hídricas, como son: diarrea, hepatitis A, giardiasis, entre otras ^{(2) (13)}.

La presente investigación se realizó en el Complejo deportivo de Ciudad Merliot y el Polideportivo de la Universidad de El Salvador, con el fin de determinar la calidad microbiológica del agua de sus piscinas durante tres meses del 2011, de manera de asegurar la salud de los usuarios.

Para llevar a cabo la presente investigación, se realizó una visita de campo con el fin de determinar las condiciones de dichas piscinas y corroborar la existencia de manuales de limpieza, sanitización y descontaminación.

Cada una de las tres piscinas en estudio se distribuyó en 3 estratos, y de cada estrato se recolectaron 3 muestras simples para hacer una muestra compuesta por estrato. Se obtuvo 9 muestras compuestas por mes para hacer un total de 27 muestras compuestas en los tres meses del estudio. Las muestras fueron transportadas y analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Para comparar los resultados obtenidos en la investigación y determinar si el agua de dichas piscinas cumple con los requisitos para su uso como agua recreacional, se tomó como base la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para Agua Potable ⁽³⁾ y aspectos de la guía para aguas recreacionales seguras, piscinas y medios similares (Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2, Swimming pools and similar environments) ⁽¹³⁾; ya que hasta la fecha no existe una ley o norma para aguas recreativas. Los parámetros investigados y cuantificados fueron los siguientes microorganismos indicadores: **coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, Bacterias heterótrofas aerobias, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus faecalis***; utilizando como base la metodología establecida en el APHA ⁽²⁾.

Los resultados de la investigación determinaron que el conteo de Coliformes totales, coliformes fecales y ***Escherichia coli*** en el agua de las tres piscinas estaban dentro de los límites máximos permisibles según la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable (<1.1 NMP/100mL); demostrando que el pH y cloro libre residual, mantienen los niveles de coliformes dentro de los límites máximos permitidos por tanto no representan peligro para los bañistas. No así la presencia de ***Enterococcus faecalis***, procedente de la liberación rectal involuntaria. Además el conteo de heterótrofas aerobias está por encima del límite máximo recomendado por la guía de la OMS para aguas recreacionales (200 UFC/mL), estos microorganismos son procedentes del reblandecimiento y descamación cutánea de los bañistas. Por lo tanto indica que el agua no era apta para uso recreativo durante el periodo de Mayo a Julio de 2011.

Se recomienda a ambas instituciones monitorear estas aguas y actualizar el formato de sus bitácoras de registro, incorporando mediciones de cloro libre residual y pH tres veces diarias, tal como es recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas recreacionales. También elaborar manuales de limpieza y Sanitización adecuados a sus necesidades, y evaluar el cumplimiento de los procedimientos.

Los resultados de la investigación y recomendaciones al respecto fueron proporcionados a las personas encargadas de la administración de los complejos en donde se encuentran ubicadas cada una de las tres piscinas para tratar, controlar y prevenir la contaminación del agua de dichas piscinas al tiempo que se protege la salud de los usuarios.

II. OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la Calidad microbiológica del agua de las piscinas ubicadas en Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y Polideportivo de la Universidad de El Salvador durante tres meses del año 2011.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Verificar la documentación de limpieza, sanitización y registros de parámetros fisicoquímicos del agua de piscinas del Instituto Nacional de los Deportes de El Salvador y Universidad de El Salvador respectivamente.
- 2.2.2 Revisar las bitácoras de control de parámetros fisicoquímicos de las tres piscinas, el registro de los datos y medición de las concentraciones de cloro libre residual y pH previo a la toma de muestra durante el monitoreo.
- 2.2.3 Realizar el análisis bacteriológico del agua de las piscinas en base a los métodos establecidos por el APHA, así como los microorganismos indicadores de contaminación establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para Agua Potable en conjunto con la Guía de la Organización Mundial de la Salud para Aguas Recreativas de Piscinas.

2.2.4 Comparar los resultados obtenidos en la investigación con los límites máximos permisibles de la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para Agua Potable y los límites recomendados por la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas recreativas.

2.2.5 Proporcionar los resultados de la investigación y recomendaciones a las autoridades responsables del mantenimiento de las piscinas del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y Polideportivo de la Universidad de El Salvador, con el fin de mejorar la calidad del agua.

III. MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Aguas recreativas ⁽²⁾ ⁽¹³⁾

En términos generales, las aguas recreativas se clasifican en aguas dulces (lagos, ríos, piscinas y otros) y aguas saladas (mares, playas y esteros); además, pueden agruparse en aguas a temperatura ambiente y termales (con temperatura mayor a 30°C); en ambas clasificaciones se incluyen cuerpos de aguas naturales y artificiales. Son numerosos los microorganismos patógenos que pueden transmitirse al hombre a través de la utilización con fines recreativos de aguas dulces y saladas, pues son susceptibles de contaminación por aguas residuales debido a la sobrepoblación y la mala planificación urbana o mala limpieza de estas (en el caso de piscinas).

3.1.1 Piscinas ⁽²⁾

Una piscina es un cuerpo de agua de volumen limitado, contenido gracias a una estructura de soporte llamado vaso. Generalmente el agua con que se llenan las piscinas es agua potable de la red pública nacional, tratada con agentes desinfectantes adicionales para volverla más resistente a la contaminación, especialmente agentes microbiológicos que puedan ser introducidos mediante su uso, condiciones ambientales y el tipo de estructura donde se encuentre confinada. Las piscinas modernas tienen sistemas de recirculación para la filtración y desinfección.

3.1.2 Importancia del monitoreo ⁽¹³⁾

Debe hacerse monitoreos generales de calidad en el agua de piscinas para determinar si ha habido cambios en las características físicas y químicas del

agua, que pudiesen resultar en síntomas adversos al entrar en contacto con los bañistas, como: irritación de la piel, ojos y mucosas; o a mediano plazo limita el grado de desinfección del agua, lo cual sumado a las molestias en los usuarios, predispone a un mayor riesgo de infección ⁽²⁾.

Los parámetros que deberían monitorearse con mayor frecuencia son aquellos cuya medición constituya un menor costo y que puedan ser medidos fácilmente por los encargados del mantenimiento dando resultados confiables; entre los parámetros destacan: turbidez, nivel de desinfectante residual y pH. La necesidad de monitorear otros parámetros está sujeta a la capacidad de supervisión de la gerencia, presupuesto, densidad de bañistas y uso; Sin embargo, siempre es recomendable realizar monitoreos microbiológicos en piscinas públicas y semipúblicas ⁽¹³⁾.

Debe haber un manual de procedimientos de operación establecido por los supervisores de la institución a cargo de las piscinas, redactado de manera sencilla y clara para que los empleados sepan exactamente qué hacer, según los resultados obtenidos en monitoreo del agua; debe incluir también procedimientos para que el personal sea capaz de actuar en caso de encontrar resultados anómalos o inesperados que puedan afectar la correcta preservación del agua y en última instancia causar malestar, síntomas de enfermedad o daños en los usuarios ⁽²⁾.

Los operarios deben estar capacitados para saber actuar por cuenta propia y asegurar si las acciones realizadas por sus compañeros o subordinados son las adecuadas para mantener el estado óptimo del agua. Los gerentes a cargo de

la supervisión general deben revisar regularmente los datos obtenidos en pruebas y garantizar que los operarios a cargo del mantenimiento de la piscina han tomado las acciones preventivas y remediales adecuadas para que el agua sea segura para los usuarios, o guiarles en caso de no realizar los procedimientos correctos ⁽²⁾.

3.1.3 Piscinas desinfectadas a la intemperie ⁽²⁾

Como su nombre lo indica, son piscinas que no se encuentran instaladas bajo la protección de alguna estructura cerrada que impida la entrada de animales e insectos, ya que: aves, reptiles y mamíferos de todos los tamaños son portadores de **Coliformes fecales** y ***Pseudomonas***; indicadores primarios de contaminación que también pueden introducirse en las piscinas descubiertas gracias al arrastre de sedimentos causado por tormentas y fuentes de origen humano.

3.2 Transmisión de enfermedades por aguas recreativas contaminadas

Se puede realizar a través de cuatro mecanismos: ^{(2) (13) (16)}

1. Ingestión al nadar en aguas contaminadas con desechos fecales, que podrían propagar virus, bacterias y protozoarios.
2. Por contacto con aguas contaminadas con microorganismos: ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Aeromonas sp.***, y amebas como ***Acantamoeba sp.*** y ***Naegleria sp.***, que pueden causar meningoencefalitis.

3. Por inhalación de aerosoles en las duchas de agua caliente o baños a vapor, contaminados con bacterias como *Legionella sp.* y *Micobacterium sp.*, provocando neumonías y otros tipos de afecciones.
4. Por contacto del agua contaminada con heridas superficiales, facilitando la expansión de gérmenes por el torrente sanguíneo ⁽¹³⁾.

3.3 Calidad bacteriológica ^{(1) (2) (5) (13)}

La presencia y la extensión de la contaminación fecal es un factor importante en la determinación de la calidad del agua. Las heces contienen una variedad de microorganismos y formas de resistencia de algunos de éstos, involucrando organismos patógenos, los cuales son un riesgo para la salud pública al entrar en contacto con el ser humano. El examen de muestras de agua para determinar la presencia de microorganismos del grupo coliformes que habitan normalmente en el intestino humano y de otros animales de sangre caliente, da una indicación del índice de contaminación. Dada la limitada capacidad de algunos miembros del grupo coliforme para sobrevivir en aguas tratadas; su presencia puede emplearse para estimar el grado de contaminación fecal.

En el caso de piscinas tratadas, los microorganismos de interés son normalmente los provenientes de la superficie del cuerpo y orificios corporales de los bañistas, incluidos los causantes de infecciones oculares, óticas, tracto respiratorio superior, cutáneas, gastrointestinales o del tracto genitourinario. La calidad del agua depende de la eficacia de la desinfección, condiciones sanitarias, densidad de bañistas en todo momento y el número total de bañistas por día.

3.3.1 Bacterias indicadoras de contaminación

Las condiciones bacteriológicas del agua son fundamentales desde el punto de vista sanitario. Las normas bacteriológicas de calidad ⁽³⁾ ⁽¹³⁾ establecen que el agua debe estar exenta de patógenos de origen entérico, responsables de transmitir enfermedades gastrointestinales, cutáneas, óticas, oculares, así como del tracto genitourinario).

Los microorganismos indicadores de contaminación deben cumplir con los siguientes requisitos: deben ser fáciles de aislar y crecer en el laboratorio; ser relativamente inocuos para el hombre y los animales; y presencia en agua relacionada, cualitativamente y cuantitativamente con la de otros microorganismos patógenos de aislamiento más difícil. Tres tipos de bacterias cumplen con los requisitos:

- Coliformes fecales: indican contaminación fecal.
- Bacterias heterótrofas: determinan efectividad del tratamiento de las aguas
- ***Pseudomonas***: señalan deterioro en la calidad del agua o una recontaminación.

Para determinar la potabilidad del agua, es necesario investigar presencia de Bacterias heterótrofas, Coliformes totales y fecales ⁽³⁾. La gran sensibilidad de las Bacterias Mesófilas aeróbias a los agentes de cloración, las ubica como indicadoras de la eficacia del tratamiento de potabilización del agua. ⁽²⁾

En resumen, los microorganismos para los que se debe hacer pruebas de identificación y posterior cuantificación comprenden: Coliformes Totales, Coliformes Fecales, ***Escherichia coli***, conteo de Bacterias Heterótrofas Aeróbicas ⁽³⁾. Otras pruebas con las cuales puede complementarse el análisis bacteriológico incluye: identificación de presencia de ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Staphylococcus aureus***, ***Streptococcus pyogenes*** y ***Enterococcus faecalis*** ⁽¹³⁾.

3.3.2 Coliformes como indicadores ^{(1) (2) (4) (13)}

Las bacterias coliformes son organismos indicadores de la presencia de contaminación fecal, debido a que suelen habitar el tracto intestinal de los animales vertebrados y por tanto suelen encontrarse grandes cantidades de éstas en las heces de dichos animales. Se caracterizan por su capacidad de fermentar lactosa a 35°C, los géneros que componen el grupo son: ***Escherichia***, ***Klebsiella***, ***Enterobacter***, ***Serratia***, ***Citrobacter*** y ***Edwardsiella***. Todas pueden existir como saprófitas independientes, o como microorganismos intestinales, excepto el género ***Escherichia*** cuyo origen es casi exclusivamente fecal.

Estas diferencias han llevado a la necesidad de distinguir entre coliformes totales: grupo que incluye a todos los coliformes de cualquier origen; y coliformes fecales: término que designa a los coliformes de origen exclusivamente intestinal, con capacidad de fermentar lactosa a 44.5°C, cuyo representante es la ***Escherichia coli***. El hallazgo microbiológico de la presencia de coliformes fecales en una muestra se restringe a una contaminación de

origen fecal, mientras que la presencia de coliformes totales, que desarrollan a 35°C, sólo indica existencia de contaminación, sin asegurar su origen.

Tradicionalmente se les ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano ⁽²⁾ en razón de que, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura; asimismo, su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal ⁽²⁾; mientras más coliformes se aíslan del agua, mayor es la gravedad de la descarga reciente de heces.

3.3.2.1 Características bioquímicas ⁽²⁾

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por poseer las siguientes propiedades bioquímicas: Pueden ser aerobias o anaerobias facultativas; son Gram negativas; no producen esporas; fermentan la lactosa a 35°C en 48 horas.

3.3.2.2 Coliformes totales ^{(2) (13)}

Todos los animales de sangre caliente albergan en su tracto intestinal bacterias, a todos los miembros de este grupo específico se les conoce como bacteria coliformes totales; perteneciendo a este género: ***Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella***.

3.3.2.3 Coliformes fecales ^{(2) (13)}

Son un subgrupo de las bacterias coliformes totales y tienen las mismas propiedades, excepto que son capaces de crecer a una temperatura mayor; 44-44.5°C y producen indol a partir del triptófano. La especie de mayor importancia de este grupo es la ***Escherichia coli***.

3.3.3 *Escherichia coli* ⁽¹¹⁾

La ***Escherichia coli*** es la forma de vida celular más estudiada y es uno de los sistemas modelo principales en Biología. Mucho se sabe en cuanto a su estructura, metabolismo y genética. La especie incluye un gran número de cepas que difieren considerablemente en su composición genómica y patogenicidad. Muchas de estas son comensales inocuos en los intestinos de los animales superiores, otros causan enfermedades graves en animales y seres humanos.

La ***Escherichia coli*** es el anaerobio facultativo más abundante, se encuentra presente comúnmente en las concentraciones de 10^7 - 10^8 Unidades por gramo de heces.

La mayoría de las cepas de ***Escherichia coli*** están bien adaptadas a la colonización del intestino de vertebrados y rara vez causan enfermedad. Al ser cultivadas en el laboratorio, tienden a perder su patogenicidad y su capacidad de colonizar se ve disminuida.

Las células de ***Escherichia coli*** son depositadas periódicamente en suelos y agua a partir de heces, no son capaces de sobrevivir durante largos periodos de

tiempo en estos entornos, por lo que sólo puede crecer por unos pocos días después de su introducción. Por esta razón, su presencia en aguas y suelos se ha tomado como una medida de contaminación fecal reciente, y por ello el recuento de coliformes en el suministro de agua potable o de las instalaciones de la natación es una medida útil para determinar la pureza microbiológica del agua.

Patogenicidad ⁽¹³⁾

Las cepas de ***Escherichia coli*** son responsables de un gran número de patologías que involucran síntomas a nivel del tracto intestinal y urinario de seres humanos incluso otros mamíferos, donde puede producir desde simple diarrea acuosa, infección de vías urinarias, hasta hemorragia intestinal. Existen cepas de ***Escherichia coli*** capaces de infectar tejidos más profundos como: meninges en los recién nacidos, incluso la sangre (septicemia), siendo ésta una complicación de infecciones localizadas extraintestinales como la pielonefritis y fallo renal.

Las infecciones por ***Escherichia coli*** implican un gran número de factores de virulencia, toxinas, factores de adherencia, invasinas, componentes superficiales antifagocíticos, entre otros.

Algunas cepas son conocidas por causar una variedad de enfermedades clínicas, entre estas cepas se encuentran:

- ***Escherichia coli*** enterotoxigénica (ETEC: *Enterotoxigenic Escherichia coli*): responsable de causar la “diarrea del viajero”.

- ***Escherichia coli*** enteropatógena (EPEC: *Enteropathogenic Escherichia coli*): responsable de causar diarrea acuosa y en algunos casos sanguinolenta.
- ***Escherichia coli*** enterohemorrágica (EHEC: *Enterohemorrhagic Escherichia coli*): Tiene especial importancia la cepa 0157:H7 pues ha sido causante de epidemias y padecimientos esporádicos. La EHEC se aísla comúnmente de los intestinos de ganado y rumiantes, se ha reportado epidemias de esta cepa que han sido relacionadas con el consumo de carne procesada mal cocida.
- ***Escherichia coli*** enteroinvasiva (EIEC: *Enteroinvasive Escherichia coli*): causante de diarrea.
- ***Escherichia coli*** Uropatógena (UPEC: *Uropathogenic Escherichia coli*) causante común de infecciones del tracto genitourinario, y pielonefritis.

3.3.4 Género *Pseudomonas* ⁽¹¹⁾ ⁽¹⁵⁾

El género ***Pseudomonas*** representa un grupo fisiológica y genéticamente diverso de gran valor ecológico. Las ***Pseudomonas*** son microorganismos ubicuos, se encuentran en los principales ecosistemas y en íntima asociación con plantas y animales. Su amplia distribución refleja su gran adaptabilidad fisiológica y genética.

En los seres humanos, son patógenos oportunistas, puede aprovechar cualquier supresión, disminución del sistema inmunológico o daño en los tejidos para invadir; por ejemplo: puede invadir los pulmones de personas que padecen

fibrosis quística (FQ), se ha encontrado en personas con infecciones oculares, además es especialmente peligroso en víctimas de quemaduras, en personas inmunosuprimidas como resultados de diversos tratamientos y en personas que padecen SIDA.

Patogenicidad: se debe a la secreción de una gran cantidad de toxinas, su crecimiento y tipo de colonización formando biopelículas que debilitan o permiten la evasión del sistema inmune del huésped, permitiendo a las bacterias sobrevivir una vez que han invadido los tejidos. El género ***Pseudomonas*** incluye: Bacterias Gram negativas, no formadoras de esporas, con morfología externa de bacilo, móviles por medio de uno o más flagelos polares, son aerobios obligados, pero cabe mencionar que algunas especies pueden crecer en condiciones anaeróbicas ante la presencia de nitratos.

Las ***Pseudomonas*** son catalasa positivos, metabolizan los azúcares por oxidación, no son fermentadoras ni poseen la capacidad de llevar a cabo procesos fotosintéticos. ⁽¹¹⁾

3.3.4.1 *Pseudomonas aeruginosa* ⁽¹¹⁾⁽¹⁵⁾

Bacteria aeróbica, no formadora de esporas, móvil, Gram negativa, con forma de bastón recto o ligeramente combado con dimensiones entre 0.5-1.0 μm x 1.5 - 4.0 μm ; tiene la capacidad metabolizar una amplia variedad de compuestos orgánicos y es resistente a una amplia gama de antibióticos y desinfectantes. Es un patógeno humano oportunista capaz de colonizar e infectar prácticamente cualquier tejido, sin embargo debido a que este microorganismo

es ubicuo en la naturaleza, la mayoría de los huéspedes humanos contrarrestan el proceso infeccioso mediante el sistema inmune innato. Todos los casos clínicos de Infección por ***Pseudomonas aeruginosa*** se asocian a una baja en las defensas del huésped.

Las tres enfermedades humanas más comunes causadas por ***Pseudomonas aeruginosa*** son: bacteremia, en víctimas de quemaduras graves; infección pulmonar crónica, en pacientes de la fibrosis quística (FQ); y la queratitis ulcerativa aguda en mineros del carbón, los agricultores y personas que utilizan lentes de contacto por tiempo prolongado. También causa infecciones en las vías urinarias y osteomielitis.

Éste patógeno oportunista produce muchos factores que promueven la adhesión a las células huésped y mucinas, dañan los tejidos del huésped, provocan inflamación y bloquean la acción de los mecanismos de defensa.

La principal fuente de contaminación de piscinas con ***Pseudomonas aeruginosa*** en piscinas es el desprendimiento a partir de seres humanos infectados. A pesar de ello, también el ambiente que rodea la piscina puede ser fuente de contaminación, debido a que ***Pseudomonas aeruginosa*** puede encontrarse en aguas, vegetación y suelos; a ello sumadas las condiciones cálidas y húmedas de las superficies que entran en contacto con el agua de las piscinas, se acumulan formando biopelícula especialmente sobre los filtros a los que se les ha dado escaso mantenimiento; también tiende a acumularse en la superficie de las orillas, drenajes, parrillas donde se encuentra en un medio ideal para su desarrollo.

3.3.5 *Staphylococcus aureus* ⁽¹¹⁾ ⁽¹³⁾

El género ***Staphylococcus*** está conformado por bacterias con forma de cocos Gram positivos, inmóviles, no encapsulados y no formadores de esporas; son fermentadores de glucosa y anaerobios facultativos. Usualmente dan resultado positivo a la prueba de la catalasa y pueden encontrarse solos o agrupados en pares, tétradas o racimos parecidos a racimos de uvas. Existen tres especies de importancia para el ser humano: ***Staphylococcus aureus***, ***Staphylococcus epidermidis*** y ***Staphylococcus saprophyticus***. El ***Staphylococcus aureus*** es la única especie que es positivo a la prueba de coagulasa y es la especie de mayor importancia clínica. Este microorganismo fue descrito por vez primera en el año 1880, en la ciudad escocesa de Aberdeen, por el cirujano Alexander Ogston en el pus que drenaba un absceso infectado.

Los humanos son el único reservorio conocido de ***Staphylococcus aureus*** y se encuentra en la mucosa nasal anterior, la piel, así como en las heces de buena porción de individuos saludables. Se ha comprobado que hay desprendimiento de ***Staphylococcus aureus*** de los bañistas al nadar y puede ser encontrado formando películas en la superficie del agua de las piscinas. Cepas de ***Staphylococcus aureus*** coagulasa positivo, parte de la flora normal del ser humano, han sido encontradas en aguas de piscinas tratadas mediante cloración.

Como patógeno, el ***Staphylococcus aureus*** puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas, tales como: foliculitis, forunculosis o conjuntivitis; hasta enfermedades de riesgo vital, como: celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato

gastrointestinal, ya sea por presencia física de ***Staphylococcus aureus*** o por la ingesta de la enterotoxina secretada por la bacteria, la cual puede producir síndrome del shock tóxico y gastroenteritis.

Actualmente el ***Staphylococcus aureus*** es el principal causante de las infecciones nosocomiales por el simple hecho de que habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que le permite, a través de las heridas quirúrgicas, penetrar en al torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado, o incluso, con otro paciente.

Las cepas habituales de ***Staphylococcus aureus*** son resistentes a la penicilina, pues producen betalactamasas, siendo los antibióticos más eficaces para combatirlos los aminoglucósidos, las cefalosporinas, la oxacilina o la nafcilina. Además de la administración del tratamiento antimicrobiano correspondiente, puede ser conveniente en función del caso, la eliminación de puertas de entradas como catéteres venosos permanentes o drenajes quirúrgicos.

3.3.6 ***Streptococcus* β hemolíticos** ⁽⁹⁾

El género ***Streptococcus*** incluye cocos Gram positivos que se disponen en cadenas, son catalasa negativos y aerobios facultativos. Para identificación de este género se utiliza el tipo de hemólisis β o hemólisis completa, caracterizada por la formación de un halo totalmente claro alrededor de las colonias cultivadas en agar sangre, cuyo diámetro suele ser varias veces mayor que las colonias

puntiformes que lo originan; la hemólisis se debe a la actividad de las estreptolisinas O y S, esta última es inhibida in vitro por el oxígeno, el peróxido de hidrógeno y los productos de fermentación de carbohidratos.

Hasta el momento se han identificado alrededor de once especies de ***Streptococcus*** beta hemolíticos, aislados a partir de humanos, que se clasifican en los grupos de Lancefield del A al G. De esas especies ***Streptococcus pyogenes*** (único miembro del Grupo A) es la más importante, pues se asocia con infecciones sistémicas, impétigo, fiebre escarlatina y fundamentalmente con faringitis; la importancia clínica de éste microorganismo se incrementa debido a que puede causar glomerulonefritis y fiebre reumática.

La segunda especie de este grupo en importancia médica es ***Streptococcus agalactiae*** (único miembro del Grupo B) debido a su relación con septicemias en neonatos, meningitis e infecciones posparto, cuya fuente de infección es el tracto genital de las madres. Una manera sencilla para diferenciar a ***Streptococcus pyogenes*** de otros ***Streptococcus*** β hemolíticos es la sensibilidad a la Bacitracina.

3.3.7 ***Enterococcus faecalis*** ⁽⁹⁾

El género ***Enterococcus*** fue propuesto en 1984 para separar algunas de las especies de ***Streptococcus*** grupo D (este incluye ***Streptococcus bovis*** y ***Streptococcus equinus***). Al igual que los ***Streptococcus***, los ***Enterococcus*** son cocos Gram positivos, dispuestos en pares o cadenas cortas, anaerobios facultativos, catalasa negativos e incluye especies α , β y γ hemolíticos; además

es uno de los principales agentes de infecciones nosocomiales, con una alta mortalidad. Algunas de las características distintivas son su capacidad para crecer en caldo nutritivo con una concentración de NaCl al 6.5% y la hidrólisis de esculina en presencia de sales biliares; además, son capaces de crecer en leche con azul de metileno a pH 9.6 y a temperatura entre 10 y 45 °C; es capaz de resistir 60 °C por 30 minutos.

La presencia de *Enterococcus faecalis* se usa como indicador complementario de contaminación fecal dado que se aísla de muestras de heces con mucha frecuencia. Cabe decir que éste microorganismo puede soportar condiciones mucho más adversas que lo que los coliformes fecales o *Escherichia coli* pueden soportar, por lo que su crecimiento no se ve muy impedido al ser depositado junto a las heces en agua o suelo, pudiendo desarrollarse en dichos entornos por mucho más tiempo que los microorganismos anteriormente destacados. Puede provocar infecciones de vías urinarias, infecciones intraabdominales y pelvianas, infecciones de heridas y tejidos, meningitis, neumonía enterocócica, sepsis neonatal, bacteriemia y endocarditis.

3.4 Fundamento de análisis microbiológico de agua ⁽²⁾

- Método del número más probable para determinación de Coliformes en agua:

Método basado en fórmulas de probabilidad y es un estimado de la densidad promedio de bacterias Coliformes. Deriva de los resultados obtenidos al sembrar varias porciones de la muestra en varios caldos de cultivo apropiados, lo que se conoce como “Técnica de tubos múltiples”. Usualmente el agua muy contaminada se trabaja utilizando 15 tubos con

3 diluciones: 5 tubos se inoculan con 10 mL, otros 5 con 1mL y los restantes con 0.1mL de muestra. Cuando se analizan aguas tratadas se usa la técnica de 5 tubos de doble concentración con 20 mL cada uno, a los cuales se les inoculara 20 mL de muestra; haciendo un total de 100 mL de muestra inoculada.

Después de incubar y leer los resultados, el número de tubos positivos de cada dilución se consulta en cuadros de probabilidad que siguen una distribución de Poisson para obtener el número más probable.

- **Conteo de Bacterias Heterótrofas** ⁽²⁾⁽³⁾⁽¹³⁾

Método basado en la inoculación de diluciones de la muestra en estudio y el vertido en placa de un medio de cultivo dirigido al conteo en placa (ver anexo 12), posteriormente se emplea la técnica de homogenizado en forma de ocho, luego se incuba de 24 a 48 horas y luego se hace el conteo del resultado en un cuenta colonias.

- Identificación de ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Staphylococcus aureus***, ***Streptococcus pyogenes*** y ***Enterococcus faecalis*** mediante siembra en medio selectivos.

3.5 Cantidad de cloro en la piscina ⁽⁶⁾

El cloro es un elemento químico que generalmente se utiliza para realizar la desinfección y purificación de piletas, piscinas, incluso en el agua que bebemos.

El cloro puede presentarse en distintas formas comerciales, listas para su uso: forma líquida, la más efectiva y rápida dependiendo de la concentración de cloro en la piscina, pero tiene la desventaja que se disuelve rápidamente y dura menos tiempo, siendo necesario realizar la cloración del agua, varias veces durante la semana; forma sólida: en pastillas, cápsulas o polvos que liberan el cloro lentamente y generalmente en una formulación que lo hace más estable.

El objetivo de esta cloración es garantizar que el agua se conserve limpia y cristalina, mediante la destrucción de las bacterias como: ***Streptococcus sp.***, ***Pseudomonas sp.***, ***Staphylococcus sp.***, ***Legionelas***; protozoarios patógenos de vida libre, huevecillos de formas de vida parasitarias y algas; también debe ser capaz de contrarrestar la introducción de contaminantes provenientes del medio ambiente y los usuarios, aprovechando su acción oxidante como desinfectante.

3.5.1 Cloro residual libre⁽⁶⁾

Es la cantidad de cloro molecular libre o combinado que permanece activo tras un tiempo de contacto determinado, una de sus formas activas es el llamado ácido hipocloroso, el cual le da poder desinfectante. El cloro puede añadirse directamente o producirse mediante hidrólisis de sales, debe colocarse por lo menos una vez o dos veces al día, pero cabe señalar que la cantidad de cloro en condiciones ideales no debería superar el miligramo y medio por litro (1.0 a 1.5 ppm). Si el contenido de cloro es muy elevado, puede provocar daños a los bañistas, así como dañar cañerías, estructuras metálicas y otras estructuras colindantes con la piscina.

Con el fin de obtener una concentración adecuada es importante que el pH oscile entre 7.0 y 8.0. El cloro necesario para mantener un mismo poder desinfectante está en función del pH como se demuestra en la siguiente tabla:

Tabla N° 1: cloro residual libre en función del pH ⁽⁶⁾

pH	7.0	7.4	7.7	7.9
Cloro residual libre mg/L necesario	0.5	0.7	1.0	1.8

3.5.2 Método rápido de identificación de cloro residual libre ⁽⁶⁾

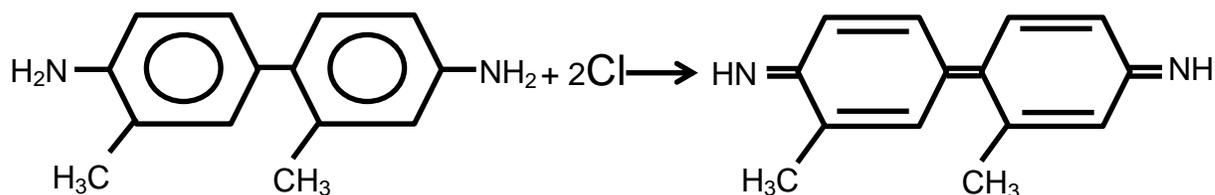
Se trata de un método colorimétrico, el cloro reacciona con la O-toluidina dando un color que varía del amarillo tenue (a bajas concentraciones) al café rojizo (a elevadas concentraciones). La coloración es comparada luego con una cuadrícula coloreada con su respectivo valor expresado en partes por millón (ppm) de cloro residual libre.

Interfieren en estas determinaciones los agentes oxidantes como los compuestos férricos, mangánicos y otros como los nitritos, algas y otros factores que producen intensidad del color desarrollado por el cloro. El método es apropiado para determinar cloro en agua que contienen menos de 3.0 ppm de hierro ó 0.3 ppm de nitritos.

3.5.3 Fundamento del método rápido de identificación de cloro residual libre ⁽⁶⁾

Este se basa en la coloración que conforman: orto-toluidina con el cloro a un pH determinado.

La reacción que se obtiene es la siguiente:



3.5.4 Precauciones con la cantidad de cloro en piscinas ^{(6) (13)}

El cloro es el método más efectivo de todos para una correcta eliminación de desechos presentes en el agua, tales como: tierra, polvo, escamas de la piel de los bañistas y la mayoría de microorganismos que son acarreados por estos contaminantes, de los cuales algunos pueden provocar enfermedades que pueden variar de leves a graves. El cloro libera un olor muy particular cuando se agrega al agua, esto se debe a la liberación de cloro molecular (el cual se disuelve en cierto grado en el agua) o en forma de ácido hipocloroso; debido a que dichas formas tienden a ser inestables, se volatiliza lentamente hacia la atmósfera. El grado de tales emanaciones es proporcional a la cantidad de cloro agregado al agua, a mayor cantidad se agregue, mayor cantidad de cloro volatilizará; lo que puede despertar ataques de asma o causar asfixia en los usuarios, también puede provocar dermatitis por contacto de la piel con el agua excesivamente clorada. Ingerir accidentalmente el agua excesivamente clorada, puede desencadenar irritación del tracto gastrointestinal, conductos nasofaríngeos y boca.

3.6 Generalidades de las instituciones en estudio

3.6.1 Complejo Deportivo de Ciudad Merliot

Ubicado en la Colonia Jardines de La Sabana, 2^a Etapa, Ciudad Merliot, Santa Tecla. Cuenta con dos piscinas; una Olímpica con dimensiones de 50m de largo por 25m de ancho con profundidad que va de 1.60-2.10m, que por objeto de estudio, será llamada Piscina A. (Ver anexo N°1) La segunda, Infantil, con dimensiones de 25m de largo por 20m de ancho con profundidad que va de 1.60-2.0m; con objeto del estudio, será llamada Piscina B (Ver anexo N°1). Ambas piscinas están interconectadas.

3.6.2 Polideportivo de la Universidad de El Salvador

Ubicado en la Ciudad Universitaria 29 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador. Cuenta con una sola piscina con dimensiones de 50m de largo por 25m de ancho, con profundidad de 2.10m, que será llamada piscina C en toda la duración del estudio. (Ver anexo N°1).

IV. DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio

- Experimental: porque se realizaron pruebas de laboratorio para obtener resultados confiables.
- Prospectivo: porque los resultados obtenidos podrán servir como base para estudios futuros.

4.2 Investigación bibliográfica

La investigación bibliográfica se realizó en las bibliotecas de:

- Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Central Universitaria de Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Padre Florentino Idoate, S.J., Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA).
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Biblioteca Central Hugo Lindo de la Universidad Dr. José Matías Delgado (UDJMD).

4.3 Universo y muestra

Universo: Aguas recreativas de las piscinas de los complejos deportivos.

Muestra: El agua de tres piscinas, dos de ellas ubicadas en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y una en el Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

Tipo de muestra: Mezcla compuesta en cada uno de los estratos de las tres piscinas en estudio.

4.4 Desarrollo metodológico

4.4.1 Investigación de campo

- Se hizo una visita de campo para el reconocimiento de las instalaciones del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (ver anexo N°1) y del Polideportivo de Universidad de El Salvador (ver anexo N°1). Se encuestó al personal de mantenimiento de las piscinas (ver anexo N°19) con el formato de encuesta que se encuentra en el anexo N°3.

- Se verificó la existencia de documentos operativos de limpieza y desinfección, encontrándose documentación únicamente en el Centro Deportivo de Ciudad Merliot (ver anexo N°24), además se encontraron bitácoras para el registro de lecturas de parámetros fisicoquímicos de las piscinas del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (ver anexo N°19) y Polideportivo de Universidad de El Salvador (ver anexo N°19).

- Se determinó el número de muestras de agua a recolectar mensualmente y luego se recolectaron las muestras en cada una de las tres piscinas, dos piscinas ubicadas en Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y una

piscina del Polideportivo de Universidad de El Salvador de acuerdo a la dimensión y profundidad de las piscinas.

- Se revisó el historial de medición de niveles de cloro residual libre y pH en piscinas (ver anexo N°19), para compararlo con la Guía de la Organización Mundial de la Salud para Aguas Recreativas de Piscinas y determinar si están dentro de los límites recomendados.

4.4.2 Parte experimental

- Las muestras recolectadas se analizaron, aplicando los métodos establecidos por la APHA, en los cuales se cuantificó: Coliformes totales, Coliformes fecales, ***Escherichia coli*** y Bacterias Heterótrofas. Además se determinó la presencia de ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Staphylococcus aureus***, ***Streptococcus pyogenes*** y ***Enterococcus faecalis***. Se procuró tomar la muestra por lo menos 12 horas después de realizada la cloración.
- Se tabularon y presentaron los datos obtenidos durante la investigación (ver resultados).
- Los resultados de bacterias heterótrofas aerobias se interpretaron utilizando estadísticos de correlación, además el conteo se comparó con los límites recomendados por la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas recreacionales.

4.5 Cálculo del número de muestras ⁽⁴⁾

El número de muestras a tomar se calculó usando la siguiente formula:

$$N = P\sqrt{n}$$

Donde:

N= Muestras a tomar

P= Probabilidad

n = Población estimada que utiliza las instalaciones

4.5.1 Para Complejo Deportivo de Ciudad Merliot

N₁= Muestras a tomar Complejo Deportivo de Ciudad Merliot

P₁= Probabilidad (0.5)

n₁ = Población estimada (300)

$$N = (0.5)\sqrt{300}$$

$$N = 8.66 \approx 9.0 - \text{muestras}$$

4.5.2 Para Polideportivo de la Universidad de El Salvador

N₂= Muestras a tomar Polideportivo Universidad de El Salvador

P₂= Probabilidad (0.5)

n₂ = Población estimada (100)

$$N = (0.5)\sqrt{100}$$

$$N = 5.0 - \text{muestras}$$

4.6 Toma de muestras para determinar indicadores bacteriológicos

La muestra se tomó en tres piscinas: dos del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (“A” que es piscina olímpica con una dimensión 50 x 25 metros y “B” una piscina infantil con una dimensión 25 x 20 metros) y una piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador (“C” piscina olímpica con una dimensión de 50 x 25 metros). Las piscinas se dividieron en tres estratos cada una, según criterio de los analistas, como se muestra en la tabla siguiente: (ver anexo N°4).

Tabla N°2. Dimensiones de los estratos medidos a lo largo de las piscinas en estudio.

Estratos	Piscinas		
	Piscina A 50m x25m	Piscina B 25m x 20m	Piscina C 50m x25m
1	17m x 25m	8m x 20m	17m x 25m
2	16m x 25m	9m x 20m	16m x 25m
3	17m x 25m	8m x 20m	17m x 25m

4.6.1 Ubicación de puntos de muestreo para piscina A

La piscina, fue dividida transversalmente en tres porciones rectangulares o estratos, las dimensiones del 1^{er} y 3^{er} estrato fueron iguales; las del 2^o estrato variaron ligeramente con respecto a los otros dos estratos, procurando obtener siempre medidas con números enteros (ver anexo N°4).

- Se midió el largo de la piscina (50m) y se dividió en 3 estratos; el 1^o con 17 m, el 2^o con 16 m y el 3^o con 17m y luego se busco el centro de cada estrato para localizar los puntos de muestreo.

- Se midió el ancho de la piscina (25 m) y se determinó su centro. Y luego en cada uno de los extremos de los estratos se midieron 5 m de la orilla al centro.
- En cada uno de los estratos las muestras se recolectaron de manera que los cinco metros desde las orillas coincidieran con la mitad del estrato.

Tabla N°3. Ubicación de puntos de muestreo para piscina A

ESTRATO 1		ESTRATO 2		ESTRATO 3	
Punto	Ubicación	Punto	Ubicación	Punto	Ubicación
E1.1	(5 x 8.5) m	E2.1	(5 x 8.0) m	E3.1	(5 x 8.5) m
E1.2	(12.5 x 8.5) m	E2.2	(12.5 x 8.0) m	E3.2	(12.5 x 8.5) m
E1.3	(5 x 8.5) m	E2.3	(5 x 8.0) m	E3.3	(5 x 8.5) m

4.6.2 Ubicación de puntos de muestreo para piscina B

La piscina, fue dividida transversalmente en tres porciones rectangulares o estratos, las dimensiones del 1^{er} y 3^{er} estrato fueron iguales; las dimensiones del 2^o estrato varió ligeramente con respecto a los otros dos estratos, procurando obtener siempre medidas con números enteros (ver anexo N°4).

- Se midió el largo de la piscina (25 metros) y se dividió en 3 estratos; el 1^o con 8 metros, el 2^o con 9 metros y el 3^o con 8 metros y luego se buscó el centro de cada estrato para localizar los puntos de muestreo.
- Se midió el ancho de la piscina (20 metros) y se determinó su centro. Y luego en cada uno de los extremos de los estratos se midieron 5 metros de la orilla al centro.

- En cada uno de los estratos las muestras se recolectaron de manera que los cinco metros desde las orillas coincidieran con la mitad del estrato.

Tabla N°4. Ubicación de puntos de muestreo para piscina B

ESTRATO 1		ESTRATO 2		ESTRATO 3	
Punto	Ubicación	Punto	Ubicación	Punto	Ubicación
E1.1	(5 x 4.0)m	E2.1	(5 x 4.5)m	E3.1	(5 x 4.0)m
E1.2	(10 x4.0)m	E2.2	(10 x4.5)m	E3.2	(10 x4.0)m
E1.3	(5 x 4.0)m	E2.3	(5 x 4.5)m	E3.3	(5 x 4.0)m

4.6.3 Ubicación de puntos de muestreo para piscina C

La piscina, fue dividida transversalmente en tres porciones rectangulares o estratos, las dimensiones del 1^{er} y 3^{er} estrato fueron iguales; las dimensiones del 2^o estrato variaron ligeramente con respecto a los otros dos estratos, procurando obtener siempre medidas con números enteros (ver anexo N°4).

- Se midió el largo de la piscina (50m) y se dividió en 3 estratos; el 1^o con 17 m, el 2^o con 16 m y el 3^o con 17m y luego se buscó el centro de cada estrato para localizar los puntos de muestreo.
- Se midió el ancho de la piscina (25 m) y se determinó su centro. Y luego en cada uno de los extremos de los estratos se midieron 5 m de la orilla al centro.
- En cada uno de los estratos las muestras se recolectaron de manera que los cinco metros desde las orillas coincidieran con la mitad del estrato.

Tabla N° 5. Ubicación de puntos de muestreo para piscina C

ESTRATO 1		ESTRATO 2		ESTRATO 3	
Punto	Ubicación	Punto	Ubicación	Punto	Ubicación
E1.1	(5 x 8.5)m	E2.1	(5 x 8.0)m	E3.1	(5 x 8.5)m
E1.2	(12.5 x8.5)m	E2.2	(12.5 x8.0)m	E3.2	(12.5 x8.5)m
E1.3	(5 x 8.5)m	E2.3	(5 x 8.0)m	E3.3	(5 x 8.5)m

4.6.4 Toma de muestra

La periodicidad del muestreo fue de acuerdo a recomendaciones encontradas en la Guía de la Organización Mundial para la Salud (OMS) para aguas recreacionales seguras ⁽¹³⁾ (ver anexo N°6). La ubicación de dichos puntos fue establecida a criterio de los analistas y la recolección se realizó en las horas de mayor afluencia: 7:30 A.M. en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y 12:30 P.M. en el Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

Previo a cada toma de muestra se midió la concentración de cloro libre residual y el pH utilizando un kit colorimétrico (ver anexo N°2). Se agregó agua en los dos recipientes que tiene el kit, se agregó cinco gotas de reactivo de ortotoluidina en el recipiente para medir cloro libre residual y rojo de fenol en el recipiente para medir el pH. Luego se comparó el color resultante con las escalas coloreadas junto a cada recipiente para determinar las ppm de cloro y valor de pH del agua de las piscinas (ver anexo N°20, figura N°43); la lectura se anotó para comparar con los registros en las bitácoras, elaboradas por los encargados de mantenimiento.

Después se procedió a recolectar las muestras de agua en botellas, a las que se les agregó 1mL de Tiosulfato de sodio al 1% y posteriormente fueron esterilizadas, al no disponer de un equipo de grúas, fue necesario el ingreso físico a la piscina para poder alcanzar los puntos de muestreo, donde se

tomaron las muestras. Se tomaron 3 muestras de 1 L de cada estrato a una profundidad de 1 m, haciendo un total de nueve muestras simples por piscina que se almacenaron en una hielera para mantener la cadena de frío y proteger las muestras durante el transporte hacia el laboratorio de microbiología de la Facultad de Química y Farmacia para su posterior procesamiento (ver anexo N°20).

En el laboratorio, los frascos fueron desinfectados en su parte externa con alcohol isopropílico y las tres muestras simples de cada estrato se mezclaron y homogenizaron en un frasco estéril con capacidad de un galón. De esta muestra compuesta se midió 1L en otra botella estéril, de la cual se tomó agua para realizar los respectivos ensayos microbiológicos (ver anexo N°21).

El proceso se repitió mensualmente, en un período de tres meses consecutivos, obteniéndose al final del estudio 27 muestras simples y 9 muestras compuestas por cada una de las tres piscinas.

Tabla N°6. Número de muestras a tomar por piscina para el análisis bacteriológico durante tres meses

Piscina	Mes 1		Mes 2		Mes 3		Total	
	S*	C*	S*	C*	S*	C*	S*	C*
A	9	3	9	3	9	3	27	9
B	9	3	9	3	9	3	27	9
C	9	3	9	3	9	3	27	9

*S= Simple

*C= Compuesta

4.7 Metodología de análisis bacteriológico del agua

A la muestra compuesta se le realizaron los ensayos tomando medidas de limpieza para obtener resultados fiables, se cuantificaron: **Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli* y Bacterias Heterótrofas** utilizando los métodos basados en la APHA (ver anexo N°8). Para la determinación de ***Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pyogenes*** se utilizaron métodos encontrados en libros de microbiología aplicada respaldados por la Farmacopea de los Estados Unidos edición 30₍₁₇₎.

4.7.1 Cuantificación de Coliformes Totales ⁽²⁾

- Preparar 5 tubos con 20mL de Caldo HiCrome Rapid Coliform de concentración doble. (ver anexo N°9)
- Pipetear 20mL de muestra compuesta y adicionarlo a cada uno de los 5 tubos que contienen 20 mL de caldo HiCrome Rapid Coliform de concentración doble.
- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 24 a 48 horas.
- Registrar tubos con coloración Azul-Verdosa a las 24 y a las 48 horas. (ver anexo N°8).

NOTA: Si no hay aparición de coloración Azul-Verdosa en las primeras 24 horas, dejar incubar por 24 horas más hasta completar 48 horas.

4.7.2 Cuantificación de Coliformes Fecales ⁽²⁾

De cada uno de los tubos positivos para Coliformes Totales:

- Pasar tres asadas a tubos que contienen 10mL de Caldo EC con campana de Durhams. (ver anexo N°10)
- Incubar a temperatura de 44.5°C en Baño María con circulación por un tiempo de 24-48 horas.
- Registrar los tubos que presenten formación de gas en la campana de Durhams. (ver anexo N°8).

4.7.3 Cuantificación de *Escherichia coli* ⁽²⁾

De cada tubo que presentó coloración Azul-Verdosa en la cuantificación de Coliformes Totales:

- Exponer a la Lámpara de luz UV y registrar los tubos que presenten fluorescencia. (ver anexo N°9)
- A los tubos que presentaron fluorescencia, agregar 5 gotas de reactivo de Kovac, registrar los tubos que presenten la formación de un anillo color púrpura en la interfase. (ver anexo N°8).

4.7.4 Conteo Total de Bacterias Heterótrofas Aerobias ⁽²⁾

- Pipetear 10mL de muestra compuesta y agregarlos en un frasco de dilución conteniendo 90mL de agua peptonada bufferada para tener dilución 1:10. De la dilución 1:10, pipetear 10mL y adicionárselo a un frasco con 90mL de agua peptonada bufferada para tener dilución 1:100;

a partir de la dilución 1:100, pipetear 10mL y adicionárselo a un frasco con 90mL de agua peptona bufferada para tener dilución de 1:1000.

- Pipetear 1mL con pipeta mohr por duplicado de cada una de las diluciones (1:10, 1:100 y 1:1000) y adicionarlo a cajas de Petri estériles.
- Agregar a cada placa 20 mL de Agar Plate Count fundido a temperatura de 45°C y se llevar a cabo la técnica de placa vertida; procurar que el medio solidifique cerca de un mechero encendido.
- Incubar a temperatura de 35±2°C por 24 horas.
- Proceder a contar las colonias de cada una de las placas con la ayuda de un cuenta colonias.
- Sacar promedio de placas por dilución y multiplicar por la respectiva dilución. (ver anexo N°8, anexo N°11 y anexo N°12).

4.7.5 Determinación de *Pseudomona aeruginosa* ⁽²⁾⁽¹⁷⁾

Homogenizar la muestra y pipetear 10mL y agregarlos en un frasco de dilución conteniendo 90mL de agua peptona bufferada.

- Incubar a temperatura de 35±2°C por 24 horas.
- Después del período de incubación, homogenizar la solución y tomar una asada y estriar en agar Cetrimide (por duplicado). (ver anexo N°13).
- Incubar a temperatura de 35±2°C durante 24-48 horas.
- Agregar Oxalato de dimetil-p-fenildiamina a una porción de papel filtro.
- Tomar colonias sospechosas con asa de vidrio y colocarles sobre una porción de papel humedecida con oxalato de dimetil-p-fenildiamina. El

cambio del reactivo sobre el papel que pasa de un color rojo fucsia a morado da confirmación de *Pseudomonas aeruginosa*. (Ver anexo N° 25 y N°8).

4.7.6 Determinación de *Staphylococcus aureus* ^{(2) (9)(17)}

Homogenizar la muestra y pipetear 10mL y agregarlos en un frasco de dilución conteniendo 90mL de agua peptona bufferada.

- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.
- Después del período de incubación, homogenizar la solución y tomar una asada y estriar en agar Baird Parker (por duplicado). (ver anexo N°14).
- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas.
- Registrar colonias negras con halo claro.
- Tomar de las colonias negras con halo claro y pasar a un tubo con 1 mL de plasma Citratado.
- Incubar por 24 horas.
- Registrar tubos con formación de coágulo. (ver anexo N°25 y N°8).

4.7.7 Determinación de *Streptococcus pyogenes* ^{(2) (9)}

Homogenizar la muestra y pipetear 10mL y agregarlos en un frasco de dilución conteniendo 90mL de agua peptona bufferada.

- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 horas.

- Después del período de incubación, homogenizar la solución, tomar una pequeña cantidad con una aza bacteriológica en aro y estriar en agar sangre (por duplicado). (ver anexo N°15).
- Incubar a temperatura de $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ con 10% de CO_2 por 24-48 horas.
- Registrar las colonias con hemolisis beta (completa).
- Realizar la prueba de Bacitracina para confirmar el ***Streptococcus pyogenes***. (ver anexo N°8).

4.7.8 Determinación de *Enterococcus faecalis* ^{(2) (9)}

Homogenizar la muestra y pipetear 10mL y agregarlos en un frasco de dilución conteniendo 90mL de agua peptona bufferada.

- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 horas.
- Después del período de incubación, homogenizar la solución y tomar una asada y estriar en Agar Dextrosa azida (por duplicado). (ver anexos N°16 y N°17).
- Incubar a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 24-48 horas.
- Inocular en Caldo de infusión cerebro corazón con 6.5% de NaCl a 37°C por 24 horas. (ver anexo N°18).
- Registrar solo si el medio se torna turbio. (ver anexo N°8).

V. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 Revisión de documentación de limpieza y sanitización

Durante la primera visita a inicios del mes de mayo, se tomó fotografías de las piscinas (ver anexos N°1 y N°19) se conversó con los encargados del mantenimiento de las piscinas. Además en la visita se entregó una encuesta a los encargados de mantenimiento disponibles, para averiguar la afluencia de personas, frecuencia de la limpieza de la piscina y tratamiento del agua (ver anexo N°19); Se indagó si el personal de mantenimiento contaba con la documentación acerca de la limpieza y sanitización que realizan en las piscinas de los complejos.

Fue proporcionado un manual de capacitación técnica utilizado por el personal de mantenimiento de las piscinas del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (ver anexo N°24), no así en el Polideportivo Universidad de El Salvador, que no cuenta con manual de capacitación técnica, sino mas bien la metodología es empírica aprendida de un operario a otro.

5.2 Verificación del registro de las mediciones de Cloro residual libre y pH

Se visitó ambos complejos y se verificó que el personal de mantenimiento lleva bitácoras de registro de lecturas de cloro y pH. En ambos complejos existen dichas bitácoras, sin embargo éstos se llevan de una forma desordenada, incluso discontinua (ver anexo N°19).

Los niveles de cloro y pH que se medidos antes de tomar las muestras, comparados con los valores registrados en las bitácoras, fueron coincidentes. La concentración de cloro libre residual y el pH se midió *in situ* utilizando un kit de ortotoluidina y rojo de fenol que utilizan los encargados de mantenimiento (ver anexo N°2). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

5.2.1 Cloro residual libre según bitácoras

Tabla N°7. Resultados de cloro libre residual obtenidos por revisión de bitácora de control de piscinas.

Cloro libre residual			
Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Mayo	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm
Junio	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm
Julio	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm

Según las verificación de bitácoras en los dos Complejos Deportivos los niveles de Cloro libre residual en las tres piscinas están dentro de los niveles recomendados por la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas recreacionales seguras, el cual va de 1.5 - 3.0 ppm ⁽¹³⁾. Sin embargo, ambas bitácoras reflejan que las mediciones de cloro libre residual se hacen una vez al día (ver anexo N°19), la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁽¹³⁾ recomienda hacer las mediciones al menos tres veces al día, para lograr mantener un mejor control de los niveles de cloro residual durante todo el día.

Es importante notar que el Kit colorimétrico que poseen en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot presenta limitaciones para la adecuada medición ya que los colores que van en la escala de 1 ppm hasta 3 ppm son casi idénticos (ver anexo N°20); dando lecturas inexactas y dejando al criterio del personal de mantenimiento el registro de los valores de Cloro libre residual.

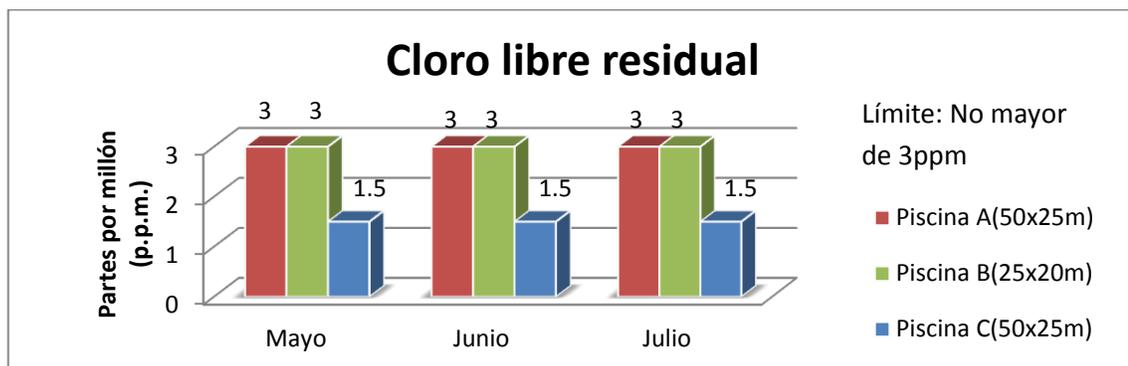


Figura N°1. Resultados de cloro libre residual obtenidos por revisión de bitácora de control de piscinas.

5.2.2 Cloro residual libre según medición

Tabla N°8. Resultados de cloro libre residual registrados antes de cada muestreo en las tres piscinas.

Cloro libre residual			
Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Mayo	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm
Junio	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm
Julio	3 ppm	3 ppm	1.5 ppm

Los valores medidos en el agua de las piscinas A y B del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot previa la recolección de muestra, fue de 3ppm, dicho valor es considerado arriba de los valores recomendados en el manual del proveedor de productos químicos para tratamiento de piscinas, quienes proporcionaron un manual a los encargados del mantenimiento de éstas, en el cual recomienda que los límites máximos de cloro libre residual sean de 1.0 a 2.0 ppm (ver anexo N°24). Sin embargo, la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que el nivel puede encontrarse dentro del rango local establecido

(1.0 a 2.0 ppm), pero no debe exceder 3.0 ppm como máximo para piscina públicas y semipúblicas desinfectadas ⁽¹³⁾.

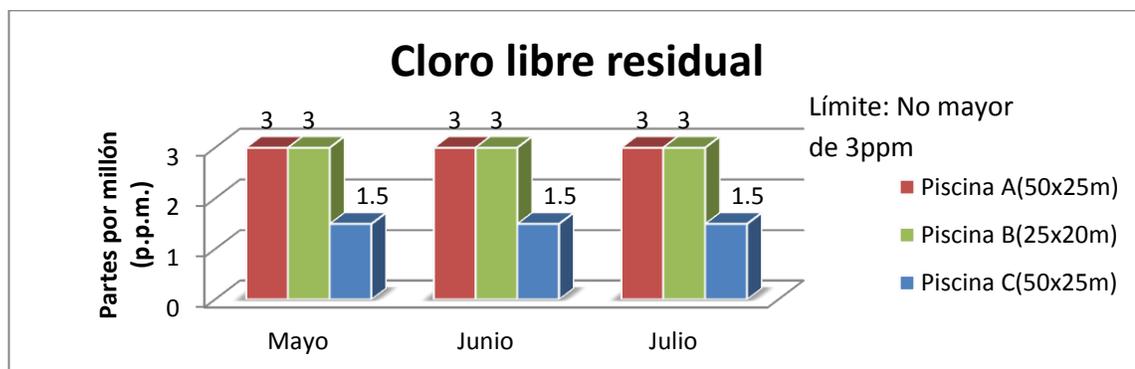


Figura N°2. Resultados de cloro libre residual obtenidos antes de cada muestreo en piscinas.

5.2.3 Potencial de Hidrogeno

5.2.3.1 pH según bitácoras

Tabla N°9. Resultados de pH obtenidos por revisión de bitácora de control de piscinas.

Meses	pH		
	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Mayo	7.6	7.6	7.2
Junio	7.6	7.6	7.2
Julio	7.6	7.6	7.2

Según lo encontrado de bitácoras, en los dos complejos deportivos los valores de pH registrados en las piscinas A y B fueron de 7.6 y en la C un pH de 7.2, a pesar de la diferencia de éstos, los valores se encuentran dentro del rango

recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (7.2 - 7.8) ⁽¹³⁾ y el estudio de Flores M. *et al* (7.0 a 8.0)⁽⁶⁾. Al mantenerse el pH entre 7.0 y 8.0, se logra que el cloro se mantenga más estable y por más tiempo en el agua, haciendo que su efectividad mejore pues tanto las cantidades y número de aplicaciones de cloro diarias necesarias para mantener los niveles disminuya⁽⁶⁾.

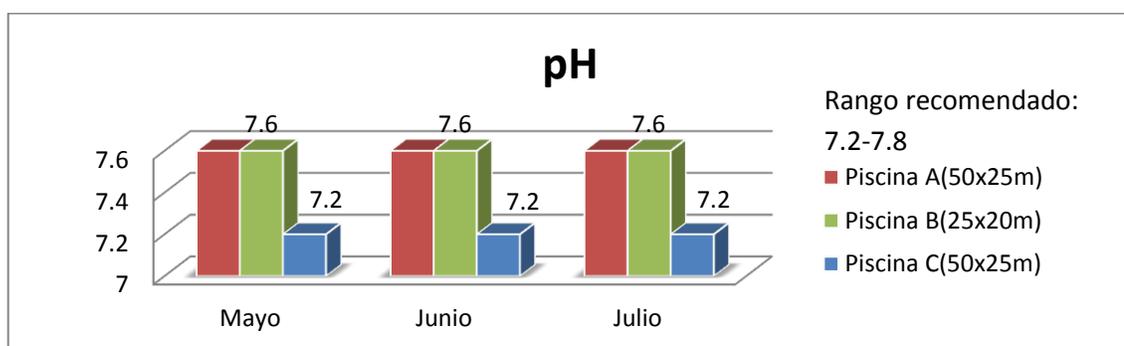


Figura N°3. Resultados de pH obtenidos de la bitácora de control de piscinas.

5.2.3.2 pH según mediciones

Tabla N°10. Resultados de pH obtenidos antes de cada muestreo en piscinas.

pH			
Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Mayo	7.6	7.6	7.2
Junio	7.6	7.6	7.2
Julio	7.6	7.6	7.2

En la medición de pH previo a la toma de muestra, en el agua de las piscinas de ambos complejos deportivos se obtuvieron las mismas lecturas de pH que las registradas en las bitácoras de control de su respectivo personal de

mantenimiento; las lecturas se encuentran dentro del rango recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que es de 7.2 - 7.8 ⁽¹³⁾ y el estudio de Flores M. *et al* es de 7.0 a 8.0 ⁽⁶⁾. Los niveles se mantuvieron siempre iguales a los registrados en las bitácoras.

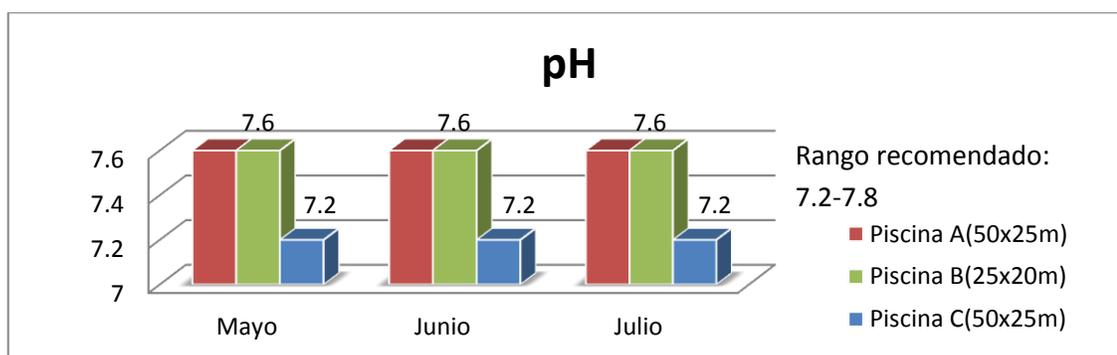


Figura N°4. Resultados de pH obtenidos antes de cada muestreo en piscinas.

En la lectura del pH no hubo problemas pues los colores en la escala son bastante definidos, diferentes entre sí y no hay confusión en las lecturas (ver anexo 20).

5.3 Determinación de la calidad bacteriológica del agua

Entre los resultados del análisis bacteriológico se realizó conteo de Coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, bacterias heterótrofas y determinación de otros patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus faecalis* cuyos resultados fueron los siguientes:

5.3.1 Cuantificación de Coliformes Totales:

Se aplicó la técnica de tubos múltiples y se obtuvieron los siguientes resultados que se presentan en la tabla a continuación:

Tabla N°11. Resultados de coliformes totales obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la norma NSO 13.07.01:08

Coliformes totales				
Límite	Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
<1.1 NMP/100mL	Mayo	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL
	Junio	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL
	Julio	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL

Los valores obtenidos en el Conteo de Coliformes Totales durante el estudio (el cual tuvo una duración de tres meses), están dentro de los límites máximos permisibles por la Norma Salvadoreña Obligatoria para agua potable NSO 13.07.01:08, que debe ser menor de 1.1 NMP en 100mL de muestra ⁽³⁾; lo que indica que en las tres piscinas el tratamiento con cloro y la concentración de cloro libre residual es suficiente para inhibir el desarrollo de las bacterias Coliformes Totales, que indican que ha habido una contaminación fecal reciente del agua; pero no sobreviven mucho tiempo en este entorno si es sometido a tratamiento constante con agentes desinfectantes como el cloro ⁽¹³⁾.

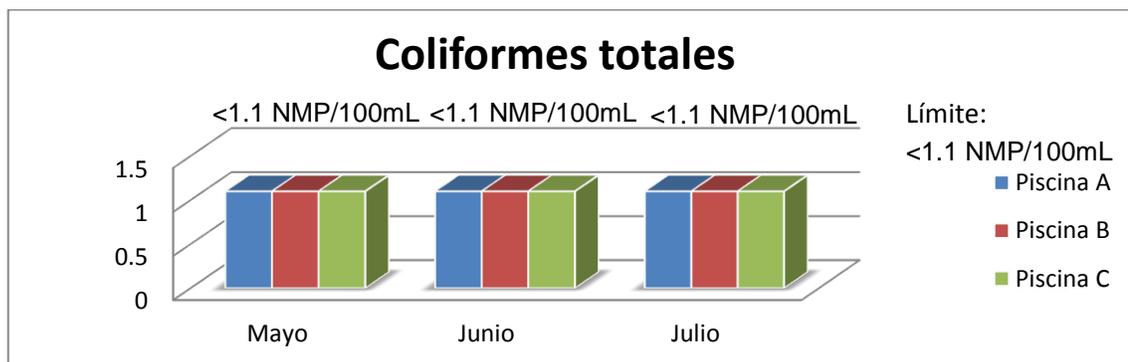


Figura N°5. Resultados de coliformes totales obtenidas en muestras de la piscina “A” comparados con la guía de la OMS y NSO 13.07.01:08

En la totalidad (100%) de las muestras del estudio (9), tres por piscina, están libres de la presencia de coliformes totales al realizar el análisis.

Tabla N°12. Coliformes totales encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio.

Análisis	Positivo		Negativo	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Coliformes totales	0	0	9	100

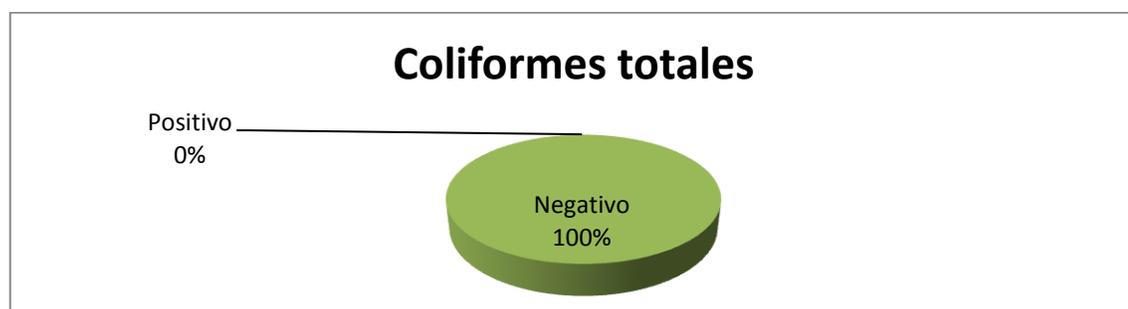


Figura N°6. Gráfica porcentual de la frecuencia de resultado del análisis de coliformes totales en la totalidad de las muestras estudiadas.

Al no encontrar presencia de coliformes totales, no se realizaron los análisis para la cuantificación de Coliformes fecales y *Escherichia coli*, esto debido a que ambas están incluidas dentro del grupo de las coliformes totales. De esta forma se descarta la posibilidad de presencia de coliformes fecales y *Escherichia coli*, ahorrando tiempo y medios de cultivo para estas pruebas.

5.3.2 Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias

Los resultados obtenidos después de haber utilizado la técnica de placa vertida, con las distintas diluciones de las muestras compuestas de las tres piscinas presentaban abundante crecimiento.

El conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias se mantuvo siempre por encima del límite recomendado por la Guía de la OMS para aguas recreacionales seguras (200 UFC/ml al mes).

Tabla N°13. Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias obtenidas en muestras de piscinas, comparada con la guía de la OMS.

Bacterias Heterótrofas Aerobias				
Límite		Piscina A	Piscina B	Piscina C
<200UFC/ml/mes	Mayo	17000	1000	23000
	Junio	29000	4800	54000
	Julio	1300	16000	13000

5.3.2.1 Piscina olímpica del Complejo deportivo de Ciudad Merliot (Piscina A)

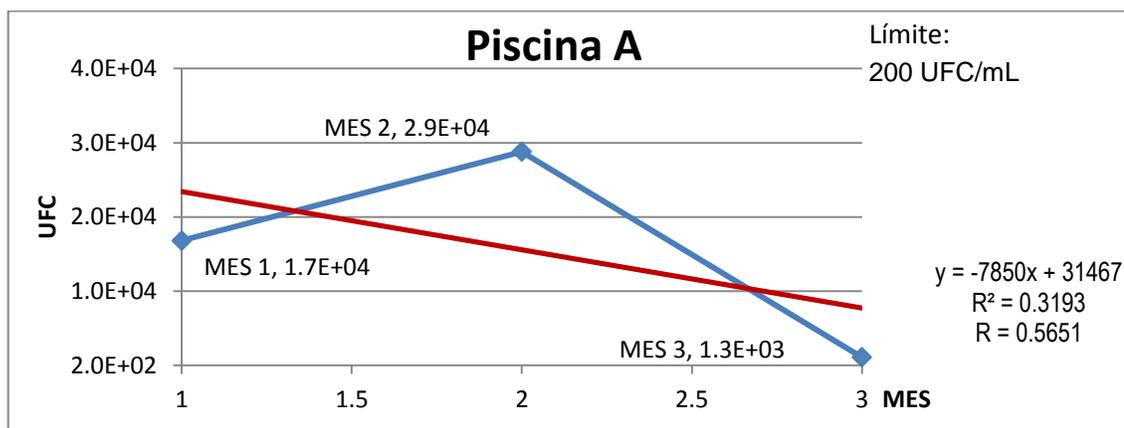


Figura N°7. Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina "A".

Media aritmética

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{17000 + 29000 + 1300}{3}$$

$$\bar{X} = 15766.66$$

Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{X})^2}{n}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{(17000 - 15766.66)^2 + (29000 - 15766.66)^2 + (1300 - 15766.66)^2}{3}}$$

$$\sigma = 11342.05$$

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

$$CV = \frac{11342.05}{15766.66}$$

$$CV = 0.7194$$

De acuerdo al análisis estadístico de los resultados obtenidos en el conteo de bacterias heterótrofas, se determinó la correlación entre tiempo y UFC, tomando en cuenta la invariabilidad de los puntos de muestreo, se obtuvo un valor de 0.5651, indicando una correlación media entre ambas variables; por otro lado, se vincula la variación de los resultados a factores distintos al tiempo, como: condiciones climáticas, presencia de árboles, aves que se bañan y defecan en los alrededores de la piscina; así como el número y tipo de personas que hacen uso de las mismas.

Tabla N°14. Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y su respectiva correlación de la piscina "A".

Piscina	Medidas de dispersión		Niveles de Tolerancia		Correlación	
	\bar{X}	<i>CV</i>	Confianza	P de confianza	R^2	<i>R</i>
A	15766.66	71.94%	0.95	0.05	0.3193	0.5651

P = complemento porcentual

Al analizar algunas de colonias encontradas en las placas de agar Plate Count, se encontró principalmente ***Staphylococcus epidermidis*** y ***Enterococcus faecalis***, ambas bacterias heterótrofas aerobias, la primera componente normal de la flora cutánea y la segunda de proveniente del tracto gastrointestinal

humano. El pico máximo de UFC encontrado (2.9×10^4) se atribuye a la gran afluencia de atletas, pues se estaban llevando a cabo entrenos y competencias. La cantidad de piel descamada y las descargas fecales accidentales son directamente proporcionales al número de personas que utilizan las piscinas, lo cual explica la gran cantidad ***Staphylococcus epidermidis*** y ***Enterococcus faecalis*** encontrada; cantidades que el cloro libre residual en el agua no puede contrarrestar con suficiente rapidez para que se mantengan por debajo del nivel recomendado por la Guía de la Organización Mundial para la Salud para Aguas Recreacionales Seguras (200 UFC/mL) ⁽¹³⁾.

En el tercer mes, la reducción del número de heterótrofas (1.3×10^3) se debe a la disminución del número de bañistas, a pesar de ello, el valor obtenido siguió arriba del nivel recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud para aguas recreacionales seguras. ⁽¹³⁾

5.3.2.2 Piscina infantil del Complejo deportivo de Ciudad Merliot (piscina B)

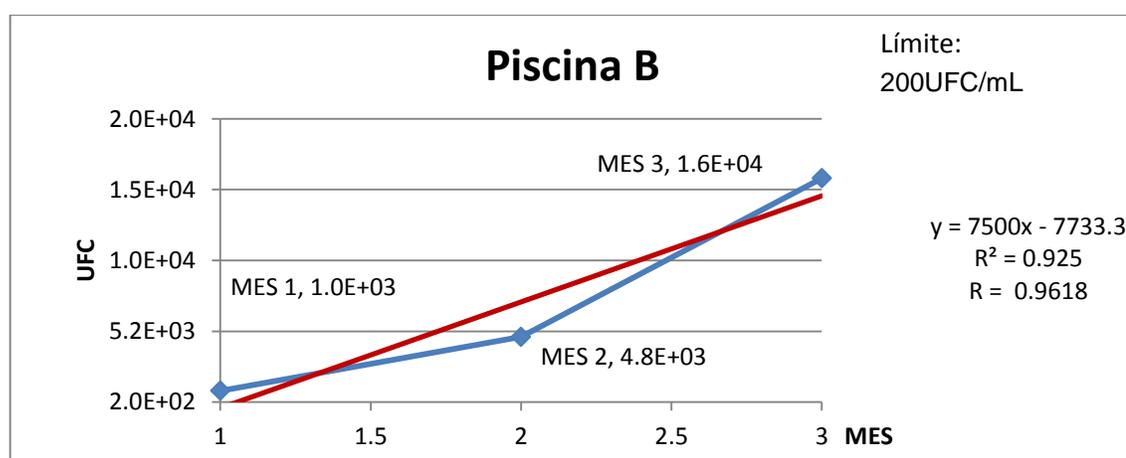


Figura N°8. Conteo Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina "B".

Media aritmética

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{1000 + 4800 + 16000}{3}$$

$$\bar{X} = 7266.66$$

Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{X})^2}{n}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{(1000 - 7266.66)^2 + (4800 - 7266.66)^2 + (16000 - 7266.66)^2}{3}}$$

$$\sigma = 6367.27$$

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

$$CV = \frac{6367.27}{7266.66}$$

$$CV = 0.8762$$

De acuerdo al análisis estadístico de los resultados obtenidos en el conteo de bacterias heterótrofas, se determinó la correlación entre tiempo y UFC, tomando en cuenta la invariabilidad de los puntos de muestreo, se obtuvo un valor de

0.9618, indicando una correlación alta entre ambas variables; por otro lado, se vincula la variación de los resultados a factores distintos al tiempo, como: condiciones climáticas, presencia de árboles, aves que se bañan y defecan en los alrededores de la piscina; así como el número y tipo de personas que hacen uso de las mismas.

Tabla N°15. Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y su respectiva correlación para la piscina “B”.

Piscina	Medidas de dispersión		Niveles de Tolerancia		Correlación	
	\bar{X}	CV	Confianza	P de aceptación	R^2	R
B	7266.66	87.62	0.95	0.05	0.925	0.9618

P = complemento porcentual

Al analizar algunas de las colonias encontradas en las placas de agar Plate Count, al igual que en la piscina A, se encontraron principalmente ***Staphylococcus epidermidis*** y ***Enterococcus faecalis***, ambas bacterias heterótrofas aerobias. El pico máximo de UFC encontrado al tercer mes (1.6×10^4) se atribuye a la gran afluencia de niños ese mes.

A pesar que en 1^{er} y 2^o mes los valores fueron más bajos, estaban arriba del nivel recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud para aguas recreacionales seguras (200 UFC/mL por mes). ⁽¹³⁾

5.3.2.3 Piscina olímpica de la Universidad de El Salvador (Piscina C)

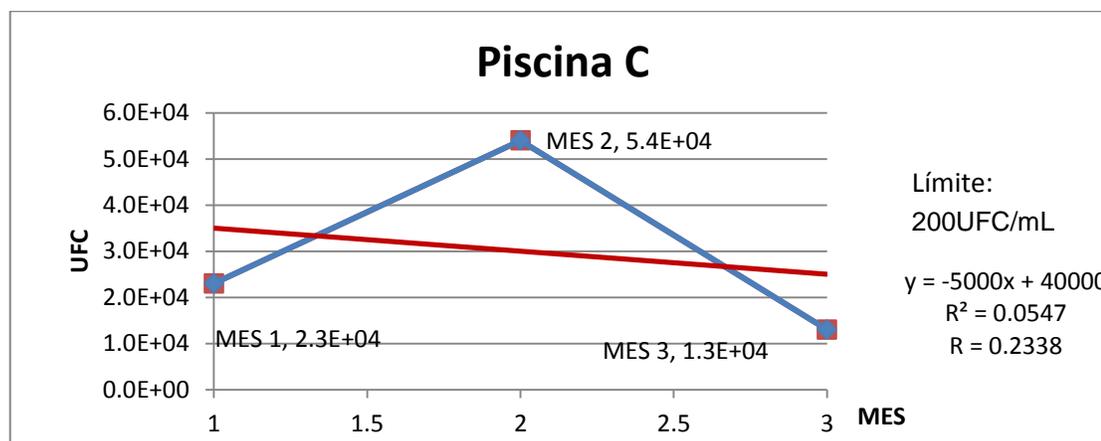


Figura N°9. Conteo de Bacterias Heterótrofas Aerobias de la piscina "C".

Media aritmética

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{13000 + 54000 + 23000}{3}$$

$$\bar{X} = 30000.00$$

Desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{X})^2}{n}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{(23000 - 30000.00)^2 + (54000 - 30000.00)^2 + (13000 - 30000.00)^2}{3}}$$

$$\sigma = 17454.70$$

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

$$CV = \frac{17454.70}{30000.00}$$

$$CV = 0.5818$$

Según el análisis estadístico de los resultados obtenidos en el conteo de bacterias heterótrofas se determinó la correlación entre tiempo y UFC, tomando en cuenta la invariabilidad de los puntos de muestreo, se obtuvo un valor de 0.2338, indicando una baja entre ambas variables; por otro lado, se vincula la variación de los resultados a factores distintos al tiempo, como: condiciones climáticas, presencia de árboles, aves que se bañan y defecan en los alrededores de la piscina; así como el número y tipo de personas que hacen uso de las mismas.

Tabla N°16. Resultados de cálculos de medidas de dispersión comparadas con el nivel de tolerancia y su respectiva correlación para la piscina "C".

Piscina	Medidas de dispersión		Niveles de Tolerancia		Correlación	
	\bar{X}	CV	Confianza	P de aceptación	R^2	R
C	30000	58.18	0.95	0.05	0.0547	0.2338

P = complemento porcentual

De manera similar a las piscinas A y B, en las placas de agar Plate Count, se contabilizaron muchas colonias, principalmente de ***Staphylococcus epidermidis*** y ***Enterococcus faecalis***, ambas bacterias heterótrofas aerobias.

El pico máximo de UFC encontrado 5.4×10^4 se atribuye a la mayor afluencia de atletas, debido a entrenos y preparativos para competencias.

En el tercer mes, la reducción del número de heterótrofas (1.3×10^4) se debe a la disminución de la afluencia de bañistas, aun así el valor obtenido permaneció arriba de 200UFC/ml, nivel recomendado por la guía de la Organización Mundial de la Salud para aguas recreacionales seguras. ⁽¹³⁾

5.3.3 Otros microorganismos patógenos

5.3.3.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Según los resultados obtenidos, *Pseudomonas aeruginosa* estaba ausente en las tres piscinas, lo cual cumple con las exigencias de la norma NSO 13.07.01:08. Por tanto se considera que la limpieza mecánica de las paredes y rejas de la piscina, el mantenimiento preventivo de filtros, así como la cloración del agua han sido adecuados para minimizar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, que puede ser introducido constantemente por aves, animales pequeños, condiciones ambientales a las que están sometidas las piscinas en la intemperie (ver anexo N°1 y anexo N°19).

Tabla N°17. Resultados de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas en muestras de piscinas comparada con la guía de OMS y NSO 13.07.01:08.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Límite	Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Ausencia	Mayo	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Junio	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Julio	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En todas las muestras del estudio (9), tres por piscina, no se encontró presencia de *Pseudomonas aeruginosa* al realizar el análisis.

Tabla N°18. *Pseudomonas aeruginosa* encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio.

Análisis	Positivo		Negativo	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	9	100

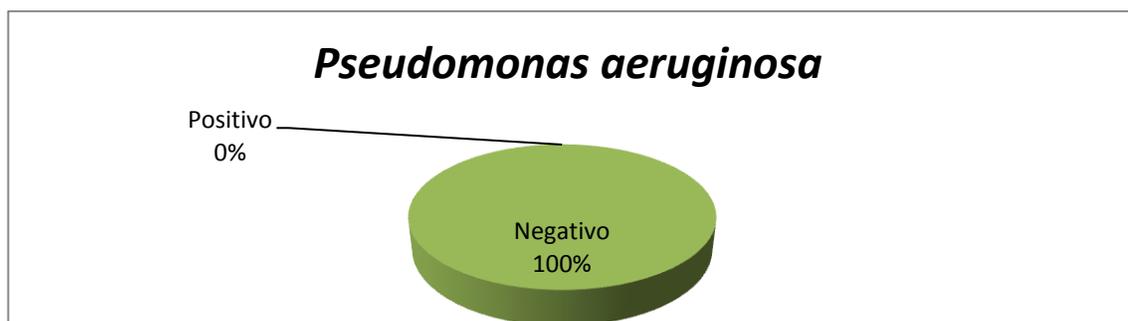


Figura N°10. Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de *Pseudomonas aeruginosa* en la totalidad de las muestras.

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo ubicuo de numerosos ecosistemas en la naturaleza, puede ser acarreado con facilidad por numerosos vectores portadores y fómites. El agua es un medio en el que se desarrolla con facilidad, especialmente aguas donde existe gran cantidad de materia orgánica; la *Pseudomonas aeruginosa* es un microorganismo resistente, patógeno oportunista puede causar enfermedades en tejidos corporales especialmente si presentan alteraciones o daño. En las piscinas estudiadas, al estar ausente éste microorganismo, no representa un peligro para los usuarios de las piscinas.

5.3.3.2 *Staphylococcus aureus*

Según los resultados del análisis realizado para la determinación de *Staphylococcus aureus*, éste estaba ausente; el ingreso de este microorganismo al agua de las piscinas se da mediante desprendimiento desde las mucosas de las fosas nasales de los bañistas que entran en contacto con el agua.

Tabla N°19. Resultados de *Staphylococcus aureus* obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de OMS y NSO 13.07.01:08.

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Límite	Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Ausencia	Mayo	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Junio	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Julio	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En la totalidad de las muestras del estudio (9), tres por piscina, no se encontró presencia de *Staphylococcus aureus* al realizar el análisis.

Tabla N°20. *Staphylococcus aureus* encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio.

Análisis	Positivo		Negativo	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	9	100

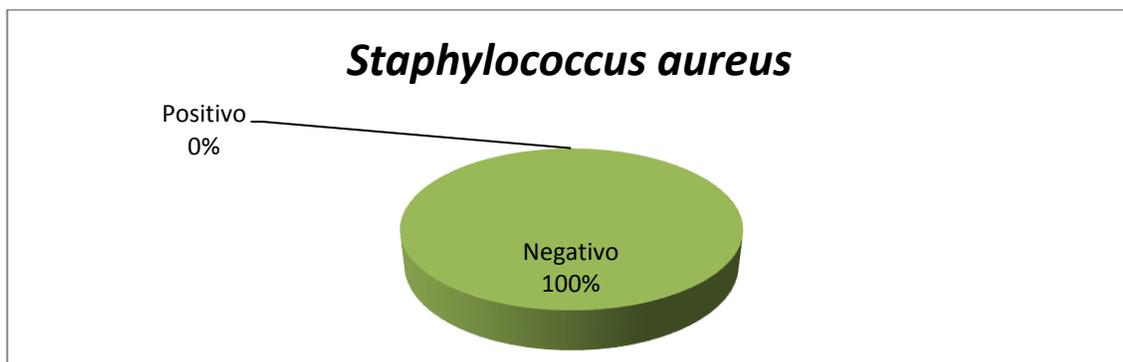


Figura N°11. Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de *Staphylococcus aureus* en la totalidad de las muestras analizadas.

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo cuyo único reservorio conocido es el cuerpo humano, puede encontrarse con facilidad en la mucosa nasal de éste. Está comprobado que hay un desprendimiento de *Staphylococcus aureus* de los bañistas al nadar, pueden sobrevivir formando películas en la superficie del agua ya que ha sido encontrado en agua de piscinas tratadas mediante cloración; en éste estudio no se encontró *Staphylococcus aureus* pues la concentración del cloro es suficiente para lograr contrarrestar la proliferación de este microorganismo en el agua, por lo que no representa un riesgo a los usuarios.

5.3.3.3 *Enterococcus faecalis*

Según los resultados del análisis realizado en las muestras de agua, podemos asegurar la presencia de *Enterococcus faecalis* en las piscinas pues es introducido frecuentemente por los bañistas, mediante descarga accidental de materia fecal. *Enterococcus faecalis* un microorganismo altamente resistente

a condiciones adversas, sobrevive en aguas tratadas por más tiempo que las bacterias coliformes totales y fecales, incluso bajo condiciones de aumento de temperatura, concentración de cloruro de sodio en agua del 6.5% y a tratamientos por cloración ⁽⁹⁾.

Tabla N° 21. Resultados de *Enterococcus faecalis* obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de OMS y NSO 13.07.01:08.

<i>Enterococcus faecalis</i>				
Límite	Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Ausencia	Mayo	Presencia	Presencia	Presencia
	Junio	Presencia	Presencia	Presencia
	Julio	Presencia	Presencia	Presencia

Se encontró *Enterococcus faecalis* en la totalidad (100%) de las muestras ⁽⁹⁾ analizadas, tres por piscina. (Ver anexo N°23)

Tabla N° 22. *Enterococcus faecalis* encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio.

Análisis	Positivo		Negativo	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	9	100	0	0

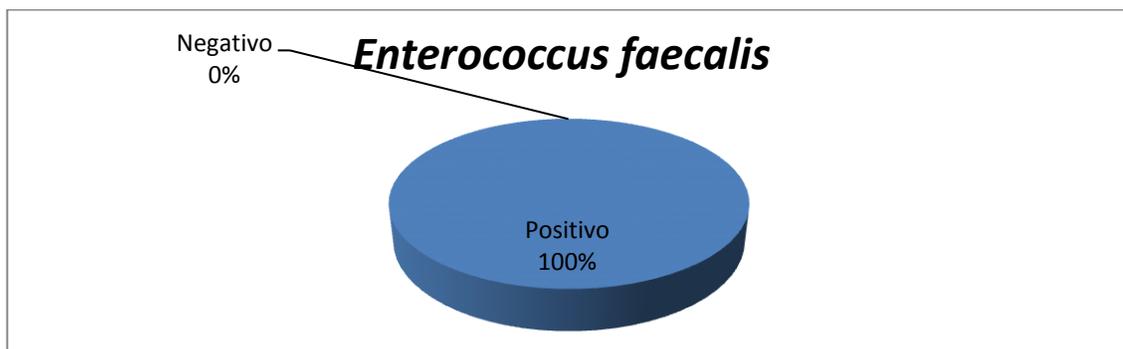


Figura N° 12. Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de *Enterococcus faecalis* en la totalidad de las muestras analizadas.

Enterococcus faecalis es un microorganismo comensal en los intestinos de numerosos mamíferos, incluido el ser humano; es microorganismo complementario en la cuantificación de coliformes en el agua. Como patógeno, puede causar infecciones en la vejiga urinaria y el epidídimo; por lo que la presencia de este microorganismo en el agua constituye un peligro potencial para la salud de los bañistas, por lo que se hace necesario poner atención a la erradicación de este microorganismo del agua.

5.3.3.4 *Streptococcus pyogenes*

Según los resultados del análisis obtenidos en el estudio, podemos asegurar la ausencia de *Streptococcus pyogenes* en las piscinas; este microorganismo es encontrado frecuentemente en personas que padecen de faringitis y otras infecciones del tracto respiratorio superior. Este microorganismo llega en cantidades mínimas o nulas al agua, por lo que es contrarrestado con la acción del Cloro Libre Residual, por lo tanto no representa un peligro para los bañistas.

Tabla N° 23. Resultados de *Streptococcus pyogenes* obtenidas en muestras de piscinas comparadas con la guía de OMS y NSO 13.07.01:08.

<i>Streptococcus pyogenes</i>				
Límite	Meses	Piscina A	Piscina B	Piscina C
Ausencia	Mayo	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Junio	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Julio	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En la totalidad de las muestras del estudio (9), tres por piscina, no se encontró presencia de *Streptococcus pyogenes* al realizar el análisis.

Tabla N° 24. *Streptococcus pyogenes* encontrados en la totalidad de las muestras analizadas durante el estudio.

Análisis	Positivo		Negativo	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0	0	9	100

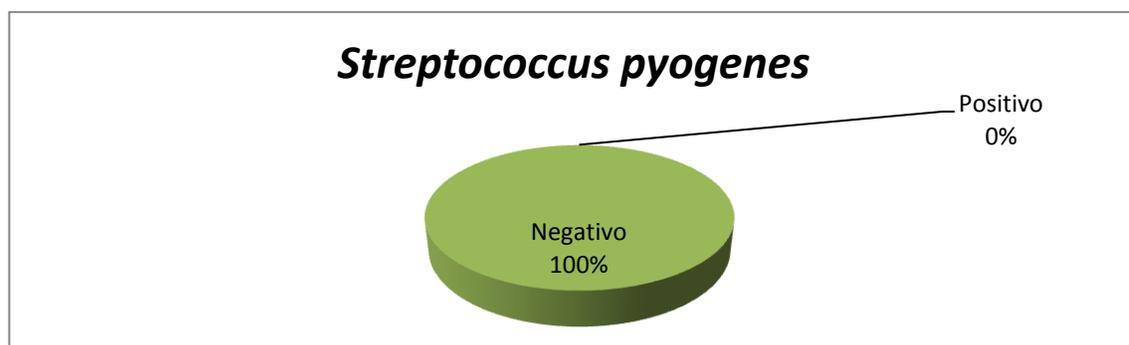


Figura N° 13. Gráfica de frecuencia de resultado del análisis de *Streptococcus pyogenes* en la totalidad de las muestras analizadas.

El *Streptococcus pyogenes* tiene morfología de coco Gram positivo, esférico, pequeño, normalmente agrupado en cadenas largas, no forma esporas de supervivencia, crece bien en condiciones de anaerobiosis. Como patógeno, puede causar infecciones faríngeas, impétigo, glomerulonefritis, fiebre reumática y necrosis de tejidos si logra infectar heridas abiertas.

5.4 Entrega de informes

Se hizo entrega personal de reportes de resultados del análisis bacteriológico del agua de las piscinas a sus respectivos administradores, quienes quedaron al tanto de la situación de la calidad del agua de las piscinas durante los tres meses del año 2011, cuando que se realizó el análisis.

Los administradores de las piscinas de ambos complejos deportivos estuvieron de acuerdo con seguir las recomendaciones adjuntas, para dar solución a los problemas encontrados. (Ver anexos N°26 y 27)

VI. CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. El Complejo Deportivo de Ciudad Merliot cuenta con un manual de procedimientos de limpieza y sanitización para las piscinas. Por otro lado, el Polideportivo de la Universidad de El Salvador no cuenta con dicho manual. En ambos complejos deportivos, se lleva únicamente registro de lecturas de Cloro libre residual.
2. Ambos complejos deportivos llevan registros de lecturas del cloro libre residual y pH, sin embargo, éstas se hacen una vez al día, cuando la Guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁽¹³⁾ recomienda que debe hacerse tres veces al día, para tener mejor control de los niveles de cloro libre residual todo el día.
3. El Kit colorimétrico que del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot presenta limitaciones: los colores que van en la escala de 1 ppm hasta 3 ppm son idénticos; quedando la lectura del valor y su registro a criterio del personal.
4. Valores adecuados de pH ayudan al cloro libre residual a incrementar su estabilidad y efectividad en el agua ⁽¹³⁾.
5. Según resultados del análisis del agua, el conteo de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* se mantuvieron dentro del límite máximo permisible por la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable. Por otro lado, se encontró presencia de

Enterococcus faecalis, por lo que no cumple con la ausencia de patógenos según dicha norma.

6. El conteo de bacterias heterótrofas aerobias no cumple pues está por encima del límite recomendado por la Guía de la Organización mundial de la Salud para aguas recreacionales ⁽¹³⁾.
7. El nivel de cloro residual es suficiente para eliminar a los microorganismos coliformes, pero no es capaz de eliminar rápidamente la carga bacteriana introducida por los usuarios, a través del contacto del agua con el cuerpo de los usuarios.
8. ***Escherichia coli*** está incluido dentro del grupo de las Coliformes fecales y éstas a su vez dentro del grupo de las Coliformes totales; Gracias al método utilizado se encontró que los valores de Coliformes totales son <1.1 NMP/100mL de muestra, por lo que se asume que las cantidades de Coliformes fecales y de ***Escherichia coli*** son también <1.1 NMP/100mL de muestra, todas dentro del límite máximo establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para Agua Potable.
9. Hubo ausencia de ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Streptococcus pyogenes*** y ***Staphylococcus aureus***, lo que indica que el cloro libre residual logra controlar su reproducción y no representan un peligro para la salud de los usuarios.

10. Los valores del conteo de Bacterias heterótrofas en las tres piscinas está sobre el límite recomendados por la Guía de la Organización Mundial de la Salud para Aguas Recreativas de Piscinas (<200 UFC/mL). La cantidad de bacterias heterótrofas, es influida por factores climatológicos, presencia de arboles, flora y fauna que contaminan los alrededores; pero sobre todo es el número de bañistas que utilizan las piscinas, lo que influye directamente en la cantidad de piel descamada al agua, la cual acarrea consigo microorganismos de la flora cutánea.

11. El tiempo no es una variable que influye en el aumento de la carga bacteriana en el agua de las 3 piscinas muestreadas, sino que el principal causante de dicho incremento es la cantidad de personas que hacen uso de las piscinas.

12. Se encontró presencia de ***Staphylococcus epidermidis***, cuyo origen es la piel de los bañistas y ***Enterococcus faecalis*** proveniente de heces de origen animal o humano; al pertenecer estas al grupo de las bacterias heterótrofas, se explica por qué éstas se encontraron en grandes cantidades durante los períodos de mayor afluencia de bañistas a las piscinas.

13. El kit colorimétrico utilizado en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot presenta limitaciones, ya que los colores en la escala que corresponden al cloro libre residual que van del 1-3ppm son muy similares entre si, dando lecturas inexactas y dejando al criterio del personal de mantenimiento la asignación del valor correspondiente.

VII. RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que cada institución elabore su propio manual operativo de limpieza y sanitización, que responda a sus necesidades. Para su elaboración, puede tomarse como base manuales de capacitación entregados por sus proveedores de químicos. Deberán además asegurarse que se cumplan los métodos estipulados en los nuevos manuales.
2. Actualizar las bitácoras de registro, para incorporar registro de los valores de cloro libre residual y pH tres veces al día todos los días, mínimo recomendado por la Guía de la OMS.
3. Llevar un buen control del pH, procurando que éste se mantenga dentro del rango recomendado, pues aumenta la estabilidad y efectividad del cloro libre residual en el agua.
4. Adquirir kits colorimétricos para medir cloro libre residual y pH con escalas de colores que faciliten la lectura de los parámetros.
5. Realizar monitoreos cada tres meses realizando el análisis microbiológico y fisicoquímico a muestras del agua y de esta manera validar los procesos de limpieza y tratamiento del agua de sus piscinas, que faciliten la implementación de medidas correctivas y preventivas en cuanto a la calidad del agua de uso recreacional, protegiendo de esta manera la salud de los atletas.

6. Recircular y filtrar el agua de 12 a 24 horas como se explica en la Guía de la OMS para aguas recreativas seguras ⁽¹³⁾.
7. Dar un mantenimiento más frecuente y cuidadoso a las unidades de filtración, para que trabajen en óptimas condiciones.
8. Adquirir un cobertor durable para proteger a las piscinas del ambiente, mientras estas no se encuentran en uso, ya que las piscinas al aire libre son visitadas por diferentes especies de aves y animales pequeños, a su vez que se ven afectadas por las condiciones del clima, basura, polvo y hojas de árboles que pueden caer dentro de la piscina.
9. Colocar una trampa de malla a una altura adecuada sobre la piscina para prevenir la entrada de hojas mientras las piscinas se encuentren en uso.
10. Capacitar continuamente al personal que realiza la limpieza y sanitización de las piscinas y proveer el equipo necesario para que puedan registrar los resultados de las mediciones que realizan, o contratar los servicios profesionales de un Licenciado en Química y Farmacia con especialización en microbiología para solventar este problema.
11. Llevar una bitácora en donde se detalle la persona responsable, hora, fecha, cantidad de cloro, carbonato de sodio, floculante y alguicida adicionado a las piscinas, de manera que facilite deducir responsabilidad.

12. Registrar detalladamente del número de personas que asisten a la piscina a diario, ya que a mayor número de atletas en las piscinas, mayor cantidad de materia orgánica es introducida al agua debida a la descamación de la piel.

13. Solicitar a las personas que hacen uso de las piscinas ducharse antes de entrar al agua.

14. Realizar muestreos no solo durante las horas pico, sino también durante las horas de menor afluencia para hacer un contraste del comportamiento del crecimiento de los microorganismos cuando hay alta y baja presencia de bañistas.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Alemán A., Evelyn Marisol; Guerrero N., Elsy Noemi. Evaluación de la calidad del agua en el lago de Coatepeque en el período de Junio-Agosto de 2006. Universidad de El Salvador. Año 2007.
2. APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Central Federation). 1992. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 20 Edition, Washington DC, 1998. Chapter 9000, pages: 9-29, 9-30, 9-34, 9-38, 9-39, 9-52, 9-53, 9-54, 9-55, 9-56, 9-57, 9-58, 9-75, 9-76, 9-90, 9-91, 9-92, 9-98, 9-103, 9-104, 9-105, 9-138, 9-139, 9-142, 9-143, 9-144, 9-148, 9-149, 9-173, 9-174, 9-175, 9-176, 9-274, 9-285.
3. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT. NSO 13.07.01:08 AGUA.AGUA POTABLE. (Segunda actualización). El Salvador. 2008.
4. Cornejo L., Katia Araceli; Esquivel M., Iris Rocío. “Determinación de la contaminación microbiológica del agua del manantial El Paterno ubicado en el municipio de Sensuntepeque, departamento de Cabañas”. Universidad de El Salvador. Año 2008.

5. Fuentes S., Mónica Beatriz; Hernández O., Gloria Alicia. “Determinación de la calidad Físico-Química y bacteriológica del agua del Lago de Guija”. Universidad de El Salvador. Año 2007.

6. Flores M., Tania Lissette; Menéndez Z., Diana. “Propuesta de un Kit colorimétrico para la determinación de cloro, dureza, nitritos y pH en la piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador”. Universidad de El Salvador. Año 2009.

7. “MERCK MICROBIOLOGY MANUAL”, 12th edition, Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, 2005, [CD ROM].

8. Ramos O. Lina María; Vidal, Luis A.; Vilardy Q, Sandra; Saavedra Díaz, Lina. “Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la bahía de Santa Marta, Caribe Colombiano” Instituto de Investigaciones Tropicales, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia, 2008.

9. Rodríguez C. Evelyn; Gamboa C. María del Mar; Hernández C. Francisco; García H. Jorge. Bacteriología General, Principios y prácticas de laboratorios. Costa Rica. Editorial UCR. 2005 (1ª ed.).

10. Romero, S. *et al* “Calidad del Agua para Actividades Recreativas del Río Hardy en la Región Fronteriza México-Estados Unidos” Instituto de

Ingeniería. Área de Medio Ambiente, Universidad Autónoma de Baja California, México. 2010.

11. Shaechter, Moselio *et al.* Desk Encyclopedia of Microbiology, Second edition, Elsevier, San Diego, California, United States of America. Pág: 420, 421 y 972.
12. Sixto Raúl Costamagna, Elena Visciarelli, Leandro D. Lucchi y Juan A. Basualdo; “Parásitos en aguas del arroyo Napostá, aguas de recreación y de consumo en la ciudad de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina)”.
13. World Health Organization. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2, Swimming pools and similar environments. 2006.
14. “HIMEDIA: HiColiform-HiVeg Fluorocult”. Disponible para consulta en la web:<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Datasheet/51489dat.Par.0001.File.tmp/51489dat.pdf> Consultado el 03 de Enero del año 2012
15. “Pseudomonas Textbook”. Disponible para consulta en el siguiente sitio web: <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> Consultado el 10 de Noviembre del año 2011.
16. “Transmisión de enfermedades por aguas recreativas contaminadas” Disponible para consulta abierta en el siguiente sitio web,

http://www.uv.mx/gaceta/Gaceta100/100/Campus/Campus_02.htm”

Consultado 03 abril de 2011.

17. UNITED STATES PHARMACOPEIA 30th REVISION WITH NATIONAL FORMULARY 25th REVISION. THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, United States of America. 2007.

GLOSARIO

GLOSARIO ⁽⁶⁾

1. **Agua:** (del Latín *Aqua*) es un compuesto formado por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno (H₂O). El término agua se aplica en el lenguaje corriente únicamente al estado líquido de este compuesto. El agua es una sustancia química esencial para la supervivencia de todas las formas conocidas de la vida.
2. **Aguas recreativas:** Aguas de origen natural o artificial destinadas al baño recreativo o deportivo, las cuales deben poseer equipamiento e instalación necesaria para garantizar su función adecuada.
3. **Calidad del agua:** Está referido a la composición del agua en la medida en que ésta es afectada por la concentración de sustancias producidas por procesos naturales y actividades humanas.
4. **Cloro:** Elemento químico altamente reactivo, fundamental para la desinfección del agua de las piscinas.
5. **Colorimetría:** es la ciencia que estudia la medida de los colores y que desarrolla métodos para la cuantificación del color, o sea para la obtención de valores numéricos del color.
6. **Desinfectante:** sustancias que tienen la propiedad de desinfectar.
7. **Estanque:** infraestructura principal de la piscina que contiene el volumen del agua, también llamada vaso.
8. **Filtro:** dispositivo que extrae mecánicamente los sólidos insolubles del agua de la piscina.

- 9. Kit colorimétrico:** consiste en un conjunto de reactivos para el análisis cuantitativo, que ofrece un resultado dentro de un rango amplio, pero con suficiente precisión y exactitud para verificar si se cumple o no con la especificación reglamentaria
- 10. Mantenimiento:** Acción eficaz para mejorar aspectos operativos relevantes de un establecimiento, tales como: funcionalidad, seguridad, productividad, creación, modificación o eliminación de uno o varios elementos. Acción y efecto de reparar, mantener y conservar en buen estado los equipos, bienes, inmuebles e instalaciones.
- 11. Norma:** Son documentos técnicos con las siguientes características: contienen especificaciones técnicas de aplicación voluntaria. Norma social es una regla que se debe seguir o a la que se deben ajustar las conductas, tareas y actividades del ser humano.
- 12. Normativas:** se refiere al establecimiento de reglas o leyes, dentro de cualquier grupo y organización.
- 13. Parámetros:** aquellas características que pueden ser sometidas a medición
- 14. pH:** Potencial de hidrógeno, mide la acidez o el carácter básico del agua.
- 15. Piscina:** es el conjunto de uno o más estanques, total o parcialmente artificiales, destinados al baño recreativo o deportivo, donde el uso que se haga del agua supone un contenido primario y colectivo con esta, así como con los equipamientos e instalaciones necesarias que garantizan su funcionamiento adecuado.

16. Piscina abierta: Piscina a la intemperie, es un conjunto de uno o más estanques total o parcialmente artificiales diseñados de forma tal, que estos se encuentran al aire libre, sin condiciones climatizadas.

17. Piscina cerrada: Piscina diseñada para no estar al aire libre, necesitan un plan de limpieza y mantenimiento de sistemas de ventilación y calefacción, que implica un control de la temperatura y la humedad ambiental.

18. Piscina pública: Toda piscina de titularidad pública, cuya utilización está condicionada al pago de una cantidad en concepto de entrada o de cuota de acceso, directo o indirecto.

19. Tratamiento de choque: práctica que consiste en añadir al agua una cantidad importante de un agente químico para eliminar contaminantes orgánicos y nitrogenados

20. Vaso: Sinónimo de estanque.

ANEXOS

ANEXO N° 1
INSTALACIONES OBJETO DE ANALISIS

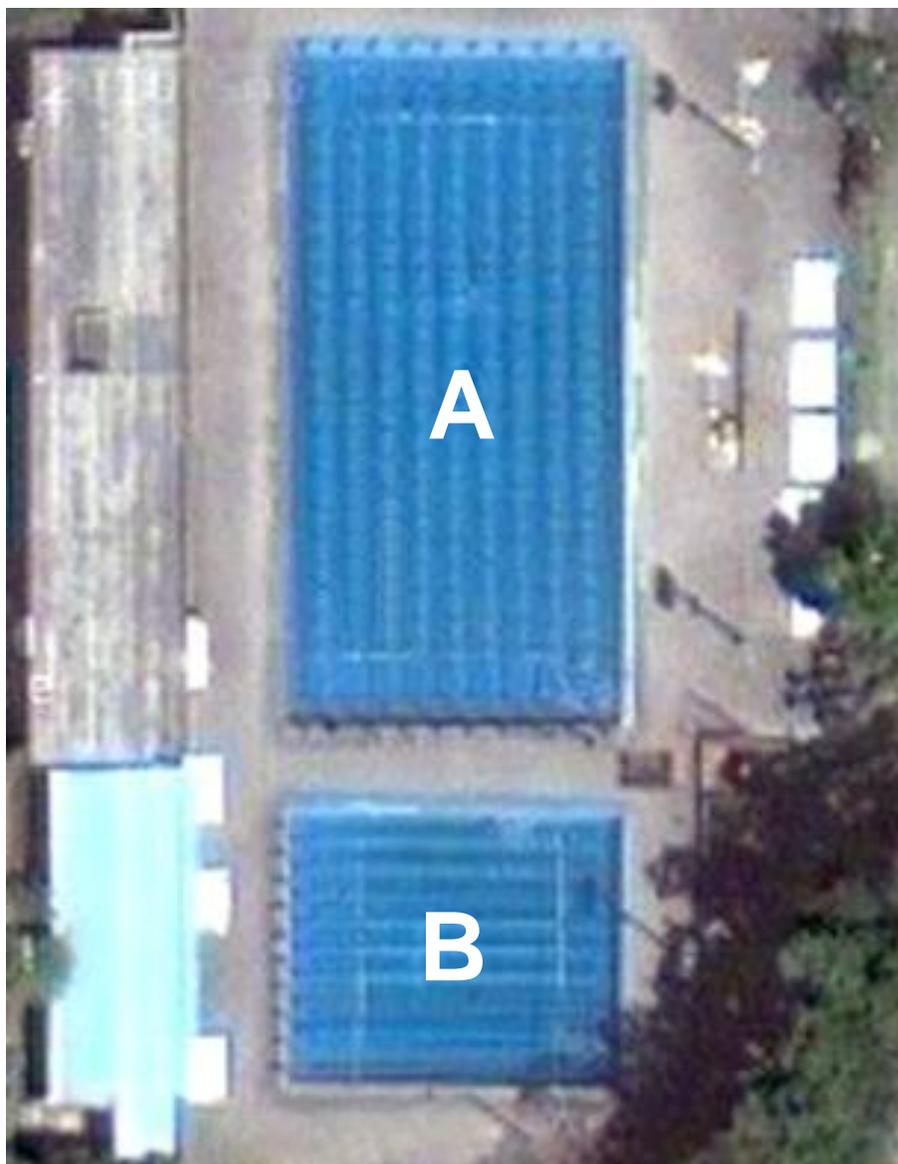


Figura N°14: Vista satelital de las Piscinas del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot: Piscina Olímpica (A), Piscina Infantil (B).



Figura N°15: Piscina olímpica del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (A).



Figura N°16: Piscina infantil del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (B).



Figura N°17: Vista satelital de la piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador.



Figura N°18: Piscina olímpica del Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

ANEXO N° 2

RECURSOS PARA SANITIZACIÓN Y LECTURA DE PARAMETROS



Figura N°19: a) desinfectante pulverizado a base de cloro.

b) caja del kit rápido para medir cloro libre residual y pH del agua.

c) aparato del kit, con recipientes y escalas.

d) reactivos indicadores para las mediciones: ortotoluidina para cloro, rojo de fenol para pH.

e) kit durante una medición.

f) set de mayor costo, además de medir pH y nivel de cloro, puede medir: dureza del agua, aminas disueltas y otros parámetros.

ANEXO N °3
FORMATO DE ENCUESTA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Determinación de la Calidad microbiológica del agua de las piscinas ubicadas en Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y Polideportivo de Universidad de El Salvador durante tres meses del año 2011.



¿Cuántas personas aproximadamente visitan las instalaciones?

¿Cuántas personas son las encargadas de dar el mantenimiento a las piscinas?

¿Cómo realiza la limpieza?

¿Cada cuánto realizan la cloración de las piscinas?

¿Llevan registros de los niveles de cloro?

¿Poseen algún Kit para revisar el nivel de cloro libre residual y el pH?

¿Poseen manuales de procedimientos para realizar el proceso de limpieza y cloración?

¿Tienen manera de evaluar si el tratamiento ha hecho los efectos esperados?

¿Cuáles son las horas de más afluencia de personas?

¿Reportan los usuarios enfermedades que sospechan contrajeron por el uso de las instalaciones? _____

ANEXO N° 4
ESQUEMAS DE SITIO DE MUESTREO

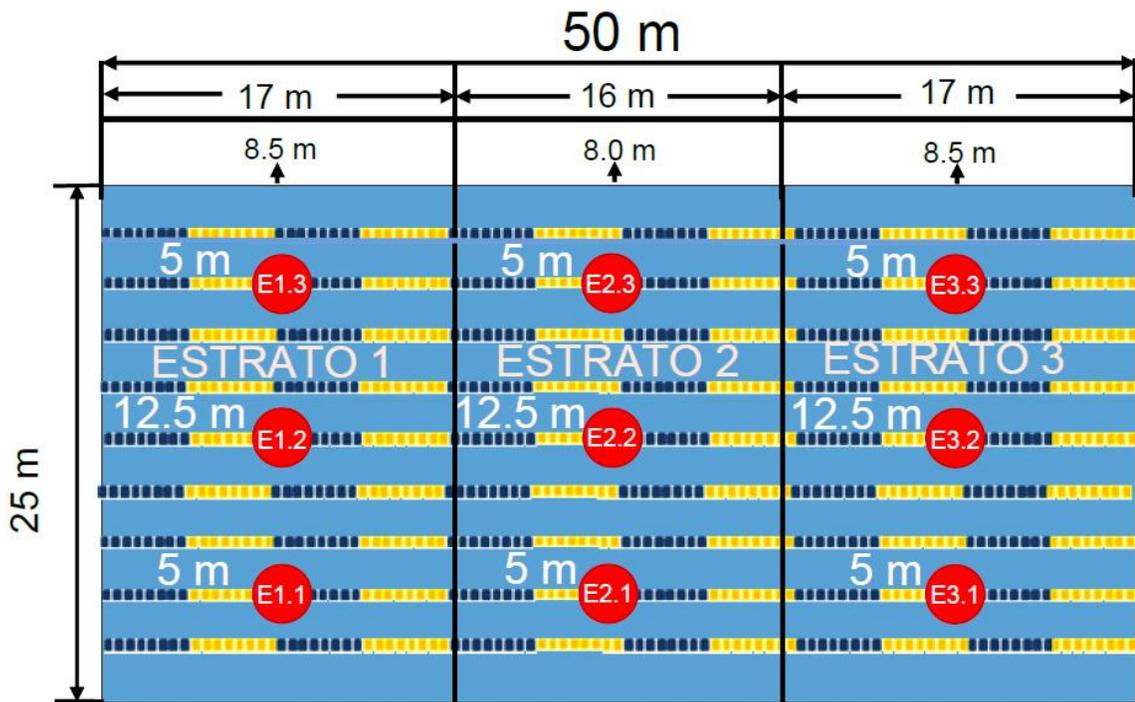


Figura N°20: Esquema de los puntos donde se tomarán las muestras simples para análisis bacteriológico de la piscina Olímpica del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (A). Las muestras simples de cada estrato (E1, E2 y E3) se unen y homogenizan para formar tres muestras compuestas.

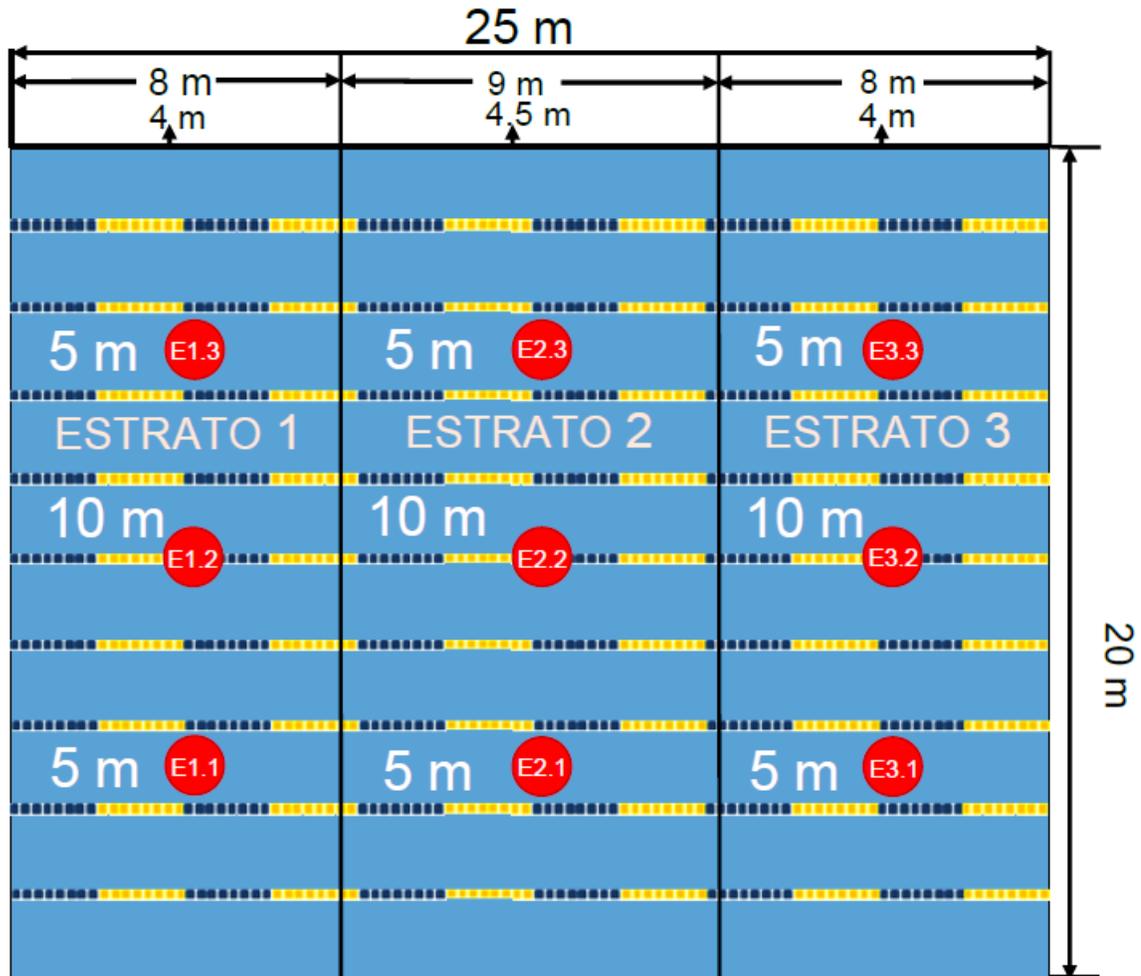


Figura N°21: Esquema de los puntos donde se tomarán las muestras simples para análisis bacteriológico de la piscina infantil del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (B). Las muestras simples de cada estrato (E1, E2 y E3) se unen y homogenizan para formar tres muestras compuestas.

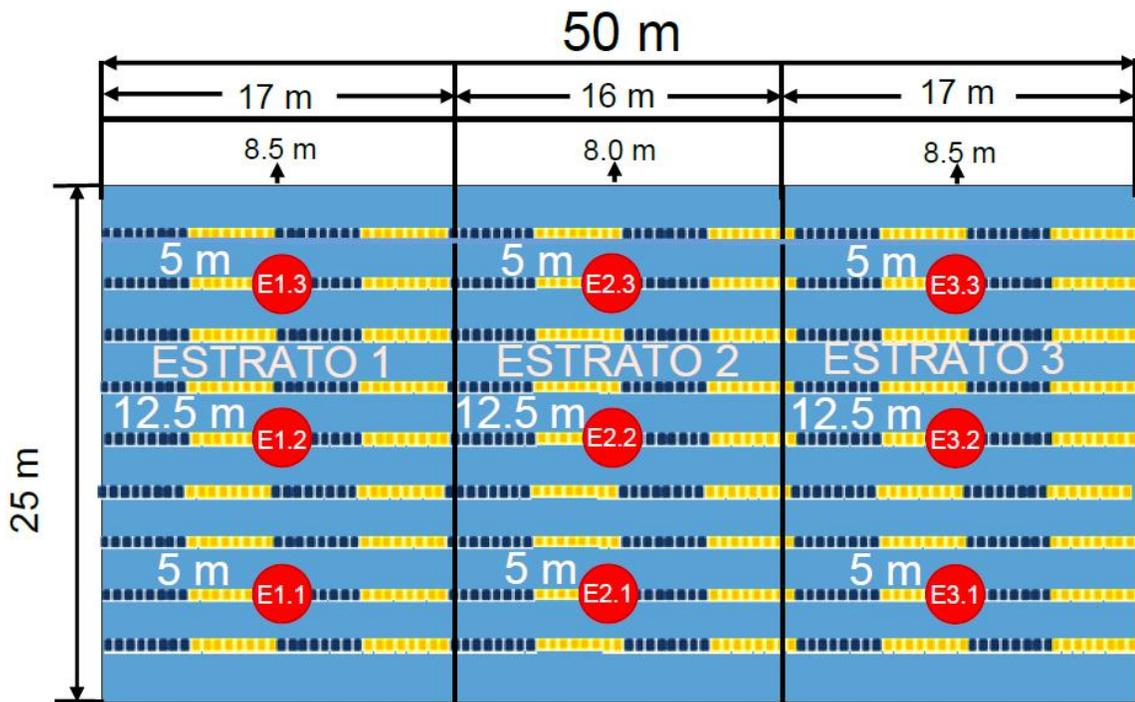


Figura N°22: Esquema de los puntos donde se tomarán las muestras simples para análisis bacteriológico de la piscina Olímpica del Polideportivo de la Universidad de El Salvador (C). Las muestras simples de cada estrato (E1, E2 y E3) se unen y homogenizan para formar tres muestras compuestas.

ANEXO N° 5

**NORMA SALVADOREÑA OBLIGATORIA PARA AGUA POTABLE
(NSO 13.07.01:08) TABLA DE LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES
PARA CALIDAD MICROBIOLOGICA DEL AGUA POTABLE**

4. REQUISITOS

4.1 REQUISITOS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICOS.

Tabla 1. Límites máximos permisibles para calidad microbiológica

Parámetro	Límite máximo permisible		
	Técnicas		
	Filtración por membranas	Tubos múltiples	Placa vertida
Bacterias coliformes totales	0 UFC/100 ml	<1,1 NMP/100 ml	----
Bacterias coliformes fecales o termotolerantes	0 UFC/100 ml	<1,1 NMP/100 ml	----
<i>Escherichia coli</i>	0 UFC/100 ml	<1,1 NMP/100 ml	----
Conteo de bacterias heterótrofas y aerobias mesófilas	100 UFC/ ml	----	100 UFC/ ml
Organismos patógenos	Ausencia		

Cuando en una muestra se presentan organismos coliformes totales fuera de la norma, según la Tabla 1, se deben aplicar medidas correctivas y se deben tomar inmediatamente muestras diarias del mismo punto de muestreo y se les debe examinar hasta que los resultados que se obtengan, cuando menos en dos muestras consecutivas demuestren que el agua es de una calidad que reúne los requisitos exigidos por la Tabla 1.

Un número mayor de 100 microorganismos por mililitro en el recuento total de bacterias heterotróficas, es señal de que deben tomarse medidas correctivas e indica la necesidad de una inspección sanitaria completa del sistema de abastecimiento para determinar cualquier fuente de contaminación.

En cada técnica se pueden usar los sustratos tradicionales o sustratos-enzimas aprobados por una entidad internacional reconocida y relacionada con la calidad del agua potable.

ANEXO N° 6

**TABLA DE FRECUENCIA DE MUESTREO RECOMENDADAS Y
LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES SEGÚN FRECUENCIA DE
MUESTREO Y MICROORGANISMO BUSCADO**

thorough cleaning and disinfection programme initiated. Hot tubs should be shut down, drained, cleaned and refilled.

Legionella spp.

Periodic testing for *Legionella* is useful, especially from hot tubs, in order to determine that filters are not being colonized, and it is recommended that operational levels should be <1/100 ml. Where this is exceeded, hot tubs should be shut down, drained, cleaned and refilled. Shock chlorination may be appropriate if it is suspected that filters have become colonized.

Staphylococcus aureus

The routine monitoring of *Staphylococcus aureus* is not recommended, although monitoring may be undertaken as part of a wider investigation into the quality of the water when health problems associated with the pool are suspected. Where samples are taken, levels should be less than 100/100 ml.

2. Sampling

Guidelines on routine sampling frequencies, along with a summary of operational guideline values, are outlined in Table 5.3. In addition to routine sampling, samples should also be taken from public and semi-public facilities:

- before a pool is used for the first time;
- before it is put back into use, after it has been shut down for repairs or cleaning;
- if there are difficulties with the treatment system; and
- as part of any investigation into possible adverse effects on bathers' health.

Table 5.3. Recommended routine sampling frequencies^a and operational guidelines^b for microbial testing during normal operation

Pool type	Heterotrophic plate count	Thermotolerant coliform/ <i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Legionella</i> spp.
Disinfected pools, public and heavily used	Weekly (<200/ml)	Weekly (<1/100 ml)	When situation demands ^c (<1/100 ml)	Quarterly (<1/100 ml)
Disinfected pools, semi-public	Monthly (<200/ml)	Monthly (<1/100 ml)	When situation demands ^c (<1/100 ml)	Quarterly (<1/100 ml)
Natural spas	n/a	Weekly (<1/100 ml)	Weekly (<10/100 ml)	Monthly (<1/100 ml)
Hot tubs	n/a	Weekly (<1/100 ml)	Weekly (<1/100 ml)	Monthly (<1/100 ml)

^a Samples should be taken when the pool is heavily loaded
 Sampling frequency should be increased if operational parameters (e.g. turbidity, pH, residual disinfectant concentration) are not maintained within target ranges
 Sample numbers should be determined on the basis of pool size and complexity and should include point(s) representative of general water quality and likely problem areas

^b Operational guidelines are shown in parentheses

^c e.g. when health problems associated with the pool are suspected

ANEXO N° 7

**TABLA DEL NUMERO MAS PROBABLE PARA DETERMINACIÓN DE
COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES Y *Escherichia coli*
AL UTILIZAR CINCO TUBOS CON 20 mL POR MUESTRA**

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

Inoculum mL	Amount of Medium in Tube mL	Volume of Medium + Inoculum mL	Dehydrated Lauryl Tryptose Broth Required g/L
1	10 or more	11 or more	35.6
10	10	20	71.2
10	20	30	53.4
20	10	30	106.8
100	50	150	106.8
100	35	135	137.1
100	20	120	213.6

TABLE 9221:II. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATIONS OF POSITIVE AND NEGATIVE RESULTS WHEN FIVE 20-ML PORTIONS ARE USED

No. of Tubes Giving Positive Reaction Out of 5 of 20 mL Each	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits (Approximate)	
		Lower	Upper
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.05	6.3
2	2.6	0.3	9.6
3	4.6	0.8	14.7
4	8.0	1.7	26.4
5	>8.0	4.0	Infinite

TABLE 9221:III. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATIONS OF POSITIVE AND NEGATIVE RESULTS WHEN TEN 10-ML PORTIONS ARE USED

No. of Tubes Giving Positive Reaction Out of 10 of 10 mL Each	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits (Approximate)	
		Lower	Upper
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.03	5.9

© Copyright 1999 by American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation

ANEXO N° 8
METODOLOGIA ESQUEMATIZADA

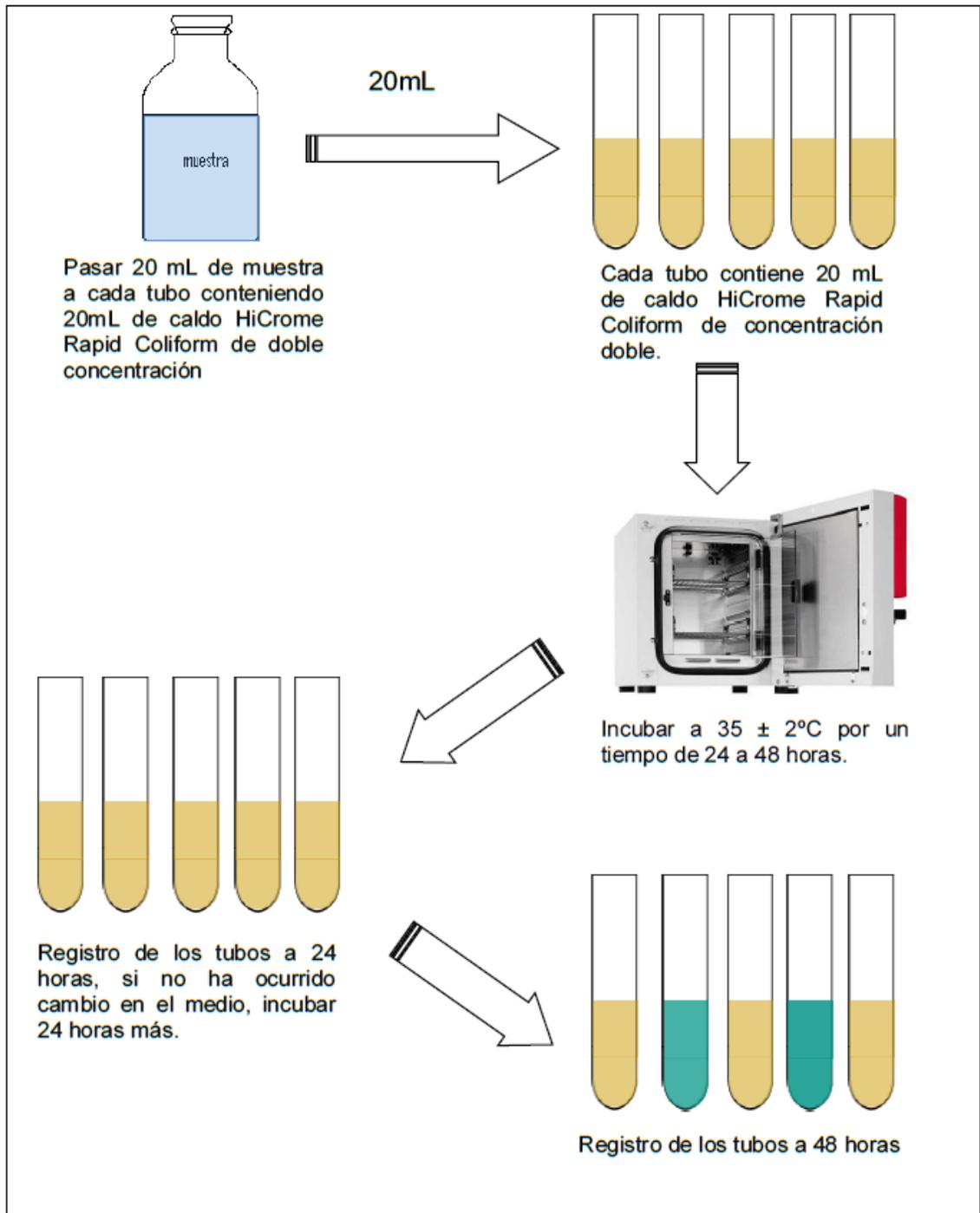


Figura N°23: Cuantificación de Coliformes Totales

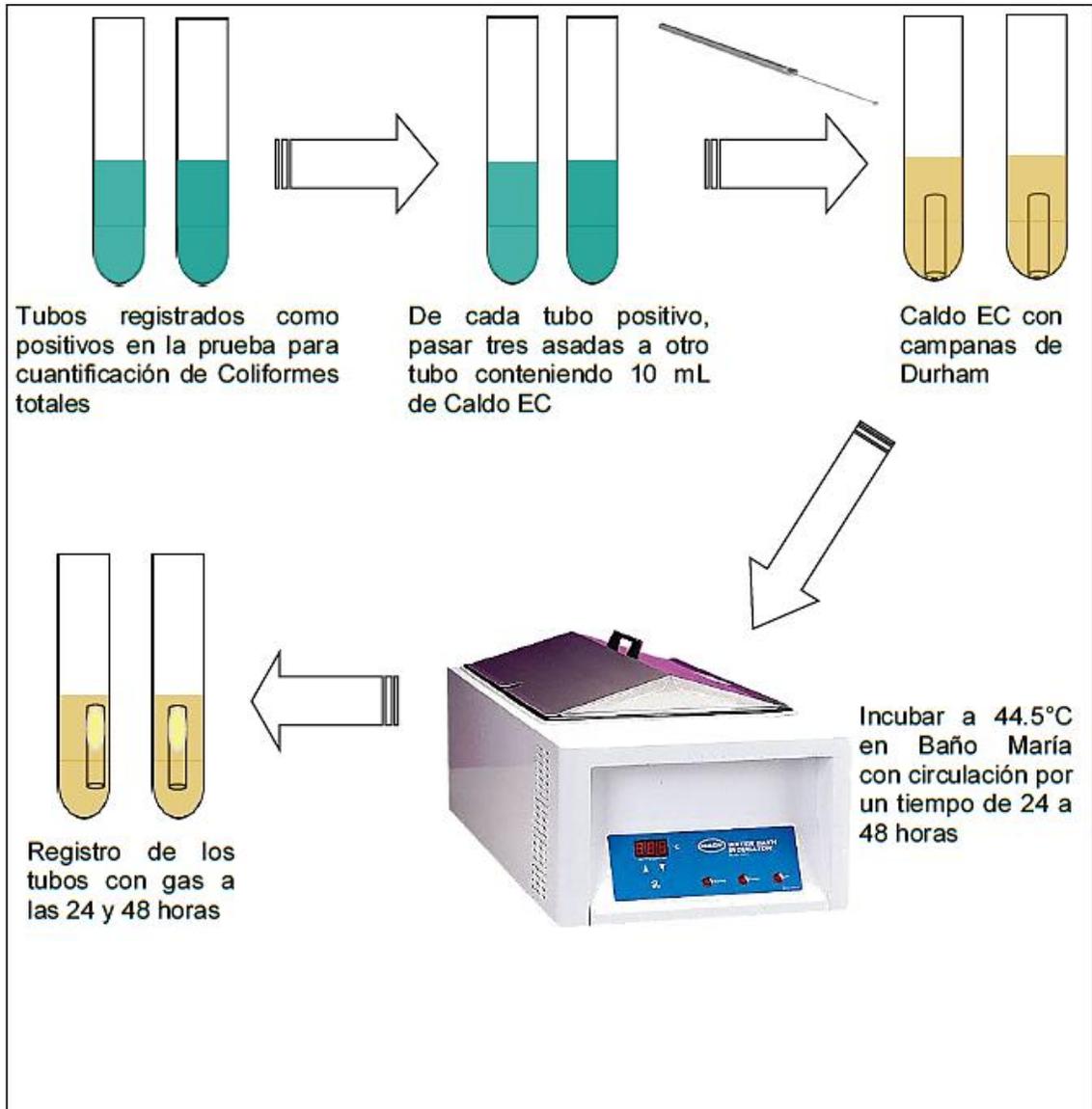


Figura N°24: Cuantificación de Coliformes Fecales

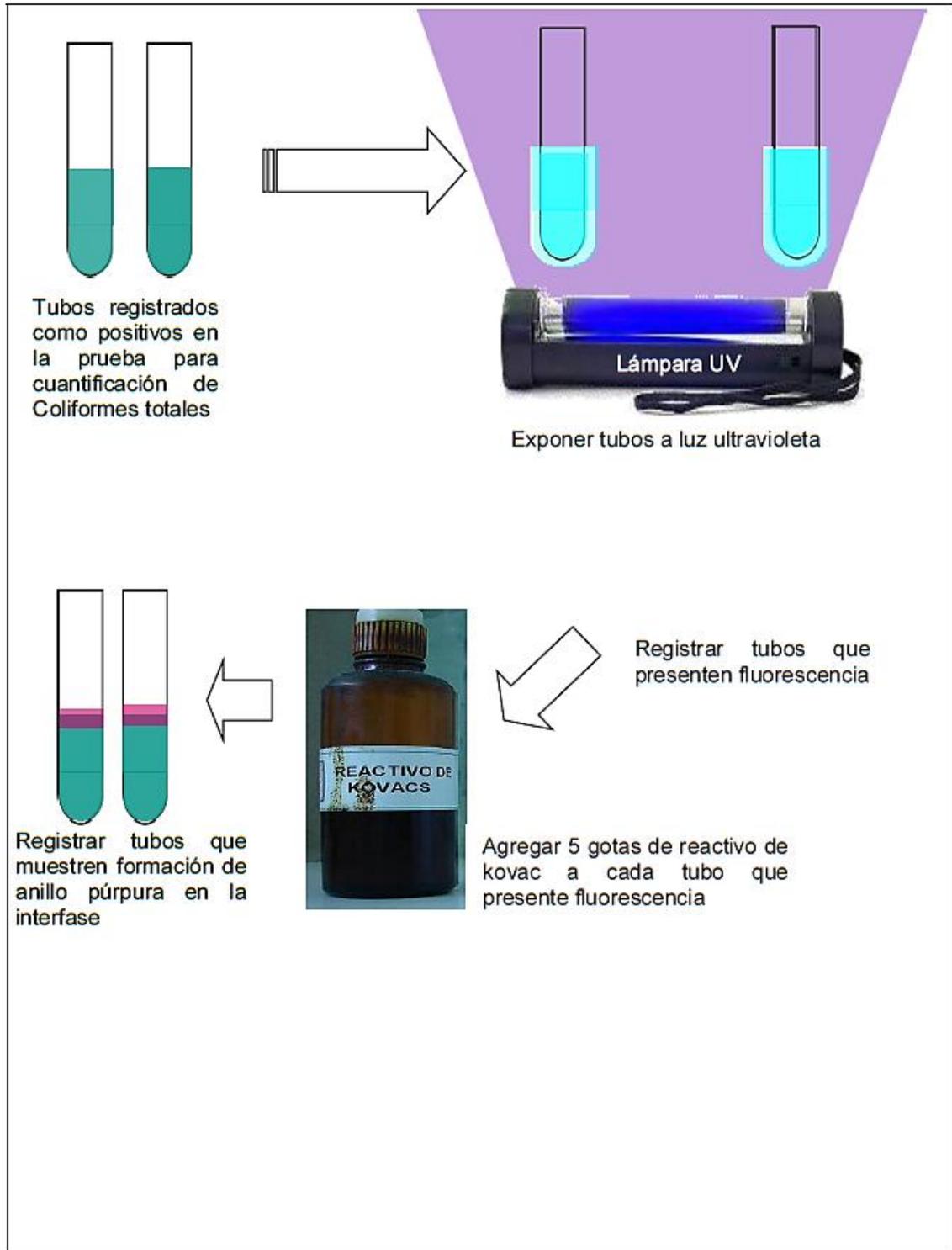


Figura N°25: Cuantificación de *Escherichia coli*

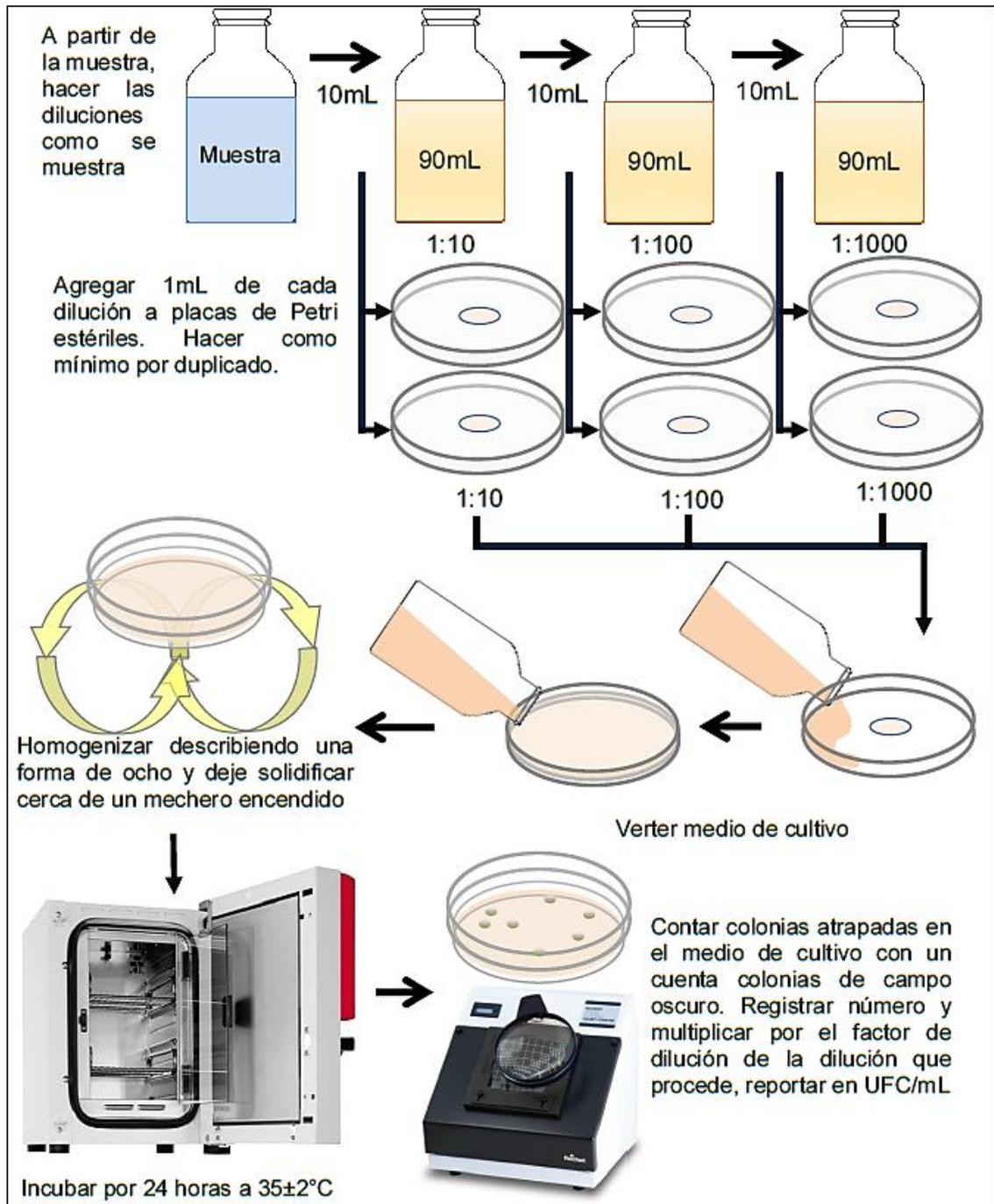


Figura N°26: Conteo Total de Bacterias Heterótrofas

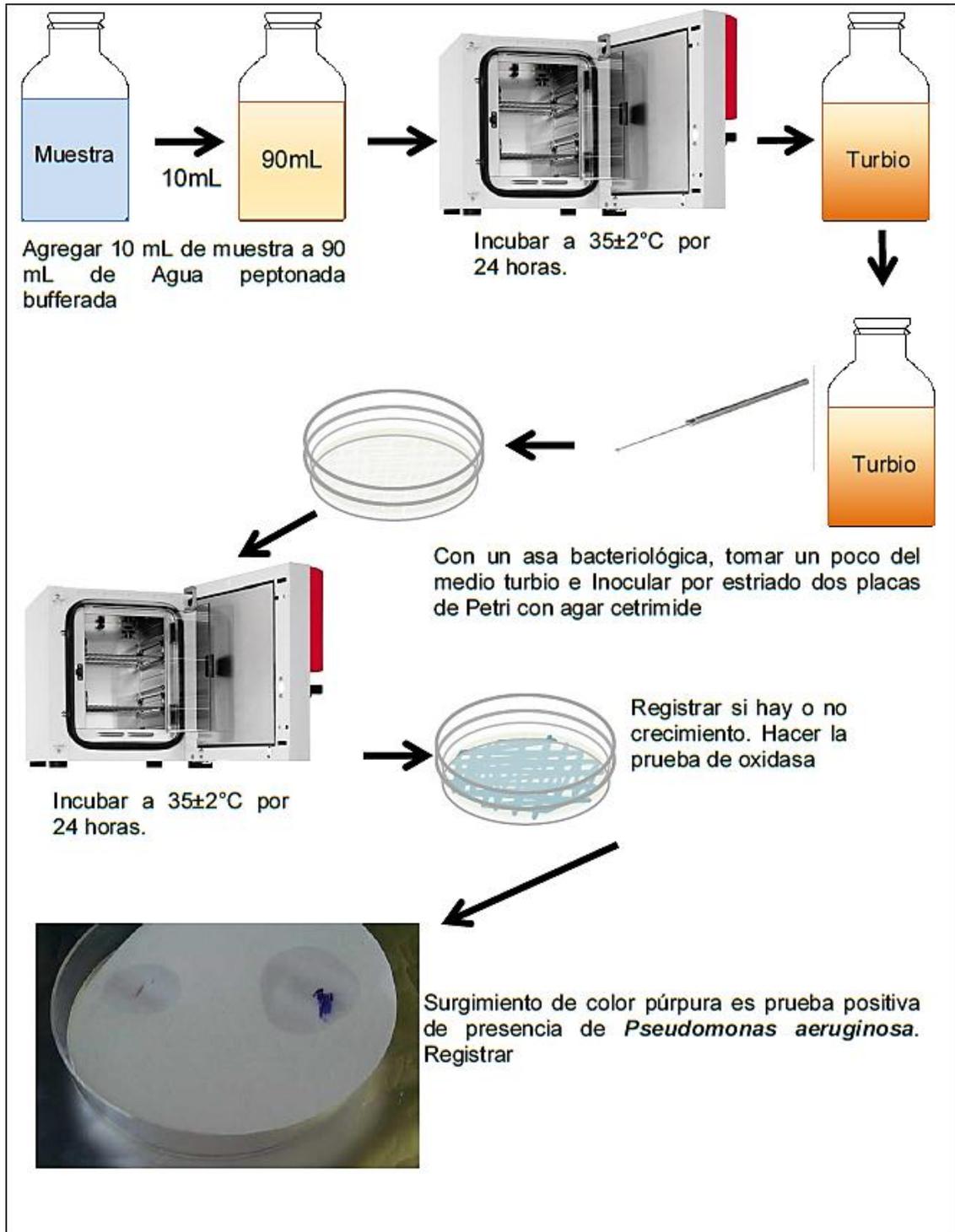


Figura N°27: Determinación de presencia de *Pseudomonas aeruginosa*

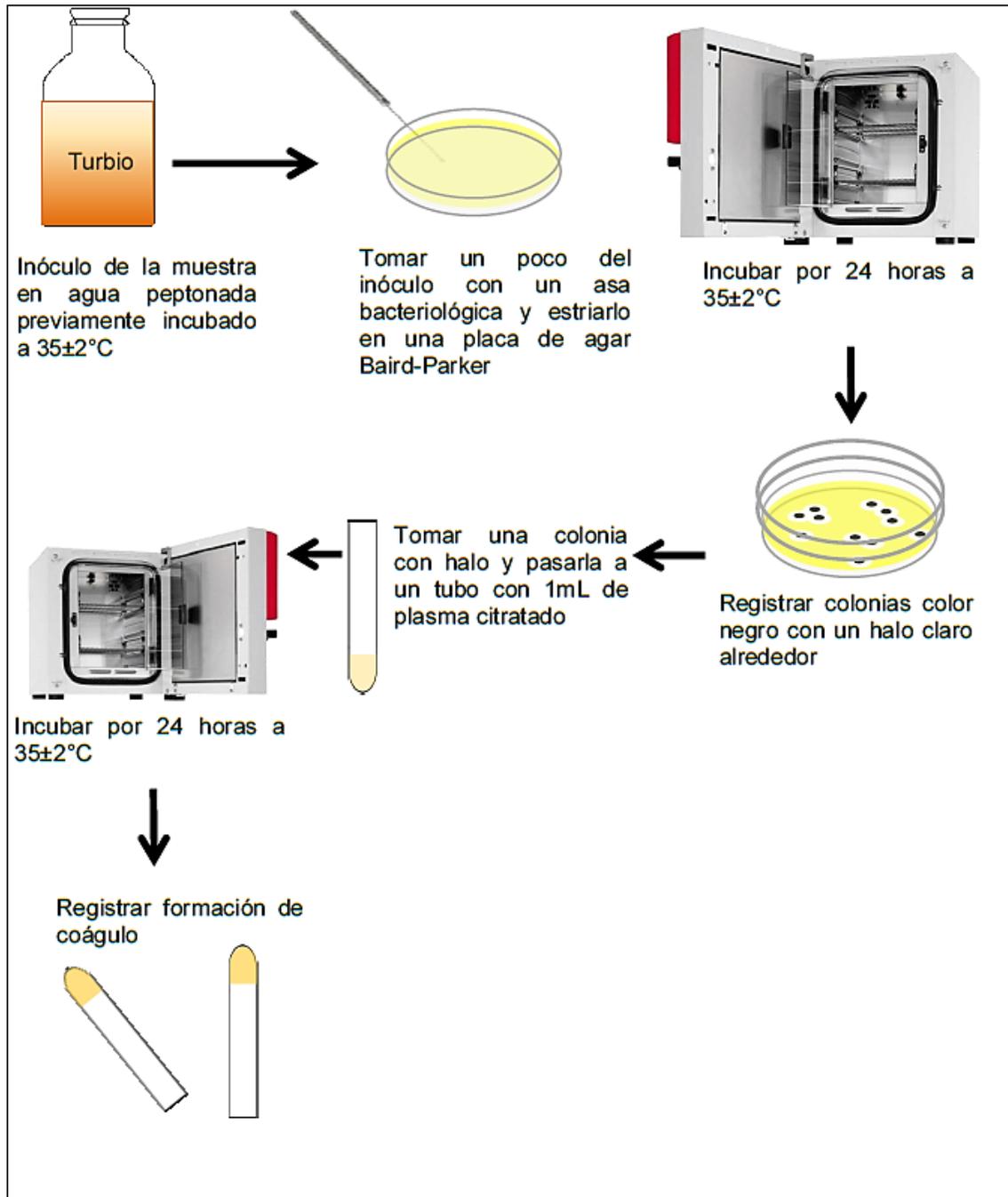


Figura N°28: Determinación de presencia de *Staphylococcus aureus*

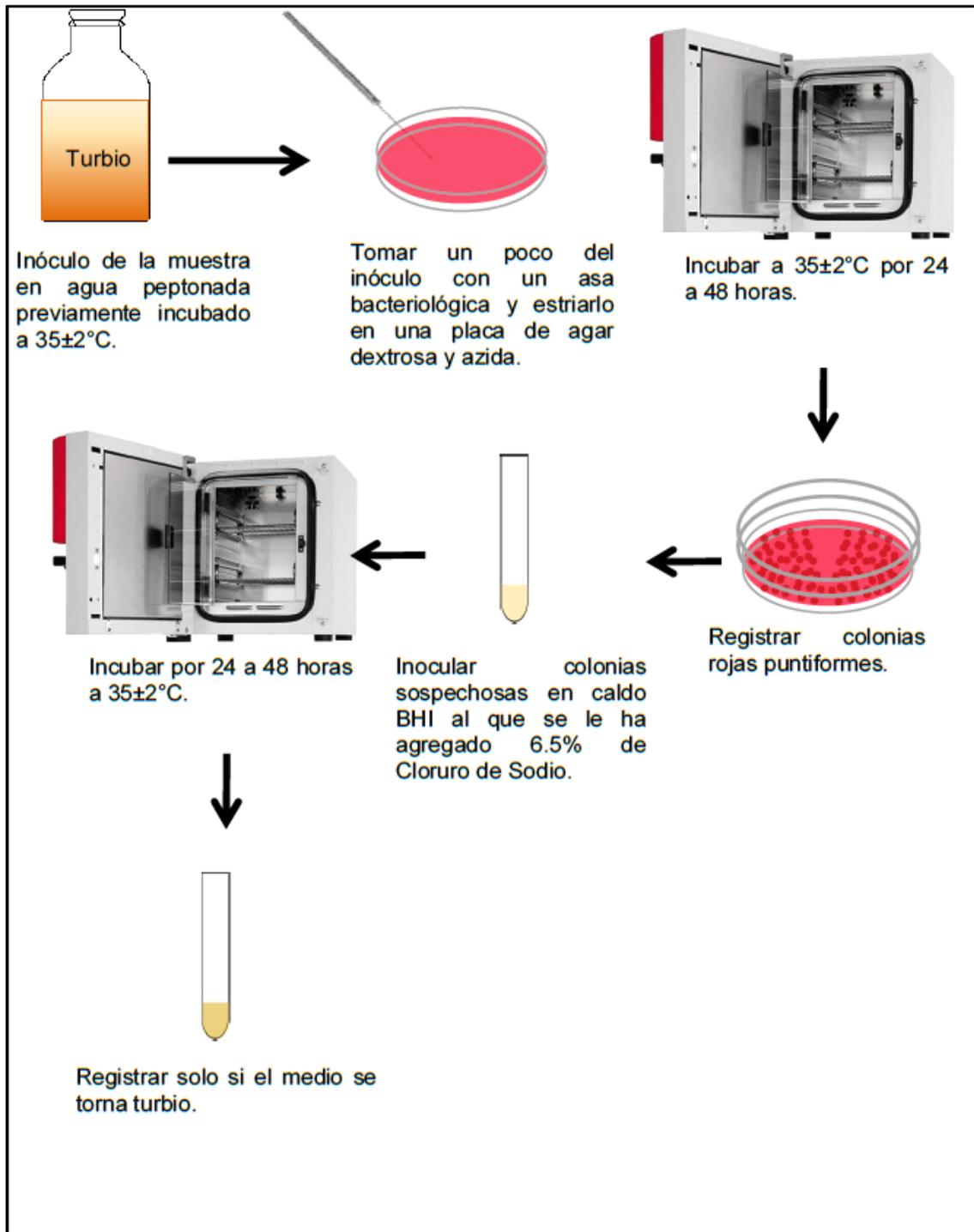


Figura N°29: Determinación de presencia de *Enterococcus faecalis*

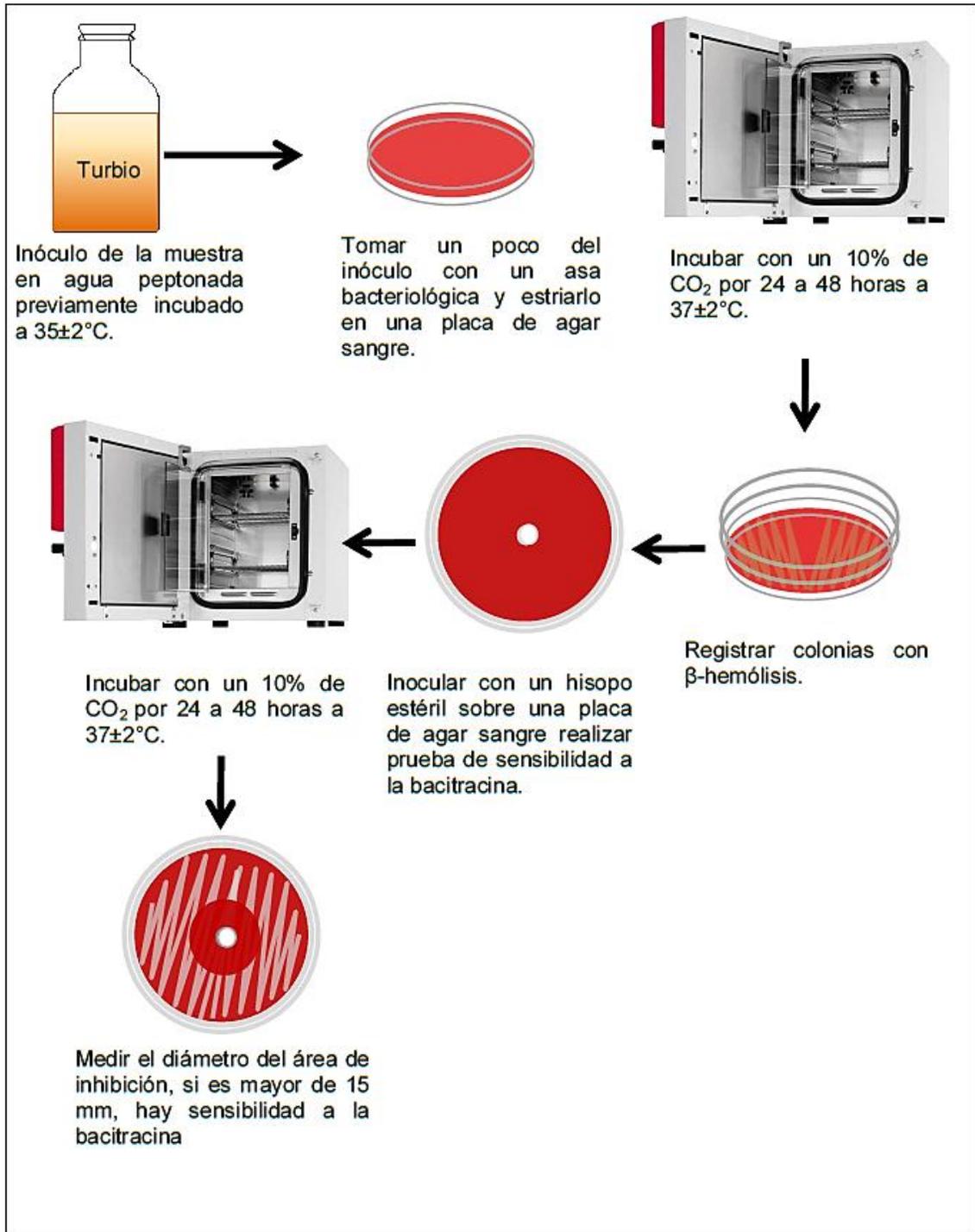


Figura N°30: Determinación de presencia de *Streptococcus pyogenes*

ANEXO N° 9
INFORMACION SOBRE CALDO HICROME RAPID COLIFORM ⁽¹⁴⁾

51489 HiCrome™ Rapid Coliform Broth (Rapid Coliform HiCrome™ Broth, Coliform Rapid HiCrome™ Broth)

Rapid HiColiform Broth is used for detection and conformation of *Escherichia coli* and coliforms on the basics of enzyme substrate reaction from water samples, using a combination of chromogenic and fluorogenic substrate.

Composition:

Ingredients	Grams/Litre
Peptone, special	5.0
Sodium chloride	5.0
Sorbitol	1.0
Dipotassium hydrogen phosphate	2.7
Potassium dihydrogen phosphate	2.0
Sodium lauryl sulphate	0.1
Chromogenic substrate (X-Gal)	0.08
Fluorogenic substrate (MUG)	0.05
IPTG	0.1
Final pH (at 25 °C) 6.8 +/- 0.3	

Store prepared media below 4 °C, protected from direct light. Store dehydrated powder in a dry place in tightly-sealed containers at 4 °C.

Directions:

Suspend 16.0 grams (single strength) or 32.0 grams (double strength) in 1000 ml distilled water. Boil to dissolve the medium completely. Dispense as desired and sterilize by autoclaving at 1 bar pressure (121 °C) for 15 minutes.

Principle and Interpretation:

The HiCrome Rapid Coliform Broth is a modification of LMX Broth described by Manafia and Kneifel [2]. The HiCrome Rapid Coliform is used for the simultaneous detection of total coliforms and *E. coli*.

Special peptone which is rich in tryptophan content, provides essential growth nutrients and is useful for the simultaneous detection of indole production. Sorbitol provides the carbon source. The phosphate salts provide buffering action for rapid growth of coliforms. Sodium lauryl sulphate makes the media selective by inhibiting accompanying microflora, especially the gram-positive organisms. The fluorogenic substrate (MUG), is split by enzyme β -D-glucuronidase, which is specially found in *E. coli*. The reaction is indicated by a blue fluorescence under UV light. The presence of total coliforms is indicated by a blue green color of the broth due to cleavage of chromogenic substrate (X-Gal). IPTG amplifies enzyme synthesis and increases the activity of β -D-galactosidase. To confirm presence of *E. coli*, by indole reaction overlay the medium with Kovac's reagent (Fluka 67309). The layers turns red within 2 minutes in case of positive reaction.

Cultural characteristics after 18-24 hours at 35 °C.

Organisms (ATCC)	Color Change	Fluorescence	Indole reaction	Recovery
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	blue-green	-	-	+++
<i>Escherichia coli</i> (25922)	blue-green	+	+	+++

References:

1. G. Hahn, E. Wittrock, Acta Microbiologica Hungarica, 38(3-4), 265-271 (1991)
2. M. Manafi, W. Kneifel, Zbl. Hygiene and Umweltmedizin, 189, 225-234 (1989)
3. M. Manafi, Forum Stadte-Hygiene, 41, 181-184 (1990)
4. M. Manafi, Ernährung /Nutrition, 15, Nr. 10 (1991)
5. M. Manafi, W. Kneifel, Acta Microbiologica Hungarica, 33(3-4), 293-304(1991)
6. M. Manafi, W. Kneifel, S., Bason, Microbiol. Rev. 55, 335-348 (1991)

ANEXO N° 10
INFORMACION SOBRE CALDO EC ⁽⁷⁾

EC Broth

For the selective identification of coliform bacteria and *Escherichia coli* in water, foodstuffs and other materials according to HAJNA and PERRY (1943).

AOAC
APHA
BAM
CCAM
EPA
ISO

Mode of Action

The lactose content of this medium favours the growth of lactose-positive bacteria, especially of coliform bacteria and *E. coli*. The bile salts, however, largely inhibit the growth of Gram-positive bacteria or microorganisms which are not adapted to the intestinal environment. Lactose-positive bacteria metabolize lactose with gas formation.

Typical Composition (g/litre)

Peptone from casein 20.0; lactose 5.0; bile salt mixture 1.5; sodium chloride 5.0; di-potassium hydrogen phosphate 4.0; potassium dihydrogen phosphate 1.5.

Preparation

Suspend 37 g or 74 g/litre, fill into test tubes fitted with DURHAM tubes, autoclave (15 min at 121 °C). pH: 6.9 ± 0.2 at 25 °C.

The prepared broth is clear and yellowish-brown.

Experimental Procedure and Evaluation

Small aliquots (approx. 1 ml) of the sample material are added to the normal-strength broth, large quantities should be mixed with double-strength broth in order to maintain the normal concentration of the broth.

Incubation: 24-48 hours at 44.5 °C aerobically.

Gas formation at 44.5 °C: *Escherichia coli*, possibly also other coliform bacteria

Quality control

Test strains	Growth at 44.5 °C	Gas formation at 44.5 °C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	good	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	good	+
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	none / fair	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	none / fair	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	none / fair	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	none / fair	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	none / poor	-
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 10543	none / poor	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	none / poor	-

ANEXO N° 11
INFORMACION SOBRE AGUA PEPTONADA BUFFERADA ⁽⁷⁾

Buffered Peptone Water (BPW)

For the preliminary, non-selective enrichment of bacteria, particularly pathogenic Enterobacteriaceae, from foodstuffs and other materials.

ISO

This culture media complies with the recommendations of the International Standard Organisation ISO (ISO 6579-2002). Horizontal method for the detection of salmonella spp.

Mode of Action

The broth is rich in nutrients and produces high resuscitation rates for sublethally injured bacteria and intense growth. The phosphate buffer system prevents bacterial damage due to changes in the pH of the medium.

Typical Composition (g/litre)

Peptone from casein 10.0; sodium chloride 5.0; disodium hydrogen phosphate dodecahydrate 9.0; potassium dihydrogen phosphate 1.5.

Preparation

Suspend 25.5 g/l, if desired, dispense into suitable containers, autoclave (15 min at 121 °C).

pH: 7.0 ± 0.2 at 25 °C.

The prepared broth is clear and yellowish.

Experimental Procedure and Evaluation

Inoculate the culture medium with the sample material.

Incubation: 16 - 20 hours at 37 °C aerobically.

Transfer material from the resulting culture to a selective enrichment culture medium recommended by the appropriate standard.

Quality control

Test strains	Growth
Salmonella typhimurium ATCC 14028	good / very good
Escherichia coli ATCC 25922	good / very good
Enterococcus faecalis ATCC 33186	good / very good
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	good / very good
Salmonella enteritidis ATCC 13076	good / very good

ANEXO N° 12
INFORMACION SOBRE AGAR PLATE COUNT ⁽⁷⁾

Plate Count Agar (Casein-peptone Dextrose Yeast Agar)

This medium does not contain any inhibitors or indicators; it is mainly used to determine the total microbial content in milk, dairy products, water and other materials.

The composition of this medium complies with the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998) and the Standard Methods for the Examination of Dairy Products (1985).

AOAC
BAM
COMPF
EPA
ISO
SMD
SMWW

Typical Composition (g/litre)

Peptone from casein 5.0; yeast extract 2.5; D(+)glucose 1.0; agar-agar 14.0.

Preparation

Suspend 22.5 g/litre, autoclave (15 min at 121 °C). If desired, add 1.0 g skim milk powder/litre prior to sterilization.

pH: 7.0 ± 0.2 at 25 °C.

The plates are clear and yellowish.

Experimental Procedure and Evaluation

Depend on the purpose for which the medium is used.

Incubation: 48 h at 30 °C aerobically.

Quality control (spiral plating method)



Bacillus cereus ATCC 11778

Test strains	Inoculum (cfu/ml)	Recovery rate
Staphylococcus aureus ATCC 6538	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Streptococcus agalactiae ATCC 13813	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Lactococcus lactis spp. lactis ATCC 19435	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Listeria monocytogenes ATCC 19118	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Bacillus cereus ATCC 11778	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %
Escherichia coli ATCC 11775	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 %

ANEXO N° 13
INFORMACION SOBRE AGAR CETRIMIDE ⁽⁷⁾

Pseudomonas Selective Agar, Base (Cetrimide Agar)

A modification of the medium proposed by BROWN and LOWBURY (1965) for the isolation and differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from various materials.

This culture medium complies with the recommendations of the United States Pharmacopeia XXVI (2003) and the European Pharmacopeia II and is equivalent to the medium specified in the DIN Norm 38411.

AOAC
BAM
EP
USP

Mode of Action

The use of cetrimide (cetyltrimethylammonium bromide) was recommended by LOWBURY (1951) and other authors; this compound largely inhibits the growth of the accompanying microbial flora. According to LOWBURY and COLLINS (1955), a concentration of 0.3 g/litre inhibits the accompanying organisms satisfactorily and minimizes interference with the growth of *Ps. aeruginosa*. The pigment production of *Ps. aeruginosa* is not inhibited when grown on this medium.

GOTO and ENOMOTO (1970) recommend the addition of 15 µg nalidixic acid/ml to improve the inhibition of the accompanying microbial flora.

Typical Composition (g/litre)

Peptone from gelatin 20.0; magnesium chloride 1.4; potassium sulfate 10.0; N-cetyl-N,N,N-trimethylammoniumbromide (cetrimide) 0.3; agar-agar 13.0.

Also be added:

Glycerol 10 ml.

Preparation

Suspend 44.5 g/litre, add 10 ml glycerol/litre, autoclave (15 min at 121 °C). Pour plates.

pH: 7.0 ± 0.2 at 25 °C.

The plates are turbid and light brown.

Experimental Procedure and Evaluation

Inoculate by spreading the sample on the surface of the plates.

Incubation: up to 48 hours at 35 °C aerobically.

Ps. aeruginosa colonies produce a yellow-green pigment (pyocyanin) and fluoresce under UV light. Further tests should be performed for further identification (HUGH and LEIFSON 1953, KOVACS 1956, THORNLEY 1960, BÜHLMANN et al. 1961 etc).



**Pseudomonas aeruginosa
ATCC 9027**

Quality control (spiral plating method)

Test strains	Inoculum (cfu/ml)	Recovery rate %	Yellow-green pigment
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	10^3 - 10^5	≥ 30	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 25668	10^3 - 10^5	≥ 30	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	10^3 - 10^5	≥ 30	+
Escherichia coli ATCC 8739	$> 10^5$	≤ 0.01	-
Proteus mirabilis ATCC 29906	$> 10^5$	≤ 0.01	-
Salmonella typhimurium ATCC 14028	$> 10^5$	≤ 0.01	-
Staphylococcus aureus ATCC 6538	$> 10^5$	≤ 0.01	-

ANEXO N° 14
INFORMACION SOBRE AGAR BAIRD PARKER ⁽⁷⁾

BAIRD-PARKER Agar
(Staphylococcus Selective Agar Base acc. to BAIRD-PARKER)

For the isolation and enumeration of Staphylococcus aureus in foods and pharmaceutical materials according to BAIRD-PARKER (1962).

This culture medium complies with the recommendations of the United States Pharmacopeia XXVI (2003), the European Pharmacopeia II, the International Organization for Standardization (ISO) (1977, 1984), the International Dairy Federation (Internationaler Milchwirtschaftsverband) (1978) and the DIN Norms 10163 and 10178.

AOAC	BAM
CCAM	COMPF
EP	ISO
SMD	SMWW
USP	

Typical Composition (g/litre)

Peptone from casein 10.0; meat extract 5.0; yeast extract 1.0; sodium pyruvate 10.0; glycine 12.0; lithium chloride 5.0; agar-agar 15.0.

Also to be added:

Egg-yolk tellurite emulsion 50 ml; if required, sulphamethazine 0.05 g/l.

Preparation

Suspend 58 g in 0.95 litre, autoclave (15 min at 121 °C). Cool to 45-50 °C, mix in 50 ml Egg-yolk Tellurite Emulsion and, if required, 50 mg sulfamethazine/litre. Pour plates.

pH: 6.8 ± 0.2 at 25 °C.

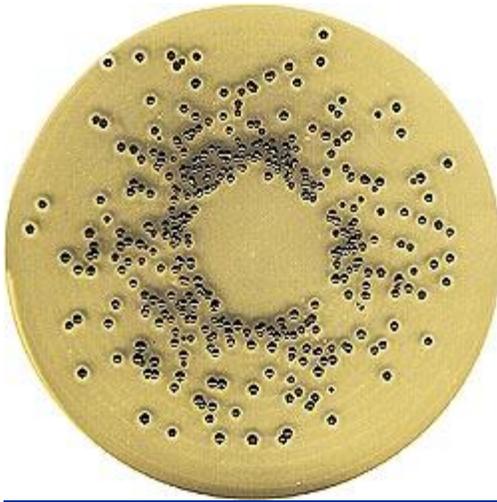
The plates are opalescent and yellowish-brown in colour.

The ready-to-use culture medium can be stored in the refrigerator (approx. 4 °C) for up to 1 month.

Experimental Procedure and Evaluation

Dilute the sample material and spread thinly on the surface of the culture medium. Incubation: 24-48 hours at 35 °C aerobically.

Appearance of Colonies	Microorganisms
Black, shiny, convex colonies 1-5 mm in diameter with a narrow, white edge surrounded by a clear zone 2-5 mm wide. Opaque rings within the clear zones only appear after 48 hours of incubation	Staphylococcus aureus
Black, shiny, irregular shape. Opaque zone develop around the colonies after 24 hours.	Staphylococcus epidermis
Growth sometimes: Very small, brown to black, nor clear zones.	Micrococci
Dark brown, dull, clear zones sometimes appear after 48 hours.	Bacillus species
White, no clear zones	Yeasts



Staphylococcus aureus
ATCC 25923

Quality control (spiral plating method)

Test strains	Inoculum (cfu/ml)	Recovery rate (%)	Black colonies	Clear zones round the colonies
Staphylococcus aureus ATCC 25923	10^3 - 10^5	≥ 70	+	+
Staphylococcus aureus ATCC 6538	10^3 - 10^5	≥ 70	+	+
Staphylococcus epidermidis NCTC 11047	10^3 - 10^5	Not limited!	+ / -	-
Enterococcus hirae ATCC 8043	10^3 - 10^5	Not limited!	+ / -	-
Bacillus subtilis ATCC 6051	$> 10^5$	≤ 0.01		
Escherichia coli ATCC 8739	$> 10^5$	≤ 0.01		
Proteus mirabilis ATCC 29906	10^3 - 10^5	Not limited!	brown-black	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	$> 10^5$	≤ 0.01		
Salmonella typhimurium ATCC 14028	$> 10^5$	≤ 0.01		

ANEXO N° 15
INFORMACIÓN SOBRE AGAR SANGRE ⁽⁷⁾

Blood Agar Base

For preparing blood plates and boiled blood (chocolate) plates used for the isolation and cultivation of various fastidious microorganisms, especially of pathogenic species, and for establishing their forms of haemolysis.

This culture medium can be used without blood e.g. for setting up blood cultures (UPDYKE 1970) and as a base for preparing special culture media

The medium complies with the recommendations of APHA (1992) for the examination of foodstuffs.

Principle

Microbiological method

Mode of Action

This culture medium represents a rich nutrient base, which provides optimal growth conditions for all relevant microorganisms. The pH value of 6.8 stabilizes the red blood corpuscles and favours the formation of clear haemolysis zones (NORTON 1932). Fresh, defibrinated sheep blood is most suitable for determining haemolysis forms. Boiled blood agar ("chocolate agar") is an extremely rich culture medium and can be prepared by heating after the blood has been added.

If the culture medium base is to be used without blood, the pH should, however, be adjusted to 7.2 to 7.4 since most bacterial colonies appear somewhat earlier and grow better in a slightly alkaline medium.

TARSHIS and FRISH (1951) recommended addition of 1 % glycerol and 25 % human blood when isolating tubercle bacilli from sputum, since recognizable mycobacteria colonies grow from even minimal amounts of sample material.

HOSTY et al. (1953) reported, however, that 0.1 % glycerol and 2.5 % human blood together with 100 IU/mol of penicillin as a selective agent are sufficient. According to SONDAG et al. (1977) and BLACK a. VAN BUSKIRK (1973), addition of 5 mg/l gentamicin (e.g. 0.1 ml gentamicin solution) to blood agar permits selective cultivation of *Streptococcus pneumoniae* and other *Streptococci* as well as bacterioides, *Clostridium* and yeasts. For the selective cultivation of *Aeromonas* MISHRA et al. (1987) recommend an ampicillin sheep blood agar (ASBA 30).

Typical Composition (g/litre)

Nutrient substrate (heart extract and peptones) 20.0; sodium chloride 5.0; agar-agar 15.0.

Also to be added:

Blood 50-80 ml.

Preparation and Storage

Usable up to the expiry date when stored dry and tightly closed at +15 to +25 °C. Protect from light. After first opening of the bottle the content can be used up to the expiry date when stored dry and tightly closed at +15 to +25 °C.

Suspend 40 g/litre, autoclave (15 min at 121 °C), cool to 45-50 °C, add 5-8 % defibrinated blood, mix.

pH: 6.8 ± 0.2 at 25 °C.

Before adding blood, the prepared medium is clear and yellowish-brown, then blood coloured and not haemolytic.

Poured blood plates can be stored for a maximum of 3 months in the refrigerator. Preparation of boiled blood agar: after adding the blood, heat the culture medium for about 10 minutes at approx. 80 °C with frequent swirling until it turns brownish (chocolate colour).

Specimen

e.g. Secretions of respiratory tract, sputum. Clinical specimen collection, handling and processing, see general instructions of use.

Experimental Procedure and Evaluation

Inoculate the surface of the plates.

Incubation: under optimal conditions usually 24 hours at 35 °C aerobically (Cl. perfringens anaerobically).

Check the plates for kind of hemolysis.

Quality control

Test strains	Inoculum(cfu/ml)	Recovery rate (%)	Hemolysis	Bacitracin test
Staphylococcus aureus ATCC 25923	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	β	
Streptococcus pyogenes ATCC 12344	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	β	+
Streptococcus agalactiae ATCC 13813	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	-	
Streptococcus pneumoniae ATCC 6301	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	α	-
Listeria monocytogenes ATCC 19118	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	-	
Bacillus cereus ATCC 11778	10 ³ -10 ⁵	≥ 70	β	
Clostridium perfringens ATCC 13124	10 ³ -10 ⁵	≥ 70 (anaerobic incubation)	β	

See also *General Instruction of Use*
Warnings and precautions see [ChemDAT®](#)

ANEXO N° 16
PREPARACION DE AGAR DEXTROSA AZIDA SEGUN APHA ⁽²⁾

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

Peptone	10.0 g
Sodium chloride, NaCl	15.0 g
Yeast extract	30.0 g
Esculin	1.0 g
Actidione (cycloheximide)	0.05 g
Sodium azide, NaN_3	0.15 g
Agar	15.0 g
Reagent-grade water	1 L

Heat to dissolve ingredients, sterilize, and cool in a water bath at 44 to 46°C. Mix 0.25 g nalidixic acid in 5 mL reagent-grade water, add a few drops of 0.1N NaOH to dissolve the antibiotic, and add to the basal medium. Add 0.15 g 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride and mix well to dissolve. Pour the agar into 9- × 50-mm petri dishes to a depth of 4 to 5 mm (approximately 4 to 6 mL), and let solidify. The final pH should be 7.1 ± 0.2 . Store poured plates in the dark at 2 to 10°C. Discard after 30 d. (NOTE: This medium is recommended for culturing enterococci in fresh and marine recreational waters.)

*b. EIA substrate:*¹

Esculin	1.0 g
Ferric citrate	0.5 g
Agar	15.0 g
Reagent-grade water	1 L

The pH should be 7.1 ± 0.2 before autoclaving. Heat to dissolve ingredients, sterilize, and cool in a water bath at 44 to 46°. Pour medium into 50-mm petri dishes to a depth of 4 to 5 mm (approximately 4 to 6 mL) and let solidify. Store poured plates in the dark at 2 to 10°C. Discard after 30 d.

*c. m Enterococcus agar for fecal streptococci:*²

Tryptose	20.0 g
Yeast extract	5.0 g
Glucose	2.0 g
Dipotassium phosphate, K_2HPO_4	4.0 g
Sodium azide, NaN_3	0.4 g
2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride	0.1 g
Agar	10.0 g
Reagent-grade water	1 L

Heat to dissolve ingredients. Do not autoclave. Dispense into 9- × 50-mm petri plates to a depth of 4 to 5 mm (approximately 4 to 6 mL), and let solidify. Prepare fresh medium for each set of samples. (NOTE: This medium is recommended for Group D streptococci in fresh and marine waters.)

ANEXO N° 17
INFORMACIÓN SOBRE AGAR DEXTROSA AZIDA ⁽⁷⁾

Membrane-filter Enterococcus Selective Agar acc. to SLANETZ and BARTLEY

For the enumeration of enterococci in water and other liquids by the membrane filtration technique according to SLANETZ und BARTLEY (1957).

SMWW

Mode of Action

The growth of the entire accompanying Gram-negative microbial flora is inhibited by sodium azide. Enterococci reduce TTC to give a red formazan, their colonies are thus red in colour. According to LACHICA and HARTMAN (1968), the selectivity for enterococci can be improved by adding carbonate and Tween 80[®].

Typical Composition (g/litre)

Tryptose 20.0; yeast extract 5.0; D(+)glucose 2.0; di-potassium hydrogen phosphate 4.0; sodium azide 0.4; 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride 0.1; agar-agar 10.0.

Preparation

Suspend 41.5 g/litre, sterilize by heating for 20 minutes in a current of steam (e.g. autoclave without excess pressure). Afterwards cool rapidly!

Do not autoclave.

pH: 7.2 ± 0.2 at 25 °C.

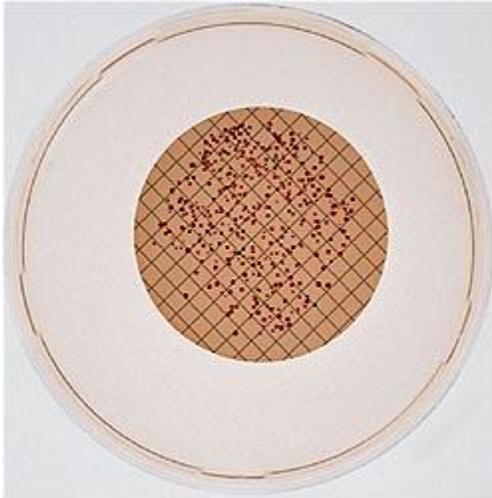
The plates are clear and yellowish-brown. A reddish colour with Cat. No. 1.05262.500 might occur.

Experimental Procedure and Evaluation

Place the inoculated membrane filters on the surface of the plates.

Incubation: up to 48 hours at 35 °C aerobically.

Pink to brown colonies with a diameter of 0.5 to 2 mm are usually enterococci.



Enterococcus faecalis ATCC 19433
red/maroon/pink colored colonies
m-Enterococcus Selective Agar acc.
to SLANETZ and BARTLEY

Quality control

Test strains	Growth	Red colonies
Streptococcus pyogenes ATCC 12344	poor / fair	-
Streptococcus agalactiae ATCC 13813	poor / fair	-
Enterococcus faecalis ATCC 11700	≥ 50 %	+
Enterococcus faecalis ATCC 19433	≥ 50 %	+
Enterococcus hirae ATCC 8043	≥ 50 %	+ (poor)
Staphylococcus aureus ATCC 25923	none	
Escherichia coli ATCC 25922	none	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	none	

Last update 2005-04-20 00:18:57, © Merck KGaA, Darmstadt, Germany

ANEXO N° 18
INFORMACIÓN SOBRE CALDO INFUSION CEREBRO CORAZON ⁽⁷⁾

Brain Heart Broth

Mode of Action

These culture media are based on the principle of the ROSENOW broth containing small pieces of brain tissue (ROSENOW 1919) and can be used to cultivate many fastidious bacteria such as streptococci, pneumococci, meningococci, etc. Addition of ascites permits the cultivation of gonococci.



Brain heart broth is especially suited for the cultivation of staphylococci for the plasma coagulase test and for setting up blood cultures. The growth of anaerobic or microaerophilic bacteria is considerably improved by adding small quantities of agar-agar (approx. 0.05-0.2 %) to the broth.

QUEIROZ et I. (1987) developed a selective agar for cultivating *Campylobacter pylori* on the basis of brain heart agar. It is called Belo Horizonte Medium /BHM).

Typical Composition (g/litre)

Nutrient substrate (brain extract, heart extract and peptones) 27.5; D(+)glucose 2.0; sodium chloride 5.0; di-sodium hydrogen phosphate 2.5.

Preparation

Suspend 37 g Brain Heart Broth/litre, autoclave (15 min at 121 °C).

pH: 7.4 ± 0.2 at 25 °C.

The broth is clear and brown.

Experimental Procedure and Evaluation

Depend on the purpose for which the media are used.

Quality control

Test strains	Incubation	Conditions	Growth
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	24 h/35 °C	aerobic / anaerobic	good / very good
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	24 h/35 °C	aerobic / anaerobic	good / very good
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	24 h/35 °C	aerobic	good / very good
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	48 h/35 °C	aerobic	good / very good
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	2-5 d/35 °C	anaerobic	good / very good
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	2-5 d/35 °C	microaerophilic	good / very good
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24 h / 35 °C	aerobic	good / very good

ANEXO N° 19
VISITA DE CAMPO



Figura N°31: Encargado arrastra residuos de cloro y otras partículas depositadas en el fondo para su posterior aspirado fuera de la piscina.



Figura N°32: Zanates (*Quiscalus mexicanus*) bañándose a la orilla de la piscina olímpica del Complejo deportivo de Ciudad Merliot.



Figura N°33: Zanates (*Quiscalus mexicanus*) bañándose a la orilla de la piscina infantil del Complejo deportivo de Ciudad Merliot.



Figura N°34: Hojas y suciedad al fondo de la piscina infantil del Complejo deportivo de Ciudad Merliot.

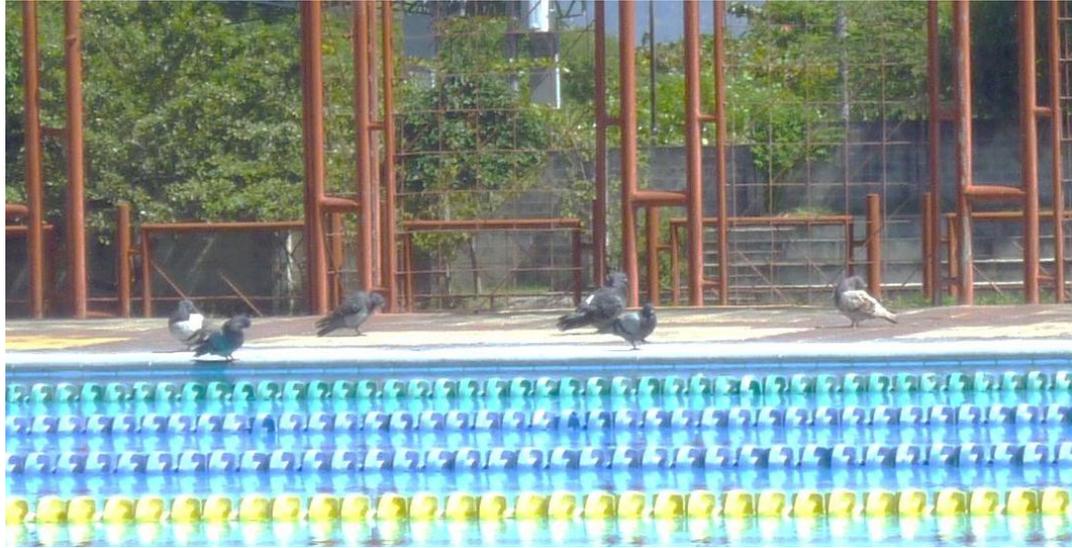


Figura N°35: Palomas (*Columba livia*) bañándose a orillas de la piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador.



Figura N°36: Película de suciedad acumulada en la superficie del agua de la orilla de la piscina olímpica del Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

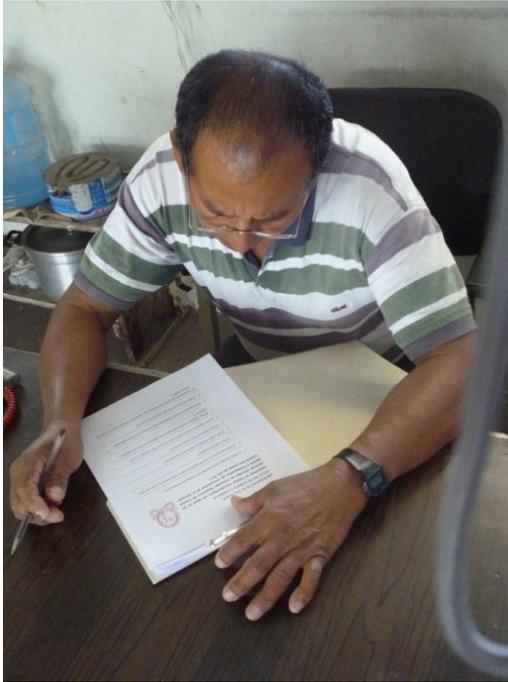


Figura N°37: Encargados de limpieza de las piscinas del Complejo deportivo de ciudad Merliot (arriba) y Polideportivo de la Universidad de El Salvador (abajo) respondiendo una serie de preguntas sobre el estado general de las piscinas a su cargo. Detalles del formato, ver anexo 3.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Determinar la Calidad microbiológica del agua de las piscinas ubicadas en Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y Polideportivo de Universidad de El Salvador durante tres meses del año 2011.



1. ¿Cuántas personas aproximadamente visitan las instalaciones?

Trecientas personas

2. ¿Cuántas personas son las encargadas de dar el mantenimiento a las piscinas?

3

3. ¿Cómo realiza la limpieza?

Mecanica

4. ¿Cada cuánto realizan la cloración de las piscinas?

Diario

5. ¿Llevan registros de los niveles de cloro?

Si

6. ¿Poseen algún Kit para revisar el nivel de cloro libre residual y el pH?

Si

7. ¿Poseen manuales de procedimientos para realizar el proceso de limpieza y cloración?

Si

8. ¿Tienen manera de evaluar si el tratamiento ha hecho los efectos esperados?

Si

9. ¿Cuáles son las horas de más afluencia de personas?

5 am A 8 am y de 3 pm A 8 pm

10. ¿Reportan los usuarios enfermedades que sospechan contrajeron por el uso de las instalaciones?

NO

Figura N°38: Encuesta respondida por el encargado encuestado del Centro Deportivo de Ciudad Merliot.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Determinar la Calidad microbiológica del agua de las piscinas ubicadas en Complejo Deportivo de Ciudad Merliot y Polideportivo de Universidad de El Salvador durante tres meses del año 2011.



1. ¿Cuántas personas aproximadamente visitan las instalaciones?
90 personas.
2. ¿Cuántas personas son las encargadas de dar el mantenimiento a las piscinas?
4.
3. ¿Cómo realiza la limpieza?
Aspirado y cepillado de fondo de piscina.
4. ¿Cada cuánto realizan la cloración de las piscinas?
Todos los días
5. ¿Llevan registros de los niveles de cloro?
SI
6. ¿Poseen algún Kit para revisar el nivel de cloro libre residual y el pH?
SI
7. ¿Poseen manuales de procedimientos para realizar el proceso de limpieza y cloración?
SI y además hemos sido capacitados por empresas que nos suministran químicos
8. ¿Tienen manera de evaluar si el tratamiento ha hecho los efectos esperados?
SI
9. ¿Cuáles son las horas de más afluencia de personas?
12 M - 2 - 5:30 pm.
10. ¿Reportan los usuarios enfermedades que sospechan contrajeron por el uso de las instalaciones?
NO

Figura N°39: Encuesta respondida por el encargado encuestado Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

FEDERACIÓN SALVADOREÑA DE NATACIÓN
Galonres: 800,000 Medidas 50 m. x 25m. x 1.73 m. / 25 m. x 20 m. x 1.70 m.

BITÁCORA DE CONTROL DE PISCINA

Fecha	6-06-2011	8-06-2011	9-06-2011	11-06-2011	12-06-2011
Día de la Semana	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
Horario de Mañana	9:05 am	8:50 am	8:10 am	9:00 am	8:15 am
Cloro Libre (ppm)	3.0/3.0	3.0/3.0	3.0/3.0	3.0/3.0	3.0/3.0
Cloro Total (ppm)					
Cloro Combinado					
PH	7.6/7.6	7.6/7.6	7.6/7.6	7.6/7.6	7.6/7.6
Total Alcalinidad (ppm)					
Total de dureza del agua					
Prueba del estabilizador					
Temperatura (Celsius)					

Fecha	07-06-2011					
Día de la Semana	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado
Dosificación						
Shock de cloro por Libra		Backwash	aplicación			
Estabilizador por libra		2 lbs piscina	algsicidad			
H minus por Libra			a los pes			
H Plus por libra			8-4 galones			
CLOR/TRICLORO POR LIBRA						

FEDERACION SALVADOREÑA DE NATACION
Galonres: 800,000 Medidas 50m.x 25m.x1.73m./25m.x20m.x1.70m

BITACORA DE CONTROL DE PISCINA

FECHA	14/11/2011	15/11/2011	16-01-2011	17-11-2011	18/11/11	19-11-2011	20/11/2011
Día de la Semana	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sabado	Domingo
Horario de Mañana	8:55 am	8:43 am	3.0/3.0	8:15 am	8:25 am	3.0/3.0	8:16 am
Cloro Libre (ppm)	3.0/3.0	3.0/3.0	3.0	3.0/3.0	3.0/3.0		3.0/3.0
Cloro Total (ppm)							
Cloro Combinado							
PH	7.4/7.4	7.4/7.4	7.6/7.6	7.6/7.6	7.4/7.4	7.4/7.4	7.4/7.4
Total Alcalinidad (ppm)							
Total de dureza del agua							
Prueba del estabilizador							
Temperatura (Celsius)							

FECHA	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sabado	Domingo
Dosificación					Backwash		
Shock de Cloro por Libra					Reactivo		
Estabilizador por libra					a la		
H minus por Libra					Piscinas		
H Plus por libra							
CLOR/TRICLORO POR LIBRA							

Figura N°40: Bitácora donde se registran lecturas de pH, Cloro Residual Libre y acciones aplicadas para el tratamiento y mantenimiento de las piscinas en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 COMPLEJO DEPORTIVO UNIVERSITARIO
 CONTROL DE MUESTRA DIARIO

REPORTE DIARIO DE LECTURA DE QUIMICOS						
FECHA	HORA	CLORO	PH	ALCALINIDAD	FIRMA	OBSERVACIONES
1-02-12	6am	1.7ppm				
1-02-12	5:30pm	1ppm	7.4			
2-02-12	10am	3ppm	7.3			
2-02-12	5pm	3ppm	7.6			
3/02/12	6:AM	2 PPM	7.6			
4/02/12	6 AM	1.5	7.3			
7/02/12	6 AM	2 PPM	7.5			
7/02/12	5 pm	2.5ppm	7.4			
8/02/12	5pm	2.5ppm	7.4			
7-02-2012	6: am	2: ppm	7.4			
7/02/12	3 pm	4 ppm	7.3			
9/02/12	6 pm	4 ppm	7.3			

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 COMPLEJO DEPORTIVO UNIVERSITARIO
 CONTROL DE MUESTRA DIARIO

REPORTE DIARIO DE LECTURA DE QUIMICOS						
FECHA	HORA	CLORO	PH	ALCALINIDAD	FIRMA	OBSERVACIONES
23/01/12	6 am.	3.00 ppm	7.6	110		
23/01/12	12 M.	2.5 ppm.	7.4	110		
23/01/12	5 pm.	3 ppm	7.5			
24/01/12	6 AM	3 ppm	7.6			
24/01/12	2 pm	2.5 ppm	7.5			
25/01/12	6: AM	2.5 ppm	7.4			
26/01/12	6: AM	4	7.4			
26/01/12	4 pm	3	7.4			
27/01/12	6 AM	4	7.4			
30/01/12	6 AM	3	7.7			
31/01/12	6 AM	2	7.5			

Figura N°41: Bitácora donde se registran lecturas de pH, Cloro Residual Libre y observaciones del personal respecto a la piscina en el Polideportivo de la Universidad de El Salvador.

ANEXO N° 20
TOMA DE MUESTRA



Figura N°42: Tipo de frasco utilizado para la toma de muestra con 1 mL tiosulfato de sodio al 10% , ya esterilizado y rotulado.

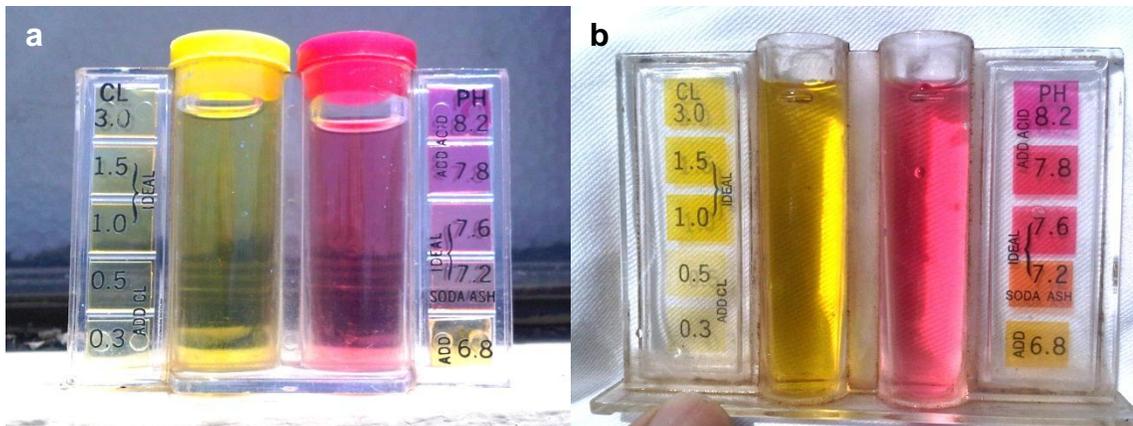


Figura N°43: Lectura de niveles de Cloro libre residual y pH, previa toma de muestra. a) kit utilizado en el Polideportivo de la Universidad de El Salvador y b) utilizado en el Complejo Deportivo de Ciudad Merliot.



Figura N°44: Ubicación en el punto de muestreo deseado.



Figura N°45: Inicio de la recolección de la de muestra.

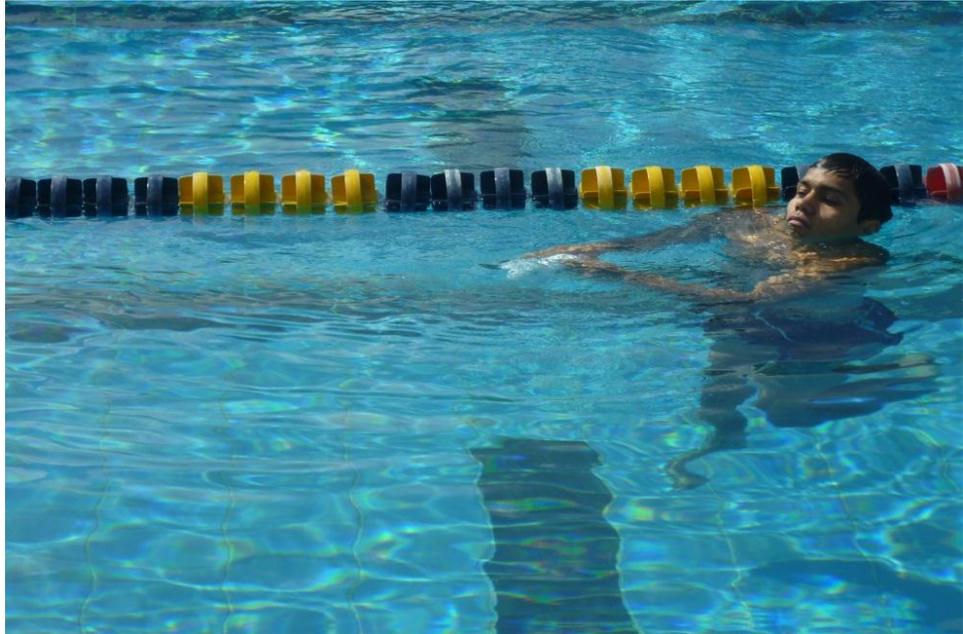


Figura N°46: fin de la recolección de la muestra.



Figura N°47: Entrega de muestra.



Figura N°48: Almacenado de muestras.

ANEXO N° 21
PROCESAMIENTO DE MUESTRA



Figura N°49: Limpieza y sanitización de las botellas con alcohol isopropílico.



Figura N°50: mezclado de las muestras simples de un solo estrato en una botella de mayor capacidad, para formar una muestra compuesta representativa del estrato.



Figura N°51: Homogenizado de la muestra compuesta del estrato.



Figura N°52: toma de un litro de muestra compuesta del estrato, repite proceso con las muestras simples de los otros dos estratos para obtener un total de tres muestras compuestas de un litro por piscina.

ANEXO N° 22
ANALISIS DE LA MUESTRA



Figura N°53: Limpieza y sanitización del área de trabajo.



Figura N°54: Limpieza y sanitización de las botellas que contienen las muestras compuestas.



Figura N°55: Inoculación de muestra en agua peptonada para obtener diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 Reservar frascos para posteriores análisis.



Figura N°56: Inoculación de 20 mL de muestra compuesta en tubos con caldo HiCrome Rapid Coliform para cuantificación de Coliformes totales y fecales. Inocular cinco tubos por muestra.



Figura N°57: Gradilla con 15 tubos de caldo HiCrome Rapid Coliform inoculados con muestra de los tres estratos de una sola piscina, cinco tubos por estrato.



Figura N°58: Inoculación de placas con las diluciones obtenidas, luego se les agregó aproximadamente 20mL de agar Plate Count, para posterior cuantificación de Bacterias Heterótrofas. La inoculación se hizo por duplicado. Incubar los frascos con la dilución 1: 10 por 24 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ para realizar pruebas restantes.



Figura N°59: Frascos con agua peptonada con las diluciones 1:10, 24 horas después de su inoculación, se estrió por duplicado de cada uno de los frascos en placas de los siguientes agares: Agar Baird Parker, Agar Cetrímide, Agar Dextrosa Azida y Agar Sangre.

ANEXO N° 23
RESULTADOS DEL ANALISIS



Figura N°60: Tubos con caldo HiCrome Rapid Coliform después de 48 horas de incubación, inoculados con agua tomada de la piscina olímpica del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (Piscina A). Ninguno de los tubos de los tres estratos presentó cambios.



Figura N°61: Tubos con caldo HiCrome Rapid Coliform después de 48 horas de incubación, inoculados con agua tomada de la piscina infantil del Complejo Deportivo de Ciudad Merliot (Piscina B). Ninguno de los tubos de los tres estratos presentó cambios.



Figura N°62: Tubos con caldo HiCrome Rapid Coliform después de 48 horas de incubación, inoculados con agua tomada de la piscina olímpica del Polideportivo de la Universidad de El Salvador (Piscina C). Ninguno de los tubos de los tres estratos presentó cambios.



Figura N°63: Tubos con caldo HiCrome Rapid Coliform y muestra de el estrato 1 de la piscina A, expuestos a luz ultravioleta, el medio de cultivo no presentó fluorescencia apreciable. La prueba se realizó igualmente con el resto de los grupos de tubos pertenecientes a los demás estratos de las piscinas A, B y C; ninguna mostró fluorescencia.

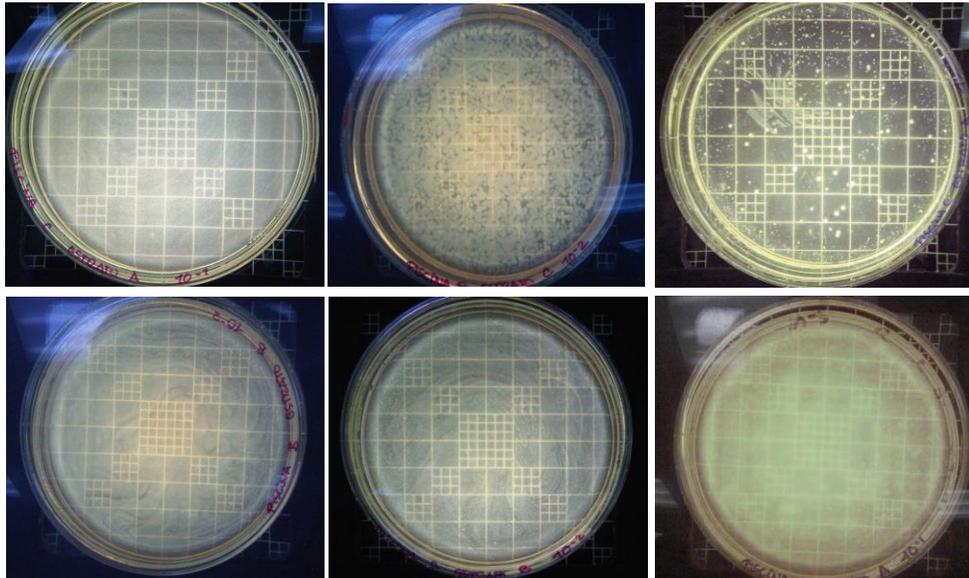


Figura N°64: Placas de petri con diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 muestras de de la piscina A, donde se realizó método de placa vertida para posterior conteo de bacterias heterótrofas.

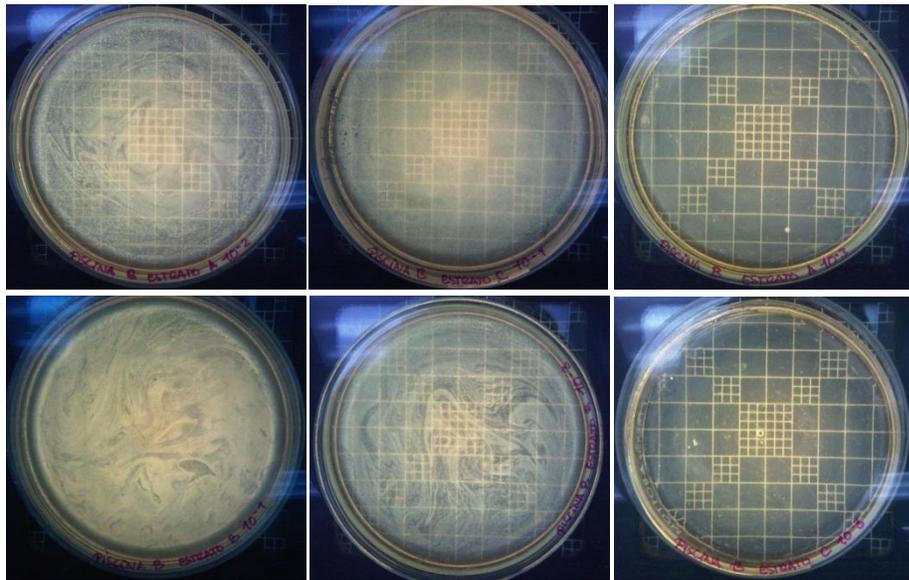


Figura N°65: Placas de petri con diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 de la piscina B, donde se realizó método de placa vertida para posterior conteo de bacterias heterótrofas.

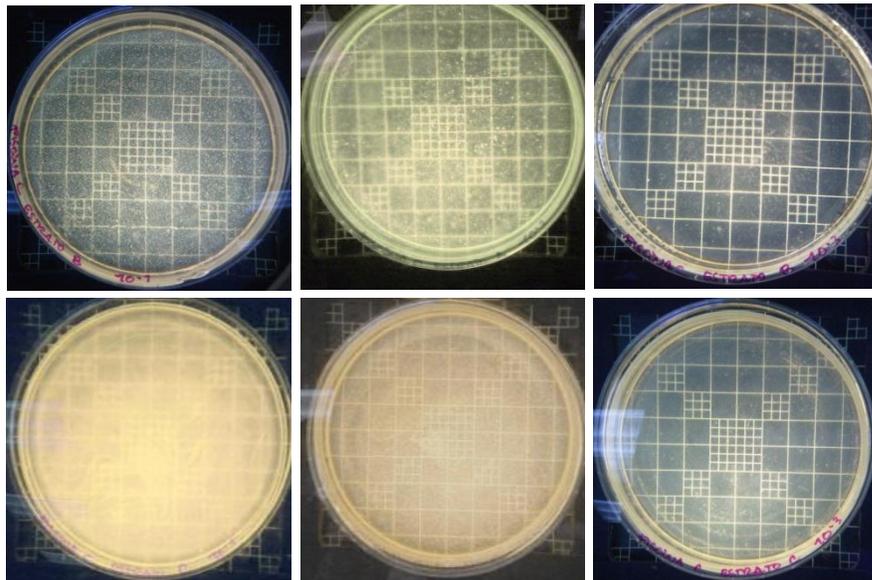


Figura N°66: Placas de petri con diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 de la piscina C, donde se realizó método de placa vertida para posterior conteo de bacterias heterótrofas.

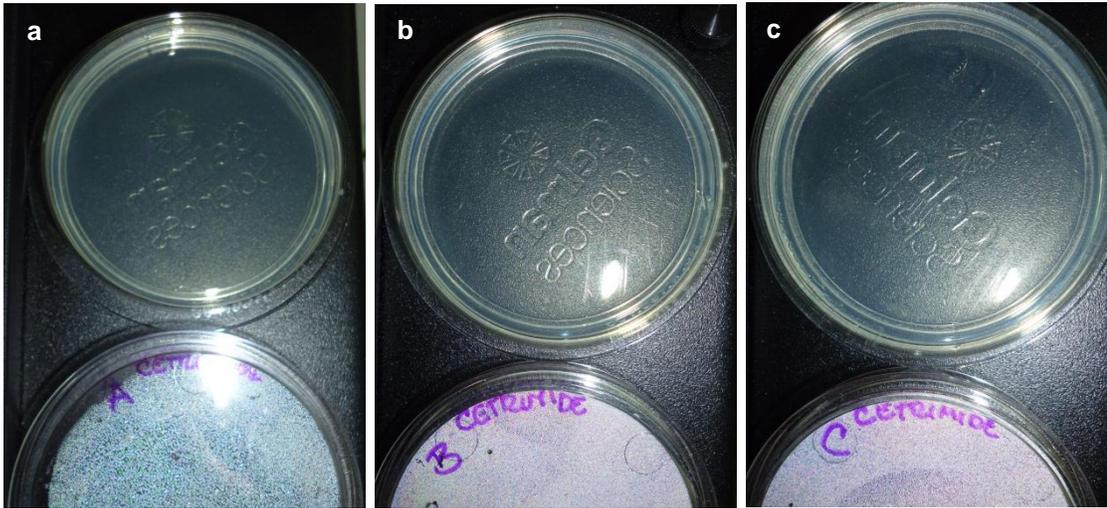


Figura N°67: Placas de petri con agar cetrímide, estriado con el agua peptonada previamente inoculada con muestras de las piscinas A, B y C respectivamente e incubadas durante 24 horas; luego de incubarles, no se encontró crecimiento.

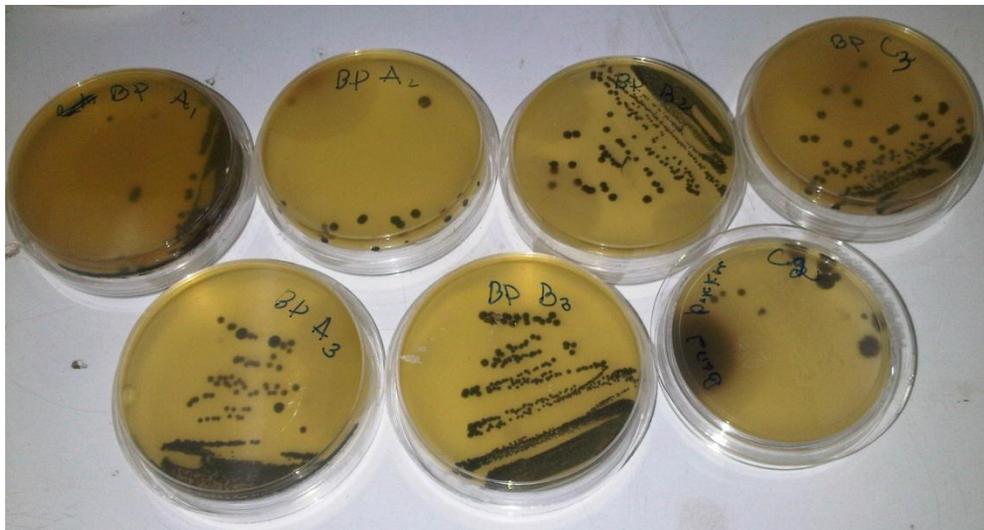


Figura N°68: Placas de petri con agar Baird Parker, estriado con el agua peptonada previamente inoculada con muestras de las piscinas A, B y C respectivamente e incubadas; luego de incubarles, se reportan colonias puntiformes definidas, sin halo claro a su alrededor. Se tomaron algunas colonias y se pasaron a un tubo con plasma sanguíneo.

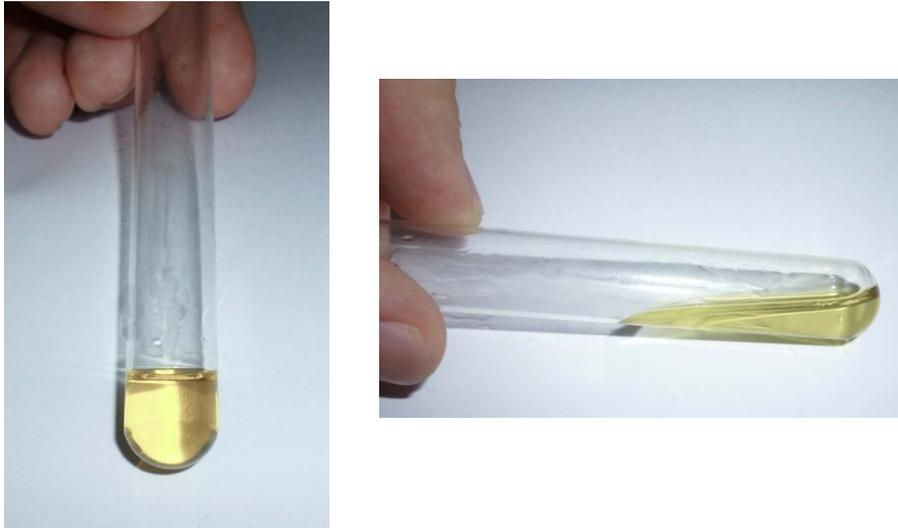


Figura N°69: Plasma sanguíneo inoculado con colonias que crecieron en el agar baird parker, que no presentaron halo alrededor de sus colonias. Luego de incubarlas, no hubo formación de coágulo; por tanto afirmamos que el microorganismo crecido en el agar baird parker no es *Staphylococcus aureus*.

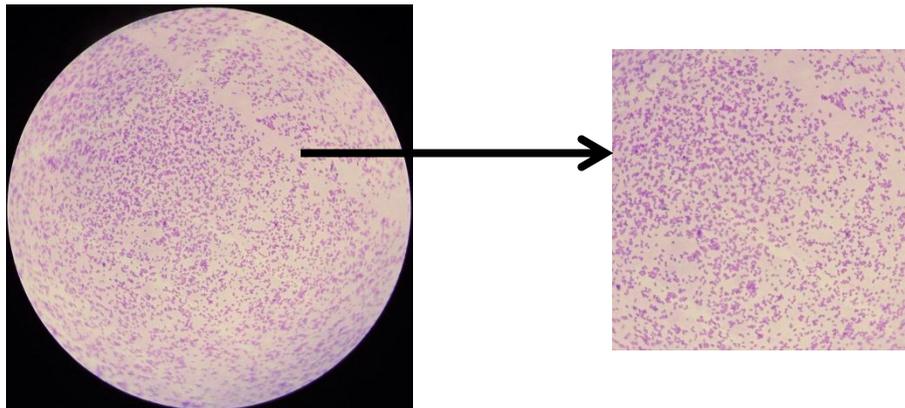


Figura N°70: Campo bajo el microscopio, de frotis hecho a partir de colonias encontradas en el agar baird parker, el microorganismo gram positivo tiene morfología de cocos bien definidos y agrupados en grumos.

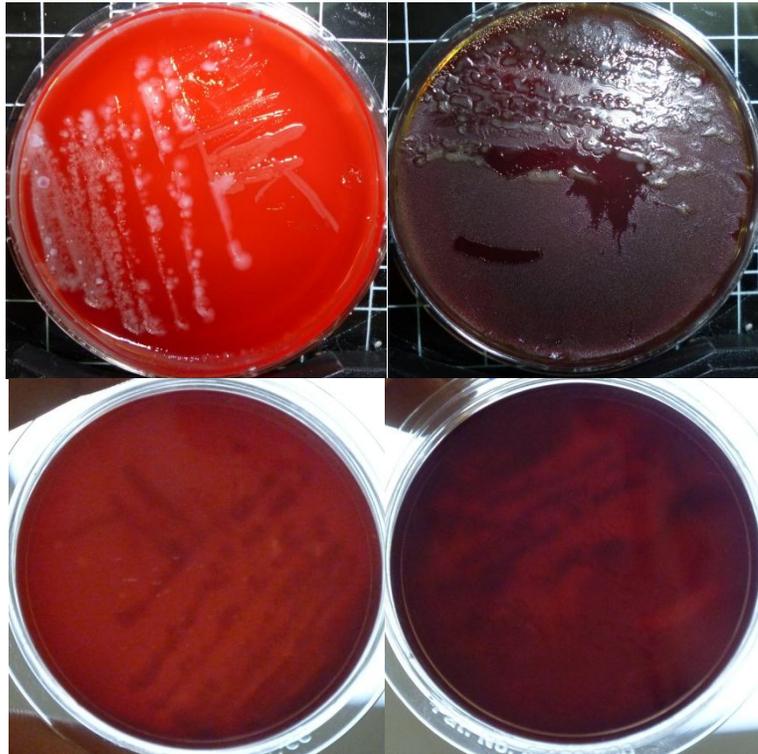


Figura N°71: Placas de petri con agar sangre, estriado con el agua peptonada previamente inoculada con muestras de las piscinas A, B y C e incubadas durante 24 horas; una vez incubadas, se encontraron n colonias blancas mucoides, poco definidas, no se presentó hemólisis en ninguna de las placas.



Figura N°72: Placas de petri con agar Dextrosa Azida, medio selectivo para el aislamiento de *Enterococcus faecalis*, estriado con el agua peptonada previamente inoculada con muestras de las piscinas A, B y C e incubadas durante 24 horas; una vez incubadas las placas, se encontraron colonias puntiformes definidas color rojo. Se trasladaron algunas colonias a caldo BHI con 6.5% de NaCl para prueba confirmatoria de presencia de *Enterococcus faecalis*.



Figura N°73: Caldo BHI inoculado con colonias crecidas en agar Dextrosa Azida, turbidez en el medio confirma la presencia de *Enterococcus faecalis* en las muestras de agua tomadas de las piscinas A, B y C.

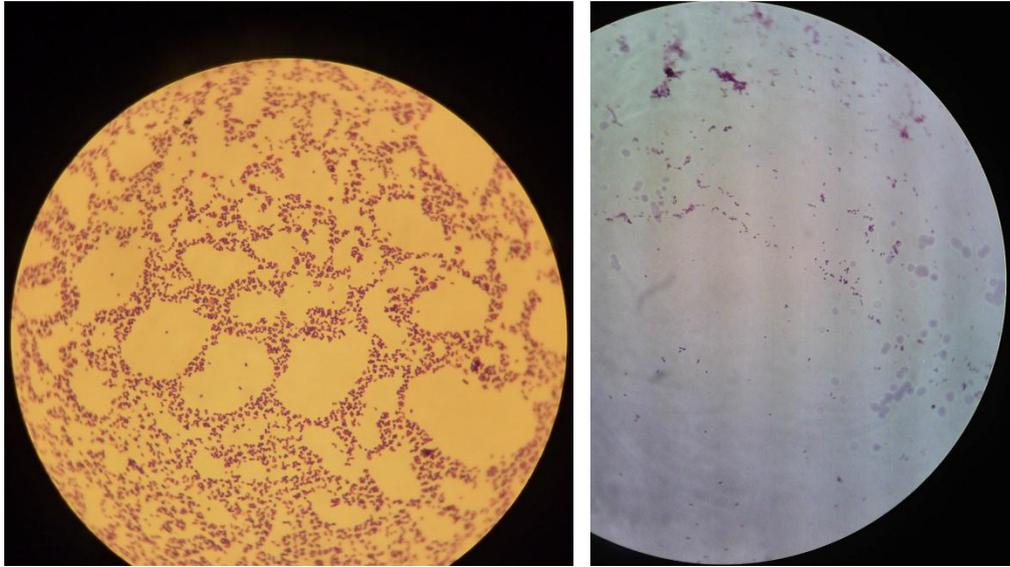


Figura N°74: Campos bajo el microscopio de frotis de las colonias encontradas en el agar Dextrosa Azida, el microorganismo es gram positivo, tiene morfología cocoide o coco ligeramente alargado, bien definidos y agrupados en cadenas o pares.

ANEXO N° 24
DOCUMENTO DE LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO DE EMPLEADOS
DEL COMPLEJO DEPORTIVO DE CIUDAD MERLIOT PARA
MANTENIMIENTO DE PISCINAS (RESEÑA)

CURSO TECNICO DE:

Tratamiento y Mantenimiento En Aguas de Piscinas

**PARA INFRAESTRUCTURAS HOTELERA
RESTAURANTES/CLUBES Y CENTROS TURISTICOS**

**PARA
PERSONAL DE MANTENIMIENTO Y
SERVICIOS GENERALES
2010**

GENERALIDADES Y TIPOS DE CLORO

QUE ES EL CLORO?

El cloro en su estado natural es un gas, que su finalidad es destruir los contaminantes por oxidación anulando sus efectos nocivos y desinfectando, para lograr una purificación al agua.

El cloro es su estado natural es inestable y volátil, por tal razón la reacción de los cloros aplicados a las aguas en general, tienen una **finalidad específica que presenta dos efectos**, siendo:

1er. efecto: La **DESINFECCION**, se debe entender como la destrucción de los organismos patógenos y la **ESTERILIZACION** es la destrucción de todo organismo vivo presente en el agua.

2º. Efecto : La **OXIDACION**, es el proceso de remover químicamente los residuos orgánicos, desechos del cuerpo, partículas, materiales y sudor del agua.

Estos efectos, se logran a través de lo que conocemos como:

CLORINACION

TIPOS DE CLORO,

Hemos descrito en esta parte, lo que se logra hacer cuando se provocan los efectos de desinfección y oxidación. Un agua sanitizada, logra tener cristalinidad y transparencia en una piscina.

Por lo tanto esto nos lleva a lo siguiente, hablar de los distintos tipos de cloro, que existen.

Hasta hace 35 años o 40 años, solo se había logrado manejar el cloro en forma líquida, conocido como **Hipoclorito de Sodio** comercialmente conocido como la lejía.

Por las desventajas que provocaba este cloro, en las aguas de piscina, se dejó de utilizar y apareció otro tipo de cloro, logrando un avance por ser un producto sólido más práctico y fácil de manejar y almacenar; llamado **Hipoclorito de Calcio**, con el transcurrir del tiempo comenzaron a surgir algunos inconvenientes con este cloro para algunos.

Por lo cual esto hizo que se pensara en la fabricación de un producto, que pudiese contemplar más permanencia de protección en el agua, y apareció lo que se conoce como **Tricloro**. (Cloro orgánico estabilizado), manteniéndose que el producto también es sólido, práctico, fácil de manejar y de almacenar. Y por último el **Cloro Gas**, producto gaseoso muy poco frecuente para uso de piscinas, y peligroso en su manejo.

CARACTERÍSTICAS DE LOS DOS PRINCIPALES TIPOS DE CLOROS.

	TRICLORO	HIPOCLORITO DE CALCIO
1.-	Contiene una concentración de cloro disponible: 90 %	Contiene una concentración de cloro disponible : 65 a 70 %
2.-	Duración de protección en el agua de 20 a 24 horas *	Duración de protección en el agua de 10 a 12 horas
3.-	Se fuga mas lentamente y eso hace efectividad para la desinfección	Se fuga rápidamente porque es muy inestable
4.-	Es un producto bastante soluble en el agua, no contiene calcio.	Este es un producto que contiene un 35 % de calcio
5.-	No necesita aplicaciones en exceso de ácido.	Su aplicación de ácido es permanente.
6.-	Las cantidades de aplicación de cloro son menores	Las cantidades de aplicación de cloro son el doble
7.-	El parámetro reflejado del pH lo mantiene equilibrado.	El parámetro de reflejado del pH es muy variable
8.-	La alta concentración de cloro disponible controla el nacimiento de lama, alga y hongo.	Este cloro no ayuda para evitar el crecimiento de lama, alga y hongo.
9.-	Posee un estabilizador, con un 10%	No posee estabilizador es necesario aplicar alguno.
10.-	El tricloro viene en varias granulometrías: Grano, Polvo y Tableta.	Este producto solo viene granulado

PRODUCTOS QUIMICOS COMPLEMENTARIOS A UTILIZAR EN AGUA DE PISCINA.

- 1.- CLORO ó TRICLORO.
- 2.- ACIDO MURIATICO
- 3.- CLARIFICADOR
- 4.- ALGISIDA
- 5.- SODA ASH
- 6.- SULFATO DE COBRE
- 7.- REACTIVOS PARA MEDICION DE CL/PH

PROCEDIMIENTOS DE APLICACION DE PRODUCTOS.

Para LA APLICACION Y DOSIFICACION de productos químicos a las aguas de piscina es necesario conocer el volumen de agua que posee la piscina.

CLORO ó TRICLORO.

• **Aplicación:**

La aplicación del cloro en un agua, se sugiere y recomienda se realice, por la noche.

• **Procedimiento:**

Normalmente el cloro ó tricoloro, se debe de aplicar lanzándose en forma dispersa para que el grano quede regado en toda el área del agua de la piscina.

También puede aplicarse diluyendo el producto, antes de lanzarse el grano y diluido el grano de cloro, aplicarse directamente al agua.

Recomendamos que antes de su aplicación, medir, con el test kit; el rango de cloro que en ese momento le refleja el agua, para que así se tome un criterio mejor de que cantidad tendrá que aplicarle.

*** Observaciones:**

- 1.- Cuando se lanza el producto de cloro, debe ser en dirección al viento.
- 2.- Cuando se va a utilizar el producto de cloro, para sacar la cantidad a utilizar, nunca debe de utilizar depósitos húmedos.
- 3.- Mantener siempre alejado el producto del alcance de los niños, en un lugar en donde no esté húmedo, y que exista ventilación.
- 4.- Mantener siempre bien tapado el depósito de cloro.
- 5.- La **DOSIS** que debe aplicar de cloro, deben ser en función al volumen de agua de su piscina. ó recomendadas por su **PROVEEDOR.**

ACIDO MURIATICO (CLORHIDRICO)

*** Aplicación:**

La aplicación del ácido debe ser por la noche, teniéndose un lapso de tiempo prudencial, de la aplicación de cloro. **NUNCA** aplicar junto ambos productos.

*** Procedimiento:**

La aplicación del ácido en una agua de piscina debe ser en forma directa, ya sea colocándose en la dirección de los retornos ó aplicándose alrededor de la piscina. Se sugiere si se tiene en el equipo de filtrado **VALVULA MULTIPORT**, colocar la manecilla en la posición de recirculación un tiempo prudencial mientras el ácido se revuelve con el agua. Si no se tuviese; se tendría que realizar filtrando el agua, o dejar el agua en reposo.

*** Observaciones:**

El ácido, se utiliza, cuando el pH, del agua le está reflejando una lectura alta (Rosado Violeta en el Test Kit) de 7.8 hasta 8.00 o más.

El tener esas lecturas le está indicando que el agua necesita que se le aplique ácido, para poder lograr balancear el agua. Su **PROVEEDOR** deberá recomendarle cuanto deberá ser su dosis.

Otras Aplicaciones:

- Sirve para lavar el bordillo de las piscinas.
- Lavar los filtros (Arena-Cartucho-Teja)
- Para eliminar manchas, en aceras ó áreas de circulación.

SODA ASH (CARBONATO DE SODIO)

*** Aplicación:**

La aplicación de la Soda Ash, debe ser por la noche, teniéndose un lapso de tiempo prudencial, de la aplicación de cloro. **NUNCA** aplicar junto ambos productos.

*** Procedimiento:**

La aplicación de la Soda Ash en una agua de piscina debe ser diluida, ya que el producto es polvo; colocándose la solución diluida en la dirección de los retornos ó aplicándose alrededor de la piscina.

Se sugiere si se tiene en el equipo de filtrado **VALVULA MULTIPORT**, colocar la manecilla en la posición de recirculación un tiempo prudencial mientras el producto se revuelve con el agua: si no se tuviese tendría que realizarlo filtrando el agua, o dejar el agua en reposo.

*** Observaciones:**

La Soda Ash, se utiliza, cuando el pH, del agua le está reflejando una lectura baja (Color Amarillo en la muestra de agua del Test Kit) de 7.2 hasta 6.8 o más. El tener esas lecturas le está indicando que el agua necesita aplicación de Soda Ash, para poder lograr balancear el agua, ya que se está reflejando acidez.

Por lo tanto con este producto lo que se logra es neutralizar la acidez que presenta el agua en ese momento, para que el cloro pueda trabajar eficazmente. Su **PROVEEDOR** deberá de recomendarle cuanto deberá ser su dosis.

CLARISIDAS

- **Aplicación:**

La aplicación del Clarisol, debe ser por la noche, teniéndose muy en cuenta que no debe aplicar cloro ese día al agua de la piscina, de hacer lo contrario lo que sucede es que corta el proceso del Clarisol y no funcionará el producto. El Clarisol es un producto **CORRECTIVO**.

- **Procedimiento:**

La aplicación del Clarisol en un agua de piscina debe ser en forma directa ya sea; colocándose la solución en la dirección de los retornos ó aplicándose alrededor de la piscina.

Se sugiere, si se tiene en el equipo de filtrado **VALVULA MULTIPORT**, colocar la manecilla en la posición de recirculación ó si no tuviese, dejar el equipo en filtrado durante una 1 hr. Mientras el producto se revuelve con el agua, y finalizado el tiempo recomendado apagar el equipo totalmente durante 10 a 12 hr., dejando el agua en reposo, para que la suciedad pueda sedimentarse en el fondo de la piscina, y finalizada las 10 a 12 hr., iniciar el proceso de aspirado de la manera como se lo recomiende su proveedor.

- **Observaciones:**

El Clarisol se utiliza, como producto correctivo, cuando las aguas se encuentran turbias, chelosas, verdes ó cafés. Este producto es muy efectivo siempre y cuando se cumplan con las indicaciones de procedimiento dadas por su proveedor. Este producto lo que logra es neutralizar, sedimentar toda la suciedad que posee el agua en su condición dañada. Se recomienda utilizarse como producto correctivo, antes de que colapse un agua ó ya colapsada. Sus dosificaciones son de acuerdo como se encuentre de dañada el agua. Su **PROVEEDOR** deberá de recomendarle cuanto deberá ser su dosis.

ALGUISIDAS

*** Aplicación:**

La aplicación del Algisol debe ser por la noche, teniéndose muy en cuenta que no se debe aplicar junto con otro químico. Debe dejar pasar un lapso de tiempo prudente para aplicarse. El Algisol es un producto **PREVENTIVO**, para evitar el nacimiento y crecimiento de algas, hongo y lama. Su aplicación debe de ser cada 15 días.

*** Procedimiento:**

La aplicación del Algisol en una agua de piscina debe de ser en forma directa ya sea; colocándose la solución en la dirección de los retornos ó aplicándose alrededor de la piscina.

Se sugiere si se tiene en el equipo de filtrado **VALVULA MULTIPORT**, colocar la manecilla en la posición de recirculación ó si no tuviese, dejar el equipo en filtrado., mientras el producto se revuelve con el agua en un tiempo prudente.

*** Observaciones:**

El Algisol se utiliza, como producto preventivo, **NUNCA** se debe de aplicar cuando las aguas se encuentren verdes ó cafés, porque al hacerlo se daña más el agua. Este producto es muy efectivo siempre y cuando se cumplan con las indicaciones de procedimiento dadas por su proveedor.

Este producto además es muy bueno porque logra darle cristalinidad al agua cuando se utiliza permanentemente cada 15 días, ya que lo que realiza es la formación de una capa protectora en paredes y pisos y crea un tomasol con el reflejo del sol, que le da brillo y una tonalidad de color agradable al agua. Su **PROVEEDOR** deberá de recomendarle la dosis a utilizar.

SULFATO DE COBRE.

*** Aplicación:**

El Sulfato de Cobre, se utiliza para corregir un problema de color en el agua, y a su vez le sirve de alguisida, con una reacción retardada. Su aplicación se debe de realizar por las noches.

*** Procedimiento:**

Diluir el producto, para crear la solución que se aplicará ya sea en la salida de los retornos ó aplicarse alrededor de la piscina. (Muchos lo utilizan como producto alternativo para problemas de turbidez en las aguas). Se sugiere si se tiene en el equipo de filtrado colocar la manecilla en la posición de recirculación ó si no tuviese, dejar el equipo en filtrado, mientras el producto se revuelve con el agua en un tiempo prudente.

*** Observaciones:**

Se recomienda no utilizarse constantemente este producto, porque provoca daños secundarios en los acabados de paredes y pisos de las piscinas, especialmente cuando están nuevos los acabados, ya que los agrieta y debilita la capa de marciteado.

Este producto se recomienda utilizarse en **EMERGENCIAS NECESARIAS**. Como en Temporadas altas.

TEST KIT, PROBADOR.

Esto es importante que lo tenga cada responsable del cuidado y mantenimiento del agua, para estar monitoreando las lecturas de los rangos que deben cumplir el estado de cloro y acidez (pH). Este aparatito les indica las necesidades que pudiese tener el agua, en su condición química.

PROCEDIMIENTO PARA CALCULAR VOLUMENES DE AGUA Y CÁLCULO DE DOSIFICACIONES

EJEMPLO.

CALCULO DE VOLUMEN DE AGUA:

PISCINA DE 25 X 12 X 1.5 = 450 M3.

DOSIFICACION DE CLORO:

POR CADA 10 M3 = 0.07 LIBRA DE TRICLORO ó 0.14 LIBRA DE HIPOCLORITO DE CALCIO

0.07 Lbs. ----- 10 M3
X ----- 450 M3

450 x 0.07 / 10 = 3.15

450 M3 / 10 M3 X 0.07 LIBRAS = 3.15 LIBRAS TRICLORO
450 M3 / 10 M3 X 0.14 LIBRAS = 6.30 LIBRAS HIPOCLORITO DE CALCIO

ESPACTO PARA ANOTAR:

EJEMPLO.

CALCULO DE VOLUMEN DE AGUA:

PISCINA DE 25 X 12 X 1.5 = 450 M3.

DOSIFICACION DE ACIDO:
POR CADA 10 M3 = 0.05 GALON.

$$\begin{array}{r} 0.05 \text{ Gl.} \text{ ----- } 10 \text{ M3} \\ \times \text{ ----- } 450 \text{ M3} \end{array}$$

$$450 \times 0.05 / 10 = 2.25 \text{ Galones}$$

$450 \text{ m}^3 / 10 \text{ m}^3 \times 0.05 \text{ gls.} = 2.25 \text{ galones de ácido muriático}$

EJERCICIOS A REALIZAR:

PROCEDIMIENTO PARA BALANCEAR Y CHECAR, PH (ACIDEZ/ALCALINIDAD) DEL AGUA.

CONTROL DE CALIDAD DE AGUA

MONITOREAR Y CHEQUEAR LOS RANGOS DE LECTURA.

Es importante darle prioridad a este paso, ya que ello nos enseña la condición en que se encuentra químicamente el agua, y que es lo necesario para aplicársele. Siguiendo las instrucciones de procedimiento de aplicaciones y dosificaciones de químicos que ya mencionamos.

Las dos pruebas de campo necesarias para evaluar y diagnosticar la condición del agua son:

* pH: Es la medida de la acidez ó basicidad que se encuentre en el agua.

EFFECTOS DEL PH, SOBRE EL CLORO:

Dentro de los parámetros de control, el pH se debe de considerar el más importante, no solo para obtener el mejor rendimiento del cloro dentro del agua, sino también para evitar molestias en la piel y ojos, o bien incrustaciones o corrosión en los equipos de la piscina.

RANGO: 7.2 a 7.6 ----- IDEAL: 7.4

PH

Lecturas	Escala de Colores
8.0	VIOLETA INTENSO
7.6	ROSADO SUAVE
7.4	COLOR PIEL
7.2	COLOR CAFÉ TIERNO
6.8	COLOR AMARILLO

El otro parámetro a considerar es la medición de intensidad de cloro que pudiese o no tener una agua de piscina.

- El **Cl.**: Es nivel de protección que pudiese tener el agua a través del cloro residual y se logra a través de una lectura de cloro, para determinar su parámetro y condición.

EFFECTOS DEL CL. SOBRE EL AGUA:

Si el agua de una piscina esta superclorada, dejar de clorar hasta que baje a sus niveles ideales, si es todo lo contrario y no hay un buen nivel de cloro, deberá de aplicarse cloro hasta lograr equilibrar el rango al que se debe de mantener, para lograr la protección del agua.

RANGO: 1.00 a 2.00 ppm ----- IDEAL: 1.5
(Este es variable en función a la condición del agua)

COLORO

Lecturas	Escala de Colores
3.0	Exceso de Cloro
2.0	Cloro Normal
1.5	Lectura Ideal
1.0	Cloro Normal
0.6	Falta de Cloro
0.2	Falta de Cloro

3.- EVALUACION Y MANEJO DE EQUIPOS DE BOMBEO Y FILTRADO.

Los equipos de bombeo y filtrado, se diseñan y se calculan en función a:

1. Al uso que se le va a dar a la piscina.
 2. Al volumen de agua que poseerá la piscina, en su funcionamiento.
 3. Al tiempo en que se deba de recircular todo el volumen de agua de la piscina.
 4. La bomba debe de estar acondicionada a su filtro, para que puedan ver buen resultado.
- Dependiendo del tipo de filtro que posean en sus instalaciones, así será la manera que se deberá de darle la atención para su mantenimiento.

MANTENIMIENTO EN TEMPORADAS ALTAS.

Se recomienda, que en cada temporada alta, se le de una preparación previa al sistema de bombeo y filtrado:

1. Limpieza a los filtros.
2. Lograr estabilizar los parámetros para el control de calidad del agua.
3. Supercloración.
4. Incremento en tiempos de Filtrado.
5. Y finalizada la temporada, realizar limpieza de filtros.

PROBLEMAS: CAUSAS: POSIBLES SOLUCIONES:

AGUA TURBIA:

Mala Recirculación/filtración

- Retrolavar el filtro.
- Revisar el funcionamiento del equipo de Bombeo.
- Revisar que el medio filtrante este en buenas condiciones.

Agua fuera de Balance

- Tomar muestra de agua y checar las lecturas de los parámetros de pH, Cloro, Alcalinidad y corregirlos si fuera necesario.

AGUA VERDE:

Mala Recirculación/filtración

- Retrolavar el filtro.
- Revisar el funcionamiento del equipo de Bombeo.
- Revisar que el medio filtrante este en buenas Condiciones.

Agua fuera de Balance

- Tomar muestra de agua y checar las lecturas de los parámetros de pH, Cloro, Alcalinidad y corregirlos si fuera necesario.

PROBLEMAS: CAUSAS: POSIBLES SOLUCIONES:

Excesiva contaminación de

Suspensión dentro del agua

- Aplicar Clarisol y esperar la floculación de los sólidos al fondo del agua y realizar proceso de aspirado, luego superclorar y filtrar.

IRRITACION DE OJOS Y PIEL

EN BAÑISTA:

El pH, se encuentra desbalanceado

Exceso de Cloraminas

- Corregirlo, con los productos químicos adecuados.
- Superclorar.

PROLIFERACION DE ALGAS

Cuando no se aplica ningún tipo de

- Aplicar ALGISOL BIOLIM.

Alguicidas, que sirve por prevención.

- Aplicar ALGISOL BIOLIM.

Cuando las paredes y pisos de las piscinas, están totalmente agrietadas y dañadas.

CONSUMO EXCESIVO DE CLORO

Excesiva acidez en el agua.

- Corregir y Estabilizar el pH.

CUADRO CONDENSADO DE DOSIFICACIONES DE LOS QUIMICOS PARA TRATAMIENTO DE AGUAS EN PISCINAS Y CISTERNAS

VOLUMENES		PRODUCTOS QUIMICOS A UTILIZARSE SEGUN LAS CONDICIONES CALCULADAS Y MUESTREADAS									
LITROS	M3	CLOROS		ACIDO MURIATICO		SODA ASH	ALGUCIDA	FLOCULANTE			
		Tri-cloro, Lbs	Cl ₂ , Lbs.	Lect. ppt: 7.5	Lect. ppt: 8.9			Galones	Media	Alta	
10,000	10	0.07	0.14	0.05	0.08	1.73	0.05	0.13	0.25		
20,000	20	0.14	0.28	0.11	0.16	3.47	0.1	0.25	0.5		
30,000	30	0.21	0.42	0.16	0.24	5.2	0.15	0.38	0.75		
40,000	40	0.28	0.56	0.21	0.32	6.93	0.2	0.5	1		
50,000	50	0.35	0.7	0.26	0.4	8.67	0.25	0.63	1.25		
60,000	60	0.42	0.84	0.32	0.48	10.4	0.3	0.75	1.5		
70,000	70	0.49	0.98	0.37	0.55	12.13	0.35	0.88	1.75		
80,000	80	0.56	1.12	0.42	0.63	13.87	0.4	1	2		
90,000	90	0.63	1.26	0.48	0.71	15.6	0.45	1.13	2.25		
100,000	100	0.7	1.4	0.53	0.79	17.33	0.5	1.25	2.5		
110,000	110	0.77	1.54	0.58	0.87	19.07	0.55	1.38	2.75		
120,000	120	0.84	1.68	0.63	0.95	20.8	0.6	1.5	3		
130,000	130	0.91	1.82	0.69	1.03	22.53	0.65	1.63	3.25		
140,000	140	0.98	1.96	0.74	1.11	24.27	0.7	1.75	3.5		
150,000	150	1.05	2.1	0.79	1.19	26	0.75	1.88	3.75		
160,000	160	1.12	2.24	0.85	1.27	27.73	0.8	2	4		
170,000	170	1.19	2.38	0.9	1.35	29.47	0.85	2.13	4.25		
180,000	180	1.26	2.52	0.95	1.43	31.2	0.9	2.25	4.5		
190,000	190	1.33	2.66	1	1.51	32.93	0.95	2.38	4.75		
200,000	200	1.4	2.8	1.06	1.59	34.67	1	2.5	5		
300,000	300	2.1	4.2	1.59	2.38	52	1.5	3.75	7.5		
400,000	400	2.8	5.6	2.11	3.17	69.33	2	5	10		
500,000	500	3.5	7	2.64	3.96	86.67	2.5	6.25	12.5		
600,000	600	4.2	8.4	3.17	4.76	104	3	7.5	15		
700,000	700	4.9	9.8	3.7	5.55	121.33	3.5	8.75	17.5		
800,000	800	5.6	11.2	4.23	6.34	138.67	4	10	20		
900,000	900	6.3	12.6	4.76	7.13	156	4.5	11.25	22.5		
1000,000	1,000	7	14	5.28	7.93	173.33	5	12.5	25		

ANEXO N° 25
PRUEBA PARA DETERMINAR AUSENCIA DE *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* ⁽¹⁷⁾

PROCEDIMIENTO

Preparar la muestra que se desea analizar con un tratamiento apropiado a sus características físicas y que no altere el número y tipo de microorganismos presentes originalmente, a fin de obtener una solución o suspensión de la totalidad o parte de la muestra que sea adecuada para el o los procedimientos de prueba que se deben llevar a cabo.

En el caso de sólidos que se disuelven en gran medida pero no totalmente, reducir la sustancia a un polvo moderadamente fino, suspenderlo en el vehículo especificado y proceder según se indica en *Recuento Total de Microorganismos Aerobios* y en *Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* y *Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli*.

En el caso de muestras líquidas que consisten en una solución verdadera o una suspensión en agua o un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30 por ciento de alcohol, y para aquellos sólidos de disolución fácil y casi total en 90 mL de *Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7,2* o en los medios especificados, proceder según se indica en *Recuento Total de Microorganismos Aerobios* y en *Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* y *Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli*.

En el caso de ceras, cremas, ungüentos y líquidos inmiscibles con agua, preparar una suspensión con ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril adecuado (por ejemplo, uno de los polisorbatos), utilizando un mezclador mecánico y calentando a una temperatura que no exceda de 45°, si fuera necesario, y proceder con la suspensión según se indica en *Recuento Total de Microorganismos Aerobios* y en *Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* y *Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli*.

Para una muestra líquida en forma de aerosol, enfriar el envase en una mezcla de alcohol y hielo seco durante aproximadamente 1 hora, abrir el envase, dejar que alcance temperatura ambiente, dejar que el propelente escape, o entibiar para expulsar el propelente si fuera factible, y transferir la cantidad de material de prueba requerida para los procedimientos especificados en uno de los dos párrafos precedentes, según corresponda. Cuando no se pueden obtener 10,0 g o 10,0 mL de la muestra, según corresponda, de 10 envases en forma de aerosol, transferir la totalidad del contenido de 10 envases enfriados al medio de cultivo, dejar que el propelente se escape y proceder a realizar la prueba a los residuos. Si los resultados de la prueba no fueran concluyentes o fueran dudosos, repetir la prueba con una muestra de 20 envases más.

Recuento Total de Microorganismos Aerobios

En el caso de muestras que son lo suficientemente solubles o translúcidas para permitir el uso del *Método en Placa*, usar dicho método; de lo contrario, usar el *Método en Tubos Múltiples*. Con cualquiera de los métodos, primero disolver o suspender 10,0 g de la muestra si es sólida, o 10 mL, medidos con exactitud, si la muestra es líquida, en *Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7,2*, *Medio Líquido de Digerido de Caseína y Soja* o *Medio Líquido de Digerido de Caseína-Lecitina de Soja-Polisorbato 20* para obtener 100 mL. En el caso de muestras viscosas que no se puedan pipetear y transferir a esta dilución inicial de 1:10, diluir la muestra hasta obtener una suspensión, es decir, 1:50 ó 1:100, etc., que pueda pipetearse. Realizar la prueba para determinar la ausencia de propiedades inhibitorias (antimicrobianas) según se describe en *Pruebas Preparatorias* antes de determinar el *Recuento Total de Microorganismos Aerobios*. Agregar la muestra al medio a más tardar 1 hora después de preparar las diluciones apropiadas para inoculación.

MÉTODO EN PLACA

Diluir el líquido aun más, si fuera necesario, para que 1 mL permita obtener entre 30 y 300 colonias. Pipetear 1 mL de la dilución final y transferir a dos placas de Petri estériles. Agregar de inmediato, a cada placa, de 15 a 20 mL de *Medio Agar Digerido de Caseína y Soja*, previamente fundido y enfriado aproximada-

mente a 45°. Cubrir las placas de Petri, mezclar la muestra con agar inclinando ligeramente o rotando suavemente las placas y dejar que el contenido se solidifique a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar durante 48 a 72 horas. Una vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento de microorganismos, contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en términos del número de microorganismos por g o por mL de muestra. En caso de no recuperarse colonias microbianas de las placas que representen la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como "menos de 10 microorganismos por g o por mL de muestra".

MÉTODO EN TUBOS MÚLTIPLES

En cada uno de 14 tubos de ensayo de tamaño similar, colocar 9,0 mL de *Medio Líquido de Digerido de Caseína y Soja* estéril. Distribuir doce de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. Separar un grupo de tres tubos para utilizarlo como control. Pipetear 1 mL de la solución o suspensión de la muestra y transferir a cada uno de los tres tubos de un grupo ("100") y a un cuarto tubo (A), y mezclar. Pipetear 1 mL del tubo A y transferir al tubo restante (B), no incluido en un grupo, y mezclar. Estos dos tubos contienen 100 mg (o 100 µL) y 10 mg (o 10 µL) de la muestra, respectivamente. Pipetear 1 mL del tubo A y transferir a cada uno de los tres tubos del segundo grupo ("10") y pipetear 1 mL del tubo B y transferir a cada tubo del tercer grupo ("1"). Desechar el contenido no utilizado de los tubos A y B. Cerrar bien e incubar todos los tubos. Una vez transcurrido el periodo de incubación, examinar los tubos para verificar el crecimiento de los microorganismos: los tres tubos de control se mantienen transparentes y los resultados observados en los tubos que contienen la muestra, interpretados según la *Tabla 1*, indican el número más probable de microorganismos por g o por mL de muestra.

Tabla 1. Recuento Total Más Probable por el Método en Tubos Múltiples

Combinaciones Observadas de Número de Tubos que Evidencian Crecimiento en cada Grupo			Número más Probable de Microorganismos por g o por mL
N° de mg (o mL) de Muestra por Tubo			
100 (100 µL)	10 (10 µL)	1 (1 µL)	
3	3	3	> 1100
3	3	2	1100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70
3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23

Prueba para Determinar la ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

Agregar *Medio Líquido de Digerido de Caseína y Soja* a la muestra para obtener 100 mL, mezclar e incubar. Examinar el medio para verificar el crecimiento y, si hubiera crecimiento, utilizar un bucle de inoculación para realizar estrías con una porción del medio

sobre la superficie del Medio Agar Vogel-Johnson (o Medio Agar Baird-Parker o Medio Agar Manitol Salado) y del Medio Agar Cetrimida, cada uno de ellos colocado en placas de Petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Si al examinarlas, ninguna de las placas contiene colonias con las características enumeradas en las Tablas 2 y 3 para los medios utilizados, la muestra de prueba cumple con los requisitos de ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Prueba de Coagulasa (para *Staphylococcus aureus*)—Con la ayuda de un bucle de inoculación, transferir colonias sospechosas representativas desde las superficies de agar del Medio Agar Vogel-Johnson (o Medio Agar Baird-Parker o Medio Agar Manitol Salado) a tubos individuales, que contengan cada uno 0,5 mL de plasma de mamífero, preferentemente de conejo o caballo, con o sin aditivos adecuados. Incubar en un baño de agua a 37°, examinando los tubos a las 3 horas y posteriormente a intervalos adecuados hasta 24 horas. Analizar los controles positivos y negativos simultáneamente con las muestras desconocidas. Si no se observa ningún grado de coagulación, la muestra cumple con los requisitos para confirmar la ausencia de *Staphylococcus aureus*.

Pruebas de Oxidasa y de Pigmentos (para determinar la ausencia de *Pseudomonas aeruginosa*)—Con la ayuda de un bucle de inoculación, realizar estrias de las colonias sospechosas representativas, tomadas de las superficies de agar del Medio Agar Cetrimida, sobre las superficies de agar del Medio Pseudomonas Agar para la Detección de Fluorescina y del Medio Pseudomonas Agar para la Detección de Píocianina contenidas en las placas de Petri. Si debe transferirse un número grande de colonias sospechosas, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes e inocular cada uno con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertir el medio inoculado e incubar a 35° ± 2° durante no menos de tres días. Examinar las superficies estriadas bajo luz UV. Examinar las placas para determinar si hay colonias presentes con las características enumeradas en la Tabla 3.

Por medio de la prueba de oxidasa, confirmar si un crecimiento de colonias sospechoso en uno o más medios corresponde a *Pseudomonas aeruginosa*. Una vez que haya tenido lugar el crecimiento de colonias, colocar o transferir las colonias a tiras o discos de papel de filtro que se han impregnado previamente con diclorhidrato de *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamina: si no aparece un color rosado, que se toma púrpura, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Pseudomonas aeruginosa*. La presencia de *Pseudomonas aeruginosa* se puede confirmar mediante otras pruebas bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario.

Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella* spp y *Escherichia coli*

Agregar a la muestra, que está contenida en un vaso adecuado, un volumen de Medio Líquido de Lactosa para obtener 100 mL e incubar. Examinar el medio para verificar el crecimiento y, si hubiera crecimiento, mezclar agitando suavemente. Pipetear porciones de 1 mL y transferir a vasos que contengan, respectivamente, 10 mL de Medio Líquido de Selenito-Cistina y de Medio Líquido de Tetrionato, mezclar e incubar durante 12 a 24 horas. (Conservar el remanente del Medio Líquido de Lactosa.)

Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella* Spp—Por medio de un bucle de inoculación, realizar estrias de los medios de selenito-cistina y de tetrionato sobre la superficie del Medio Agar Verde Brillante, del Medio Agar Xilosa Lisina Desoxicolato y del Medio Agar con Sulfito de Bismuto contenidos en placas de Petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la Tabla 4, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del género *Salmonella*.

Tabla 4. Características Morfológicas de *Salmonella* spp en Medio Agar Selectivo

Medio Selectivo	Morfología Característica de las Colonias
Medio Agar Verde Brillante	Pequeñas, transparentes, incoloras o de color rosado a blanco opaco (frecuentemente rodeadas por una zona de color rosado a rojo)
Medio Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	De color rojo, con o sin centros negros
Medio Agar con Sulfito de Bismuto	De color negro o verde

Si se encuentran colonias de bastones Gram-negativos que se ajustan a la descripción de la Tabla 4, proceder con una identificación adicional transfiriendo colonias sospechosas representativas individualmente, por medio de un alambre de inoculación, a un tubo inclinado de Medio Agar-Triple Azúcar-Hierro estriando primero la superficie inclinada y luego clavando el alambre bien por debajo de la superficie. Incubar. Si en el examen no se hallan indicios de que los tubos presentan superficies alcalinas (rojas) y fondos ácidos (amarillos), (con o sin ennegrecimiento concomitante de los fondos debido a la producción de sulfuro de hidrógeno), la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del género *Salmonella*.

Prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*—Con ayuda de un bucle de inoculación, hacer estrias con una porción del Medio Líquido de Lactosa restante sobre la superficie del Medio Agar MacConkey. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la Tabla 5 para este medio, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

Tabla 5. Características Morfológicas de *Escherichia coli* en Medio Agar MacConkey

Tinción Gram	Morfología Característica de las Colonias
Bacilos negativos (coco-bacilos)	De color rojo ladrillo, pueden tener una zona de bilis precipitada alrededor

Si se encuentran colonias que se ajustan a la descripción que aparece en la Tabla 5, proceder con una identificación adicional transfiriendo las colonias sospechosas individualmente, por medio de un bucle de inoculación, a la superficie de Medio Agar Levine con Eosina-Azul de Metileno colocado en placas de Petri. Si debe transferirse un número grande de colonias, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes y sembrar cada uno de ellos con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinarlas, si ninguna de las colonias exhibe un brillo metálico característico bajo luz reflejada y si ninguna de ellas presenta una apariencia negro azulada bajo luz transmitida, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*. La presencia de *Escherichia coli* se puede confirmar mediante otras pruebas adicionales bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario.

Recuento Total Combinado de Hongos Filamentosos y Levaduras

Proceder como se indica en el Método en Placa en Recuento Total de Microorganismos Aerobios, excepto que se debe utilizar la misma cantidad de Medio Agar Sabouraud Dextrosa o Medio Agar Papa

* Se pueden obtener pruebas confirmatorias adicionales utilizando los procedimientos que se establecen en *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 12° Ed. (1975), apartados 46.013-46.026.

ANEXO N° 26
REPORTE DE RESULTADOS DE LA PISCINA OLÍMPICA DEL
COMPLEJO DEPORTIVO DE CIUDAD MERLIOT



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



Ciudad Universitaria, 29 de mayo de 2012

Ingeniero
José Wilfredo Sánchez
Presidente
Federación Salvadoreña de Natación
Presente.

Estimado Ing. Sánchez:

De la manera más atenta me dirijo a usted para saludarle muy cordialmente y a la vez remitir el informe de resultados obtenidos en la investigación denominada: **DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE PISCINAS UBICADAS EN EL COMPLEJO DEPORTIVO DE CIUDAD MERLIOT, Y EL POLIDEPORTIVO DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR DURANTE TRES MESES DEL AÑO 2011**; realizado por los Bachilleres: ENRIQUE JOSE ARAGON DEL VALLE y GUILLERMO EMILIO ALVARENGA MARROQUIN, y para dar cumplimiento a uno de los objetivos propuestos en la investigación se hace entrega del informe de dichos resultados , así como las recomendaciones para que sean consideradas.

Al hacer de su conocimiento lo anterior, le saludo atentamente

" HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA "

Br. ENRIQUE JOSE ARAGON

Br. GUILLERMO EMILIO ALVARENGA


MSc. NORMA ESTHELA MOLINA VELASCO
DOCENTE ASESOR





Institución: INDES
 Procedencia: Piscina Olímpica, Complejo Deportivo de Ciudad Merliot
 Descripción: Agua recolectada de la piscina olímpica
 Fechas de análisis: 10 de mayo, 7 de junio y 12 de julio del 2011
 Fecha de emisión: Martes 10 de julio del 2012



Determinación	Meses			Especificación	Método
	Mayo	Junio	Julio		
Cloro Libre Residual	3.0 ppm	3.0 ppm	3.0 ppm	1.0 - 3.0 ppm Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
pH	7.60	7.60	7.60	7.0 - 8.0 Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
Coliformes totales	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Coliformes fecales	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
<i>Escherichia coli</i>	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1NMP/100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Bacterias Heterótrofas Aerobias	17000 UFC/mL	29000 UFC/mL	1300 UFC/mL	< 200 UFC/mL Guía de la OMS para agua recreacional	Vertido en placa
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	BAM
<i>Enterococcus faecalis</i>	Presente	Presente	Presente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	APHA

Observaciones: El agua no es apta para uso recreativo porque el conteo de bacterias heterótrofas aerobias está fuera del valor recomendado por la guía para aguas recreacionales de la OMS y la presencia de *Enterococcus faecalis* no cumple con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable.
 Sin embargo, el conteo de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* están dentro de los límites máximos establecidos por la NSO 13.07.01:08 para agua potable.
 Se recomienda recircular y filtrar el agua al menos 12 horas diarias.

Br. Enrique José Aragón del Valle
 Analista

Br. Guillermo Emilio Alvarenga Marroquín
 Analista

MSc. Norma Esthela Molina Velásquez
 Revisión



PRESENCIA DE ENTREGA DE MUESTRA
 INGRESO: Mpx Flores
 HORA: 9:47 a.m.
 FECHA: 16/ Julio/12



Institución: INDES
 Procedencia: Complejo Deportivo de Ciudad Merliot, Piscina infantil
 Descripción: Agua recolectada de la piscina infantil
 Fechas de análisis: 10 de mayo, 7 de junio y 12 de julio del 2011
 Fecha de emisión: Martes 10 de julio del 2012



Determinación	Meses			Especificación	Método
	Mayo	Junio	Julio		
Cloro Libre Residual	3.0 ppm	3.0 ppm	3.0 ppm	1.0 - 3.0 ppm Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
pH	7.60	7.60	7.60	7.0 - 8.0 Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
Coliformes totales	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Coliformes fecales	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
<i>Escherichia coli</i>	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Bacterias Heterótrofas Aerobias	1000 UFC/mL	4800 UFC/mL	16000 UFC/mL	< 200 UFC/mL Guía de la OMS para agua recreacional	Vertido en placa
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	BAM
<i>Enterococcus faecalis</i>	Presente	Presente	Presente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	APHA

Observaciones: El agua no es apta para uso recreativo porque el conteo de bacterias heterótrofas aerobias está fuera del valor recomendado por la guía para aguas recreacionales de la OMS y la presencia de *Enterococcus faecalis* no cumple con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable. Sin embargo, el conteo de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* están dentro de los límites máximos establecidos por la NSO 13.07.01:08 para agua potable. Se recomienda recircular y filtrar el agua al menos 12 horas diarias.

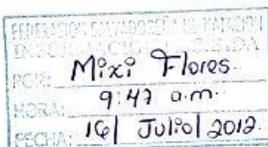
Br. Enrique José Aragón del Valle

Analista

Br. Guillermo Emilio Alvarenga Marroquín

Analista

MSc. Norma Esthela Molina Velásquez
 Revisión



Según los resultados de los análisis del agua de las piscinas del Complejo deportivo de Ciudad Merliot, se hacen las siguientes recomendaciones:

1. Elaborar su propio manual operativo de limpieza y Sanitización, que responda a sus necesidades y sea de fácil comprensión e implementación por parte del personal a cargo del mantenimiento de las piscinas. Para su elaboración, puede tomarse como base manuales de capacitación entregados por sus proveedores de químicos. Los métodos implementados además deberán ser monitoreados para validar su efectividad.
2. Crear un nuevo formato de bitácora de registro, que incorpore el registro de los valores de cloro libre residual y pH tres veces al día todos los días que es lo que recomienda la Guía de la OMS; además utilizar kits colorimétricos para cloro libre residual y pH con escalas de colores que faciliten la lectura de los parámetros. Porque el pH a valores de 7-8 favorece la estabilidad y efectividad antimicrobiana del cloro libre residual en el agua.
3. Realizar monitoreos cada tres meses, realizando un análisis microbiológico y fisicoquímico a muestras del agua, para validar los procesos de limpieza y tratamiento del agua de sus piscinas, que faciliten la implementación de medidas correctivas y preventivas en cuanto a la calidad del agua de uso recreacional, protegiendo de esta manera la salud de los atletas.
4. Recircular y filtrar el agua de 12 a 24 horas como se explica en la Guía de la OMS para aguas recreativas seguras (World Health Organization, Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2, Swimming pools and similar environments). para evitar la excesiva proliferación de ***Enterococcus faecalis*** y otras Heterótrofas aerobias, Además darle un

mantenimiento más frecuente y cuidadoso o cambiar los filtros según la recomendación del proveedor, para que trabajen en óptimas condiciones.

5. Para reducir la entrada de microorganismos a causa de los usuarios, deben solicitar a las personas que hacen uso de las piscinas ducharse antes de entrar al agua.

6. Adquirir un cobertor durable para proteger las piscinas del ambiente mientras estas no se encuentran en uso, ya que las piscinas al aire libre son visitadas por diferentes especies de aves y animales pequeños, a su vez que se ven afectadas por las condiciones del clima, basura, polvo y hojas de árboles que se encuentren cerca de las piscinas.

7. Colocar una trampa de malla a una altura adecuada sobre la piscina para prevenir la entrada de hojas mientras las piscinas se encuentran en uso.

8. Capacitación continúa al personal que realiza la limpieza y Sanitización de las piscinas y proveer el equipo necesario para que puedan registrar los resultados de las mediciones que realizan, o contratar los servicios profesionales de un Licenciado en Química y Farmacia con especialización en microbiología para solventar este problema.

9. Llevar una bitácora en donde se detalle la persona responsable, hora, fecha, cantidad de cloro, carbonato de sodio, floculante y alguicida adicionado a las piscinas, de manera que facilite deducir responsabilidad.

10. Registrar detalladamente del número de personas que asisten a la piscina a diario, ya que a mayor número de atletas en las piscinas, mayor cantidad de materia orgánica es introducida al agua debido a la descamación de la piel.

ANEXO N° 27
REPORTE DE RESULTADOS DE LA PISCINA OLÍMPICA DEL
POLIDEPORTIVO DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



Ciudad Universitaria, 29 de mayo de 2012

Licenciado
Erick Alexander Hernández
Administrador General
Polideportivo
Universidad de El Salvador
Presente.

Estimado Lic. Hernández:

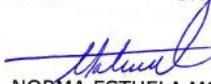
De la manera más atenta me dirijo a usted para saludarle muy cordialmente y a la vez remitir el informe de resultados obtenidos en la investigación denominada: **DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE PISCINAS UBICADAS EN EL COMPLEJO DEPORTIVO DE CIUDAD MERLIOT, Y EL POLIDEPORTIVO DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR DURANTE TRES MESES DEL AÑO 2011**; realizado por los Bachilleres: ENRIQUE JOSE ARAGON DEL VALLE y GUILLERMO EMILIO ALVARENGA MARROQUIN, y para dar cumplimiento a uno de los objetivos propuestos en la investigación se hace entrega del informe de dichos resultados , así como las recomendaciones para que sean consideradas.

Al hacer de su conocimiento lo anterior, le saludo atentamente

" HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA "

Br. ENRIQUE JOSE ARAGON

Br. GUILLERMO EMILIO ALVARENGA


MSc. NORMA ESTHELA MOLINA PLASQUEZ
DOCENTE ASESOR





Institución: Universidad de El Salvador
 Procedencia: Piscina olímpica del Polideportivo de la Universidad de El Salvador
 Descripción: Agua recolectada de la piscina olímpica
 Fechas de análisis: 11 de mayo, 8 de junio y 13 de julio del 2011
 Fecha de emisión: Martes 10 de julio del 2012



Determinación	Meses			Especificación	Método
	Mayo	Junio	Julio		
Cloro Libre Residual	1.5 ppm	1.5 ppm	1.5 ppm	1.0 - 3.0 ppm Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
pH	7.20	7.20	7.20	7.0 - 8.0 Guía de la OMS para agua recreacional	Colorimetría
Coliformes totales	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Coliformes fecales	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
<i>Escherichia coli</i>	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1NMP/ 100mL	<1.1 NMP/100mL NSO13.07.01:08 Para agua potable	Tubos múltiples
Bacterias Heterótrofas Aerobias	23000 UFC/mL	54000 UFC/mL	13000 UFC/mL	< 200 UFC/mL Guía de la OMS para agua recreacional	Vertido en placa
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	USP 30
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	BAM
<i>Enterococcus faecalis</i>	Presente	Presente	Presente	Ausencia NSO13.07.01:08 Para agua potable	APHA

Observaciones: El agua no es apta para uso recreativo porque el conteo de bacterias heterótrofas aerobias está fuera del valor recomendado por la guía para aguas recreacionales de la OMS y la presencia de *Enterococcus faecalis* no cumple con la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 para agua potable. Sin embargo, el conteo de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* están dentro de los límites máximos establecidos por la NSO 13.07.01:08 para agua potable. Se recomienda recircular y filtrar el agua al menos 12 horas diarias.

Br. Enrique José Aragón del Valle
 Analista

 Br. Guillermo Emilio Alvarenga Marroquín
 Analista

MSc. Norma Esthela Molina Velásquez
 Revisión



Universidad de El Salvador
 Complejo Deportivo Universitario
 CORREO: 01101-11000
 Día 13/07/2012
 Hora 8:00 AM.

Según los resultados de los análisis del agua de la piscina del Polideportivo de la Universidad de El Salvador, se hacen las siguientes recomendaciones:

5. Deben solicitar a las personas que hacen uso de las piscinas ducharse

1. Elaborar su propio manual operativo de limpieza y Sanitización, que responda a sus necesidades y sea de fácil comprensión e implementación por parte del personal a cargo del mantenimiento de las piscinas. Para su elaboración, puede tomarse como base manuales de capacitación entregados por sus proveedores de químicos. Los métodos implementados además deberán ser monitoreados para validar su efectividad.
2. Crear un nuevo formato de bitácora de registro, que incorpore el registro de los valores de cloro libre residual y pH tres veces al día todos los días que es lo que recomienda la Guía de la OMS; además utilizar kits colorimétricos para cloro libre residual y pH con escalas de colores que faciliten la lectura de los parámetros. Porque el pH a valores de 7 a 8 favorece la estabilidad y efectividad antimicrobiana del cloro libre residual en el agua.
3. Realizar monitoreos cada tres meses, realizando un análisis microbiológico y fisicoquímico a muestras del agua, para validar los procesos de limpieza y tratamiento del agua de sus piscinas, que faciliten la implementación de medidas correctivas y preventivas en cuanto a la calidad del agua de uso recreacional, protegiendo de esta manera la salud de los atletas.
4. Recircular y filtrar el agua de 12 a 24 horas como se explica en la Guía de la OMS para aguas recreativas seguras (World Health Organization, Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2, Swimming pools and similar environments). para evitar la excesiva proliferación de **Enterococcus faecalis** y otras Heterótrofas aerobias, Además darle un

mantenimiento más frecuente y cuidadoso o cambiar los filtros según la recomendación del proveedor, para que trabajen en óptimas condiciones.

5. Para reducir la entrada de microorganismos a causa de los usuarios, deben solicitar a las personas que hacen uso de las piscinas ducharse antes de entrar al agua.

6. Adquirir un cobertor durable para proteger las piscinas del ambiente mientras estas no se encuentran en uso, ya que las piscinas al aire libre son visitadas por diferentes especies de aves y animales pequeños, a su vez que se ven afectadas por las condiciones del clima, basura, polvo y hojas de árboles que se encuentran cerca de las piscinas.

7. Colocar una trampa de malla a una altura adecuada sobre la piscina para prevenir la entrada de hojas mientras las piscinas se encuentran en uso.

8. Capacitación continúa al personal que realiza la limpieza y Sanitización de las piscinas y proveer el equipo necesario para que puedan registrar los resultados de las mediciones que realizan, o contratar los servicios profesionales de un Licenciado en Química y Farmacia con especialización en microbiología para solventar este problema.

9. Llevar una bitácora en donde se detalle la persona responsable, hora, fecha, cantidad de cloro, carbonato de sodio, floculante y alguicida adicionado a las piscinas, de manera que facilite deducir responsabilidad.

10. Registrar detalladamente del número de personas que asisten a la piscina a diario, ya que a mayor número de atletas en las piscinas, mayor cantidad de materia orgánica es introducida al agua debido a la descamación de la piel.