

**UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA  
SEDE CONCEPCIÓN “REY BALDUINO DE BÉLGICA”**

**DETECCIÓN DE “*ESCHERICHIA COLI*”, EN JUGO DE COCCIÓN  
DE MOLUSCOS BIVALVOS**

Trabajo de Titulación para optar al Título de Técnico  
Universitario en QUÍMICA MENCION INDUSTRIAL

Alumna: Carolina Izamar Velozo Onetto

Profesor guía: Rafael Solar Arcos

Profesoras correfentes: Ximena Romo Marty

Pamela Fernández

2018

El trabajo recogido en la presente memoria ha sido llevado a cabo en la Unidad de Bioensayos del Departamento de Química y Medio Ambiente de la Universidad Técnica Federico Santa María, Sede Concepción, bajo la dirección de la Dra. Ximena Romo Marty, con financiamiento del Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico, FONDEF (IDeAS ID15I10523).

“Lo importante es no dejar de hacerse preguntas”

Albert Einstein

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi gran familia, sin ustedes no sería quien hoy soy, los amo. Silvana, Claudio, Lleyssy, Bastián, Fernanda, Alicia y Franco por su constante apoyo, amor y comprensión, son mi pilar, Especialmente te agradezco a ti hermanita, gracias por tu comprensión y compañía, por estar siempre en los momentos difíciles, alentándome, sobre todo en aquellas largas noches de estudio, por la energía cuando he estado cansada, por no dejarme sola y por miles de situaciones que me has ayudado a superar.

Gracias a mis amigos de la clase por hacer un poco más agradable el estudiar y darnos animo a seguir, sobre todo a ti ale.

Gracias profesoras por inspirarme a crecer y aprender más, Lorena y Fabiola, profesor Luis por la constante disposición a entregar su conocimiento, a mis profesoras correferentes por la ayuda, conocimiento y disposición Ximena y Pamela.

A ti compañero de aventuras y amigo adorado Andrés, por la preocupación, cariño y apoyo.

En general gracias a todos los que pasaron por mi vida en estos cuatro años, he hicieron que la universidad fuera algo que siempre recordare con cariño.

## RESUMEN

La estimación del número de bacterias se utiliza con frecuencia como evaluación retrospectiva de la calidad microbiológica, o para evaluar la presunta “inocuidad” en productos alimentarios, cosméticos y dermatológicos. Este procedimiento requiere que se tomen muestras, se realicen ensayos o análisis microbiológicos y se evalúen los resultados, por comparación con criterios microbiológicos ya establecidos, por la normativa chilena vigente.

El presente trabajo busca detectar principalmente la presencia de microorganismos *Escherichia coli*, en jugo de cocción de moluscos bivalvos, de una industria pesquera de la Octava Región.

El jugo de cocción de mariscos corresponde a un subproducto del proceso industrial de fabricación de conservas de mariscos para exportación de esta empresa, considerado como un residuo por la misma, sin embargo, puede ser un subproducto de alto valor agregado para la industria cosmética, nutricional y dermatológica, por su alto contenido de aminoácidos solubles, por lo que resulta esencial determinar los microorganismos presentes en él.

## **ABSTRACT**

The estimation of the number of bacteria is frequently used as a retrospective evaluation of the microbiological quality, or to evaluate the presumed "harmlessness" in food, cosmetics and dermatological products. This procedure requires that samples be taken, tests or microbiological tests performed, and the results evaluated, by comparison with established microbiological criteria, by the current Chilean regulations.

The present work seeks to detect mainly the presence of microorganisms *Escherichia coli*, in cooking juice of bivalve molluscs, of a fishing industry of the Eighth Region.

The seafood cooking juice, corresponds to a by-product of the industrial process of manufacturing seafood preserves for export of this company, considered as a waste by it, however, it can be a by-product of high added value for the cosmetic industry, nutritional and dermatological, for its high content of soluble amino acids, so it is essential to determine the microorganisms present in it.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	2
OBJETIVO GENERAL .....	2
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	2
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO .....	3
1.1 Alcance del proyecto .....	4
1.1.1 Antecedentes del proyecto.....	4
1.2 Moluscos bivalvos .....	4
1.2.1 Navaja.....	6
1.2.2 Navajuela.....	7
1.2.3 Taquilla.....	7
1.2.4 Fondos arenosos y fangosos .....	8
1.3 Microorganismos presentes en moluscos bivalvos .....	9
1.3.1 <i>Coliformes</i> .....	9
1.3.2 <i>Escherichia coli</i> .....	10
1.4 Efectos de los microorganismos en la salud.....	11
1.4.1 <i>Coliformes</i> .....	12
1.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....	12
1.5 Riesgo biológico: Evaluación y prevención en trabajo con cultivos de microorganismos .....	13
1.5.1 Principales riesgos biológicos .....	13
1.5.2 Evaluación de riegos microbiológicos .....	13
1.5.3 Condiciones de trabajo .....	14
1.6 Tipos y funciones de los medios de cultivos.....	14
Medios nutritivos o Medios comunes .....	14
Medios de enriquecimiento .....	14
Medios selectivos .....	15
Medios inhibidores .....	15
Medios diferenciales.....	15
Medios de identificación .....	15
Medios de multiplicación .....	15
Medios líquidos .....	15
Medios Sólidos .....	15
Medios semisólidos .....	16
Medios complejos o naturales .....	16
Medios sintéticos o químicamente definidos .....	16
Medios semisintéticos o complejos .....	16
Medios de conservación .....	16
1.7 Pruebas bioquímicas.....	16
1.7.1 Prueba catalasa .....	17
1.7.2 Prueba rojo de metilo .....	17
1.7.3 Prueba ureasa.....	17
1.8 Caracterización de los medios usados .....	17
1.8.1 Agar RAPID´E.COLI 2 .....	17

1.8.2 Agar <i>Salmonella</i> – <i>Shigella</i> .....	18
1.9 Filtraciones .....	18
1.9.1 Microfiltración.....	19
1.9.2 Ultrafiltración .....	19
1.9.3 Nanofiltración.....	20
1.9.4. Osmosis inversa.....	20
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y MATERIALES .....	22
2.1 Análisis microbiológico de muestras.....	23
2.2 Análisis macroscópico de muestras .....	23
2.3 Análisis microscópico en muestras.....	23
2.3.1 Morfología bacteriana.....	23
2.3.2 Agrupaciones bacterianas y tinción Gram.....	24
2.4 Principales equipos y materiales utilizados .....	25
Microscopio óptico compuesto.....	26
Micropipetas .....	26
Incubadora de CO <sub>2</sub> .....	27
Placas petri.....	27
Asa en argolla .....	28
Mechero bunsen.....	28
Agitador de tubos vortex .....	29
Desionizador de agua.....	29
Frigorífico o Cámaras refrigeradas.....	30
Autoclave.....	31
2.5 Mantenimiento de los cultivos.....	31
2.5.1 Infraestructura y material de cultivo.....	31
Equipamiento.....	31
Medios y suplementos .....	31
2.5.2 Condiciones de cultivo .....	32
Prueba catalasa .....	33
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y CONCLUSIONES .....	34
3.1 Análisis macroscópico de las muestras (Navaja) .....	35
3.2 Análisis macroscópico de las muestras (Navajuela).....	38
3.3 Análisis macroscópico de las muestras (Taquilla).....	39
3.4 Análisis microscópico en muestras (Tinción Gram) .....	41
3.5 Análisis microscópico en muestras (Morfología Bacteriana).....	43
3.6 Control positivo – negativo Agar “RAPID <i>E.coli</i> 2” .....	44
CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
ANEXOS .....	48
GLOSARIO DE TERMINOS.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Morfología moluscos bivalvos. ....	5
Figura 2: Floración Algal. ....	6
Figura 3: Microalgas tóxicas presentes en muestra de agua en Chiloé. ....	6
Figura 4: Navaja de mar. ....	7
Figura 5: Navajuela de mar. ....	7
Figura 6: Taquilla de mar. ....	8
Figura 7: Zonación de la zona intermareal. ....	8
Figura 8: Fondo arenoso. ....	9
Figura 9: Fondo fangoso. ....	9
Figura 10: Morfología de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , género que forma el grupo <i>coliforme</i> , cultivo agar sangre, cápsula que rodea al bacilo Gram negativo, microscopia electrónica. ....	10
Figura 11: Morfología de <i>Escherichia coli</i> , tinción Gram, estructura, microscopia electrónica. ....	11
Figura 12: Medios de cultivo. ....	14
Figura 13: Lectura de placas <i>E. coli</i> colonias violeta; <i>Coliformes</i> colonias turquesa. ....	18
Figura 14: Respuesta agar <i>Salmonella - Shigella</i> . ....	18
Figura 15: Representación esquemática de la filtración. ....	19
Figura 16: Representación esquemática de la Microfiltración. ....	19
Figura 17: Representación esquemática de la Ultrafiltración. ....	20
Figura 18: Representación esquemática de la Nanofiltración. ....	20
Figura 19: Representación esquemática de la Osmosis Inversa. ....	21
Figura 20: Representación esquemática de la morfología colonial bacteriana. ....	24
Figura 21: Representación esquemática del procedimiento de tinción Gram. ....	24
Figura 22: Representación esquemática de los tipos y agrupaciones de bacterias. ....	25
Figura 23: Representación de un microscopio óptico compuesto Carl Zeiss. ....	26
Figura 24: Representación de micropipetas. ....	26
Figura 25: Representación de incubadora de CO <sub>2</sub> . ....	27
Figura 26: Representación de placas Petri. ....	28
Figura 27: Representación de asa en argolla. ....	28
Figura 28: Representación de un mechero Bunsen. ....	29
Figura 29: Representación de un agitador de tubos vortex. ....	29
Figura 30: Representación de un desionizador de agua. ....	30
Figura 31: Representación de un frigorífico o cámara refrigerada. ....	30
Figura 32: Representación de autoclave. ....	31
Figura 33: Representación esquemática de procedimiento. ....	32
Figura 34: Medio Rapid' <i>E. coli</i> 2. ....	33
Figura 35: Prueba catalasa a colonia coliforme. ....	33
Figura 36: Especificaciones técnicas de Incubadora CO <sub>2</sub> . ....	50
Figura 37: Especificaciones técnicas de Sistema desionizador de agua. ....	51

Figura 38: Especificaciones técnicas de Autoclave. ....52

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Datos del análisis macroscópico de las muestras de navaja. ....	37
Tabla 2: Datos del análisis macroscópico de las muestras de navajuela.....	39
Tabla 3: Datos del análisis macroscópico de las muestras de taquilla. ....	41
Tabla 4: Datos de análisis microscópico en muestras; Tinción Gram. ....	42
Tabla 5: Datos de análisis microscópico en muestras; Morfología bacteriana, a partir de agar Rapid' <i>E. Coli</i> 2.....	44
Tabla 6: Datos control positivo – negativo agar “RAPID' <i>E.coli</i> 2” .....	45
Tabla 7: Requisitos de calidad y muestreo según NCh409.....	48

## **ABREVIATURAS**

- **NTV.** Unidades nefelométricas de turbiedad.
- **mL.** mililitro.
- **g.** gramos.
- **Col.** Colonias coliformes totales.
- **mg.** miligramos.
- **UC.** Unidad de color.
- **UFC.** Unidades formadoras de colonias.

## **INTRODUCCIÓN**

A lo largo de la historia de la industria se han generado RILES, los cuales son las aguas de desecho generadas como resultado de un proceso. Un RIL se considera contaminante, cuando contiene elementos físicos, compuestos químicos o especies biológicas fuera de los rangos establecidos por la legislación vigente.

La principal importancia de este estudio nace de un problema, el exceso de residuos líquidos industriales (RILES), provenientes de la industria pesquera, he aquí la solución ante dicha cuestión, esta iniciativa aprovecha los desechos para producir un concentrado de alto valor agregado en la industria dermatológica, cosmética y alimenticia; lo que conlleva a un punto no menos importante, el cual es la inocuidad de la materia prima, esta al ser manipulada por diversas personas e instrumentos entre otros, suele contaminarse, lo que no corresponde, pues para ser utilizada no debe contener estos microorganismos patógenos, ya que son dañinos para el ser humano, causando graves problemas a nuestro organismo, es por esto que se aplican normas nacionales e internacionales para aguas, alimentos, cosméticos, entre otros que así lo requieren.

Un principal ejemplo es la ISO 22000, esta norma es un estándar desarrollado por la organización internacional de normalización, sobre la seguridad alimentaria durante el transcurso de toda la cadena de suministro. Define los requisitos que debe cumplir un sistema de gestión de seguridad alimentaria para asegurar la inocuidad de los alimentos a lo largo de toda la cadena desde la “granja hasta el tenedor”.

El reglamento sanitario de los alimentos, relacionado a lo mismo, publicado por el Ministerio de Salud (Chile), decreto N°977/96 que establece las condiciones sanitarias, a las cuales deberá ajustarse la producción, importación, elaboración, envase, almacenamiento, distribución y venta de alimentos para uso humano, con el objeto de proteger la salud y nutrición de la población, además de garantizar el suministro de alimentos sanos e inocuos.

También el reglamento del sistema nacional de control de cosméticos, publicado por el Ministerio de salud (Chile) (Anexo 3), decreto N°239/02, la norma decreto supremo N° 90/2000 para regular la emisión de descargas de residuos líquidos a cuerpos o masas de aguas (Anexo 1), norma chilena control de calidad del agua potable NCH 409/01 (Anexo 2). Normas, leyes, reglas realmente importantes que se deben llevar a cabo para el buen uso de recursos y/o productos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Estudiar los microorganismos presentes en moluscos bivalvos.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Analizar la presencia o ausencia de microorganismos "*Escherichia coli*", en líquidos de cocción.
- Realizar una revisión bibliográfica acerca de las técnicas microbiológicas para detectar "*Escherichia coli*" en jugos de cocción de mariscos.

# **CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO**

## 1.1 Alcance del proyecto

Esta memoria tiene como finalidad la detección de “*Escherichia coli*” en jugo de cocción de moluscos bivalvos.

Está enmarcada dentro del proyecto FONDEF IDeAS ID15I10523, que tiene como título: *Desarrollo y evaluación de extractos funcionales con propiedades celulares antioxidantes, de osmorregulación y de protección UV, mediante fraccionamiento con procesos de membrana de los residuos de la industria conservera de mariscos*. El proyecto consiste en la elaboración de un extracto proveniente de líquidos de cocción de la industria conservera de mariscos, el cual será utilizado como un insumo dermatológico anti-edad y protector UV, debido a la composición química que este tiene. Por esta razón es que es de gran importancia la detección y eliminación de agentes patógenos. [1]

### 1.1.1 Antecedentes del proyecto

Teniendo en cuenta las problemáticas que existen en torno a los subproductos de la industria pesquera, es de vital importancia generar nuevas alternativas de productos que generen un valor económico, aún más importante generar alternativas que beneficien el medio ambiente y contrarresten el daño ya hecho en el planeta.

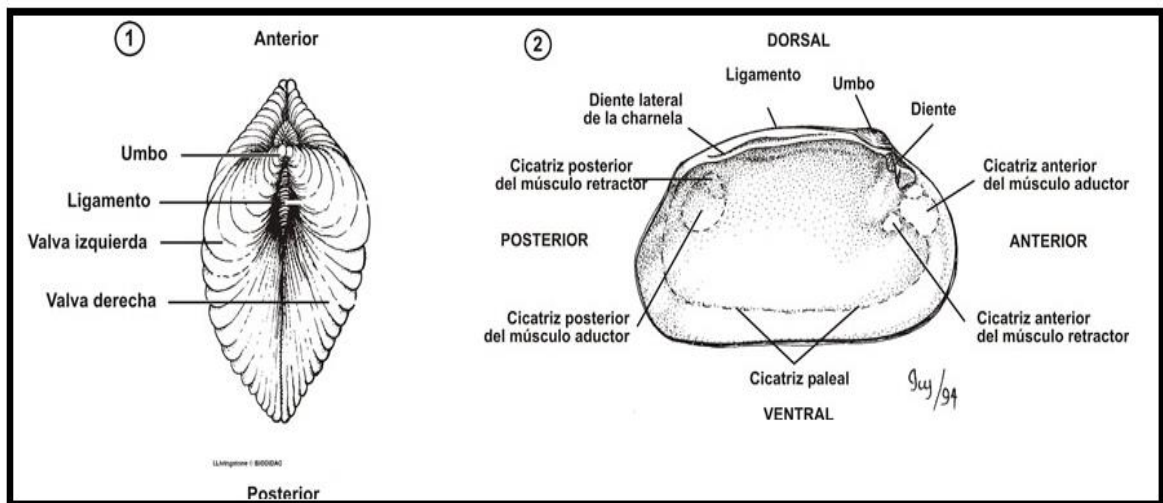
A partir de la década de los noventa, en todo el mundo se comienza a exigir una óptima condición sanitaria para todos los productos que ingresan a países como Estados Unidos, Canadá y también a grandes conglomerados de países importadores como la comunidad europea, MERCOSUR, etc. Estos mayores requerimientos hacen que empresas como el servicio nacional de la pesca (SERNAPESCA) en Chile tengan un mayor control sanitario de estos productos.

## 1.2 Moluscos bivalvos

Los bivalvos, son un conocido grupo al que pertenecen especies tan importantes como almejas y mejillones. Se caracterizan por tener el cuerpo aplanado lateralmente y tener dos conchas unidas en el dorso que cubren por completo el cuerpo del animal. El pie también es aplanado y en forma de hacha, el cual lo emplean para excavar generalmente en fondos arenosos o fangosos donde viven enterradas la mayor parte de las especies. La cabeza está poco desarrollada, al contrario de la cavidad paleal, que es la más grande y espaciosa de todos los moluscos; en ella están las branquias, de gran tamaño por lo general y que sirve para el intercambio gaseoso y también muchas veces se emplean como filtros para recoger el alimento en suspensión.

La estructura de la concha consta de las dos valvas similares entre sí, ovaladas y convexas, unidas por una banda no calcificada llamada ligamento que está formada por una proteína elástica. La zona de articulación de la concha o charnela, adicionalmente al ligamento

tiene una serie de dientes y acanaladuras que encajan en otros de la otra valva cuya función es evitar el desplazamiento de una valva sobre la otra. La parte dorsal tiene una protuberancia llamada umbo, esta es la parte más vieja de la misma.



**Figura 1: Morfología moluscos bivalvos.**

**Fuente:** <https://www.asturnatura.com/moluscos/bivalvos.html>

Los moluscos bivalvos constituyen un grupo de recursos considerados de riesgo para la salud pública, debido a su capacidad para acumular toxinas marinas ante la presencia de un fenómeno de marea roja, la que normalmente se entiende como un fenómeno natural provocado por el incremento numérico de alguna o algunas microalgas en el agua, las que al ser el alimento de organismos marinos, como los moluscos bivalvos, pueden provocar daños en la salud de las personas que los consumen, además de pérdidas económicas para la acuicultura y la actividad extractiva.

En el mar, las microalgas, constituyen la base de la cadena alimentaria. Bajo ciertas condiciones ambientales, como temperatura del agua, salinidad, luminosidad y disponibilidad de nutrientes, éstas proliferan en forma explosiva, provocando un fenómeno que se conoce con el nombre de Floraciones Algales o “Bloom”, los que, generalmente, son beneficiosos para la vida marina.

Las floraciones pueden provocar grandes cambios en la coloración del agua, debido a que las microalgas poseen pigmentos (que les permiten realizar la fotosíntesis), tornando las aguas a colores rojo, amarillo, verde o café. Por esta razón, estos fenómenos son conocidos mundialmente como “mareas rojas”.

En algunos casos, las Floraciones Algales son provocadas por microalgas consideradas dañinas, provocando un fenómeno denominado “Floraciones Algales Nocivas” (FAN). Estas floraciones pueden ser consideradas como tóxicas o no tóxicas.

El tipo No Tóxico, corresponde a floraciones de microalgas que, debido a su repentino incremento numérico, afectan la disponibilidad y/o captación de oxígeno, provocando eventos de mortalidad en peces y otros organismos.

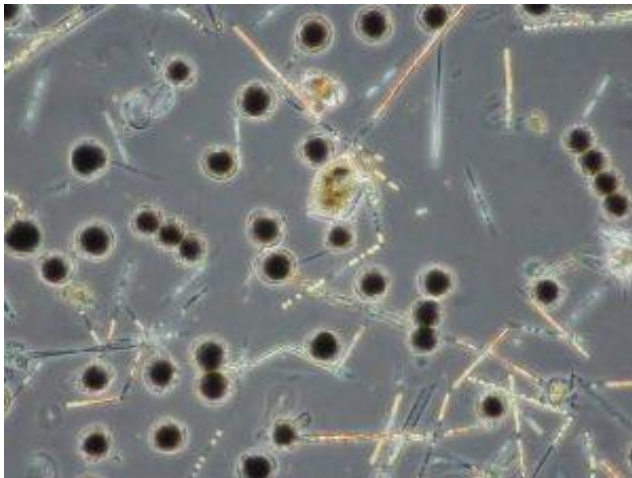
El tipo Tóxico, corresponde a floraciones de microalgas que en su metabolismo generan sustancias altamente tóxicas, conocidas con el nombre de toxinas marinas.

Las FAN pueden provocar intoxicaciones en los seres humanos y animales susceptibles a través del efecto de las toxinas producidas en el metabolismo de microalgas específicas. En Chile se han descrito la presencia de las siguientes toxinas, Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM), Veneno Amnésico de los Mariscos (VAM) y Biotoxinas Marinas Lipofílicas (conocidas anteriormente como Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM)).



**Figura 2: Floración Algal.**

**Fuente:** [http://labtox.cl/?page\\_id=42](http://labtox.cl/?page_id=42)



**Figura 3: Microalgas tóxicas presentes en muestra de agua en Chiloé.**

**Fuente:** [http://labtox.cl/?page\\_id=42](http://labtox.cl/?page_id=42)

### 1.2.1 Navaja

Huepo, navaja de mar, esparrago de mar, nombre científico “*Ensis macha*”, este molusco habita fondos blancos arenosos o fangosos, desde el submareal somero, hasta profundidades de 20 m. Se distribuye entre las regiones III y XII de Chile. [2]



**Figura 4: Navaja de mar.**

**Fuente:** <http://www.subpesca.cl/portal/616/w3-article-817.html>

### 1.2.2 Navajuela

Berberecho, nombre científico "*Tagelus dombeii*", habita fondos de igual descripción que la navaja, aunque a una profundidad cercana a los 15 m. Se distribuye en las regiones I y X de Chile. [2]



**Figura 5: Navajuela de mar.**

**Fuente:** <http://www.subpesca.cl/portal/616/w3-article-822.html>

### 1.2.3 Taquilla

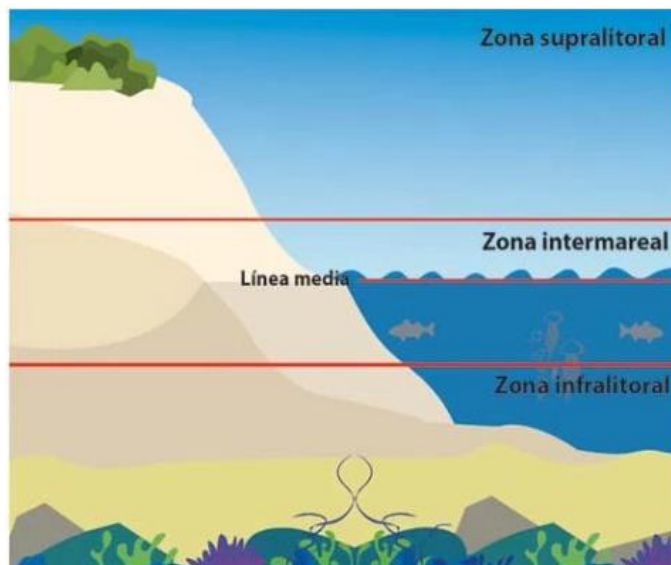
Almeja dulce, nombre científico "*Mulinia edulis*", habita fondos arenosos desde la zona intermareal, hasta profundidades de 40 m. Se distribuye a lo largo de toda la costa chilena. [2]



**Figura 6: Taquilla de mar.**

**Fuente:**

<http://www.turismocientifico.cl/admin/apps/filemanager/repository/áreas%20del%20conocimiento/Fauna%20y%20dinámicas%20poblacionales/Fauna%20Marina/Moluscos%20marinos%20de%20Chile%20especies%20de%20importancia%20económica%20-%20C.%20Osorio.pdf>



**Figura 7: Zonación de la zona intermareal.**

**Fuente:** <https://allyouneedisbiology.wordpress.com/tag/zona-infralitoral/>

#### 1.2.4 Fondos arenosos y fangosos

Los Ecosistemas Litorales de Fondos Arenosos y Fangosos son áreas de acumulación de sedimentos con alta energía por aportes o deposiciones alóctonos, no son sustratos estables para productores primarios, pero acogen biomásas significativas de filtradores. La biodiversidad de estos fondos es mayor que la de medios pelágicos (“mar abierto”) adyacentes por la función estabilizadora del sustrato (receptor y acumulador de materia orgánica). También aumenta la biodiversidad con la profundidad.



*Figura 8: Fondo arenoso.*

*Fuente: [https://www.ecured.cu/Fondos\\_arenosos](https://www.ecured.cu/Fondos_arenosos)*



*Figura 9: Fondo fangoso.*

*Fuente: <http://www.mapama.gob.es/es/parques-nacionales-oapn/centros-fincas/chafarinas/torre-conquista.aspx>*

### 1.3 Microorganismos presentes en moluscos bivalvos

Los moluscos bivalvos representan un tipo de productos de la pesca que por sus características particulares requieren aspectos de control sanitario especiales.

Se alimentan filtrando el agua durante las mareas altas, concentrando de este modo los contaminantes que se hallan en el agua, los fangos y lodos que habitan. Los principales peligros a los que pueden estar expuestos son los virus, biotoxinas marinas, contaminantes químicos y numerosas bacterias, como la *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Aeromonas*, *Clostridium*, *Vibrios*, *Parahaemolyticus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Flexibacter*, *Escherichia coli*, *Coliformes totales*, entre muchas más. [3]

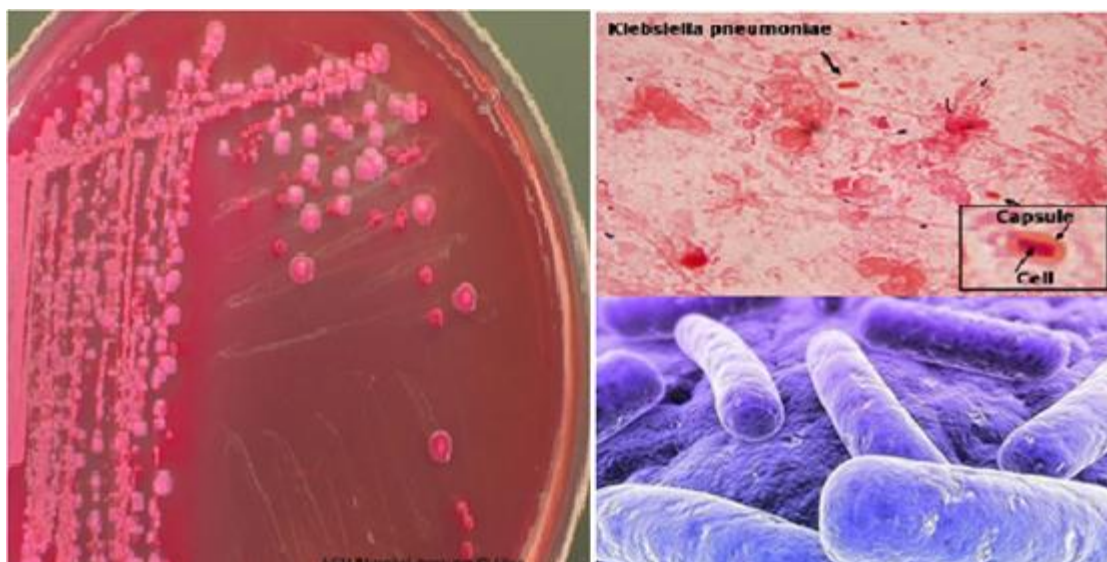
#### 1.3.1 Coliformes

Bacteria *coliforme* es un nombre genérico para una variedad de bacterias que incluye a las *coliformes fecales* y a *E. coli*. Por lo general las bacterias entran al sistema de agua potable

a través de tuberías quebradas o por los pozos. La presencia de bacterias *coliformes* no significa necesariamente que haya bacterias *coliformes fecales* o *E. coli*, pero es necesario realizar análisis para verificar si hay un problema. Las *coliformes fecales* y la *E. coli* son bacterias más peligrosas que proceden de los excrementos de los animales y los seres humanos, por lo general, a través de sistemas sépticos mal mantenidos o construidos, de grietas en las tuberías de aguas negras o de excrementos de animales en la proximidad de una fuente de agua

La mayoría de los tipos de bacterias coliformes son inofensivos para los humanos, pero algunas pueden causar enfermedades leves y algunas pueden dar lugar a enfermedades transmitidas por el agua graves.

La exposición a las bacterias presentes en el agua se produce principalmente por beber agua contaminada o por tomar agua accidentalmente al bañarse o cepillarse los dientes. La exposición puede también ocurrir por comer alimentos de un plato que aun esté húmedo después de haber sido lavado recientemente, por el hielo y por consumir frutas y verduras crudas que han sido lavadas con agua contaminada.



**Figura 10: Morfología de *Klebsiella pneumoniae*, género que forma el grupo coliforme, cultivo agar sangre, cápsula que rodea al bacilo Gram negativo, microscopia electrónica.**

**Fuente: Elaboración propia**

### 1.3.2 *Escherichia coli*

Esta también conocida por su abreviación *E. coli*, es un bacilo gramnegativo de la familia de las *enterobacterias*. Es capaz de crecer en medio aerobios y anaerobios, preferentemente a 37°C, tiene formas sin movilidad y móviles, estas últimas con flagelos, bacteria no esporulada.

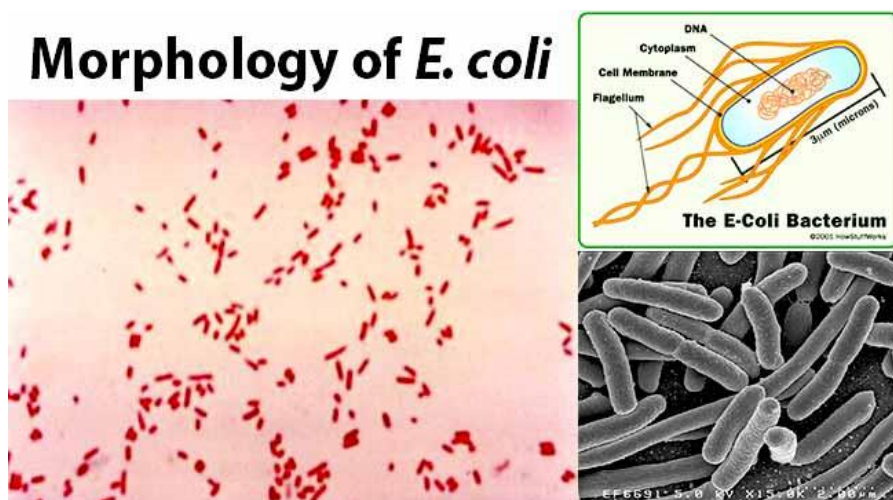
Principalmente se encuentran en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente, en individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la microbiota intestinal, ayudando así a la absorción de nutrientes. No obstante,

estas cepas comensales pueden producir infecciones en el paciente inmunodeprimido. Las cepas patógenas de *E. coli*, por el contrario, en cuanto colonizan un huésped sano, pueden producir infecciones de diversa severidad en el intestino, las vías urinarias, meningitis, sepsis, entre otras infecciones.

Estas cepas pueden ser portadas por animales, tales como las aves de crianza, cerdos, ganado vacuno, animales de compañía, de tal forma que la enfermedad extraintestinal puede ser adquirida por el contacto con estos animales o sus subproductos.

*Coli* es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular, fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli commune*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor.

Estas cepas pueden ser portadas por animales, tales como las aves de crianza, cerdos, ganado vacuno, animales de compañía, de tal forma que la enfermedad extraintestinal puede ser adquirida por el contacto con estos animales o sus subproductos. Una cepa en particular produce brotes de enfermedad relevantes en la industria de las aves, y se denomina APEC.



*Figura 11: Morfología de Escherichia coli, tinción Gram, estructura, microscopía electrónica.*

*Fuente: Elaboración propia*

#### 1.4 Efectos de los microorganismos en la salud

La gran mayoría de los microorganismos juegan papeles muy importantes en la salud de prácticamente todos los animales y de la tierra. Por ejemplo, muchos microbios viven normalmente en nuestro intestino y son muy importantes para nuestra salud, no obstante, muchos de ellos pueden causar enfermedades a las personas, mascotas, animales salvajes y plantas.

Algunas enfermedades causadas por microorganismos han sido un desastre para la humanidad desde tiempos inmemoriales, como la peste negra, la viruela y la tuberculosis. Los microorganismos que nos enferman se conocen como microorganismos patógenos.

[4]

#### 1.4.1 Coliformes

Que el agua o alimentos estén contaminados con bacterias *coliformes* no siempre es causa de enfermedad. La mayoría de estas bacterias son inofensivas para los seres humanos. Si las bacterias que causan enfermedades están presentes, los síntomas más comunes son similares a la gripe estomacal y generales gastrointestinales tales como fiebre, dolor abdominal y diarrea. Lo más probable es en los niños o los miembros del hogar mayores. En algunos casos, los residentes de hogares adquieren inmunidad a las bacterias transmitidas por el agua que son bastante comunes en el agua potable; No siendo el caso de personas que no tengan contacto directo constante. Dado que los síntomas de agua potable con bacterias coliformes son comunes a muchas enfermedades humanas. [5]

#### 1.4.2 *Escherichia coli*

Cuando *E. coli* existe en cantidades normales, ayuda a mantener a otras bacterias (a menudo más peligrosas) bajo control, en el intestino. Cuando la gente recibe antibióticos indiscriminadamente, las bacterias en el intestino se reducen y aquellas que producen enfermedades, liberadas, pueden obtener la ventaja. La *E. coli* también participa en el proceso de producción de las vitaminas B-12 y K en cantidades suficientes para ser valiosas si la dieta es deficiente. La variedad de estos microorganismos ha causado problemas en el pasado y en el presente, es una de al menos seis particularmente virulentas, capaces de causar serias enfermedades. Su nombre oficial es *E. coli* 0157:H7, pero por simplicidad la llaman germen malo. En el intestino, la toxina producida por éste puede pasar al riñón produciendo nefritis o aparecer en las heces después de atravesar la cubierta intestinal. Este germen malo puede sobrevivir a temperaturas de refrigerador y congelador. Una vez que la bacteria llega a los alimentos, se multiplica lentamente, incluso a temperaturas tan bajas como 44 grados Fahrenheit. Aparentemente se necesita nada más una muy pequeña cantidad de este microorganismo particularmente malo para causar una seria enfermedad y puede contaminar cualquier alimento. La mayoría de los casos reportados están asociados con carnes mal cocinadas, a veces con leche, agua contaminada y vegetales cultivados con abono bovino. En la carne molida, esta dañina bacteria, que a veces está en la superficie, se mezcla por toda la masa durante el proceso de molido. La cocción mata a este patógeno pero los alimentos deben superar los 100 grados centígrados; y las sobras deben recalentarse a temperatura similar. Por supuesto, es más difícil saber lo que uno está comiendo cuando anda fuera de casa. Las bacterias también pueden pasarse de persona a persona o a través de contaminación cruzada de alimento en alimento. Por ejemplo: cuando las manzanas caen de un árbol y el suelo sobre el que caen ha estado contaminado por heces animales o fertilizante, pueden adquirir la bacteria. Si las manzanas no se lavan ni se cepillan antes de procesarse, pueden contaminarse, y llegar al consumidor. [6]

## 1.5 Riesgo biológico: Evaluación y prevención en trabajo con cultivos de microorganismos

Para el manejo seguro de los cultivos de microorganismos es necesaria una valoración adecuada de los riesgos o peligros, una buena organización de trabajo y la aplicación de una serie de metodologías y técnicas cuyo objetivo es evitar la contaminación, pero todo ello tiene que integrarse en el contexto de un adecuado diseño de la estructura general del laboratorio. Este conjunto resultará determinante en el éxito del desarrollo del cultivo.

### 1.5.1 Principales riesgos biológicos

Los principales contaminantes son otras bacterias y hongos. Esta contaminación puede provenir de la fuente (jugo de cocción) o bien producirse en el proceso de cultivo o en su manipulación, por el empleo de reactivos biológicos contaminados, material contaminado o por el ambiente de trabajo. Por lo que es de suma importancia manipular los cultivos en una zona desinfectada y utilizar material, reactivos y medios de cultivo esterilizados mediante autoclave o filtración.

La característica principal que define al laboratorio de cultivo de microorganismos es el mantenimiento de la asepsia. Es por ello, que para el mantenimiento del cultivo será vital evitar la aparición en éste de cualquier microorganismo indeseado.

### 1.5.2 Evaluación de riesgos microbiológicos

El pilar de la práctica de la bioseguridad es la evaluación del riesgo. Aunque existen muchas herramientas para ayudar a evaluar el riesgo que comporta un procedimiento o un experimento determinado, el componente más importante es el juicio profesional. Las evaluaciones del riesgo deben ser efectuadas por las personas que mejor conozcan las características peculiares de los organismos con los que se va a trabajar, el equipo y los procedimientos que van a emplearse. El director o investigador principal del laboratorio es el responsable de asegurar que se realicen de modo oportuno las evaluaciones del riesgo más apropiadas y de colaborar estrechamente con el comité de seguridad y el personal de bioseguridad del laboratorio con el fin de velar por que se disponga del equipo y los medios apropiados para el trabajo que está previsto llevar a cabo.

Una vez terminadas, las evaluaciones del riesgo deben ser consultadas periódicamente y revisadas cada vez que sea preciso, teniendo en cuenta la obtención de nuevos datos que tengan alguna influencia en el grado de riesgo y toda nueva información pertinente que aparezca en las publicaciones científicas.

Sobre la base de la información obtenida durante la evaluación de riesgos, se podrá asignar un nivel de bioseguridad al trabajo previsto, seleccionar el equipo de protección apropiado para el personal, y elaborar procedimientos normalizados de trabajo que incorporen otras intervenciones de seguridad con el fin de velar por la máxima seguridad en la realización del trabajo. [7]

### 1.5.3 Condiciones de trabajo

Finalmente, en la evaluación de riesgos hay que tener en cuenta la posibilidad de dispersión del material infeccioso y de exposición del trabajador en función de las características del trabajo como: procedimientos y técnicas utilizadas, equipos y material que se va a utilizar y cantidad o concentración del agente infeccioso, etc. Con toda la información recogida se determinará el nivel de bioseguridad necesario para el trabajo en laboratorio con cultivos de microorganismos. [7]

### 1.6 Tipos y funciones de los medios de cultivos

Dependiendo de la fuente de carbono que utilizan, los microorganismos se pueden clasificar en autótrofos si es el CO<sub>2</sub> atmosférico (microorganismos que fotosintetizan) y heterótrofos si utilizan carbono orgánico.

Un microorganismo necesita para crecer nutrientes que le aporten energía y elementos químicos para la síntesis de sus constituyentes celulares. He aquí donde surgen los medios de cultivo, estos le aportan lo necesario, además de la obtención de información acerca de la bacteria infectante, necesidades especiales, etc.



**Figura 12: Medios de cultivo.**

*Fuente: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.cl/2014/09/tipos-y-funciones-de-los-medios-de.html>*

#### Medios nutritivos o Medios comunes

Poseen los componentes mínimos para que pueda producirse el crecimiento de bacterias que no necesiten requerimientos especiales. El medio más conocido de este grupo es el Agar Nutritivo o Agar Común, que resulta de la adición de Agar al Caldo Nutritivo.

#### Medios de enriquecimiento

Incorporan una serie de factores que resultan indispensables para el crecimiento de microorganismos exigentes. Este enriquecimiento se hace por adición de sangre u otros productos biológicos que aportan dichos factores. En ocasiones es posible añadir suplementos artificiales a los medios para producir un enriquecimiento de estos. Ejemplo de este tipo es el Agar Chocolate.

### Medios selectivos

Utilizados para favorecer el crecimiento de ciertas bacterias contenidas en una población polimicrobiana. El fundamento de estos medios consiste en facilitar nutricionalmente el crecimiento de una población polimicrobiana específica. Un ejemplo de estos medios es el Caldo Selenito.

### Medios inhibidores

Sustancias añadidas a un medio selectivo impiden totalmente el crecimiento de una población microbiana, se denomina inhibidor. Estos medios podrían considerarse como una variante más restrictiva de los medios selectivos. Como ejemplo de este tipo de medios es el MacConkey.

### Medios diferenciales

Se utilizan para poner en evidencia características bioquímicas que ayuden a diferenciar géneros o especies. Algunos ejemplos de este tipo de medios de cultivo son el C.L.E.D. (lactosa +/lactosa -), el SS (que es doblemente diferencial).

### Medios de identificación

Destinados a comprobar alguna cualidad específica que puede servir para reconocer la identidad de un microorganismo. Estos medios deben poseer los elementos necesarios para asegurar el crecimiento de microorganismos, el sustrato específico que vaya a ser metabolizado y el indicador que nos muestre el resultado. Ejemplos de estos medios es el Agar Kligler y Simmons.

### Medios de multiplicación

Sirven para obtener una gran cantidad de células a partir de un microorganismo ya aislado. El caldo infusión cerebro corazón (BHI), es un ejemplo típico de estos medios. Se emplean en la obtención de vacunas, en la investigación y en la industria.

### Medios líquidos

Se presentan en este estado, denominándose por esta razón caldos. El más utilizado es el llamado caldo nutritivo, compuesto principalmente de extracto de carne, peptona y agua. Se utiliza fundamentalmente cuando se pretende la obtención de una suspensión bacteriana de una determinada concentración.

### Medios Sólidos

Se preparan a partir de los medios líquidos, agregándoles un agente gelificante. Los más utilizados son la gelatina y el agar. Gelatina: Es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene el inconveniente de que es hidrolizada por muchas bacterias, y además su uso está muy limitado porque su punto de fusión es bajo (licúa a temperatura ambiente) razón por la que no puede utilizarse para cultivos a 37°C, que es la temperatura óptima de

crecimiento para muchos microorganismos. El agar puede utilizarse para diferentes fines, aunque los más importantes son: agar comercial para la industria alimenticia, agar bacteriológico, agares purificados y agarosa, utilizada para electroforesis en gel.

#### Medios semisólidos

Se preparan a partir de los medios líquidos, agregando a éstos un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus usos es la investigación de la movilidad de las bacterias.

#### Medios complejos o naturales

Fueron los primeros utilizados y los más empleados, se preparan a partir de tejidos animales, y raramente de vegetales. Su composición no es exactamente definida, por consiguiente, no es rigurosamente constante. Esto puede tener ciertos inconvenientes en condiciones experimentales, donde la reproductibilidad no será exacta. En la práctica corriente estos medios dan excelentes resultados y son los más empleados.

#### Medios sintéticos o químicamente definidos

Son aquellos que contienen en su composición exclusivamente sustancias químicas conocidas y disueltas en agua destilada en proporciones determinadas, resultando un medio de composición perfectamente definida, para obtener resultados reproducibles.

#### Medios semisintéticos o complejos

El gran número de factores de crecimiento exigidos para ciertos gérmenes hace que la fabricación de un medio sintético para estos gérmenes sea imposible o demasiado cara. En este caso se aportan los factores de crecimiento bajo la forma de un extracto orgánico complejo (extracto de levadura, extracto de tejidos, etc.). Ciertos gérmenes no crecen en ningún medio por muy enriquecido que esté éste, haciéndolo exclusivamente en células vivas con unas características determinadas.

#### Medios de conservación

Se utilizan para conservar una cepa que, por diversas razones nos interese mantener. Fundamentalmente se utilizan como controles de calidad de las pruebas y reactivos utilizados en el Laboratorio de Microbiología.

### 1.7 Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias de objeto de identificación. Algunas son rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 horas.

### 1.7.1 Prueba catalasa

La catalasa es una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan la catalasa hidrolizan el hidrogeno en agua y el oxígeno gaseoso que se libera produce burbujas.

### 1.7.2 Prueba rojo de metilo

Evalúa la capacidad de la bacteria de fermentar la glucosa por la vía ácido-mixta. Las bacterias que utilizan la glucosa por esta vía generan como productos finales ácido acético, ácido fórmico, ácido succínico y ácido láctico, los cuales provocan un fuerte descenso en el pH del medio, el cual se detecta al añadir el revelador rojo de metilo, que vira el medio a rojo a pH menor a 4,4 (bacterias rojo de metilo positivas) y lo mantiene amarillo si el pH es mayor a 5,1 (bacterias rojo de metilo negativas).

### 1.7.3 Prueba ureasa

Algunas bacterias son capaces de emplear la urea como única fuente de nitrógeno. En tal caso la bacteria ha de poseer un enzima, la ureasa, capaz de atacar la urea. Al descomponerse se libera amoniac que alcaliniza el medio. El medio de cultivo posee un indicador de pH que vira a un color rosa intenso cuando dicho pH se hace básico; de esta forma podemos detectar la producción de amoniac y, en última instancia, la presencia del enzima ureasa.

## 1.8 Caracterización de los medios usados

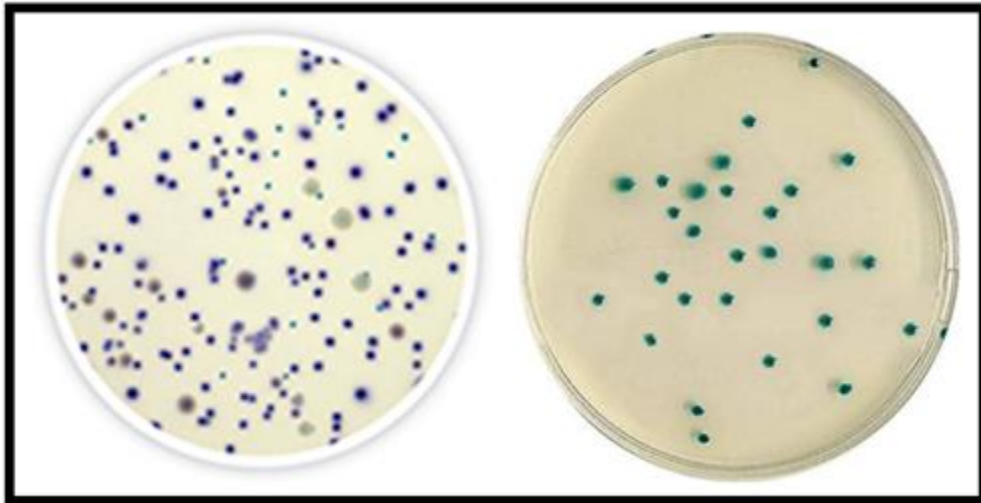
Es importante recordar que la finalidad es determinar "*Escherichia coli*" presente en las muestras, por lo que es necesario usar medios que reflejen un resultado demostrativo.

### 1.8.1 Agar RAPID´E.COLI 2

Agar cromogénico selectivo utilizado para la enumeración directa, sin confirmación, de colonias de *Escherichia coli* y otros *coliformes* en productos alimenticios y muestras ambientales.

El medio se basa en la detección simultánea de actividades de  $\beta$ -D-Glucuronidasa (GLUC) y  $\beta$ -D-Galactosidasa (GAL). *E. coli* (GAL + / GLUC +) forma colonias de violeta a rosa, mientras que otros *coliformes* (GAL + / GLUC-) forman colonias de azul a verde.

La detección de  $\beta$ -D-Glucuronidasa confiere una alta especificidad al método porque *E. coli* es una de las pocas especies de *Enterobacteriaceae* que posee esta enzima. El crecimiento de la flora interferente se inhibe, especialmente a 44 ° C, lo que confiere una alta especificidad al medio.



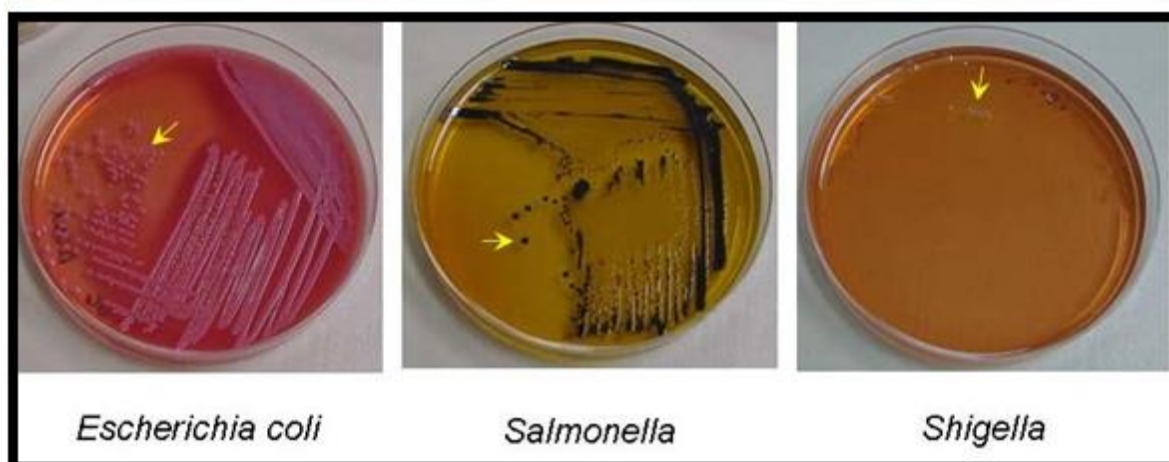
**Figura 13: Lectura de placas *E. coli* colonias violeta; Coliformes colonias turquesa.**

**Fuente:** <http://www.bio-rad.com/es-cl/product/rapide-coli-2-medium?ID=2611b802-04d7-43f5-a63e-e2dca473f65f>

### 1.8.2 Agar *Salmonella* – *Shigella*

Medio selectivo y de diferenciación, compuesto por sales biliares que inhiben el crecimiento de *coliformes*, lactosa y rojo neutro (indicador de pH). Las colonias fermentadoras de lactosa producirán ácidos y cambiará el color del medio a rosa. Como *Shigella* y *Salmonella* no utilizan este azúcar forman colonias transparentes.

El tiosulfato es la fuente de azufre para la producción de ácido sulfhídrico de las bacterias sulfato-reductoras. Este ácido reacciona con la sal de hierro y se forma sulfuro de hierro de color negro. Las colonias de *Salmonella* se observan transparentes con un precipitado negro en el centro. [8]



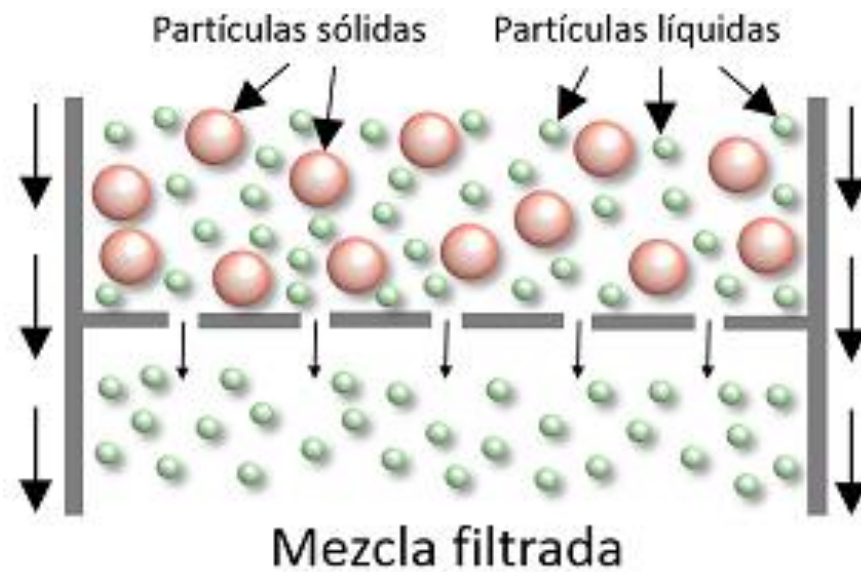
**Figura 14: Respuesta agar *Salmonella* - *Shigella*.**

**Fuente:** <https://microbeonline.com/salmonella-shigella-ss-agar-composition-principle-procedure-results/>

### 1.9 Filtraciones

Se denomina filtración al proceso de separación que experimenta un sólido y un líquido. Lo que se quiere conseguir es aislar el sólido en suspensión en un líquido, mediante un medio poroso, que retiene los sólidos y permite el paso del líquido a filtrar.

En base a dicho factor, podemos hacer mención a tres tipos diferentes de medios filtrantes, microfiltración, ultrafiltración y filtración por capa.

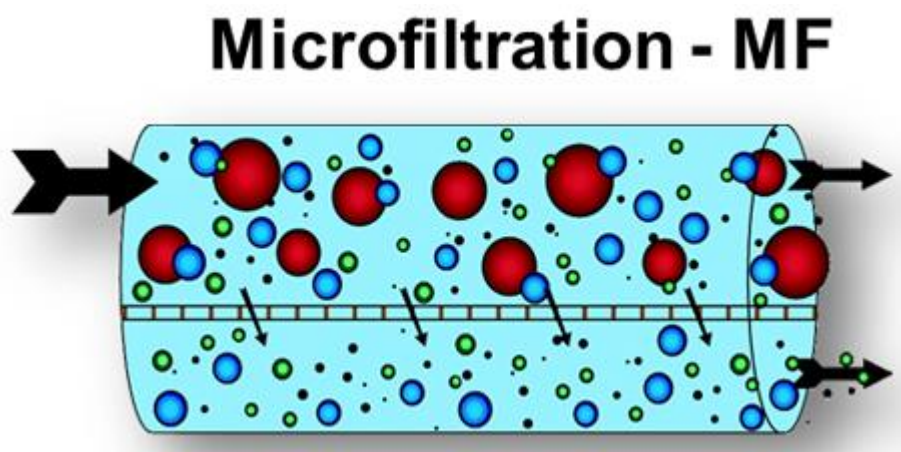


*Figura 15: Representación esquemática de la filtración.*

*Fuente: <http://www.quimicas.net/2015/11/ejemplos-de-filtracion.html>*

### 1.9.1 Microfiltración

Generalmente se llama así al proceso de filtración con membranas cuyos tamaños de poro varían entre 0,1 y 10 micrones, con estas membranas se retienen partículas en suspensión con tamaños dentro del rango de los poros o mayores, dejando pasar las partículas de dimensiones menores.



*Figura 16: Representación esquemática de la Microfiltración.*

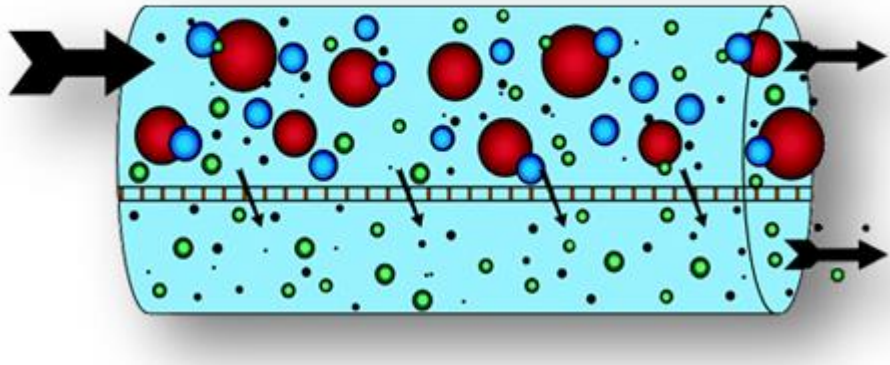
*Fuente: <https://www.tetrapak.com/mx/processing/membrane-filtration/filtration-processes>*

### 1.9.2 Ultrafiltración

Se considera la que se obtiene utilizando membranas, cuyos poros permiten separar moléculas con un peso molecular superior a los  $10^3$  Dalton/gmol. Con estas membranas

se logra separar y concentrar proteínas, desinfectar el agua reteniendo bacterias y virus, etc.

## Ultrafiltration - UF



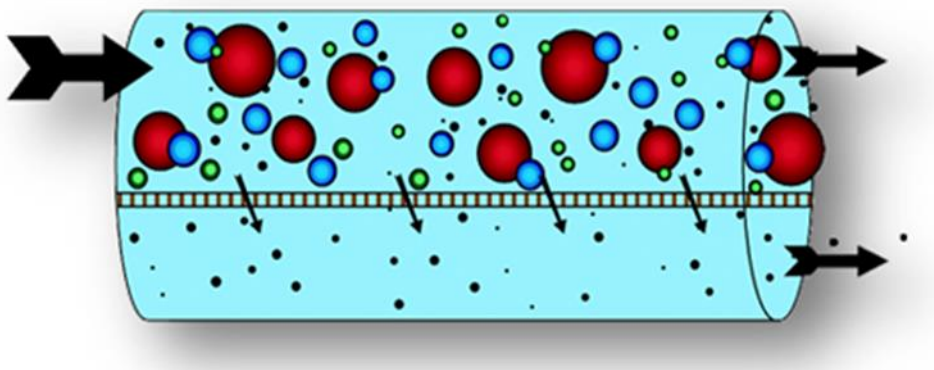
*Figura 17: Representación esquemática de la Ultrafiltración.*

*Fuente: <https://www.tetrapak.com/mx/processing/membrane-filtration/filtration-processes>*

### 1.9.3 Nanofiltración

Las membranas utilizadas en esta son capaces de retener moléculas sin carga eléctrica con peso molecular superior a los 200 Dalton/gmol. Este tipo de filtración es usado para concentrar compuestos orgánicos y para desmineralizar parcialmente el solvente.

## Nanofiltration - NF



*Figura 18: Representación esquemática de la Nanofiltración.*

*Fuente: <https://www.tetrapak.com/mx/processing/membrane-filtration/filtration-processes>*

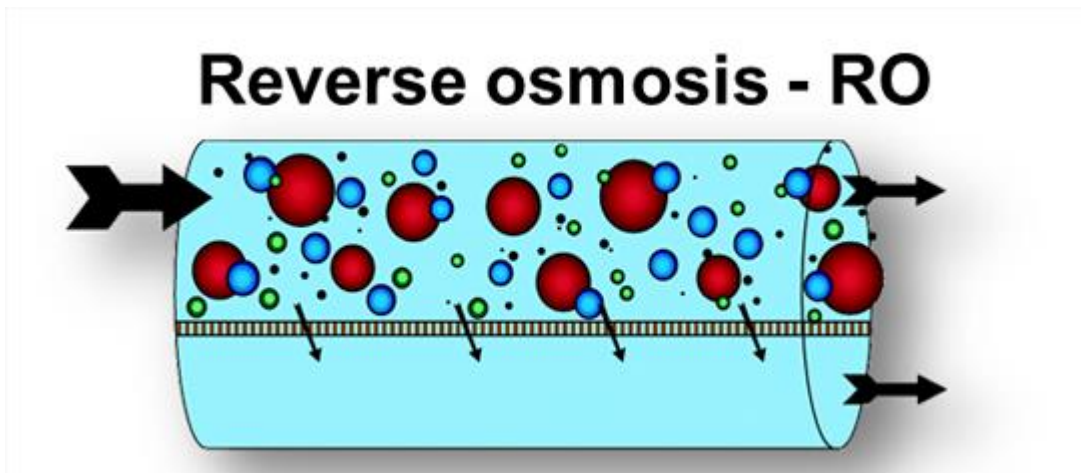
### 1.9.4. Osmosis inversa

Osmosis es el movimiento de moléculas a través de una membrana parcialmente permeable porosa, que va de una región de mayor concentración a otra de menor, en esta acción la membrana tiende a igualar las concentraciones en los dos lados.

La osmosis inversa es un efecto contrario a la osmosis, pues se utiliza una presión superior a la presión osmótica, y sólo las moléculas de menor peso pasan del otro lado. La presión

osmótica es la presión que debe ser ejercida sobre la solución para evitar la entrada del solvente; Cuanto mayor la presión osmótica, mayor será la tendencia del solvente para entrar en la solución.

En el tratamiento de agua los sólidos disueltos al generar esta presión quedan retenidos en la membrana y sólo pasa el agua, a esto se le llama ósmosis inversa. Para lograr este efecto del paso del agua es necesario presurizar el agua a un valor superior al de la presión osmótica.



*Figura 19: Representación esquemática de la Ósmosis Inversa.*

*Fuente: <https://www.tetrapak.com/mx/processing/membrane-filtration/filtration-processes>*

## **CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y MATERIALES**

## 2.1 Análisis microbiológico de muestras

La estimación del número de bacterias se utiliza con frecuencia como evaluación retrospectiva de la calidad microbiológica, o para evaluar la presunta “inocuidad” en productos alimenticios, cosméticos y dermatológicos. Este procedimiento requiere que se tomen muestras, se realicen ensayos o análisis microbiológicos y se evalúen los resultados, por comparación con criterios microbiológicos ya establecidos, por las normativas nacionales e internacionales vigentes.

## 2.2 Análisis macroscópico de muestras

Antes del análisis microscópico de la muestra, esta debe ser examinada para obtener algunos parámetros como su aspecto, color, espesor, sedimentación, contenido de materia orgánica, tipo de filtración, entre otros, para así llevar un registro de las muestras y posteriormente hacer comparaciones entre sí.

## 2.3 Análisis microscópico en muestras

### 2.3.1 Morfología bacteriana

Para esto se aplica el análisis macroscópico de una muestra de colonias de microorganismos, el que consiste en la observación del crecimiento de estas en su medio de cultivo. El cultivo se realiza en un medio de cultivo sólido para formar colonias que serán distintas y características para cada tipo bacteriano; el medio sólido impide el posible movimiento de los organismos de la colonia, favorece su agrupamiento y su desarrollo, ya que es un ambiente rico en nutrientes y factores de crecimiento necesarios. Para obtener colonias bacterianas nunca se empleará directamente un medio de cultivo líquido

Se busca divisar la morfología macroscópica colonial tal como uno las percibe, esto variara en función a las características del medio de cultivo sólido donde ha crecido la bacteria. Es relevante considerar que un mismo tipo de bacteria puede dar lugar a distintos tipos de colonias, dependiendo del medio de cultivo sólido utilizado, también diferentes tipos bacterianos pueden desarrollarse formando colonias parecidas.

La identificación de las diversas formas, superficie, consistencia, tamaños, olor, aspectos, coloración y número de las colonias de bacterias sirve como datos para la clasificación y organización de las bacterias en cuestión. Es ideal que las colonias se encuentren separadas entre sí y que en el procedimiento de la siembra no haya habido contaminación, menos aún en el medio de cultivo.

Los medios sólidos en los que se verifican las colonias pueden ser en placa, tubo con agar inclinado y siempre sembrándolo por el método de siembra estriado.

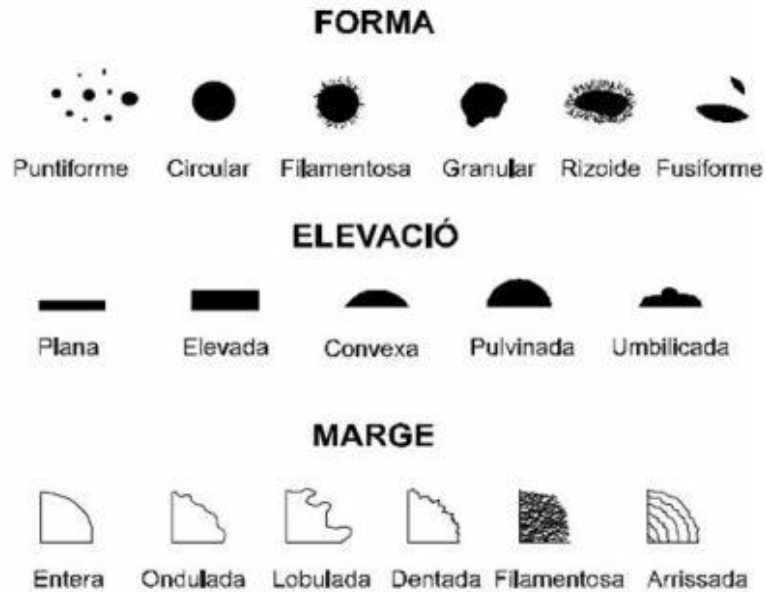


Figura 20: Representación esquemática de la morfología colonial bacteriana.

Fuente: <https://microbiologiaitt.es.tl/5-.-Morfolo%EDa-Colonial-y-Cultivo-en-Medio-L%EDquido.htm>

### 2.3.2 Agrupaciones bacterianas y tinción Gram

Corresponde al análisis microscópico, el cual se basa en la investigación detallada de las bacterias que forman las colonias en la muestra, morfología y agrupación bacteriana se ponen de manifiesto por medio de métodos de fijación y/o coloración, principalmente Gram, el método de coloración más utilizado en bacteriología, este paso da el puntapié inicial, hacia la microscopía óptica, la que reconoce las distintas formas y agrupaciones bacterianas.

Las bacterias se clasifican en dos grandes grupos teniendo en cuenta el comportamiento de estas frente al procedimiento de coloración de Gram, Gram positivas G (+), se tiñe de color violeta y Gram negativas G (-), se tiñen de color rojo o fucsia.

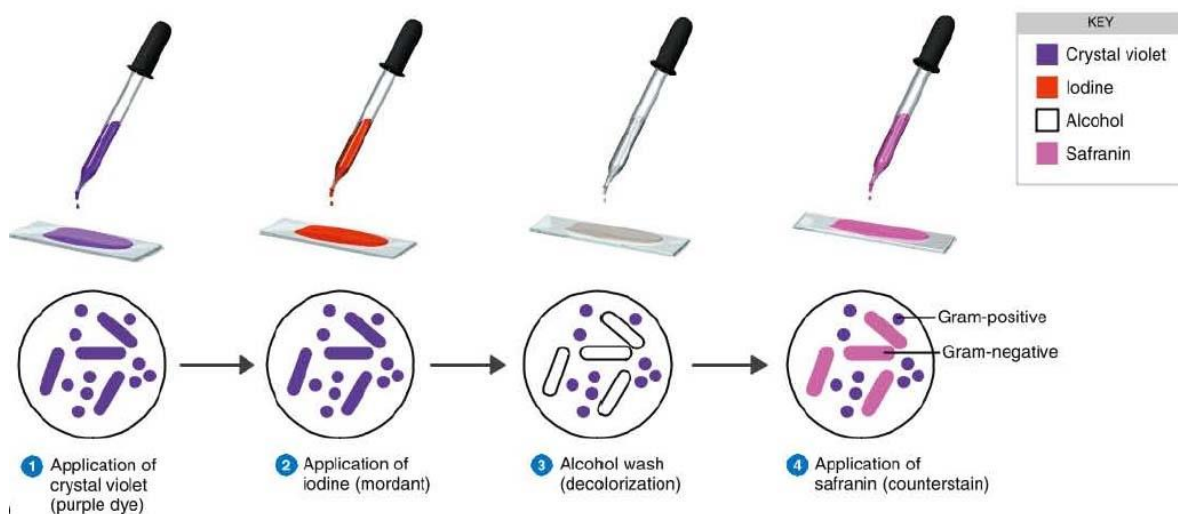


Figura 21: Representación esquemática del procedimiento de tinción Gram.

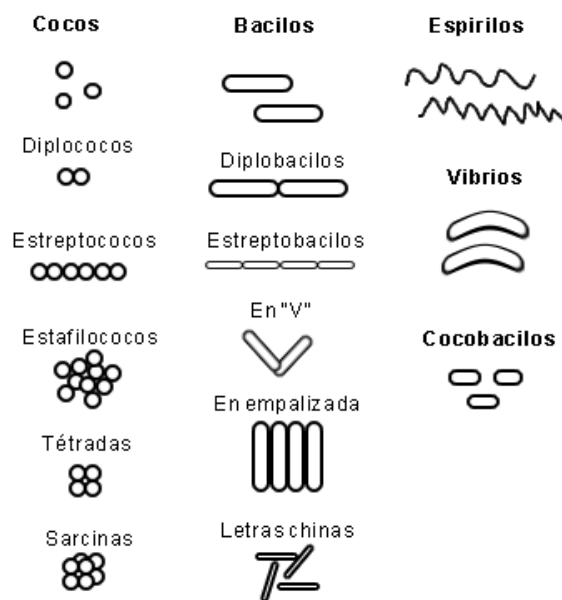
Fuente: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-24-Tincion-de-Gram\\_fig17\\_315653794](https://www.researchgate.net/figure/Figura-24-Tincion-de-Gram_fig17_315653794)

Las Gram (+) bacterias esféricas o ligeramente ovoides denominadas cocos, las Gram (-) bacterias con forma de bastón se denominan bacilos. Los bacilos de corto tamaño que

pueden confundirse con un coco se denominan cocobacilos. Algunos bacilos tienen extremos afinados y reciben el nombre de bacilos fusiformes, mientras que otros poseen forma de clava o garrote. Los bacilos cortos curvos, con forma de coma reciben el nombre de vibrios. Las bacterias espiraladas se llaman comúnmente espirilos cuando son rígidas y espiroquetas si son más flexibles y ondulantes.

Algunos géneros bacterianos se agrupan de una manera característica. Esta agrupación se debe a la tendencia de las células hijas a permanecer parcialmente adheridas después de la división celular.

Los cocos pueden disponerse de a pares y se los llama diplococos, si se disponen en cadena se llaman estreptococos, cuatro células esféricas conforman una tétrada, en forma de racimo o irregular se llaman estafilococos, en paquetes cúbicos se denominan sarcinas. Mientras que los bacilos pueden disponerse aislados, adosados a lo largo, de forma paralela formando una agrupación en empalizada (Haemophilus), pueden quedar adheridos por sus extremos y tomar apariencias de letras chinas (Corynebacterium).



*Figura 22: Representación esquemática de los tipos y agrupaciones de bacterias.*

*Fuente: <https://microbiosparaprincipiantes.wordpress.com/2016/08/02/que-forma-tienen-las-bacterias/>*

#### 2.4 Principales equipos y materiales utilizados

Un laboratorio de cultivos microbiológicos es un lugar habilitado para estudiar y manejar microorganismos. El trabajo requiere ser realizado de acuerdo con los estándares técnicos y de seguridad de un laboratorio de Microbiología.

Es importante recordar que la finalidad es determinar los microorganismos presentes en la muestra por lo que es preciso extremar las precauciones para evitar contaminaciones que den lugar a resultados erróneos. Todas las muestras deben ser manejadas con precaución por su potencial patogenicidad.

## Microscopio óptico compuesto

El microscopio es un instrumento creado para aumentar el tamaño de objetos pequeños, en el cual por medio de la distancia focal y uso de lentes nos permite ver aumentados objetos u organismos que a normalmente nuestros ojos pueden ver por su tamaño.

El microscopio óptico compuesto es la evolución del microscopio óptico, consiste en un tubo y sus lentes se encuentran en el objetivo y ocular que estos a su vez son un grupo de lentes sobrepuestos, formando la imagen. Además, poseen un cabezal giratorio el cual permite el cambio de varios tipos de objetivos con el fin de lograr una mejor imagen y aumento. Es el microscopio más utilizado.



*Figura 23: Representación de un microscopio óptico compuesto Carl Zeiss.*

*Fuente: <http://www.directindustry.es/prod/carl-zeiss-microscopy/product-20796-1686739.html>*

## Micropipetas

Dispositivos que se utilizan para medir o transvasar pequeños volúmenes de líquido de un recipiente a otro, con gran exactitud. Las micropipetas son dispositivos de amplia utilización en los laboratorios clínicos y de investigación.



**Figura 24: Representación de micropipetas.**

*Fuente: <https://pe.all.biz/micropipetas-pipetas-graduables-g46081>*

## Incubadora de CO<sub>2</sub>

Equipo diseñado para mantener una cámara a temperatura, atmósfera y humedad controladas, con el fin de conservar organismos vivos en un entorno que resulte adecuado para su crecimiento. Entre las aplicaciones más comunes, se citan las siguientes: incubación de cultivos bacteriológicos, virales, micológicos, celulares y conservación de biológicos. (Anexo 4)

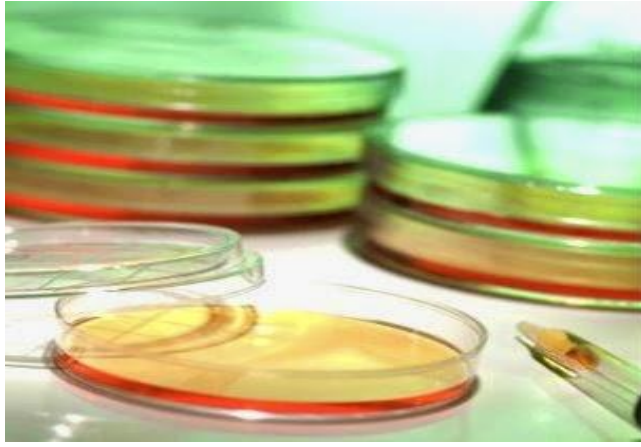


*Figura 25: Representación de incubadora de CO<sub>2</sub>.*

**Fuente:** <http://www.labolan.es/es/catalogo/estufas-incubadores/incubadores-de-co2.html>

## Placas petri

Recipiente redondo, hecho de vidrio o de plástico, posee diferentes diámetros, es de fondo bajo, con una cubierta de la misma forma que la placa, pero un poco más grande de diámetro, ya que se puede colocar encima y cerrar el recipiente, como una tapa. Es utilizado para poder observar diferentes tipos de muestras tanto biológicas como químicas, las cuales se encuentran dentro de la placa. También para el cultivo de bacterias y otras especies relacionadas y para masar sólidos en una balanza.



*Figura 26: Representación de placas Petri.*

*Fuente: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/placa-de-petri.html>*

### Asa en argolla

El asa bacteriológica o asa de platino es un instrumento de laboratorio que consta de una base que puede estar hecha de platino, acero, aluminio y un filamento que puede ser de nicromo, tungsteno o platino que termina o en una argolla o en punta.

Se emplea para transportar, arrastrar, trasvasar inóculos desde la solución de trabajo también llamada “solución madre” al medio de cultivo o para resiembras. Además, sirve para la realización de frotis.



*Figura 27: Representación de asa en argolla.*

*Fuente: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.cl/2014/10/asas-microbiologicas-y-su-uso.html>*

### Mechero bunsen

Instrumento utilizado en laboratorios para calentar muestras y sustancias químicas. El mechero bunsen está constituido por un tubo vertical que va enroscado a un pie metálico con ingreso para el flujo de gas, el cual se regula a través de una llave sobre la mesa de trabajo.



**Figura 28: Representación de un mechero Bunsen.**

**Fuente: <https://instrumentalia.com.co/es/otros/1311-mecheros-bunsen-para-gas.html>**

#### Agitador de tubos vortex

Un mezclador de vórtice, o agitador de tubos vortex, es un dispositivo simple utilizado comúnmente en los laboratorios para mezclar pequeños viales de líquido.



**Figura 29: Representación de un agitador de tubos vortex.**

**Fuente: <http://www.splabor.com.br/produto/agitador-de-tubos-vortex---velocidade-variavel-de-0-a-3400-rpm---cole-parmer/>**

#### Desionizador de agua

Su función, la utilización de agua pura con el fin de evitar cualquier tipo de interferencia, además de estar exenta de materiales en suspensión o un pH comprendido entre 5,0 y 7,5. Durante años se ha utilizado agua destilada, en la actualidad los destiladores se han ido

abandonando para dar paso a desionizadores que funcionan con resinas de intercambio iónico. También se pueden utilizar otras técnicas como la ósmosis inversa. (Anexo 5)



*Figura 30: Representación de un desionizador de agua.*

*Fuente:*

*[http://campus.usal.es/~micromed/Practicas\\_odontologia/unidades/labv/LabMicro/practica1.html](http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/LabMicro/practica1.html)*

Frigorífico o Cámaras refrigeradas

Se utilizan para conservar tanto materiales (medios de cultivo, reactivos) como microorganismos. Generalmente están a una temperatura fija de 4°C.



*Figura 31: Representación de un frigorífico o cámara refrigerada.*

*Fuente:*

*[http://campus.usal.es/~micromed/Practicas\\_odontologia/unidades/labv/LabMicro/practica1.html](http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/LabMicro/practica1.html)*

## Autoclave

Una autoclave es un recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua. (Anexo 6)



*Figura 32: Representación de autoclave.*

*Fuente: <http://cotecno.cl/wp-content/uploads/2017/05/autoclave-tipo-cooker.jpg>*

## 2.5 Mantenimiento de los cultivos

### 2.5.1 Infraestructura y material de cultivo

#### Equipamiento

- Autoclave
- Incubadora de CO<sub>2</sub>
- Microscopio óptico compuesto
- Desionizador de agua
- Mechero bunsen
- Cámara refrigerada
- Balanza analítica
- Micropipetas
- Agitador vortex

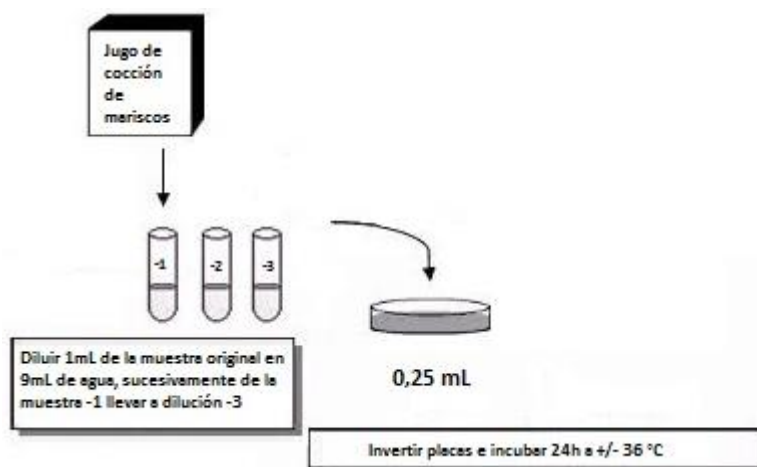
#### Medios y suplementos

- Agar Rapid'E. coli 2

- Peróxido de hidrogeno
- Solución violeta genciana
- Solución Lugol
- Solución safranina
- Etanol – cetona

### 2.5.2 Condiciones de cultivo

Los cultivos se iniciaron a partir de viales de jugo de cocción conservados a  $-18^{\circ}\text{C}$  en la cámara de refrigeración. Tras una lenta descongelación a temperatura ambiente, se procedió a realizar diluciones agregando a un tubo falcon N°1, 1 mL de muestra y 9 mL de agua desionizada esterilizada. A partir de esta disolución (N°1), se diluye como se menciona anteriormente, obteniendo un tubo N°2, finalmente se diluye el tubo (N°2), para dar paso a la dilución N°3. En base a las diluciones -3 (N°3), se continua con la inoculación de 0,25 mL por el método estriado en las placas de medio de cultivo ya preparadas. Posteriormente las placas se llevan a una fuente de calor a  $37^{\circ}\text{C}$  por +/- 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, se analiza la muestra en la placa y se refrigera a temperatura de conservación +/-  $4^{\circ}\text{C}$  solo por un par de días. (El ambiente y materiales deben estar estéril y las muestras en todo momento deben ser agitadas)



**Figura 33: Representación esquemática de procedimiento.**

**Fuente: Elaboración propia**

La preparación del medio Rapid *E. coli* 2 es simple, su formato así lo permite, no necesita autoclave (envasado estéril), se debe fundir a baño maría y verter en las placas. Para evitar que las gotas de evaporación de la tapa de la placa arruinen el medio, al cabo de unos minutos ya solidado el agar, las placas se giran quedando el agar en la parte superior y la tapa en la parte inferior.



*Figura 34: Medio Rapid'E. coli 2.*

*Fuente: <http://www.bio-rad.com/es-cl/product/rapide-coli-2-medium?ID=2611b802-04d7-43f5-a63e-e2dca473f65>*

#### Prueba catalasa

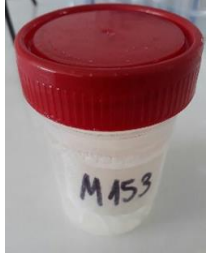
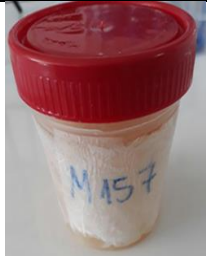
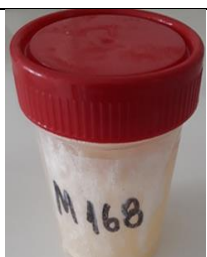




Se añadió a la identificación de microorganismos, en un portaobjetos se agrega una gota de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, con un asa de punta redonda se toma desde la placa parte de una colonia de las bacterias que se encuentran en esta.

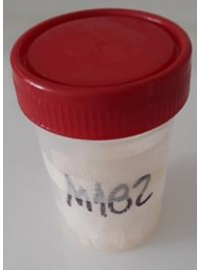


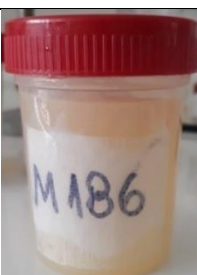





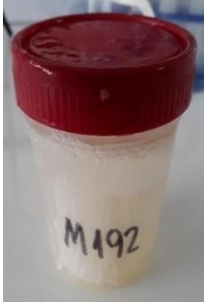
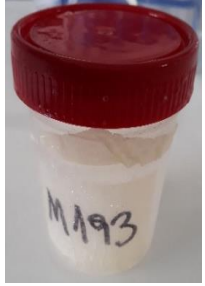

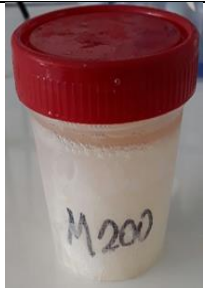
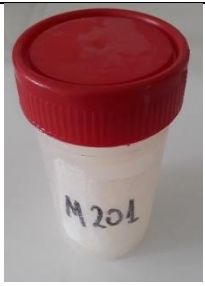

*Figura 35: Prueba catalasa a colonia coliforme  
Fuente: Elaboración propia*

# **CAPÍTULO III: RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

### 3.1 Análisis macroscópico de las muestras (Navaja)

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
153	Navaja	-	Ultrafiltración	Gruoso	Blanco	
157	Navaja	-	Microfiltración	Gruesa	Naranja opaco	
168	Navaja	215	Microfiltración	Gruoso	Amarillo Opaco	
169	Navaja	8,52	Microfiltración	Fina	Amarillo	
171	Navaja	204	Microfiltración	Suspensión	Naranja opaco	
175	Navaja	7,6	Microfiltración	Suspensión	Amarillo opaco	
180	Navaja	-	Nanofiltración	Gruesa	Blanco	

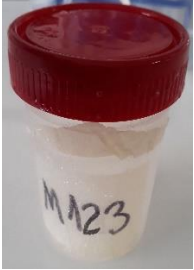
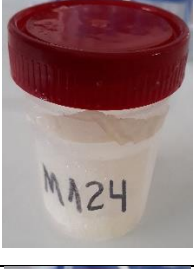
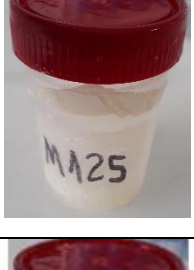




Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
182	Navaja	-	Nanofiltración	Gruesa	Blanco opaco	
183	Navaja	353	Microfiltración	Fina	Amarillo opaco	
184	Navaja	1015	Microfiltración	Fina	Amarillo	
186	Navaja	338	Microfiltración	Fina	Naranja opaco	
187	Navaja	9,65	Microfiltración	Suspensión	Amarillo opaco	
189	Navaja	-	Ultrafiltración	Suspensión	Blanco opaco	
190	Navaja	-	Ultrafiltración	Suspensión	Blanco opaco	

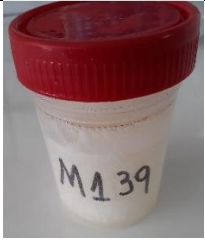
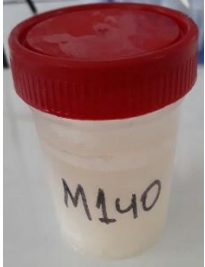

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
192	Navaja	-	Ultrafiltración	Suspensión	Blanco opaco	
193	Navaja	-	Ultrafiltración	Suspensión	Blanco opaco	
198	Navaja	-	Nanofiltración	Gruesa	Leve amarillo	
200	Navaja	-	Nanofiltración	Gruesa	Naranja opaco	
201	Navaja	-	Nanofiltración	Fina	Blanco opaco	
203	Navaja	-	Nanofiltración	Fina	Blanco opaco	

**Tabla 1: Datos del análisis macroscópico de las muestras de navaja.**

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.2 Análisis macroscópico de las muestras (Navajuela)



Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
123	Navajuela	-	Ultrafiltración	Suspensión	Blanco opaco	
124	Navajuela	-	Ultrafiltración	Suspensión	Leve amarillo	
125	Navajuela	-	Ultrafiltración	Gruesa	Blanco opaco	
126	Navajuela	-	Ultrafiltración	Gruesa	Leve amarillo	
136	Navajuela	1540	Microfiltración	Suspensión	Naranja opaco	
137	Navajuela	0,48	Microfiltración	Fina	Leve amarillo	
138	Navajuela	1510	Microfiltración	Gruesa	Leve naranja	

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
139	Navajuela	1030	Microfiltración	Gruesa	Leve amarillo	
140	Navajuela	-	Microfiltración	Fina	Leve amarillo	
141	Navajuela	1470	Microfiltración	Gruesa	Blanco opaco	


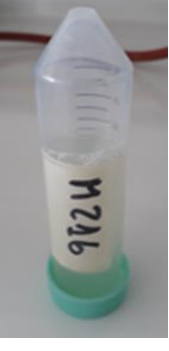

*Tabla 2: Datos del análisis macroscópico de las muestras de navajuela.*

*Fuente: Elaboración propia*

### 3.3 Análisis macroscópico de las muestras (Taquilla)

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
208	Taquilla	401	Microfiltración	Fina	Blanco	
209	Taquilla	183	Microfiltración	Fina	Blanco	

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
210	Taquilla	7,9	Microfiltración	Fina	Blanco	
211	Taquilla	373	Microfiltración	Fina	Blanco opaco	
212	Taquilla	191	Microfiltración	Fina	Blanco	
213	Taquilla	5,02	Microfiltración	Fina	Blanco	
214	Taquilla	387	Microfiltración	Gruesa	Leve amarillo	

Muestra	Especie	Turbidez	Filtración	Sedimentación	Color	Imagen representativa
215	Taquilla	381	Microfiltración	Fina	Blanco opaco	
216	Taquilla	6,37	Microfiltración	Fina	Blanco opaco	
217	Taquilla	800	Microfiltración	Gruesa	Leve amarillo opaco	

**Tabla 3: Datos del análisis macroscópico de las muestras de taquilla.**

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.4 Análisis microscópico en muestras (Tinción Gram)

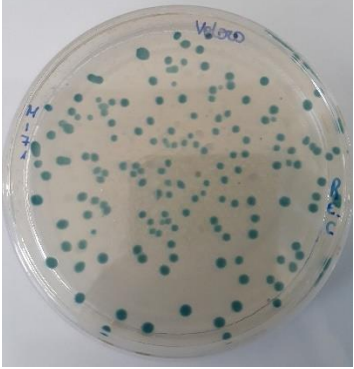
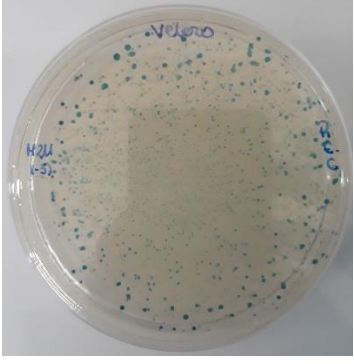
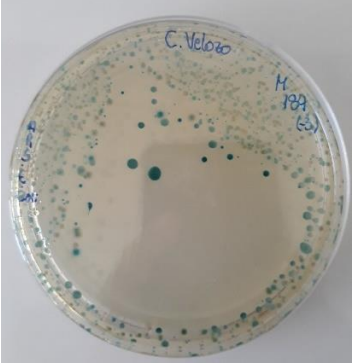

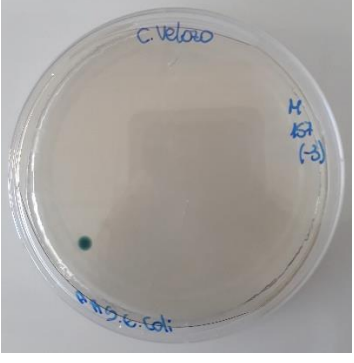
Muestra	Tinción Gram	Tipo de bacteria
153	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
157	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
168	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
169	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
171	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
175	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
180	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
182	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
183	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
184	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
186	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
187	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
189	Gram (-)	<i>Bacilos</i>

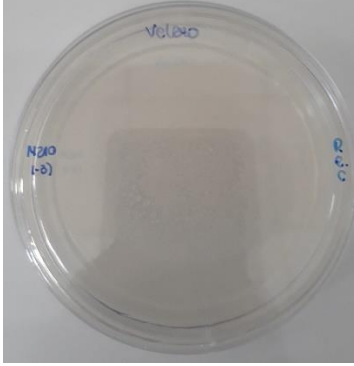
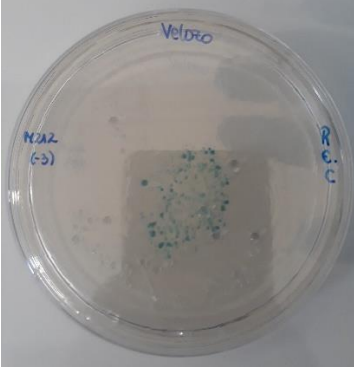
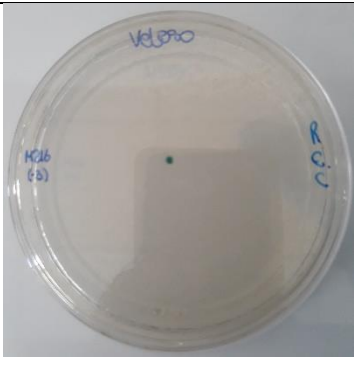
Muestra	Tinción Gram	Tipo de bacteria
190	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
192	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
193	-	-
198	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
200	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
201	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
203	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
123	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
124	-	-
125	-	-
126	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
136	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
137	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
138	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
2139	-	-
140	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
141	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
208	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
209	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
210	-	-
211	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
212	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
213	-	-
214	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
215	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
216	Gram (-)	<i>Bacilos</i>
217	Gram (-)	<i>Bacilos</i>

**Tabla 4: Datos de análisis microscópico en muestras; Tinción Gram.**

**Fuente: Elaboración propia**

3.5 Análisis microscópico en muestras (Morfología Bacteriana)

Microorganismos	Morfología de las colonias	Técnica de siembra estriado
<i>Coliformes</i>	Colonias Verdosas	
<i>Coliformes</i>	Colonias Verdosas	
<i>Coliformes</i>	Colonias Verdosas	
No se detecta microorganismo	-	
<i>Coliformes</i>	Colonias Verdosas	

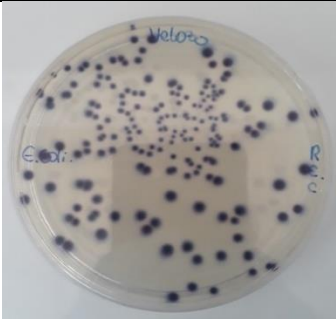
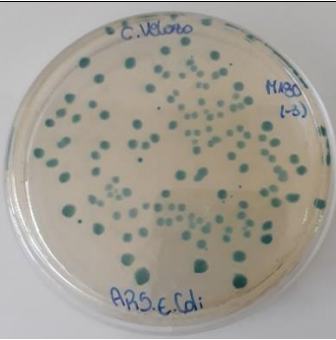
Microorganismos	Morfología de las colonias	Técnica de siembra estriado
No se detecta microorganismo	-	
<i>Coliformes</i>	Colonias Verdosas	
<i>Coliformes</i>	Colonia Verdosa	


**Tabla 5: Datos de análisis microscópico en muestras; Morfología bacteriana, a partir de agar Rapid'E.**

**Coli 2.**

**Fuente: Elaboración propia**

**3.6 Control positivo – negativo Agar “RAPID'E.coli 2”**

Control (+)	
Muestra	

Control (-)	
-------------	--

**Tabla 6: Datos control positivo – negativo agar “RAPID E.coli 2”**

**Fuente: Elaboración propia**

## CONCLUSIONES

- El cultivo fue capaz de crecer a 27°C, en condiciones aeróbicas en un medio a base de nutrientes, proteínas y peptonas como fuente de carbono y nitrógeno. Presentó la ventaja de crecer en un tiempo corto de 24 horas.
- Se logró aislar diversas colonias de microorganismos *coliformes*, las cuales respondieron a la actividad enzimática  $\beta$ -D-Galactosidasa (+) /  $\beta$ -D-Glucuronidasa (-), reaccionando el sustrato cromogénico específico para  $\beta$ -D-Galactosidasa, conduciendo la coloración azul verdoso a las bacterias.
- En la prueba catalasa, el resultado fue positivo la enzima se manifestó ante el peróxido de hidrógeno, el cual fue descompuesto en agua y oxígeno, desprendiendo burbujas las cuales provienen de este último.
- Hoy en día existen múltiples análisis, pruebas y test microbiológicos, para la perfecta investigación de bacterias, especificando con un alto porcentaje de veracidad los resultados, tal como se dio a conocer en este caso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Proyecto “Desarrollo y evaluación de extractos funcionales con propiedades celulares antioxidantes, de osmoregulación y de protección UV, mediante fraccionamiento con procesos de membrana de los residuos de la industria conservera de mariscos” FONDEF, 2015.
- [2] R., Cecilia Osorio; Moluscos en Chile “Especies de importancia económica”. Santiago: Universidad de Chile, Facultad Ciencias, 2002.
- [3] ADAMS, M. R. MOSS, M. O. “Microbiología de los alimentos”. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, 1997.
- [4] FRAZIER, W. C. WESTHOFF, D. C. Microbiología de los alimentos. 4° edición. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, 1993.
- [5] ICMSF. Microorganismos de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. 2° edición. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, 1999.
- [6] ICMSF. Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, 2001.
- [7] RAMOS, María de los Angeles Aquiahuatl; CHABELA, María de Lourdes Pérez. *Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, 2004
- [8] Club de Informática Médica y Telemedicina; Universidad de Panamá, Medio de Agar SS., 2009.

## ANEXOS

### Anexo 1: Norma Decreto Supremo SEGPRES N°90/2000

*Por Superintendencia de Servicios Sanitarios – Gobierno de Chile*

Tiene por objeto regular la descarga de contaminantes hacia cursos de aguas marinas y continentales superficiales mediante la fijación de límites máximos permisibles para la descarga de residuos líquidos, previniendo así la contaminación de dichos cuerpos de agua.

Este decreto establece que toda fuente que descargue sus residuos líquidos a uno o más cuerpos de agua, deberá caracterizar sus residuos a modo de evaluar si califica como fuente emisora y si queda sujeta al cumplimiento de la norma de emisión.

### Anexo 2: Control de la calidad del agua potable; Requisitos de calidad y muestreos según NCh409/1. Of2005 “Agua Potable”

*Por Superintendencia de Servicios Sanitarios – Gobierno de Chile*

La SISS objeta el control que los prestadores de servicios sanitarios cumplan con la normativa vigente respecto a la calidad del agua potable, garantizando que el agua suministrada a la población sea apta para el consumo humano.

El agua distribuida por los servicios públicos de agua potable debe cumplir con la Norma Chilena NCh409/1.Of.2005 agua potable - Parte 1: Establece requisitos de calidad que debe cumplir el agua potable en todo el territorio nacional, - Parte 2: Muestreo, establece los requerimientos del muestreo que se debe exigir a las concesionarias para el control del agua potable suministrada.

Tipo de Control	Requisitos de Calidad	N° Mínimo de Muestras	Distribución
Microbiológicos (Tipo I)	- 1 col/100 ml: < 10% muestras - 5 col/100 ml: < 5% muestras - Control por sectores - Exentas de Escherichia coli	Control mensual de acuerdo a número de habitantes abastecidos: Mínimo 8 muestras para < 7.600 habitantes. Mínimo 500 muestras para > 4.690.000 habitantes	Uniformemente en todo el servicio y en cada uno de los sectores durante el mes
Turbiedad (Tipo I)	- Media mensual < 2 NTU - 4 NTU: < 5% muestras - Ninguna muestra > 20 NTU - Entre 10 y 20 NTU: no consecutivas	Control mensual de acuerdo a número de habitantes abastecidos: Mínimo 8 muestras para < 7.600 habitantes. Mínimo 500 muestras para > 4.690.000 habitantes	Uniformemente en todo el servicio durante el mes
Elementos o sustancias de importancia para la salud (Tipo II)	Concentraciones máximas permitidas para 31 elementos o sustancias	Servicios con al menos una fuente superficial: dos muestras anuales. Servicios con sólo fuentes subterráneas: una muestra anual	En servicios que requieran dos muestras anuales, ellas se deben tomar en épocas opuestas del año (otoño y primavera o invierno y verano).
Elementos radiactivos (Tipo III)	Concentraciones máximas permitidas para 5 elementos	La Autoridad Competente determinará el volumen de la muestra, el lugar de muestreo, las condiciones de extracción de las muestras y la frecuencia de muestreo	-
Parámetros organolépticos (Tipo IV)	- Físicos: Color < 20 UC; Inodora e Insípida - Inorgánicos: Límites para 5 parámetros - Orgánicos: Límite para un parámetro	Servicios con al menos una fuente superficial: dos muestras anuales. Servicios con sólo fuentes subterráneas: una muestra anual	En servicios que requieran dos muestras anuales, ellas se deben tomar en épocas opuestas del año (otoño y primavera o invierno y verano).
Parámetros de desinfección (Tipo V)	- Conc. máxima: 2,0 mg/l - 0,2 mg/l: < 10% muestras - 0,0 mg/l: 1 muestra para < de 100 análisis o 3 muestras para más de 100 análisis	Muestras mensuales de acuerdo a número de habitantes abastecidos: Mínimo 30 muestras para < 28.000 habitantes. Mínimo 500 muestras para > 4.690.000 habitantes	Uniformemente en todo el servicio durante 30 días según el número de habitantes abastecidos
Parámetros críticos (Tipo II o Tipo IV)	Una muestra puede exceder el límite de la respectiva tabla si se analizan menos de 10 muestras o el 10% de las muestras si se analizan 10 o más muestras	Muestras mensuales de acuerdo a número de habitantes: Mínimo 4 muestras para < 7.600 habitantes. Mínimo 50 muestras para > 2.060.000 habitantes	Uniformemente en todo el servicio y en cada uno de los sectores afectados por el parámetro crítico

**Tabla 7: Requisitos de calidad y muestreo según NCh409**

**Fuente: [www.siss.gob.cl/577/w3-article-4371.html](http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-4371.html)**

Anexo 3: Reglamento del Sistema Nacional de control de cosméticos Decreto N°239/02

*Por Ministerio de Salud – Gobierno de Chile*

Entiéndase para efectos de este reglamento, como especificaciones de producto terminado para productos cosméticos, las especificaciones técnicas mínimas, que a continuación se señalan, agrupadas según su finalidad cosmética:

**RESOLUCIÓN**

Punto 2. – Los límites máximos permitidos en el control microbiológico corresponden a los siguientes:

Cosméticos en general:


Aerobios mesófilos: no más de 1000 u.f.c./g de producto

Hongos y levaduras: no más de 100 u.f.c./g de producto

Ausencia de microorganismos patógenos comprendiendo en ellos *E. coli*, *Salmonellas*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Estafilococos aureus*.

Anexo 4: Cotización a Lab – Tec; Especificaciones técnicas de Incubadora de CO<sub>2</sub>

**Cotización N° 42941** Página: 1 de 2



**SRES. UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA**  
 Dirección : ALEMPARTE N° 943  
 Fono: 41-      Fax :  
 Atn. Sr(a)

**Lab-Tec Ltda.**  
 Rut 77341380-0  
 Mesa Central 772-2868  
 info@lab-tec.cl  
 www.lab-tec.cl  
 Roman Diaz 462 Providencia  
 Santiago-Chile

Vendedor : JORGE HOMO

Emisión : 27/07/2016 FAVOR INDICAR N° COTIZACION EN SU O/C  
Validez Oferta: 30 días

Item	Catalogo	Descripción	Marca	Cant.	Precio Unit.	Precio Total
001	A24062	INCUBADORA DE CO <sub>2</sub> , 189LT CHAQUETA AGUA Modelo 2406 con Chaqueta de Agua. Sensor infrarojo (IR) de CO <sub>2</sub> Rango de temperatura: 8°C sobre ambiente hasta 60°C. Uniformidad: ±0.35°C a 37°C Rango de CO <sub>2</sub> : 0-20% Rango de humedad: hasta 80% Controlada con microprocesador PID que garantiza una excelente uniformidad de temperatura, reduce la condensación y posibilidad de contaminación. Cuenta con calefacción de puertas exteriores y puerta interior de vidrio para evitar pérdidas de calor cuando se abre la puerta principal. Protección independiente por sobretemperatura. Sistema de Alarmas audibles y visibles cuando la temperatura y el CO <sub>2</sub> están fuera del rango establecidos. 3 Bandejas de fácil limpieza. Dimensiones internas: 52x51x65cm Dimensiones externas: 67x67x99cm Peso: 140 Kg Opera a 220V / 50Hz	SHELLA	1		

\*\* NO INCLUYE OBRAS CIVILES, INSTALACION DE GASES, NI DUCTERIA\*\*



*Figura 36: Especificaciones técnicas de Incubadora CO<sub>2</sub>.  
Fuente: Elaboración propia*

Anexo 5: Cotización a Lab – Tec; Especificaciones técnicas de Sistema desionizador de agua



Cotización N° 42945

Página: 1 de 1

**SRES. UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA**  
 Dirección : ALEMPARTE N° 943  
 Fono: 41-      Fax :  
 Atn. Sr(a)

**Lab-Tec Ltda.**  
 Rut 77341380-0  
 Mesa Central 772-2868  
 info@lab-tec.cl  
 www.lab-tec.cl  
 Roman Diaz 462 Providencia  
 Santiago-Chile

Vendedor : JORGE HOMO

Emisión : 27/07/2016 FAVOR INDICAR N° COTIZACION EN SU O/C  
Validez Oferta: 30 días

Item	Catalogo	Descripción	Marca	Cant.	Precio Unit.	Precio Total
001	ACRSMARTN15VF	SISTEMA DESIONIZADOR DE AGUA SERIE SMART Modelo SMART N15-VF Entrega agua Ultrapura para los siguientes usos: HPLC, IC, GC, GC/MS, Analisis de COT, ICP y ICP/MS Especificaciones: Tº agua de alimentacion: 5-40 °C Presion de alimentacion: 1-5 bar Retencion ionica: 95"-99" Retencion de Bacterias y particulas: >99" Conductividad: 0 -20 Us/cm Rango de productividad: 15L/h Resistividad a 25°C: 18.2 MOhm/cm Conductividad a 25°C: 0.055 µs/cm Rango de flujo: 1.0 -1.5 L/min TOC: <5ppb Bacteria: <1 ufc/mL ***Se recomienda el uso de agua de calidad mínima 400-700µS/cm conductividad***	HEAL	1		

**Observaciones**

- \*Condiciones Generales\*
- PLAZO DE ENTREGA: DESPACHO 48-72 HORAS RECIBIDA ORDEN DE COMPRA. PRODUCTOS EN STOCK.
- VALIDEZ OFERTA: OFERTA VALIDA POR 30 DIAS.

Neto	\$
IVA	\$
Total	\$



**Figura 37: Especificaciones técnicas de Sistema desionizador de agua.**  
 Fuente: Elaboración propia



AV

Autoclave vertical automático

Este equipo es de fácil manejo. Cuenta con tapa de volante para hacer un cerrado rápido y eficiente.

El sistema de control consta de un microprocesador para programar temperatura y timer que se activa cuando la temperatura programada se alcanza, a partir de este momento empieza a descontar el tiempo programado manteniendo la temperatura y al finalizar descarga automáticamente.

Usted puede programar la temperatura de esterilización, los tiempos de desfogue, el cierre de la válvula de los gases incondensables, alarma audible cuando termina el proceso.

El control cuenta con cinco programas para establecer esterilizaciones según sean sus requerimientos, es decir se programa y después únicamente solicita el programa que así haya programado sin tener que hacerlo de nuevo.

El tanque es de acero inoxidable 304 y el exterior es de acero con recubrimiento epoxipoliéster.

Esta unidad cuenta con:

- Tapa de volante para cerrado rápido.
- Control de temperatura digital programable.
- Sistema de seguridad electrónico abajo del nivel del agua.
- Manómetro analógico.
- Nivel electrónico en el tanque y depósito.
- Válvula liberadora de presión (secado).
- Válvula de seguridad calibrada 1.7Kg/cm2
- Llave para drenado de depósito de agua (Ø3/8").
- Salida de vapores de descarga (Ø3/8").
- 2 canastillas de acero inoxidable.
- Mueble de acero galvanizado con recubrimiento epoxipoliéster.



Datos técnicos

<b>Modelo</b>	AV2550	AV3060	AV3580
<b>Volts</b>	120 VCA	120 VCA	220 VCA
<b>Watts</b>	1500w	2600w	3600w
<b>Presión</b>	1.9 kg	1.9 kg	1.9 kg

Figura 38: Especificaciones técnicas de Autoclave.  
Fuente: Elaboración propia

- **GLOSARIO DE TERMINOS**  
**Agentes Biológicos.** Microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados, cultivos celulares y endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad.
- **Asepsia.** Conjunto de procedimientos para lograr la ausencia de microorganismos.
- **Concentración.** Medida de la cantidad de soluto presente en una disolución, desde el punto de vista de la química. Se expresa como la cantidad de un soluto que se encuentra disuelto en un solvente. La concentración se expresa de diversas formas; las más comunes son: molaridad [M], molalidad [m], normalidad [N], tanto por ciento de soluto
- **Esterilización.** Conjunto de acciones mediante las cuales se destruye toda forma de vida, incluyendo esporas de objetos inanimados, con procedimientos físicos, químicos y gaseosos.
- **Agar.** Agente solidificante de medios de cultivo.
- **Medio de Cultivo.** Solución acuosa de varios nutrientes adecuada para el cultivo de células.
- **Microlitro [ $\mu$ l].** Unidad de capacidad que equivale a  $1 \times 10^{-6}$  litros. Un (1)  $\mu$ l de agua pesa exactamente un (1) mg y tiene un volumen de 1 mm<sup>3</sup>.
- **pH.** Cologaritmo de la concentración de iones hidrogeno (H<sup>+</sup>) de una solución.
- **Solución.** Mezcla homogénea de una o más sustancias disueltas en otra sustancia. A la sustancia disuelta se le da el nombre de *soluto*, mientras que la sustancia que disuelve se llama *solvente*. El solvente existe en mayor cantidad que el soluto en una solución.
- **Taurina.** Es un derivado de la cisteína que está formada por azufre, el cual es necesario para mantener la estructura proteínica, la actividad enzimática, y el metabolismo de la energía. Es uno de los aminoácidos más abundantes del organismo.
- **Toxicidad.** Capacidad de un organismo de causar una enfermedad produciendo una toxina que inhibe la función de la célula hospedadora o la mata.
- **Volumen.** Cantidad de espacio físico que ocupa la masa. Se calcula dividiendo la masa por la densidad promedio.
- **Mililitro (mL).** Unidad de volumen equivalente a la milésima parte de un litro. También equivale a 1 centímetro cúbico (1 cm<sup>3</sup>) y es el tercer submúltiplo del litro.
- **Frotis.** Método de exploración microscópica de un fragmento de tejido o secreción que consiste en realizar una extensión sobre un portaobjetos y examinarla con el microscopio.
- **Inoculación.** Es ubicar algo que crecerá y se reproducirá.
- **Mesófilos.** Organismos que proliferan entre 20°C – 40°C (37°C).