

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, UNAN-LEÓN
ÁREA DEL CONOCIMIENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA



Monografía para optar al grado de Licenciado Químico Farmacéutico

“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA PURIFICADA ENVASADA EN BOLSA PLÁSTICA Y COMERCIALIZADA EN UN MERCADO DEL MUNICIPIO DE LEÓN”

AUTORES:

- Br. William Sánchez Peralta.
- Br. Wessly Gabriel Meza Romero.

TUTORA: M.Sc. Fania Valesca Valladares Silva.

León, Nicaragua, julio 2024



RESUMEN

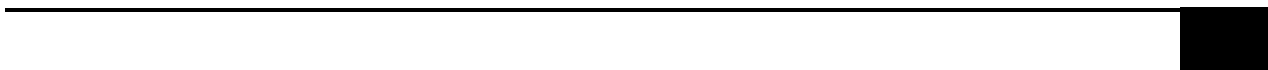
Este trabajo de tipo experimental presenta la calidad microbiológica del agua purificada envasada en bolsa plástica y comercializada en un mercado del municipio de León de cinco marcas diferentes denominadas como: A, B, C, D y E.

Se utilizó la técnica del Número Más Probable (NMP) para determinar coliformes totales y fecales, de acuerdo con el estándar método para análisis de agua y aguas tratadas, 17^{va} edición, y el método vertido en placa en la cuantificación de bacterias aerobias mesófilas establecido en la USP 45. Además, se realizó el ensayo para investigar la presencia de *Pseudomona aeruginosa*. Las normativas utilizadas como referencia para las especificaciones del producto son: la Norma CAPRE y la RTCA 67.04.50.17 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos

En las cinco marcas comerciales estudiadas se logró identificar *Pseudomona aeruginosa* y los resultados de la cuantificación de Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM) mayor a 100 UFC/mL, no cumpliendo con los criterios de aceptación. Además, en la determinación de coliformes totales, se obtuvo como resultado: marca A, C y D <1.1 NMP/100 mL, en la marca B 2.0 NMP/100 mL y en la marca E 8.0 NMP/100mL; y las cinco marcas están libres de coliformes fecales.

Por tanto, con base a los resultados obtenidos las cinco marcas comerciales tomadas para este estudio no son aptas para su consumo y no deberían estar distribuidas en el comercio.

Palabras clave: *Pseudomona aeruginosa*, coliformes totales y fecales, Norma CAPRE, Técnica NMP, RTCA 67.04.50.17, Bacteria Aerobias Mesófilas (BAM)





LISTA DE ACRÓNIMOS

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano.

NMP/100 mL: Número Mas Probable por cada 100 mililitro.

UFC /g: Unidad Formadora de Colonias por cada gramo.

WOH: World Health Organization.

UFC: Unidad Formadora de Colonias.

TDS: Totalmente disuelto.

Spp: Mas de una especie sin nombre.

APHA: Asociación Americana de Salud Pública.

COVENIN: Comisión Venezolana de Normas Industriales.

AWWA: American Water Works Association.

WPCF: Water Pollution Control Federation.

EPA: Environmental Protection Agency.

CF: Coliformes Fecales.

CT: Coliformes Totales.

n = número de unidades de muestras a ser analizadas.

m = Criterio microbiológico por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud.

c = número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre m y M para que el alimento sea aceptable.

M = Criterio microbiológico por encima del cual el alimento representa un riesgo para la salud.



CARTA DE AUTORIZACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de tutora, hago constar que he asesorado y supervisado el trabajo monográfico titulado “Calidad microbiológica del agua purificada envasada en bolsa plástica y comercializada en un mercado del municipio de León” de los autores William Sánchez Peralta, carné 19-04107-0 y Wessly Gabriel Meza Romero, carné 19-00844-0, como forma de culminación de su plan de estudio y optar al título de Licenciado Químico - Farmacéutico que otorga el área del conocimiento de Ciencias Química, carrera de Farmacia de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Los objetivos del presente trabajo fueron alcanzados satisfactoriamente, el trabajo desarrollado fue finalizado y los autores están listos para presentarlo ante el tribunal evaluador correspondiente para ser evaluados y calificados.

Sin más a que hacer alusión, me suscribo.

Atentamente,

M.Sc. Fania Valladares





AGRADECIMIENTOS

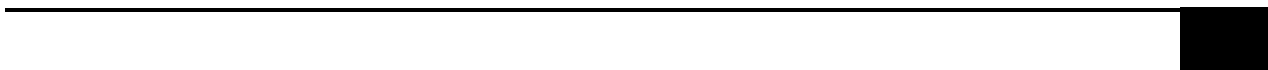
Primeramente, a Dios Padre Celestial, por regalarnos la vida, y una excelente salud, que hoy nos permite la oportunidad de concluir este hermoso proyecto de formación profesional, que durante a lo largo de este proceso ha sido testigo de principio a fin del esfuerzo y la dedicación que conllevó llegar hasta este punto.

A nuestros padres, por el gran apoyo incondicional hasta el día de hoy, lo que represento un gran cambio en nuestras vidas no solo académicamente, también en los excelentes valores que nos han transmitido hasta el día de hoy. Todo este soporte ha sido gracias a ellos, testigo de lo que deseamos hacer, hoy, mañana y siempre.

A nuestra tutora de tesis M.Sc. Fania Valesca Valladares Silva, por su paciencia y sabiduría que nos brindó durante nuestro proceso de culminación del trabajo monográfico.

A los docentes de nuestra Carrera de Farmacia, por ser partícipes en nuestro proceso de formación profesional, brindándonos las bases para ser parte de la sociedad laboral nicaragüense y, por ende, excelentes profesionales en nuestro campo. Merecen todo nuestro total respeto y admiración por ser parte del desarrollo farmacéutico de los futuros profesionales en nuestro país.

William Sánchez Peralta
Wessly Gabriel Meza Romero





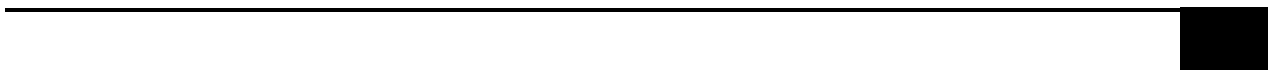
DEDICATORIA

Le agradezco primeramente a Dios por darme la vida, y principalmente por brindarme buena salud hasta el día de hoy, que significa la culminación de un proyecto, y el comienzo de muchos más que se vienen a lo largo de esta vida.

Le agradezco a mi madre Damaris Peralta Zapata, que desde el momento que llegué a este hermoso país, me brindó la oportunidad de iniciar una nueva vida, nuevas etapas que me hicieron un excelente ser humano. Sin ella no sabría que rumbo tuviera mi vida en este momento. Nunca dejó de creer en mí, nunca dejó de velar por mí. La mejor mamá del mundo, que en su tiempo no pudo concluir la carrera que su hijo está por finalizar, pero a través de su reflejo, la podrá concluir. Así que muchas felicitaciones, mamita bella, por todo tu esfuerzo por sacar adelante a tus hijos y volverlos unas personas de bien, de buenos valores, que aportaran a la sociedad los grandes frutos que a lo largo de tu vida has tratado de transmitirlos. ¡Lo lograste, mamita!

Le agradezco a mi hermana Seidy Michell Sánchez Peralta que me recibió hace casi 7 años en este bello país, sabiendo las dificultades y la poca visión que tenía sobre mi futuro. Desde el momento que empezamos a convivir, nunca me dejó de apoyar, y siempre estuvo en las buenas y en las malas desde que empecé mi proceso de adaptación en mi bella Nicaragua. El examen de admisión que con mucho esfuerzo fue un soporte muy importante, desde la alegría de saber que me aceptaron en la carrera de farmacia, hasta el día de hoy, que será testigo de que su hermano concluirá uno de sus proyectos de vida. Muchas gracias, hermana, por ser más que mi hermana, mi mejor amiga, el testigo de todo el proceso de principio a fin, no solo académicamente, también lo que conllevó a vivir muchas etapas en mi vida, esos grandes cambios que me ayudaron a saber disfrutar de la vida. ¡Gracias, hermana!

William Sánchez Peralta





DEDICATORIA

Dedico este trabajo primeramente a Dios por darme la vida, la salud, por estar conmigo en cada paso que he dado en mi vida y el privilegio de poder culminar con mis estudios académicos. Agradezco su constante inspiración y las bendiciones que ha hecho posible este logro.

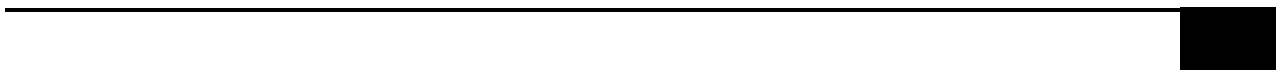
A mis padres por su apoyo incondicional y sacrificio han sido un pilar importante detrás de cada logro.

En memoria de mi abuela que dejó una marca imborrable en mi corazón que durante años dio todo su esfuerzo para formarme en un hombre de bien, es en donde encuentro la inspiración para alcanzar mis metas.

A esa persona especial que durante años fue un apoyo invaluable. Su influencia y aliento dejaron una huella muy significativa en mis inicios académicos y alentarme a cursar esta carrera.

A mis compañeros de estudios que, durante los ciclos académicos, compartimos desafíos y momentos de aprendizajes. En donde hemos dejado recuerdos imborrables.

Wessly Gabriel Meza Romero





ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	4
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1 Generalidades	5
3.1.1 Características del agua	5
3.1.2 Propiedades del agua	6
3.2 Enfermedades transmitidas por el agua a través de bacterias patógenas.	7
3.3 Agua envasada	8
3.3.1 Procesos de purificación de las aguas envasadas.....	10
3.4 La calidad microbiológica del agua envasada.	11
3.5 Bacterias Aerobias Mesófilas	13
3.5.1 Significado de su presencia en los alimentos y otros substratos	13
3.6 Microorganismos indicadores de calidad en el agua.	14
3.6.1 Coliformes totales	14
3.6.2 Coliformes fecales.....	15
3.6.2.1 Distribución de los coliformes	15
3.6.3 <i>Escherichia coli</i>	16
3.6.3.1 Alimentos contaminados con <i>E. coli</i>	17
3.6.4 <i>Pseudomona aeruginosa</i>	18
3.6.4.1 Relevancia de la presencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en aguas de consumo	20
3.6.4.2 Enfermedades ocasionadas por la <i>Pseudomona aeruginosa</i>	20
3.7. Métodos para la determinación bacteriológica en el agua.....	21
3.7.1 Método de recuento en placa.....	21
3.7.2 Variables más utilizadas del método de recuento en placa	22
3.7.3 Método Número Más Probable	22
3.8 Pruebas bioquímicas	24
3.8.1 Oxidasa	24
3.8.2 Catalasa.....	24
3.9. Normativas	25
3.9.1 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. (RTCA 67.04.50:17, 2017)	25



3.9.2 Norma regional CAPRE (Normas de Calidad del Agua para Consumo Humano)	26
IV. DISEÑO METODOLÓGICO.....	29
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIÓN	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII.BIBLIOGRAFÍA	44
IX. ANEXOS	48



I. INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para la vida, por eso todas las personas deben disponer de un abastecimiento satisfactorio (suficiente, seguro y accesible). La mejora en el acceso al agua de consumo humano puede proporcionar beneficios tangibles para la salud. Se debe hacer el máximo esfuerzo para lograr que el agua de consumo humano sea lo más segura posible. (OMS, 2011)

En el año 2011 la OMS informó que el mayor riesgo a la salud pública debido a los microbios del agua se relaciona con el consumo de agua contaminada con heces humanas o de animales, aunque puede haber otras fuentes y vías de exposición significativas. Los brotes de enfermedades transmitidas por el agua se han asociado con el tratamiento inadecuado del suministro de agua y la gestión insatisfactoria de la distribución del agua potable. Por ejemplo, en los sistemas de distribución, estos brotes se han vinculado a conexiones cruzadas, contaminación durante el almacenamiento, baja presión del agua y suministro intermitente. Los brotes de enfermedades transmitidas por el agua pueden evitar prevenirse si se aplica un marco integrado de gestión de riesgos basado en un enfoque de barreras múltiples desde la cuenca hasta el consumidor. La implementación de un marco integrado de gestión de riesgos para mantener el agua libre de la contaminación en los sistemas de distribución incluye la protección de las fuentes de agua, la adecuada selección y operación de los procesos de tratamiento del agua potable y la correcta gestión de los riesgos dentro de los sistemas de distribución. (OMS, 2011)

Las enfermedades derivadas por la ingestión de agua son muy frecuentes en países en desarrollo; es por esto, que la vigilancia de las entidades gubernamentales sobre las plantas procesadoras de agua es continua y deben ser controladas durante todas las etapas del procesamiento desde la recepción de la materia prima hasta el almacenamiento y distribución del producto empacado. A pesar de esto, se evidencia que en el mercado se expenden productos de diferentes calidades y sin registro sanitarios. (Toruño & Gonzáles, 2017)



En este contexto, surge la necesidad de investigar y verificar la seguridad del agua que se comercializa y se consume en un mercado del municipio de León, considerando su impacto en la salud pública. Es crucial comprender los posibles riesgos asociados con la contaminación del agua, así como identificar las medidas necesarias para garantizar su adecuada potabilidad y uso seguro en la preparación de alimentos vendidos en la vía pública.

Hay estudios en los que se ha evaluado la calidad del agua de consumo humano, entre estos podemos mencionar:

En el año 2016 Benitez, Ramirez y otros, evaluaron la calidad microbiológica del agua envasada en bolsas y botellas que se venden en la ciudad de Maracaibo del Estado Zulia, Venezuela. Se seleccionaron 10 marcas comerciales de agua envasada, obtenidas en distintos puntos de venta de la ciudad. El análisis microbiológico se realizó de acuerdo con las normas COVENIN, mediante el método del Número más Probable (NMP), para determinar *Coliformes totales*, *Coliformes fecales*, *Aerobios mesófilos* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los valores de NMP para *coliformes totales* estuvieron entre 9,2 y < 2,2, *coliformes fecales* entre 5,1 y <2,2 NMP y para *Pseudomona*, la muestra B mostró el valor más alto con un NMP de 28. Se concluye que solo 2 marcas (A y G) cumplieron con todos los requisitos microbiológicos, siendo éstas aptas para consumo humano. (Benitez et al., 2016)

En el año 2017 Toruño y Gonzáles, estudiaron la calidad microbiológica del agua en bolsas de 5 marcas denominadas como PCH, FRS, BRI, FLIP, OAS comercializadas en el área de los semáforos de ENEL Central, UCA, Managua. En las 5 marcas se logró identificar coliformes totales y *Escherichia coli*. Mediante el método filtración por membrana encontraron que PCH contenía 56 UFC/100 mL y 94 UFC/100 mL, en la marca FRS para un 20 % de Coliformes totales y Coliformes termotolerantes para la marca PCH con 40 UFC/100 mL para un 10%, y en la identificación de *Escherichia coli* se lograron obtener resultados menores de <1 UFC/100 mL dando las 5 marcas resultados de un 100% de negatividad en la determinación de *Escherichia coli*). (Toruño & Gonzáles, 2017)



Uno de los métodos utilizados en este estudio se basa en la técnica Número Más Probable (NMP), en el cual, determina la presencia de microorganismos Coliformes Totales y Fecales (Molina et al., 2022). Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa (Jirón et al., 2014). Las bacterias coliformes no son susceptibles a causar enfermedades, pero su presencia indica que el suministro de agua puede ser vulnerable a la contaminación por microorganismos más dañinos. La presencia de *E. coli* en el agua indica contaminación fecal reciente y la posible presencia de patógenos causantes de enfermedades, tales como bacterias, virus y parásitos. (Garza & Martínez, 2019)

Otro de los métodos utilizados es el Recuento o Vertido en Placa para determinar la cantidad de microorganismos viables en un medio líquido (Ramírez et al., 2018). La *Pseudomona aeruginosa* es una de las especies más reportadas en el agua envasada, de ahí la importancia de actualizar diferentes aspectos relacionados con los riesgos microbiológicos potenciales en aguas envasadas. (Delgado & Morales, 2015)

Con base a esta investigación, se pretende generar conocimientos e información para fabricantes de agua purificada y autoridades que impulsen a mejorar la calidad del agua, principalmente las que se venden en bolsas plásticas, y, en consecuencia; mejorar la calidad de vida de los consumidores, evitando enfermedades provenientes del consumo de agua. Por tanto, se pretende verificar la calidad microbiológica del agua purificada envasada en bolsa plástica y comercializada en un mercado del municipio de León, con el fin de establecer a través de estos ensayos el cumplimiento de los criterios microbiológicos establecidos por la Norma regional CAPRE (Normas de Calidad del Agua para Consumo Humano) y la RTCA 67.04.50.17 (Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos).

Por tanto, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué parámetros de calidad microbiológica cumple el agua purificada envasada en bolsas plásticas y comercializadas en un mercado del municipio de León, mayo 2024?



II. OBJETIVOS

Objetivo general:

- ✓ Verificar la calidad microbiológica del agua purificada envasada en bolsa plástica y comercializada en un mercado del municipio de León, mayo 2024.

Objetivos específicos:

- ✓ Cuantificar bacterias aerobias mesófilas por la técnica vertido en placa.
- ✓ Determinar coliformes totales y fecales mediante el método microbiológico del número más probable (NMP).
- ✓ Identificar *Pseudomona aeruginosa* en las muestras de agua.



III. MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades

El agua, es un líquido vital para el hombre, animales y plantas. Frecuentemente actúa como vehículo de transmisión de microorganismos entéricos. La materia fecal puede accidentalmente alcanzar una fuente de abastecimiento, siendo la forma más común el ingreso a través de los sistemas de pozo ciego a napas profundas. La presencia de microorganismos patógenos en el agua de bebida es un riesgo que se incrementa en las áreas marginales de mayor densidad poblacional o en zonas sin disponibilidad de agua potable; debido a la incrementación de la poblaciones, migraciones, crecimiento agrícola, industrias, se ha vuelto un problema de importancia pública a nivel nacional e internacional como es garantizar la seguridad del agua no contaminada, siendo que llega a ser causante de enfermedades hídricas para el humano obligando a diversos sistemas de gobernación al control rutinariamente de la calidad microbiológica de las mismas. (Palacios & Cibeles, 2015)

3.1.1 Características del agua

El agua químicamente pura es un líquido inodoro e insípido; incoloro y transparente en capas de poco espesor, toma color azul cuando se mira a través de espesores de seis y ocho metros, porque absorbe las radiaciones rojas. (Palacios & Cibeles, 2015)

Características físicas

- ❖ Temperatura: Sus efectos son directo coagulando las proteínas que constituyen la materia prima o indirectamente aumentando la toxicidad o algunas sustancias y disminuyendo la tasa de oxígeno disueltos.
- ❖ Color: Las aguas varían de color dependiendo de las sustancias disueltas o en suspensión presentes en las misma. El color amarillo es producido por la materia orgánica vegetal o animal, en la que ácidos humitos y tánicos, el color verdoso se debe a fitoplancton contenido en el agua.
- ❖ Turbidez: La transparencia del agua es importante se utiliza en la industria para la producción de productos de consumo humano. La del agua es producida por



materias tales como arcilla, fango, materia orgánica e inorgánica, compuestos orgánicos no solubles y coloreados, plancton y otros microorganismos microscópicos. La turbidez y la concentración de la materia suspendida es difícil correlacionarla por el tamaño y forma de partícula que afectan la dispersión de la luz y de la suspensión. (Palacios & Cibeles, 2015)

Características químicas

- ❖ pH: Indica que el agua es acida o básica.
- ❖ La capacidad de tampón: Es decir reduce al mínimo los cambios significativos de pH en un sistema químico.
- ❖ Salinidad: El agua contiene cantidades proporcionales de sal las cuales están formados por un ácido y una base, como lo es cloruro de sodio.
- ❖ Dureza general: se refiere a las concentraciones de magnesio, yodo y calcio. (Palacios & Cibeles, 2015)

3.1.2 Propiedades del agua

Propiedades químicas:

- ❖ Reacciona con los óxidos ácidos.
- ❖ Reacciona con los óxidos básicos.
- ❖ Reacciona con los metales.
- ❖ Reacciona con los no metales.
- ❖ Se une en las sales formando propiedades fisicoquímicas y biológicas del agua. (Jirón et al., 2014)

Propiedades físicas:

- ❖ Estado físico: sólida, líquida y gaseosa.
- ❖ Color: incolora.
- ❖ Sabor: insípida.
- ❖ Olor: inodoro.
- ❖ Densidad: 1 g. /c.c. a 4°C.
- ❖ Punto de congelación: 0°C.



- ❖ Punto de ebullición: 100°C.
- ❖ Presión crítica: 217,5 atm.
- ❖ Temperatura crítica: 374°C.(Jirón et al., 2014)

3.2 Enfermedades transmitidas por el agua a través de bacterias patógenas.

Las bacterias no solo pueden provocar enfermedades cuando entran en el cuerpo humano a través de los alimentos, las aguas superficiales también pueden ser una fuente importante de infecciones bacterianas. (Toruño & Gonzáles, 2017)

Existen bacterias que se pueden encontrar en aguas superficiales, y las enfermedades que causan cuando son ingeridas en grandes cantidades junto a los síntomas estas son:

- *Escherichia coli*: Es principal indicador de contaminación del agua y abundan en las heces de origen animal y humano alcanzando en las heces resiente concentraciones de 10⁹ por gramo. Las diferentes variedades de *e. coli* asociadas a diarreas son.
- *Escherichia Coli Eterotoxigena* (ECET): Estas tienen acción en el intestino delgado provocando diarrea del viajero, infantil, acuosa, espasmos abdominales, náuseas y febrícula.
- *Escherichia Coli Enteropatogena* (ECEP): Afecta el intestino delgado provocando diarrea infantil, náuseas, fiebre, vómito, y heces no sanguinolentas.
- *Escherichia Coli Entero Invasiva*: Tiene efecto en el intestino grueso y provoca fiebre espasmos, diarrea acuosa y puede progresar a disentería con escasas heces sanguinolenta.
- *Escherichia Coli Enteroagresiva* (ECA): Afecta el intestino delgado y provoca diarrea infantil, diarrea acuosa persistente con vómito, deshidratación y fiebre.
- *Escherichia Coli Difusante Adherente* (ECDA): Afecta el intestino delgado y produce diarrea acuosa en niños de 1 a 5 años.
- *Salmonella*: Son a menudo patógenas para el hombre y los animales cuando se adquiere por vía bucal. Se transmite desde los animales y los productos de estos hacia el hombre, en el cual producen enteritis, infección general y fiebre intestinal.
- *Salmonella typhi*: Producen fiebre tifoidea. La salmonella digerida llega al intestino delgado desde donde entra a los vasos linfáticos y a continuación en los vasos se



transporta a muchos órganos incluso en el intestino y tejido linfático intestinal, se multiplican y excretan en el excremento.

- *Salmonella spp*: Causa salmonellosis, la cual provoca mareo, calambres intestinales, vómitos, diarreas y a veces fiebre leve.
- *Shigella*: Es uno de los agentes etiológicos de disentería bacilar, infección localizada y ulcerativa de colon, se elimina por excretas de individuos infectados por vía fecal oral, por aguas o insectos contaminados. La shigellosis se produce después de la ingestión de los microorganismos cuya dosis infectante es muy pequeña en la invasión del epitelio del colon.
- *Shigella Dysenteriae* de tipo I: Causa la enfermedad más severa y es el agente causal de shigellosis epidérmica. (Toruño & Gonzáles, 2017)

3.3 Agua envasada

Es aquella apta para el consumo humano, contenida en recipientes herméticamente cerrados, de materiales, formas y capacidades diversas, aprobadas por las autoridades competentes y que es adecuada para el consumo directo sin que sea necesario tratamiento ulterior y con cierre inviolable el cual deberá permanecer en tal condición hasta que llegue a manos del consumidor final. (Delgado & Morales, 2015)

Se considera, legalmente, un alimento en muchas naciones individuales y por el Codex Alimentarius de los estados de las Naciones Unidas, que está reglamentado por Food and Drug Administration (FDA), que define el agua embotellada como "agua que se destina al consumo humano y que es sellada en botellas o cualquier otro recipiente con ingredientes añadidos, excepto que puede contener opcionalmente agentes antimicrobianos seguros y adecuados y dentro de las limitaciones, el fluoruro puede también ser añadido bajo el estándar de calidad. El agua embotellada puede ser utilizada como una bebida por sí mismo o como ingrediente en otras bebidas. La FDA define también varios tipos de agua embotellada bajo la norma de identidad agua embotellada. Las empresas encargadas de la distribución domiciliar del agua potable (ENACAL) procesan y distribuyen agua al grado de uso humano y para beber, usualmente los



parámetros que vigilan son: dureza, elementos tóxicos como el cadmio, plomo, cobre y cloro en niveles aceptables para el consumo. (Delgado & Morales, 2015)

El cloro se dosifica a medida que se extrae el agua de las fuentes (pozos, vertientes) y se conoce que el tiempo requerido de contacto del cloro con el agua es de 30 minutos para eliminar la flora microbiana existente. Es posible que la cantidad de cloro disminuya en el trayecto de la red subfluvial, y que en lugares lejanos la concentración sea mínima, como una medida preventiva estas mismas empresas recomiendan hervir el agua durante 3 o 4 minutos y luego consumirla.

En las aguas embotelladas se utilizan diferentes tipos de agua: como el agua de manantiales, agua potable proveniente de sistemas públicos y agua mineral de pozos; la mayoría de estas pasan por un proceso de purificación antes de pasar al proceso de embotellado. (Delgado & Morales, 2015)

El primer paso en el embotellado es el proceso de recolecta del agua de una fuente. En función de la fuente, ya sea de la tierra o de un suministro de agua municipal, se necesitarán diferentes métodos para bombearla o simplemente recolectarla a través de tuberías. Luego filtrar el agua es uno de los pasos más importantes de la producción. Se utilizan diversos procesos para purificar el agua embotellada, entre los que se pueden citar son: luz ultravioleta, ozono, la ósmosis inversa y la filtración de micrones. (Delgado & Morales, 2015)

El agua embotellada no tiene por qué ser mejor que el agua de la red de agua potable, que tiene la regulación de la EPA. La FDA supervisa el proceso de embotellado, en el que no se comprueban ciertos contaminantes, como el amianto o los parásitos. Sin embargo, sí se controlan estrictamente el contenido en plomo y en cloro. (Delgado & Morales, 2015)



3.3.1 Procesos de purificación de las aguas envasadas.

Este proceso consiste en purificar el agua proveniente de lagos, ríos, pluvial (lluvias) y de pozos que contienen compuestos dañinos para el ser humano. Deben llevarse a cabo una serie de procesos con el fin de asegurar que el agua sea apta para el consumo humano.

- **Desinfección:** El agua se desinfecta antes de que entre al sistema de distribución para asegurar que los microbios potencialmente peligrosos se mueran. El cloro, clóramelos, o dióxido de cloro son usados más frecuentemente porque son desinfectantes más efectivos, no solo en la planta de tratamiento, pero también en las tuberías que distribuyen el agua a nuestros hogares y negocios. El ozono es un desinfectante potente, y una radiación ultravioleta es un desinfectante eficaz y un tratamiento para una fuente de aguas relativamente limpia; pero ninguna de estas es efectiva para controlar contaminantes biológicos en las tuberías de distribución.
- **Adsorción:** Contaminantes orgánicos, colorante no deseado y compuestos que causan sabor y olor, se pueden pegar a la superficie de un carbón activado en polvo o granulado y así se eliminan del agua de tomar.
- **Intercambio de Iones:** El proceso de Intercambio de iones se usa para extraer contaminantes inorgánicos si no se pueden extraer adecuadamente por filtración o sedimentación. El intercambio de iones puede ser utilizado para tratar el agua dura. También se utiliza para extraer arsénico, exceso de fluoruro, nitratos, radio y uranio.
- **Filtración:** Muchos planteles de procesos de tratamiento de agua usan la filtración para extraer todas las partículas del agua. Esas partículas incluyen masillas y limo, materia natural orgánica, precipita otros procesos en el plantel, hierro y manganeso y microorganismos. La Filtración clarifica el agua y enaltece la efectividad de desinfección.
- **Floculación/Sedimentación:** Floculación se refiere a un proceso de tratamiento de agua que combina o coagula partículas pequeñas, que se asientan en el agua como sedimento. El Alum y las sales de hierro o polímeros sintéticos orgánicos (usados solos o en combinación con sales de metal) se usan generalmente para



promover la coagulación. Asentamiento o sedimentación ocurre naturalmente como partículas floculadas que se asientan fuera del agua.

- Ozono: La calidad de la desinfección con ozono es mejor que la conseguida con el cloro, debido al gran poder oxidante del ozono. Con el ozono se consigue eliminar virus, bacterias y microorganismos que son resistentes al cloro. Además, actúa con gran rapidez por lo que en pocos segundos se pueden realizar tratamientos muy efectivos.
- Luz ultravioleta: ya que el cloro no remueve todos los microorganismos, se emplea tecnología libre de químicos para desinfección, con el fin, de asegurar que el agua purificada permanezca absoluta y completamente libre de cualquier tipo de contaminación microbiológica.
- Filtros de carbón activado: Se hace pasar el agua a través de un filtro con carbón activado, en bloque o granular. Es uno de los sistemas de tratamientos de agua muy eficientes para eliminar el cloro, mal olor y sabor del agua y también puede eliminar sólidos pesados.
- Osmosis inversa: La ósmosis inversa está basada en la aplicación de una presión sobre una disolución concentrada para que el mismo pase a través de unas membranas. Al efectuarse ese proceso la mayor parte de las sales disueltas quedan retenidas y conseguiremos un agua con una menor concentración salina. (Delgado & Morales, 2015)

3.4 La calidad microbiológica del agua envasada.

El agua embotellada o envasada en bolsas puede ser cualquier fuente de agua potable que recibe tratamientos físicos y químicos, y que está libre de agentes infecciosos. Como cualquier otro producto alimenticio, debe ser procesada, empacada y almacenada de manera sanitaria y libre de contaminación. Además de su consumo básico, ésta puede ser utilizada para la preparación de fórmulas infantiles, para reconstituir alimentos en hospitales, o, además, para la limpieza de lentes de contacto, limpieza de heridas y el llenado de los humidificadores del ambiente. Como casi todos los productos alimenticios, el agua embotellada no es un producto libre de microorganismos, específicamente de



bacterias que se encuentra en forma natural en los suministros de agua. (Toruño & Gonzáles, 2017)

Se tiene la percepción de que una vez que el agua es embotellada, el producto es estéril, pero en realidad, el agua que es usada para envasado puede contener grandes cantidades de bacterias, que en ocasiones exceden los límites permitidos, las cuales se originan antes, durante y después del envasado y vida de anaquel. Además, las prácticas higiénicas deficientes del personal que participa en el procesamiento del agua, o el manejo inadecuado de los envases, dan como resultado un producto final de mala calidad. (Ríos et al., 2017)

Las fuentes de agua generalmente contienen una microflora muy variada, que incluyen las siguientes especies: *Achromobacter spp.*, *Aeromonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Alcaligenes spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Cytophaga spp.*, *Moraxella spp.*, *Pseudomonas spp.*, Estas bacterias se encuentran en pequeñas cantidades, pero pueden multiplicarse rápidamente durante el envasado, almacenamiento y distribución del agua. Existe mucha controversia sobre el efecto que pueda causar la microflora del agua para consumo humano. La mayoría de estos organismos no son patogénicos en condiciones normales, pero han sido responsables de infecciones oportunistas en pacientes hospitalizados, niños ancianos e inmunodeprimidos. (Toruño & Gonzáles, 2017)

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) sugiere que la cuenta total bacteriana no debe exceder 500 UFC/mL, principalmente por la interferencia en la detección de Coliformes. De acuerdo con las leyes mexicanas, el agua embotellada no debe contener más de 100 UFC/mL de CTB. La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece que el agua debe estar libre de *Pseudomonas aeruginosa*, debido a la vulnerabilidad que presentan niños y personas de la tercera edad a esta bacteria. (Toruño & Gonzáles, 2017)



3.5 Bacterias Aerobias Mesófilas

El recuento de colonias bacterianas en medios de cultivo con un adecuado soporte nutricional y libres de agentes inhibidores es ampliamente utilizado con diversos propósitos en el análisis de alimentos, perecederos o no, agua, equipo y otros productos. Se pretende contar el máximo número de microorganismos, y cuando la incubación se ha realizado entre los 20 y 37°, se le designa como cuenta de bacterias mesofílicas aerobias. Refiriéndose al mismo grupo, también se utilizan los calificativos de cuenta total viable, cuenta estándar en placa, cuenta viable general, cuenta total aeróbica, o cuenta en placa aeróbica, si a continuación se indica una temperatura entre los límites anotados. El grupo es muy heterogéneo y solo comparte entre si sus miembros la capacidad para formar colonias visibles en las condiciones en las que se desarrolla la prueba. (Castillo, 2015)

Por otra parte, desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo, el grupo de bacterias mesofílicas aerobias solo adquiere realidad cuando se definen, para un producto en particular, las condiciones en las que se ha efectuado el recuento. Esto es debido a que la imagen bacteriana va a modificarse, de acuerdo con la temperatura y el tiempo durante el cual se hayan incubado las placas; de ahí la necesidad de ajustarse rigurosamente a las obstrucciones que se indican en cada tipo de recuento. (Castillo, 2015)

3.5.1 Significado de su presencia en los alimentos y otros substratos

La cuenta de bacterias mesofílicas aerobias se ha propuesto o se utiliza en la microbiología sanitaria con los siguientes objetivos:

- a) Como indicador de la posible presencia de gérmenes patógenos.
- b) Como indicador del valor comercial de un alimento.
- c) Como indicador de las condiciones higiénicas en que ha sido manejado un producto.
- d) Como indicador de la idoneidad de un ingrediente crudo que se va a incorporar a un alimento.
- e) Para seguir la eficiencia de un proceso germicida o de preservación.
- f) Para predecir la vida de anaquel de un alimento. (Castillo, 2015)



3.6 Microorganismos indicadores de calidad en el agua.

Los indicadores microbiológicos de calidad del agua son organismos que tienen un comportamiento similar a microorganismos patógenos cuya procedencia, concentración, hábitat y reacción a factores externos es la de la mayoría. Su presencia determina la existencia de patógenos y permite comparar sus reacciones a cambios de pH y temperatura o aplicación de medios físicos o químicos de desinfección, con la ventaja de ser más fácilmente cultivables o identificables, y económicamente factibles. Requieren la identificación y cuantificación de microorganismos por índices de diversidad ajustados a intervalos que califican la calidad del agua y, aunque la información microbiológica obtenida a partir de su análisis no reemplaza los análisis fisicoquímicos, reduce costos y aporta información en el monitoreo de la calidad del agua. Los indicadores microbiológicos de contaminación del agua generalmente han sido bacterias de la flora saprófita intestinal, entre las que se encuentran *Bacteroides Fragilis*, Bacterias Mesófilas, coliformes totales, y fecales (termotolerantes), *Escherichia coli* y *Streptococcus fecales*. (Ríos et al., 2017).

3.6.1 Coliformes totales

Este grupo de bacterias pertenece a la familia Enterobacteriaceae, Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a 35°C +/-2°C con la producción de ácido y gas, catalasa positiva, móviles en su gran mayoría por medio de flagelos peritricos. Tienen una importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. (Ccencho, 2017)

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

Generalmente, se encuentran recuentos bajos de bacterias coliformes en la leche cruda, vegetales, carne, aves y otros alimentos crudos, por lo que presentan poco o ningún valor para el monitoreo de estos. (Ccencho, 2017)



Estos organismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, por lo cual su presencia en alimentos sometidos al calor sugiere una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste ha sido deficiente. (Ccencho, 2017)

3.6.2 Coliformes fecales

Los coliformes fecales también denominados coliformes termotolerantes, llamados así porque soportan temperaturas hasta de 45°C, comprenden un grupo muy reducido de microorganismos los cuales son indicadores de calidad, ya que son de origen fecal.

En su mayoría están representados por el microorganismo *E. coli*, pero se pueden encontrar, entre otros menos frecuentes, *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* estos últimos hacen parte de los coliformes Termotolerantes, pero su origen se asocia normalmente con la vegetación y solo ocasionalmente aparecen en el intestino. (Chiluiza & Darío, 2015)

Los coliformes fecales integran el grupo de los coliformes totales, pero se diferencian de los demás microorganismos que hacen parte de este grupo, en que son indol positivo, su rango de temperatura óptima de crecimiento es muy amplio (hasta 45°C) y son mejores indicadores de higiene en alimentos y en aguas, la presencia de estos indica presencia de contaminación fecal de origen humano o animal, ya que las heces contienen dichos microorganismos, presentes en la flora intestinal y de ellos entre un 90% y un 100% son *E. coli* mientras que en aguas residuales y muestras de agua contaminadas este porcentaje disminuye hasta un 59%. (Chiluiza & Darío, 2015)

3.6.2.1 Distribución de los coliformes

Las cepas de coliformes totales y coliformes fecales se encuentran en el suelo, alimentos, agua, polvo y principalmente en el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente. (Chiluiza & Darío, 2015)

Estos organismos se transmiten por contacto con el agua y alimentos contaminados y falta de higiene.



Las enfermedades infecciosas son siempre el producto de tres eslabones imprescindibles de una cadena interrelacionada con el agente infeccioso, llamados factores epidemiológicos primarios. Reservorio, fuente de infección, mecanismo de transmisión y huésped susceptible, que constituye la cadena epidemiológica de transmisión. (Chiluiza & Darío, 2015)

Potenciando e incluso facilitando la infección de estos se hallan los factores epidemiológicos secundarios, que condicionan la interrelación de los seres vivos entre sí y su medio ambiente.

- Factores Biológicos o Endógenos.
- Factores ligados al entorno.
- Estacionales, medio laboral, socioeconómico (vivienda, saneamiento, hacinamiento) demográficos (habitat, estructura social o familiar). (Chiluiza & Darío, 2015)

3.6.3 *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Forma parte de la familia Enterobacteriaceae. (Toruño & Gonzáles, 2017)

Son Coliformes capaces de producir indol, a partir de triptófano, en 21 ± 3 horas a $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Es una bacteria en forma de bacilo, anaerobio facultativo, Gram (-), móvil por flagelos peritricos. Las cepas de *E. Coli* que colonizan el intestino son generalmente comensales, debido a factores de virulencia específicos y rasgos fenotípicos que presenta, se encuentran dentro de esta especie, cepas patógenas que provocan diferentes tipos de enfermedades gastrointestinales. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

Dentro de la clasificación para las cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea podemos denotar seis grupos los cuales son:



- Enterotoxigénica (ETEC)
- Enterohemorrágica (EHEC)
- Enteroinvasiva (EIEC)
- Enteropatógena (EPEC)
- Enteroagregativa (EAEC)
- Adherencia difusa (DAEC)

Martínez & Sátan de Secaira menciona los síntomas que la *E. coli* O157:H7 puede ocasionar, provocando una enfermedad aguda, al cabo de tres o cuatro días después de la exposición con la bacteria patógena. Pero también se da la ocasión que los síntomas se pueden ver al día siguiente del contagio o más de una semana después, lo que nos demuestra que esta bacteria es muy incierta al momento de saber si fue por está que se dio el contagio. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

Los signos y síntomas incluyen los siguientes:

- Diarrea leve y líquida, hasta grave con sangre.
- Calambres en el estómago, dolores y sensibilidad.
- Náuseas y vómitos. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

Se asocian muchas enfermedades con la contaminación de los alimentos, ya que pueden contener microbios dañinos que pueden afectar gravemente a la salud, sobre todo al ingerirlos crudos o pocos cocidos como los productos de origen animal: carnes, huevos, mariscos y leche sin pasteurizar. Además, cuando las aguas de consumo humano no han sido potabilizadas también se pueden presentar las mismas manifestaciones. También las frutas y verduras tienden a contaminarse en la cadena de producción de forma cruzada con alimentos ya dañados, y de la misma manera en las cocinas o restaurantes. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

3.6.3.1 Alimentos contaminados con *E. coli*

Como se conoce la bacteria *E. coli* se encuentra dentro del grupo de los coliformes fecales y vive dentro del intestino animal, pero sobrevive fuera de él también; por lo que



su búsqueda es considerada un parámetro higiénico sanitario de alimentos y agua para el consumo. En investigaciones realizadas se ha demostrado que puede permanecer de forma latente a bajas temperaturas, lo que hace imprescindible la adición de altas temperaturas a los alimentos y el agua para erradicarla.

Para el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC), existen muchos factores que intervienen en la contaminación de los alimentos, éste establece una lista de productos que son más propensos a contaminarse:

- Aves y carnes crudas
- Frutas y verduras
- Leche cruda, queso y otros productos lácteos
- Huevos crudos
- Mariscos crudos
- Harina cruda
- Germinados (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

En el manejo de alimentos tanto de origen animal como vegetal, el análisis de los procesos de manufactura juega un papel muy importante, ya que en estas etapas puede presentarse una contaminación cruzada o intencional, lo que provoca que los mismos presenten una descomposición de sus características físicas y organolépticas como consecuencia de la presencia de microorganismos. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

La intoxicación producida por ingerir alimentos contaminados con bacterias patógenas puede ocasionar que se produzca una infección gastrointestinal, caracterizada por síntomas como: calambres abdominales, náusea, vómitos, diarrea y fiebre. (Martínez & Sátan de Secaira, 2022)

3.6.4 *Pseudomona aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia *Pseudomonadaceae* y es una especie de bacilo recto o ligeramente curvado, que miden de 0,5 a 0,8 μm x 1,5 a 3 μm , gramnegativos pertenecientes a la rama γ de las proteobacterias, misma a la que



pertenecen las enterobacterias, oxidasa positiva, aerobios estrictos, aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. Además, produce amoníaco a partir de la arginina, y puede utilizar citrato como única fuente de carbono. Los miembros de este género generalmente son móviles por un flagelo polar, catalasa positiva y no forman esporas. Algunas especies sintetizan una cápsula de exopolisacárido que facilita la adhesión celular, la formación de biofilm o biopelículas que los protege de la fagocitosis de los anticuerpos o del complemento, propiedad que le confiere un aumento en su patogenicidad. (Delgado & Morales, 2015)

Los microorganismos de esta especie son ubicuos en el ambiente. Su presencia es común en suelos y en agua naturales como lagos y ríos en concentraciones desde 10/100 mL hasta > 1 000/100 mL, sin embargo, no es frecuente en agua potable y se detecta en ella en bajas concentraciones. Esta especie sobrevive en agua destilada y agua desionizada, además, puede encontrarse tanto en ambientes oligotróficos como en ambientes con alto número de nutrientes, como en aguas residuales.

Dentro del género *Pseudomonas* se encuentran también algunas otras especies como *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae* y *P. alcaligenes*. *P. aeruginosa* se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, se puede aislar de muestras de suelo, aguas, aguas de piscinas contaminadas, así como de plantas y animales. Esta bacteria es capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustrato para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos en los que son escasos los nutrimentos que otros organismos pueden asimilar. Se ha reportado el aislamiento de *P. aeruginosa* de ambientes tan inhóspitos como son el combustible de avión, soluciones de clorhexidina y el jabón. Contrariamente a lo que parece, todos nosotros estamos en contacto diariamente con *Pseudomonas aeruginosa*, ya que se encuentra en bajas cantidades en algunos artículos de limpieza. De hecho, se obtienen aislamientos de esta bacteria a partir de entre el 2 y el 8% de las heces de personas sanas, lo que nos muestra que nuestro contacto con esta bacteria es cotidiano y sólo representa una amenaza para nuestra salud en condiciones especiales. (Delgado & Morales, 2015)



3.6.4.1 Relevancia de la presencia de *Pseudomona aeruginosa* en aguas de consumo

Aunque la presencia de *Pseudomona aeruginosa* puede ser significativa en algunos entornos como en centros sanitarios, no hay evidencia de que los usos normales del agua de consumo sean una fuente de infección para la población general. No obstante, puede asociarse la presencia de altas concentraciones de *Pseudomona aeruginosa* en el agua potable, especialmente en el agua envasada, con quejas sobre su sabor, olor y turbidez.

Pseudomona aeruginosa es sensible a la desinfección, por lo que una desinfección adecuada puede minimizar su entrada en los sistemas de distribución. Las medidas de control diseñadas para limitar la formación de biopelículas, como el tratamiento para optimizar la eliminación del carbono orgánico, la restricción del tiempo de residencia del agua en los sistemas de distribución y el mantenimiento de concentraciones residuales de desinfectantes, deberían reducir la proliferación de estos microorganismos. (Delgado & Morales, 2015)

3.6.4.2 Enfermedades ocasionadas por la *Pseudomona aeruginosa*

P. aeruginosa tiene la habilidad de causar daños a distintos órganos del cuerpo y con diversos grados de severidad según las características del organismo hospedador. En la mayoría de los casos en que se produce una infección se debe a una pérdida de la integridad de las barreras físicas de defensa del organismo, es patógena solo cuando se introduce en zonas desprovistas de defensas normales, cuando la bacteria se fija a las mucosas o a la piel y las coloniza, las invade de manera local y produce enfermedad general. (Celiz & Soto, 2016)

Las infecciones causadas por *P. aeruginosa* incluyen, pero no se limitan a:

- Infecciones de la sangre.
- Infecciones de las válvulas cardíacas.
- Infecciones pulmonares.
- Infecciones del tracto urinario (riñones y vejiga).
- Infecciones óseas.



- Infecciones de perforación corporal.
- Erupción cutánea en la bañera de hidromasaje.
- Infecciones de las uñas.
- Oreja de nadador.
- Infecciones del oído externo.
- Infecciones oculares asociadas a traumatismos o uso de lentes de contacto (New Mexico Department of Health, 2023)

3.7. Métodos para la determinación bacteriológica en el agua

Son los procedimientos de laboratorio que se efectúan a una muestra de agua para consumo humano, para evaluar la presencia o ausencia, tipo y cantidad de microorganismos. (Toruño & Gonzáles, 2017)

3.7.1 Método de recuento en placa

El recuento en placa es uno de los métodos más utilizados para determinar cuál es el número de microorganismos viables en un medio líquido. Cuando la concentración es baja se procede a filtrar la muestra a través de una membrana que será pasada al medio de cultivo, en una placa de Petri. Los microorganismos retenidos en la membrana se desarrollarán formando colonias, permitiendo su cuantificación. Cuando la concentración es alta, se procede a la preparación de diluciones seriadas en una secuencia de 1:10, alcanzándose diluciones de 10^{-7} o mayores. Pequeñas alícuotas de esas diluciones son sembradas en medio nutritivo en placa, donde las bacterias se desarrollan formando colonias. En las placas donde la concentración de la alícuota sembrada es muy alta, las bacterias formarán crecimiento masivo, pero si la concentración es muy baja, el número de UFC podrá ser muy bajo. Entre los dos extremos de las diluciones, alguna de las placas contendrá un número de colonias entre 30 y 300, permitiendo la cuantificación. (Ramírez et al., 2018)



3.7.2 Variables más utilizadas del método de recuento en placa

- ✓ El recuento en placa por siembra en profundidad: consiste en añadir medio de cultivo fundido y enfriado entre 42 - 45°C sobre placa de Petri que contiene una cantidad determinada de la muestra diluida. Se tapa la placa y se rota para mezclar la muestra en el agar. Cuando el agar solidifica se incuban las placas. Las colonias se desarrollan tanto dentro del agar como en la superficie. Es un método generalmente utilizado para el recuento de microorganismos anaerobios facultativos o microaerófilos.
- ✓ El recuento en placa por siembra en superficie: consiste en la siembra de un volumen conocido de la dilución de la muestra sobre la superficie de un medio de cultivo en placa Petri. En este método todas las colonias crecen sobre la superficie del medio. Generalmente se utiliza esta técnica para el recuento de bacterias aerobias. (Ramírez et al., 2018)

3.7.3 Método Número Más Probable

La determinación de microorganismos coliformes totales por el método del Número más Probable (NMP), se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas, utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa. (Molina et al., 2022)

3.7.3.1 Fase presuntiva

La denominada prueba presuntiva consiste en una metodología de tipo general para cualquier grupo de bacterias (Jirón et al., 2014)

El medio de cultivo que se utiliza es el caldo Lauril Sulfato de Sodio el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. (Molina et al., 2022)

Esto es así porque una positividad en un tubo de la prueba presuntiva no indica necesariamente la presencia del grupo bacteriano a determinar (Coliformes totales,



Coliformes fecales o *Streptococos fecales*), sino tan solo es una presunción, que habrá de confirmarse posteriormente. (Jirón et al., 2014)

Sin embargo, una negatividad en la prueba presuntiva permite dictaminar la ausencia de dicho grupo bacteriano en el agua examinada. (Jirón et al., 2014)

3.7.3.2 Fase confirmativa

La prueba confirmativa abarca para una bacteria en específico. Se emplea como medio de cultivo caldo lactosado Bilis Verde Brillante el cual es selectivo y solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el Verde Brillante. (Molina et al., 2022)

3.7.3.3 Ventajas del método NMP

- ❖ La capacidad de estimar tamaños poblacionales basados en atributos relacionados a un proceso (selectividad).
- ❖ Suele ser más rápido e igual de confiable que los métodos tradicionales de esparcimiento en platos de cultivo.
- ❖ Se utiliza para contar microorganismos que son difíciles de cultivar en medio sólido.
- ❖ Se usa para determinar el número de células de un cultivo mixto que pueden crecer en un medio líquido determinado. (Molina et al., 2022)

3.7.3.4 Desventajas del método NMP

- ❖ No detectan las poblaciones con menos de una célula por mililitro, sólo permite microorganismos viables.
- ❖ Tiene la necesidad de un gran número de copias duplicadas con las diluciones adecuadas. (Molina et al., 2022)



3.8 Pruebas bioquímicas

3.8.1 Oxidasa

Los microorganismos que poseen citocromooxidasa en su cadena respiratoria son considerados como microorganismo oxidasa positivos. Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro, actúan como el último vínculo en la cadena de la respiración aerobia, transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno con la formación de agua. Todos los microorganismos que son oxidasa positivos son aerobios o anaerobios facultativos. (Ramirez et al., 2018)

En esta prueba se utilizan algunos colorantes reactivos como el clorhidrato de p-fenilendiamina que sustituyen al oxígeno como aceptores de electrones. El colorante es incoloro, pero en presencia de citocromooxidasa y oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina es oxidada y forma azul de indofenol. Esta prueba es utilizada principalmente para la diferenciación de las *Pseudomonas* y *Neisserias* (oxidasa positivo) de *Enterobacterias* (oxidasa negativa). (Ramirez et al., 2018)

3.8.2 Catalasa

Esta prueba se utiliza para observar la producción de la enzima catalasa. La catalasa es una enzima que se encuentra en el grupo HEM y que se puede localizar en los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos. Su función es descomponer el peróxido de hidrógeno formado durante la oxidación de los azúcares ya que este puede ser tóxico para la célula si se acumula.

En la descomposición del peróxido de hidrógeno, una molécula actúa como sustrato y la otra como donador; el sustrato reducido por los átomos de hidrógeno suministrados por el donador da como resultado un sustrato reducido y un donador oxidado. (Ramirez et al., 2018)



3.9. Normativas

3.9.1 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. (RTCA 67.04.50:17, 2017)

Es un reglamento que trata de establecer parámetros para la gestión de riesgo que indica la aceptabilidad del alimento para su registro o ya sea el sistema de control para la inocuidad de los alimentos, basándose en la ausencia o presencia del número de microorganismos.

Tabla N° 1: *Criterio microbiológico para el agua envasada*

Parámetro	Plan de muestreo				Límite	
	Tipo de alimento	Clase	n	c	m	M
Coliformes totales	A	3	5	1	<1.1 NMP/100 mL	-----
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		2		0	Ausencia/100 mL	-----

Fuente: RTCA 67.04.50:17. (2017). Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.



Tabla N° 2: *Clasificación de los alimentos por riesgos*

Tipos	Concepto
A	Comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud.
B	Comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una mediana probabilidad de causar daño a la salud.
C	Comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una baja probabilidad de causar daño a la salud.

Fuente: RTCA 67.04.50:17. (2017). Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

3.9.2 Norma regional CAPRE (Normas de Calidad del Agua para Consumo Humano)

Esta norma de calidad del agua establece los requisitos básicos a los cuales debe responder la calidad del agua suministrada en los servicios para consumo humano y para todo consumo doméstico, independientemente de su estado, origen o grado de tratamiento.



Tabla N° 3: Parámetros Bacteriológicos (a)

Origen	Parámetro (b)	Valor recomendado	Valor máximo admisible	Observaciones
A. Todo tipo de agua de bebida	Coliforme fecal	Neg	Neg	En muestras no Consecutivas
B. Agua que entra al sistema de distribución	Coliforme fecal	Neg	Neg	
	Coliforme total	Neg	≤4	
C. Agua en el sistema de distribución	Coliforme total	Neg	≤4	En muestras puntuales. No debe ser detectado en el 95% de las muestras anuales (C).
	Coliforme fecal	Neg	Neg	

Fuente: Norma Regional CAPRE, 1994

- NMP/100 mL, en caso de análisis por tubos múltiples, o colonias/100 mL en el caso de análisis por el método de membranas filtrantes. El indicador bacteriológico más preciso de contaminación fecal es la *Escherichia coli* definida en el artículo 4. La bacteria coliforme total no es un indicador aceptable de la calidad sanitaria de acueductos rurales, particularmente en áreas tropicales donde muchas bacterias sin significado sanitario se encuentran en la mayoría de los acueductos sin tratamiento.
- En los análisis de control de calidad se determina la presencia de coliformes totales. En caso de detectarse una muestra positiva se procede al remuestreo y se investiga la presencia de coliforme fecal. Si el remuestreo da resultado negativo, no se toma en consideración la muestra positiva, para la valoración de calidad anual. Si el remuestreo da positivo se intensifican las actividades del



programa de vigilancia sanitaria que se establezca en cada país. Las muestras adicionales, recolectadas cuando se intensifican las actividades de inspección sanitaria, no se debe ser consideradas para la valorización anual de calidad.

- c. En los sistemas donde se recolectan menos de 20 muestras al año el porcentaje de negatividad debe ser $\geq 90\%$.



IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio: Experimental

4.2 Área de Estudio: En un mercado del municipio de León y Laboratorio de microbiología de la carrera de Farmacia del Área de Conocimiento de Ciencias Químicas, UNAN-León.

4.3 Unidad de Análisis: Agua purificada envasada en bolsa plástica.

4.4 Población: Todas las marcas de agua en bolsa purificada envasada en bolsa plástica que se comercializan en un mercado del municipio de León.

4.5 Muestra: Lo constituyen las cinco marcas de agua en bolsa purificada envasada en bolsa plástica que se comercializan en un mercado del municipio de León.

4.6 Tipo de muestreo: No probabilístico por conveniencia.

4.7 Criterios de Inclusión:

- Agua purificada que se comercializan en bolsas plásticas en un mercado del municipio León.
- Que su empaque no esté roto.
- Que tengan una marca comercial que las identifique.
- Que tenga o no registro sanitario.

4.8 Criterios de Exclusión:

- Agua purificada que no se comercializan en bolsas plásticas en un mercado del municipio de León.
- Que su empaque esté roto.
- Que no tenga una marca comercial.



4.9 Variables de estudio:

- ✓ Bacteria aerobia mesófila (BAM)
- ✓ Coliforme total
- ✓ Coliforme fecal
- ✓ *Pseudomona aeruginosa*

4.10 Fuentes de información:

Primaria: Resultados obtenidos por medio de los ensayos microbiológicos como: Coliformes totales, fecales, BAM y *Pseudomona aeruginosa*, se obtendrán resultados sobre el comportamiento de los distintos microorganismos que influyen en la contaminación del agua purificada.

Secundaria: Medios bibliográficos como: RTCA 67.04.50.17. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos, Norma CAPRE, Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales 17 Edición, Farmacopea USP 45, monografías, artículos científicos y documentos web que sustenten los resultados.

4.11 Procedimiento de recolección de la muestra

Previamente, se investigó todas las marcas de agua en bolsa que comercializan los vendedores, o a través de distribuidoras de alimentos dentro del área de un mercado del municipio de León.

Por consiguiente, se recolectó 5 muestras (marcas), denominadas como: marca A, marca B, marca C, marca D y marca E. Luego, se almacenó en un termo con hielo a una temperatura de 4°C - 8°C, que posteriormente, se transportó al laboratorio de microbiología del área de conocimiento de Ciencias Químicas para realizar cada uno de los ensayos microbiológicos a evaluar.

4.12 Procesamiento y Análisis de la Información:

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos microbiológicos de coliformes totales, fecales, *pseudomona aeruginosa* y bacteria aerobia mesófila aplicados en las cinco muestras de agua purificada envasada en bolsa plástica con sus respectivos lotes, se analizaron e interpretaron de acuerdo con las características de cada uno de los cultivos obtenidos. Los resultados se presentan en tablas elaboradas en el programa Microsoft Office 365: Word.

4.13 Operacionalización de las variables

Tabla N° 4: Operacionalización de las variables de estudio

Variable	Concepto	Indicadores	Criterios
Coliformes totales	Son Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a 35°C +/-2°C con la producción de ácido y gas. (Ccencho, 2017)	Producción de gas en el medio de cultivo lauril sulfato de sodio indica la posible presencia de coliforme totales y presencia de gas en caldo verde brillante confirma la presencia de coliformes totales	<1.1 NMP/100 mL (RTCA 67.04.50:17, 2017)
Coliformes fecales	También llamados termotolerantes. Comprenden un grupo muy reducido de microorganismos los cuales son indicadores de calidad, ya que son de origen fecal. (Chiluiza & Darío, 2015)	Producción de gas en medio de cultivo E. coli indica la presencia de coliforme fecal	Negativo (Norma Regional CAPRE, 1994)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Es una bacteria gramnegativa que puede derivar de heces humanas y animales. Se encuentran distribuidas con amplitud en el suelo, el agua, las plantas y los animales. (Delgado & Morales, 2015)	Colonias de color verde fluorescente en agar cetrimide indican la presencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia/100 mL (RTCA 67.04.50:17, 2017)



Bacterias Aerobias Mesófilas	Número de UFC de bacterias capaces de crecer en un medio agar nutritivo. (Castillo, 2015)	Conteo de colonias en una placa con agar Digerido de Caseína y Soya.	<100 UFC/ mL (USP 45/NF40 Volumen 4, 2022)
---	---	--	--

4.14 Materiales, equipos, medios de cultivo y reactivos:

Tabla N° 5: *Tabla de materiales*

Materiales	
3 rollos de papel aluminio.	1 libra de algodón.
½ litro de Cloro.	Mascarillas y guantes estériles
½ litro de jabón líquido.	Gorros quirúrgicos.
1 litro de alcohol al 70%.	Marcador permanente.
1 toalla para limpieza.	Bisturí estéril.
2 huevos.	Fósforo.

Tabla N° 6: *Tabla de equipos y materiales de laboratorio*

Equipos y materiales de laboratorio	
Pipeta serológica de 2, 5 y 10 mL.	Matraz de Erlenmeyer de 10 y 1000 mL.
Tubos de ensayo con rosca.	Probeta de 100 mL.
Gradilla.	Mechero Bunsen.
Campana de Durham.	Agitador vórtex.
Placas Petri.	Balanza analítica.
Asas de inoculación estéril.	Autoclave All American 50X.
Espátula.	Incubadora temperatura (35±0,5°C.)

Tabla N° 7: *Tabla de medios de cultivo y reactivos*

Medios de cultivo	Reactivos
Agar Digerido de Caseína y Soja.	Buffer fosfato de sodio pH 7.2
Agar de Cetrimide.	Caldo Lauril sulfato de sodio.
Agar de MacConkey.	Agua en bolsa.
Caldo medio verde brillante-bilis-lactosa.	Caldo E. Coli.

4.15 Procedimientos para:

4.15.1 Preparación de la Muestra (Pool):

En un área aséptica, manipular las 5 muestras (marcas) de bolsas de agua que estaban almacenadas y posteriormente, cortar con una bisturí estéril. De las bolsas individuales de agua purificada, agregar una porción en un Erlenmeyer estéril de 250 mL, y mezclar el contenido a un volumen de 100 mL de muestra (pool), descartando el excedente. Realizar este procedimiento a las cinco marcas seleccionadas.

4.15.2 Determinación de microorganismos mesófilos en medio ambiente

1. Como parte del monitoreo ambiental que se debe realizar en un ensayo microbiológico, determinar el siguiente procedimiento:
2. Disponer de una placa Petri con Agar Digerido de Caseína y Soja (ADCS) sobre cualquier lugar en el laboratorio u otro espacio. Después, remover la tapa y dejar a un lado sin invertirla. Luego, dejar la placa abierta por 15 minutos.
3. Posteriormente, marcar indicando que es la placa Petri expuesta al aire.
4. Por último, colocar la tapa sobre la placa, invertir e incubar por 48 horas a 37 °C.

4.15.3 Prueba presuntiva en coliformes totales.

Utilizar tres series de 5 tubos de ensayo que contiene caldo lauril Sulfato de sodio:

1. A los cinco primeros tubos, adicionar 10 mL de muestra a un medio que contiene 10 mL de caldo de Lauril Sulfato de sodio a doble concentración. Rotular como 10^{-1} .
2. A los cinco tubos siguientes, adicionar 1mL de muestra a un medio que contiene 9 mL de caldo de Lauril Sulfato de sodio a simple concentración. Rotular como 10^{-2} .



3. A los últimos cinco tubos de ensayo, adicionar 0.1 mL de muestra a un medio que contiene 9.9 mL de caldo de Lauril Sulfato de sodio a simple concentración. Rotular como 10^{-3} .
4. Dejar un tubo de ensayo con medio de cultivo, para control negativo. A este no adicionar la muestra.
5. Incubar los tubos inoculados a $35 \pm 0,5$ °C. Tras 24 ± 2 horas, agitar cada tubo suavemente y observar si se produce gas o un crecimiento ácido (color amarillo) y, en caso contrario, reincubar y volver a examinar al final de 48 ± 3 horas. Por último, registrar la presencia o ausencia de gas o ácido.

Interpretación: La aparición de gas o ácido en los tubos a las 48 ± 3 horas constituye una presunta reacción positiva. La ausencia de crecimiento, ácido o de formación de gas al finalizar el tiempo de incubación indica una reacción negativa. Si se encuentran cero tubos positivos en cada una de las diluciones, la prueba para determinar coliformes totales concluye.

4.15.4 Prueba confirmativa en Coliformes Totales

1. De los tubos que se consideró positivos en la prueba presuntiva, realizar un subcultivo a medio caldo verde brillante de lactosa bilis, utilizando un asa de inoculación estéril.
2. Luego, incubar a $35 \pm 0,5$ °C durante 48 ± 3 horas.

Interpretación: La formación de cualquier cantidad de gas en la campana de Durham en el medio de fermentación verde brillante de lactosa bilis a las 48 ± 3 horas constituye un resultado positivo en la fase confirmatoria. Calcúlese el valor del NMP a partir del número de tubos positivos.



4.15.5 Coliformes fecales

1. De los tubos positivos en la prueba confirmativa, transferir con un asa de inoculación a caldo EC contenido en un tubo de ensayo.
2. Luego, incubar los tubos con medio EC inoculados en un baño María a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas.

Interpretación: Se considera como reacción positiva la aparición de gas en un medio EC a las 24 horas o menos de incubación. La falta de gas (a veces se produce crecimiento) constituye un resultado negativo, que indica que el origen de los microorganismos no es el aparato digestivo de los animales de sangre caliente.

4.15.6 *Escherichia coli*

De los resultados anteriores que se consideraron positivos, realizar un cultivo sobre la superficie de pendientes con asa de inoculación en una placa de Agar MacConkey y posteriormente, incubar a una temperatura de 30°C - 35°C durante un período de 18 a 72 horas.

Interpretación: El crecimiento de colonias rosadas y circulares indica la presencia de E. Coli.

4.15.7 Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*

1. De la muestra (pool), realizar un cultivo sobre la superficie de pendientes con asa de inoculación, en agar Cetrimide.
2. Por último, al cabo de a las 24-36 horas de incubar a $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$, examinar las placas con medio de cultivo bajo una luz ultravioleta de larga longitud de onda (luz negra) en una habitación a oscuras.

Interpretación: El crecimiento de colonias con un tono verde fluorescente indica la presencia *Pseudomonas aeruginosa*, que aparece a las 24-36 horas de incubar a $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$.



4.15.8 Conteo de Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM)

1. De la muestra de agua (pool), transferir 1mL a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de diluyente buffer fosfato pH 7.2. Dilución 10^{-1} .
2. De la primera dilución, transferir 1 mL a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de diluyente buffer fosfato pH 7.2. Dilución 10^{-2} .
3. De cada una de las diluciones, adicionar 1 mL a dos placas Petri vacías y estéril. Luego, agregar entre 15 a 18 mL de agar Digerido de Caseína y Soya, homogenizar, esperar a que solidifique e incubar las placas de forma invertidas a 30-35°C por 3-5 días.
4. Por último, contar el número de UFC (en caso de que hubiera). Reportar el resultado de la placa donde se facilita mejor en conteo.

Criterio de aceptación: Recuento máximo aceptable = **100 UFC/mL**;

Por otra parte, cuando no hay crecimiento de colonias, se reportó de la siguiente manera:
<10 UFC /mL.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Ensayo microbiológico para determinar Coliformes totales y fecales por el método de NMP.

5.1.1. Prueba presuntiva de coliformes totales.

Tabla N° 8: *Prueba presuntiva de coliformes totales.*

Número de tubos positivos				
Nombre	No. Muestra	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Marca A	1.	0	0	0
Marca B	2.	1	1	0
Marca C	3.	0	0	0
Marca D	4.	0	0	0
Marca E	5.	3	0	0

Fuente: Resultados de Laboratorio.

5.1.2. Prueba confirmativa de coliformes totales.

Tabla N° 9: *Prueba confirmativa de coliformes totales.*

Número de tubos positivos						
Nombre	No. Muestra	Diluciones			Resultado NMP/100mL	Especificación RTCA 67.04.50.17
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		
Marca A	1.	0	0	0	<1.1	<1.1 NMP/100 mL
Marca B	2.	1	1	0	2.0	
Marca C	3.	0	0	0	<1.1	
Marca D	4.	0	0	0	<1.1	
Marca E	5.	3	0	0	8.0	

Fuente: Resultados de Laboratorio.



Los resultados visualizados en la prueba confirmativa y tomando en cuenta la tabla del NMP de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales 17^{va} edición, se obtuvo: **marca B; 2.0 NMP/100 mL** y **marca E; 8.0 NMP/100 mL**, y de acuerdo con el Reglamento técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50.17 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.) establece el límite aceptable como “**<1.1 NMP/100 mL**”, por lo cual, no es una condición aceptable. Según la cuarta edición de las Guías para la calidad de agua de la OMS, la presencia de coliformes totales indica que el tratamiento es inadecuado. La presencia de coliformes totales en sistemas de distribución y en el agua almacenada puede revelar rep proliferación y posible formación de biopelículas, o bien contaminación por la entrada de materiales extraños, como tierra o plantas. (OMS, 2011). Por otra parte, con los resultados de la prueba las marcas A, C y D reportaron **<1.1 NMP/100 mL**, por lo tanto, es una condición aceptable que garantiza que las coliformes totales y por ende las **coliformes fecales no están presentes en estas 3 muestras de agua purificada**.

5.1.3. Prueba de identificación de coliformes fecales.

Tabla N° 10: *Prueba de identificación de coliformes fecales.*

Nombre	Resultado	Especificación norma CAPRE
Marca A	Negativo	Negativo
Marca B	Negativo	Negativo
Marca C	Negativo	Negativo
Marca D	Negativo	Negativo
Marca E	Negativo	Negativo

Fuente: Resultados de Laboratorio.

Por medio de los resultados visualizados a las 48 horas de incubación de los subcultivos en la prueba de identificación de coliformes fecales de las muestras de agua identificadas como marca B y E, se encontró “**Negativo**”, por lo cual, cumplen con lo establecido en la Norma CAPRE, que establece el límite aceptable como “**Negativo**”; por tanto, es una



condición aceptable que garantiza que estos microorganismos con materia fecal no están presentes y no fue necesario realizarle pruebas específicas de identificación de *E. coli*. En las muestras identificadas como marca A, C y D, los resultados también son “Negativos” para coliformes fecales; a estas muestras no fue necesario realizarles el ensayo de la prueba de identificación, puesto que como se mencionó anteriormente, no se encontraron tubos positivos en la prueba presuntiva de coliformes. Estos resultados, son similares a un estudio, realizado en el año 2014 por García y otros, donde evaluaron la calidad del agua comercializada en bolsitas en la ciudad de León mediante métodos Biológicos y Fisicoquímicos, marzo 2014; al realizar el análisis presuntivo del ensayo NMP a las muestras recolectadas, se encontró que las muestras no presentaron Coliformes Fecales y Totales, por lo tanto al dar negativa dicha prueba no fue necesario la realización de las pruebas confirmativas y complementarias. Por tanto, no hay indicadores que demuestren que microorganismos fecales causantes de enfermedades se encuentran presentes en las aguas analizadas por García y otros.

5.2 Cuantificación Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM)

Tabla N° 11: *Cuantificación Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM)*

Recuento de placas				
Nombre	No. Muestra	Dilución	Resultados	Especificación USP 45
Marca A	1.	1	$>300 \times 10^1$ UFC/mL	<100 UFC/mL
		2	7×10^2 UFC/mL	
Marca B	2.	1	180×10^1 UFC/mL	
		2	103×10^2 UFC/mL	
Marca C	3.	1	$>300 \times 10^1$ UFC/mL	
		2	86×10^2 UFC/mL	
Marca D	4.	1	$>300 \times 10^1$ UFC/mL	
		2	194×10^2 UFC/mL	
Marca E	5.	1	96×10^1 UFC/mL	
		2	88×10^2 UFC/mL	

Fuente: Resultados de Laboratorio.



Los resultados visualizados a los cinco días de incubación, se obtuvo que las cinco marcas (A, B, C, D y E) de agua, no cumplen con el valor recomendado establecido por la USP 45/NF40 que declara “<100 UFC/mL”. Según el departamento de higiene, inspección y control alimentario de la Universidad de Murcia, con las cantidades presentes de bacterias aerobias mesófilas, los consumidores de este tipo de agua, pudieran presentar un número elevado de bacterias que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, lo que significa que pueden darse condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal, algunas comunes como agentes de enfermedades transmitidas por los alimentos (Proteus, Enterococos y Pseudomonas), que han sido señaladas como causa de enfermedades. (Universidad de Murcia, 2024)

5.3 Ensayo microbiológico para identificación de *Pseudomona aeruginosa*.

Tabla N° 12: Identificación de *Pseudomona aeruginosa*.

Identificación en placas			
Nombre	No. muestra	Resultados	Especificación RTCA 67.04.50.17
Marca A	1.	Presencia/100 mL	Ausencia/100 mL
Marca B	2.	Presencia/100 mL	
Marca C	3.	Presencia/100 mL	
Marca D	4.	Presencia/100 mL	
Marca E	5.	Presencia/100 mL	

Fuente: Resultados de Laboratorio.

Con los resultados visualizados al cabo de las 48 horas, se determinó la **presencia de *Pseudomona aeruginosa*** en las 5 muestras de agua purificada envasada en bolsa plástica, y de acuerdo con el Reglamento técnico Centroamericano (RTCA 67.04.50.17 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.) establece el límite aceptable para este ensayo como “**Ausencia/100 mL**”. Según Delgado y Morales, aunque la presencia de *Pseudomona aeruginosa* puede ser significativa en algunos entornos como en centros sanitarios, no hay evidencia de que los usos normales del agua



de consumo sean una fuente de infección para la población general. No obstante, puede asociarse la presencia de altas concentraciones de *Pseudomonas aeruginosa* en el agua potable, especialmente en el agua envasada, con quejas sobre su sabor, olor y turbidez, (Delgado & Morales, 2015) por lo cual, su consumo hace que la bacteria se fija a las mucosas o a la piel y las coloniza, las invade de manera local y produce enfermedad general (Infecciones pulmonares. Infecciones del tracto urinario (riñones y vejiga). Infecciones óseas. Infecciones de perforación corporal.) (Celiz & Soto, 2016) (New Mexico Department of Health, 2023)



VI. CONCLUSIÓN

Al realizar el estudio para verificar la calidad microbiológica del agua purificada envasada en bolsas plásticas de las marcas A, B, C, D y E, se pudo concluir:

- En las marcas de agua purificada envasada en bolsa plástica denominadas como A, C y D, se encontró que cumplen con el criterio establecido de coliformes totales en el RTCA 67.04.50.17 que es $< 1.1 \text{ NMP/100 mL}$, en cambio, las marcas B y E; no cumplen con el criterio de evaluación.
- Se obtuvo como resultado “**Negativo**” de coliformes fecales en todas las marcas de agua cumpliendo con lo establecido en la Norma CAPRE.
- En todas las muestras de agua, se obtuvo un resultado de microorganismo aerobios mesófilos mayor de lo establecido ($< 100 \text{ UFC/mL}$) por la USP 45/NF40.
- En todas las marcas de agua analizadas, se encontró la presencia de *Pseudomona aeruginosa*, por tanto, no cumplen con la especificación que establece la RTCA 67.04.50.17 (Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.)

De acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos realizados durante esta investigación, todas las marcas de agua purificada envasada en bolsa plástica no son aptas para su consumo y no deberían estar distribuidas en el comercio.



VII. RECOMENDACIONES

A la población:

Procurar de cargar en todo momento, algún recipiente donde podamos almacenar agua limpia, sana y segura desde nuestros hogares, logrando satisfacer la falta de hidratación, ocasionada por las elevadas temperaturas de nuestro departamento, protegiendo, sobre todo nuestra salud.

A los comerciantes:

Buscar empresas distribuidoras de agua, que ofrezcan productos de fuentes seguras, que cuenten con los permisos y parámetros establecidos por el Ministerio de Salud, que garantice un producto de calidad, que no perjudica a la salud de la población.

A las empresas procesadoras y distribuidoras de aguas envasadas:

Realizar una evaluación amplia donde se evalúe los requisitos físicos, químicos y microbiológicos que debe cumplir el agua potable tratada y envasada destinada para el consumo humano; constante de sus productos antes, durante y después del procesamiento de estos, según las normas establecidas para el agua envasada.

A la universidad:

Realizar investigaciones en conjunto con el Ministerio de Salud, que permitan abordar ampliamente esta problemática.



VIII. BIBLIOGRAFÍA

- APHA-AWWA-WPCF. (1989). *Metodos Normalizados Para El Análisis de Aguas Potables y Residuales 17 Edición*. Obtenido de Dokumen PUB: <https://dokumen.pub/metodos-normalizados-para-el-analisis-de-aguas-potables-y-residuales-17nbsped-9788479780319.html>
- Arangó, J., & Yangali, E. (2018). *CALIDAD DEL AGUA EMBOTELLADA EN DIFERENTES MARCAS EN LA LOCALIDAD HUANCVELICA*. Obtenido de <https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/41f2631d-9ec0-4016-865e-34e3dbf4cb2a/content>
- Benitez, B., Ramírez, M., Rosales, M., Vilches, D., Rangel, L., Ferrer, K., & Ávila, A. (2016). *Evaluación físico-química y microbiológica del agua potable envasada en bolsas que se venden en la zona céntrica de la ciudad de Maracaibo-Venezuela*. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642016000400005
- Caballero, P. (2005). *Tema 6. Análisis microbiológico*. Obtenido de ULPGC - Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35732/tema_6.pdf
- Castillo, L. (2015). *Bacterias Aerobias Mesofilas (BAM)*. Obtenido de https://www.academia.edu/14963319/Bacterias_Mes%C3%B3filas_Aerobias
- Ccencho, K. (2017). *PRESENCIA DE COLIFORMES, E. coli y Staphylococcus aureus EN HUEVO COCIDO DE Y LA RELACIÓN CON LAS CONDICIONES SANITARIA DE UESTOS DE VENTA AMBULATORIA DE LOSMERCADOS DEL DISTRITO DE SANTA ANITA*. Obtenido de <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/FACULTAD%20DE%20CIENCIAS%20FARMAC%C3%89UTICAS%20Y%20BIOQU%C3%8DMICA.pdf>
- Celiz, J., & Soto, B. (2016). *Evaluar la calidad microbiológica del agua de consumo en la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN - León (Campus Médico), Marzo –*



- Octubre 2016. Obtenido de
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6649/1/239232.pdf>
- Chiluiza, M., & Darío, A. (2015). “*DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES EN EL AGUA DE CONSUMO HUMANO Y SU RELACIÓN CON ENFERMEDADES DIARREICAS AGUDAS EN LOS HOGARES DE LA PARROQUIA DE PASA EN EL CANTÓN DE AMBATO EN EL PERIODO DICIEMBRE 2014 - MAYO 2015.*”. Obtenido de Repositorio Universidad Técnica de Ambato (UTA):
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/10727/1/TESIS%20ALEXIS%20MOPOSITA.pdf>
- Delgado, S., & Morales, F. (2015). *Detección de pseudomona aeruginosa y bacterias heterótrofas de aguas envasadas en botellas y bolsas destinadas al consumo humano, comercializadas en la ciudad de Managua en el período Diciembre 2014 a Enero 2015.* Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/1029/1/58359.pdf>
- Garza, R., & Martínez, J. (2019). *Evaluación de la calidad microbiológica de cuatro diferentes marcas de agua embotellada comercializadas en el estado de Nuevo León* . Obtenido de Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL:
<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/2/35.pdf>
- Jirón, N., García, J., & Jirón, M. (2014). *Evaluación de la Calidad del Agua comercializada en bolsitas en la ciudad de León mediante métodos Biológicos y Físico-Químicos, Marzo 2014.* Obtenido de
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3170/1/227086.pdf>
- Martínez, E., & Sátan de Secaira, S. (2022). *Diagnóstico de Escherichia coli como indicador de calidad sanitaria del agua y alimentos.* Obtenido de Universidad Nacional De Chimborazo (UNACH):
<http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/8891/1/7.-Sat%c3%a1n%20de%20Secaira%2c%20S%20%282022%29Diagn%c3%b3stico%20de%20Escherichia%20coli%20como%20indicador%20de%20calidad%20sanitaria%20del%20agua%20y%20alimentos.%28Tesis%20de%20pregrado%29Universidad%20de%20Chimborazo.pdf>



- Molina, J., Rivas, W., & Velásquez, S. (2022). *EVALUACIÓN DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE AGUA DE CONSUMO ALMACENADA, DE LOS POBLADORES DEL SECTOR LOS MARENCOS, COMUNIDAD MARVIN CORRALES, MUNICIPIO DE SAN MARCOS, CARAZO NOVIEMBRE 2021*.
Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/16236/1/16236.pdf>
- New Mexico Department of Health. (2023). *Manual for Investigation and Control of Selected Communicable Diseases*. Obtenido de New Mexico Department of Health, Epidemiology and Response Division:
<https://www.nmhealth.org/publication/view/general/5123/#:~:text=Infecciones%20pulmonares.,Infecciones%20de%20perforaci%C3%B3n%20corporal>.
- Norma Regional CAPRE. (1994). *Normas de Calidad del Agua para Consumo Humano*.
Obtenido de https://www.ipsa.gob.ni/Portals/0/1%20Inocuidad%20Alimentaria/Normativas%20Generales/ACTUALIZACION%20051217/Normas_oficiales_para_la_calidad_del_agua_nicaragua.pdf
- OMS. (2011). *Guías para la calidad del agua de consumo humano*. Obtenido de Guías para la calidad del agua de consumo humano:
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf?sequence=1>
- Orozco Lab. (2023). *Orozco Lab Analisis Químico Industriales*. Obtenido de Orozco Lab Analisis Químico Industriales: <https://www.orozcolab.info/que-es-el-analisis-microbiologico-de-agua>
- Ramirez, J., Medina, Y., & Uscanga, I. (2018). *Manual de Laboratorio de Microbiología*.
Obtenido de <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Microbiologia.pdf>
- Ramírez, J., Parra, J., & Aldana, A. (2018). *Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos*. Obtenido de <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/17610/1.An%c3%a1lisis%20de%20recuento.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



RTCA 67.04.50:17. (2017). *ALIMENTOS, CRITERIOS MICROBIOLOGICOS PARA LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS*. Obtenido de https://members.wto.org/crnattachments/2017/SPS/SLV/17_2504_00_s.pdf

Toruño, F., & Gonzáles, D. (2017). *Evaluación de la calidad microbiológica del agua en bolsas comercializada en los semáforos de la UCA a través del método de Filtración por Membrana Marzo - Abril del 2017*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/8499/1/97637.pdf>

Universidad de Murcia. (2024). *Significado y características de los microorganismos marcadores*. Obtenido de <https://www.um.es/web/innovacion/plataformas/ocw/listado-de-cursos/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/programa/significado-y-caracteristicas#:~:text=La%20presencia%20de%20un%20n%C3%BAmero,de%20origen%20humano%20o%20animal>.

USP 45/NF40 Volumen 4. (2022). *Farmacopea de los Estados Unidos de América-Formulario Nacional: USP 45/NF40*. Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, Estados Unidos de América.



IX. ANEXOS



Anexo N° 1. Glosario de términos

CAPRE: Comité Coordinador Regional de Instituciones de Agua Potable y Saneamiento de Centroamérica, Panamá y República Dominicana. Norma Regional de Calidad del Agua. (Norma Regional CAPRE, 1994)

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano. Es un reglamento que conlleva a establecer los requisitos que se deben cumplir de productos alimenticios para consumo humano. (RTCA 67.04.50:17, 2017)

Agua: El agua, es un líquido vital para el hombre, animales y plantas. (Palacios & Cibeles, 2015)

Agua envasada: Es aquella apta para el consumo humano, contenida en recipientes herméticamente cerrados, de materiales, formas y capacidades diversas, aprobadas por las autoridades competentes y que es adecuada para el consumo directo sin que sea necesario tratamiento ulterior y con cierre inviolable el cual deberá permanecer en tal condición hasta que llegue a manos del consumidor final. (Delgado & Morales, 2015)

Coliformes Totales: Este grupo de bacterias pertenece a la familia Enterobacteriácea, Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a 35°C +/-2°C con la producción de ácido y gas, catalasa positiva, móviles en su gran mayoría por medio de flagelos peritricos. (Ccencho, 2017)

Coliformes Fecales: También llamadas Termotolerantes. Son bacterias coliformes, aerobias o facultativas anaerobias, Gram negativas, no formadoras de esporas, forma bacilar y crece con lactosa y la fermentan a 44.5°C ± 0.5°C (Chiluiza & Darío, 2015)

Escherichia Coli: Son Coliformes capaces de producir indol, a partir de triptófano, en 21 ±3 horas a 44 ±0.5°C. (Toruño & Gonzáles, 2017)



Método de recuento en placa: El recuento en placa es uno de los métodos más utilizados para determinar cuál es el número de microorganismos viables en un medio líquido. (Ramírez et al., 2018)

Método Número Más Probable: Se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas., utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa. (Molina et al., 2022)

Anexo N° 2.

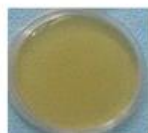
Imagen N° 1. Esquema de procedimientos del ensayo microbiológico del agua purificada envasada en bolsa plástica.

Identificación *Pseudomona aeruginosa*

Interpretación: El crecimiento de colonias que indica la posible presencia de *P. Aeruginosa*, que aparece a las 24-36 horas de incubar a 35-37 °C.

Positivo (presencia)

Negativo (Ausencia)



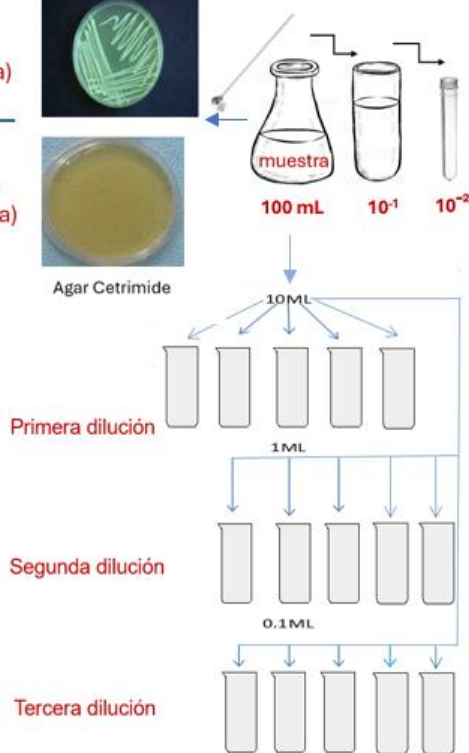
Agar Cetrimide

Cuantificación Bacteria Aerobia Mesófila

Agregar 15-18 mL de medio de cultivo Caseína y soya.

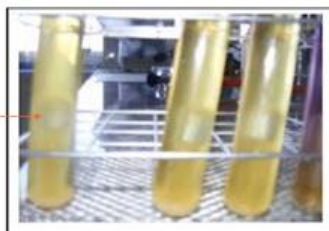


Incubar 35-37°x24h



Prueba presuntiva

gas



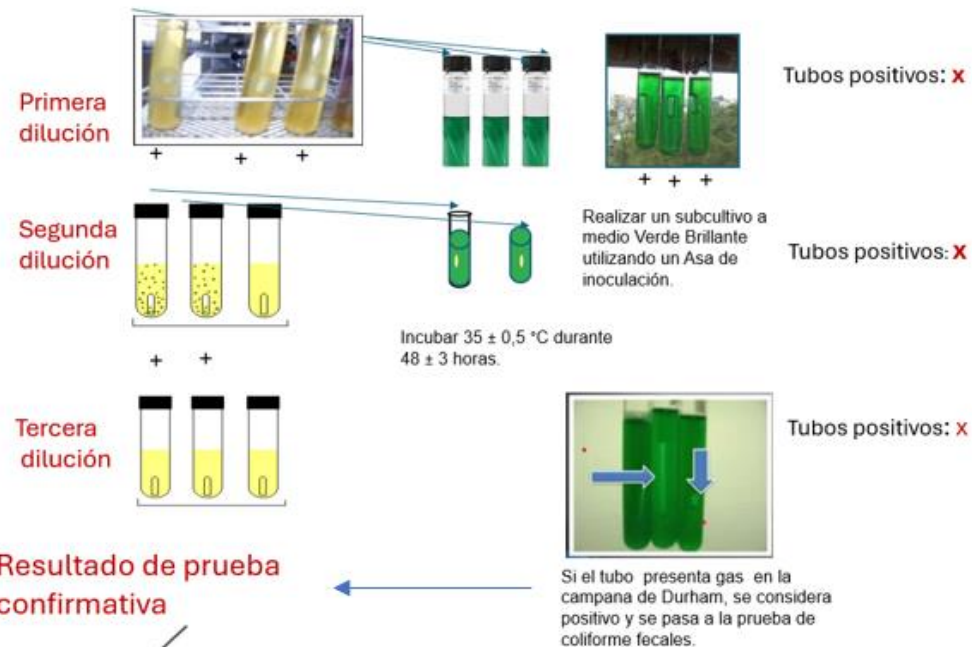
Incubar a 35-37 °C. durante 24-48 horas.

Si el tubo presenta gas en la campana de Durham, se considera positivo y se pasa a la prueba confirmativa.

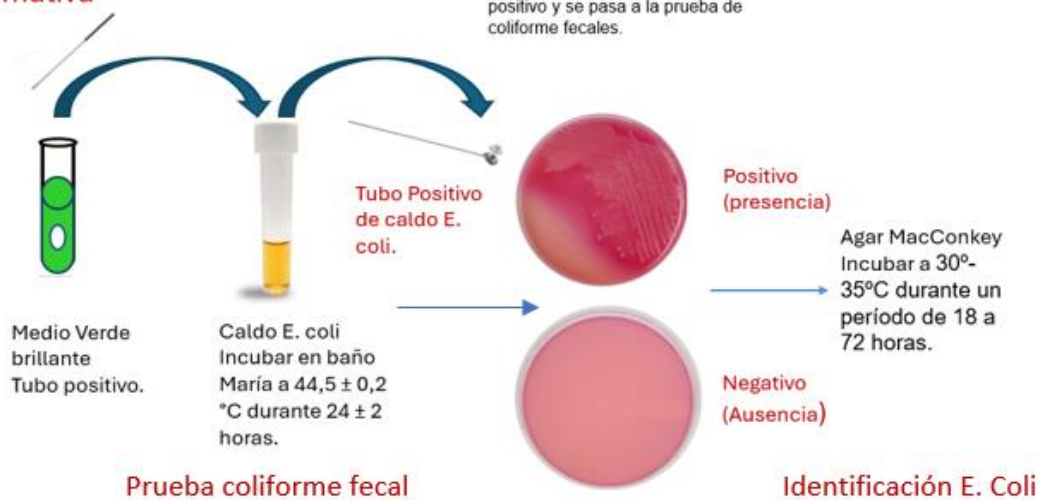
Fuente: Aula virtual, área de conocimiento de ciencias químicas, carrera de farmacia, componente: Control microbiológico de los medicamentos.

Imagen N° 2. Continuación de esquema de procedimientos del ensayo microbiológico del agua purificada envasada en bolsa plástica.

**Resultado de prueba
presuntiva**



**Resultado de prueba
confirmativa**



Fuente: Aula virtual, área de conocimiento de ciencias químicas, carrera de farmacia, componente: Control microbiológico de los medicamentos.

Anexo N° 3.

Tabla N° 13: Valores del Número Más Probable de microorganismos

TABLA 9221-V. ÍNDICE DE NMP Y LÍMITES DE ACEPTACIÓN DEL 95 POR 100 PARA DISTINTAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS CUANDO SE USAN CINCO TUBOS POR DILUCIÓN (10 ML, 1,0 ML, 0,1 ML)

Combinación de positivos	Índice NMP/ 100 ml	Límites de confianza 95 %		Combinación de positivos	Índice NMP/ 100 ml	Límites de confianza 95 %	
		Superior	Inferior			Superior	Inferior
0-0-0	< 2	—	—	4-2-0	22	9,0	56
0-0-1	2	1,0	10	4-2-1	26	12	65
0-1-0	2	1,0	10	4-3-0	27	12	67
0-2-0	4	1,0	13	4-3-1	33	15	77
				4-4-0	34	16	80
1-0-0	2	1,0	11	5-0-0	23	9,0	86
1-0-1	4	1,0	15	5-0-1	30	10	110
1-1-0	4	1,0	15	5-0-2	40	20	140
1-1-1	6	2,0	18	5-1-0	30	10	120
1-2-0	6	2,0	18	5-1-1	50	20	150
				5-1-2	60	30	180
2-0-0	4	1,0	17	5-2-0	50	20	170
2-0-1	7	2,0	20	5-2-1	70	30	210
2-1-0	7	2,0	21	5-2-2	90	40	250
2-1-1	9	3,0	24	5-3-0	80	30	250
2-2-0	9	3,0	25	5-3-1	110	40	300
2-3-0	12	5,0	29	5-3-2	140	60	360
3-0-0	8	3,0	24	5-3-3	170	80	410
3-0-1	11	4,0	29	5-4-0	130	50	390
3-1-0	11	4,0	29	5-4-1	170	70	480
3-1-1	14	6,0	35	5-4-2	220	100	580
3-2-0	14	6,0	35	5-4-3	280	120	690
3-2-1	17	7,0	40	5-4-4	350	160	820
4-0-0	13	5,0	38	5-5-0	240	100	940
4-0-1	17	7,0	45	5-5-1	300	100	1.300
4-1-0	17	7,0	46	5-5-2	500	200	2.000
4-1-1	21	9,0	55	5-5-3	900	300	2.900
4-1-2	26	12	63	5-5-4	1.600	600	5.300
				5-5-5	≥ 1.600	—	—

el denominador, el total de tubos estudiados; la combinación de positivos indica únicamente el número total de tubos positivos por dilución:

Ejemplo	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	0,001 ml	Combinación de positivos	Índice NMP/ 100 ml
a	5/5	5/5	2/5	0/5	5-2-0	5.000
b	5/5	4/5	2/5	0/5	5-4-2	2.200
c	0/5	1/5	0/5	0/5	0-1-0	20

Fuente: APHA-AWWA-WPCF. (1989). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales 17^{va} Edición.



Anexo N° 4.

Preparación de medio y agares de cultivo

a) Caldo Lauril Sulfato:

Método de preparación

Se disolvió 28.5 g en 800 mililitros de agua destilada a concentración simple. Luego se envasó en tubos que contengan tubos de Durham. (15 minutos a 121 °C en autoclave). El **pH:** 6.8 ± 0.2 a 25 °C.

Se disolvió 35.6 g en 500 mililitros de agua destilada a concentración doble. Luego se envasó en tubos que contengan tubos de Durham. (15 minutos a 121 °C en autoclave). El **pH:** 6.8 ± 0.2 a 25 °C.

b) Caldo Verde Brillante-Bilis-Lactosa

Método de preparación

Se disolvió 3 g en 75 mililitros. Luego, se envasó en tubos que contengan campana de Durham y se esterilizó en autoclave (15 minutos a 121 °C). El **pH:** 6.8 ± 0.2 a 25 °C.

c) Caldo EC

Método de preparación

Se disolvió 1.48 g en 40 mililitros de agua destilada. Luego, se envasó en tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave (15 minutos a 121 °C).

d) Agar de Cetrimide

Método de preparación

Se disolvió 9.12 g en 200 mililitros de agua purificada que contenía 10 mL de glicerol. Luego, se calentó en agua hirviendo y se agitó con frecuencia hasta la disolución completa. Por último, se envasó en tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave (15 minutos a 121 °C). El **pH:** 7.2 ± 0.2 .



e) Agar Digerido de Caseína y Soya (Agar Triptona de Soya)

Método de preparación

Se disolvió 24 g en 600 mililitros de agua destilada. Luego, se calentó en agua hirviendo y se agitó con frecuencia hasta la disolución completa. Por último, se esterilizó en una autoclave durante 15 minutos a 121 °C). El **pH**: 7.3 ± 0.2 a 25 °C.

f) Buffer Fosfato de sodio pH 7.2

Método de preparación

Se disolvió 5.4436 g de fosfato monobásico de potasio 0.2 M en 200 mililitros de agua destilada que contenía 0.28 g de hidróxido de sodio previamente agregado. Luego, se agitó con frecuencia hasta la disolución completa. Por consiguiente, se verificó en un pH metro que su pH fuera el indicado, en dado caso que no, se agregó paulatinamente ml de hidróxido de sodio hasta que su solución completara a niveles de 7.2. Por último, se esterilizó en una autoclave durante 15 minutos a 121 °C).

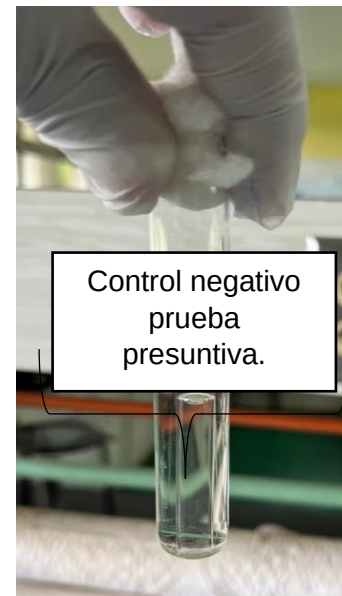
Anexo N°5. Imágenes de los resultados obtenidos.

Imagen N° 3. Prueba presuntiva de coliformes totales



Fuente: Resultados de laboratorio

Imagen N° 4. Control negativo



Control negativo
prueba
presuntiva.

Fuente: resultados de laboratorio

Diluciones de la prueba
presuntiva que salieron
negativas.

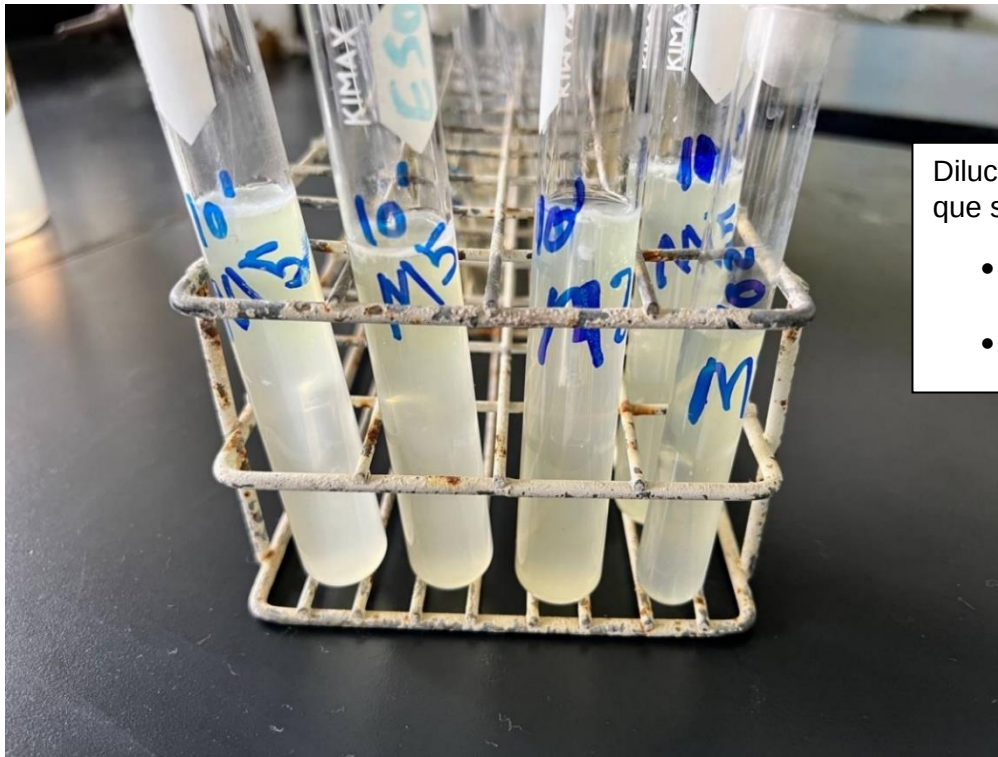
Imagen N° 5. Prueba presuntiva de coliformes totales



Diluciones de la prueba
presuntiva que salieron
negativas.

Fuente: Resultados de laboratorio.

Imagen N° 6. Diluciones de la prueba presuntiva que salieron positivas

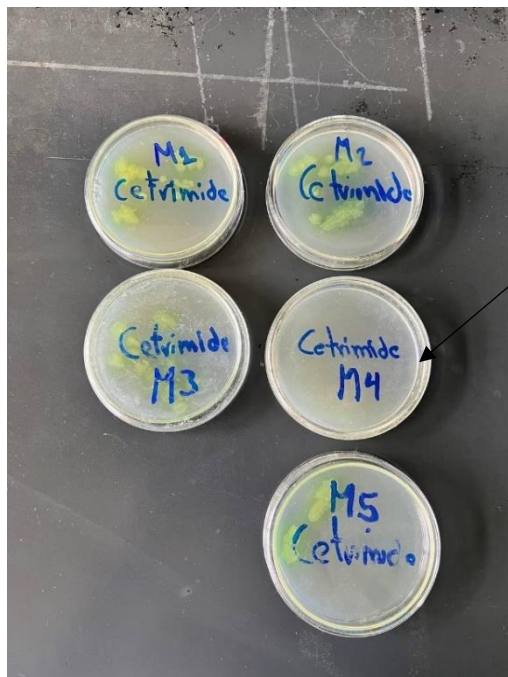


Diluciones de la prueba presuntiva que salieron positivas:

- Marca B: 1 dilución 10^{-1}
1 dilución 10^{-2}
- Marca E: 3 diluciones 10^{-1}

Fuente: resultados de laboratorio.

Imagen N° 7. Identificación de *Pseudomona aeruginosa*



Se realizará un subcultivo a la muestra 4, que confirme si realmente contiene *Pseudomona aeruginosa* o no.

Imagen N° 8. Subcultivo *P. A* muestra 4

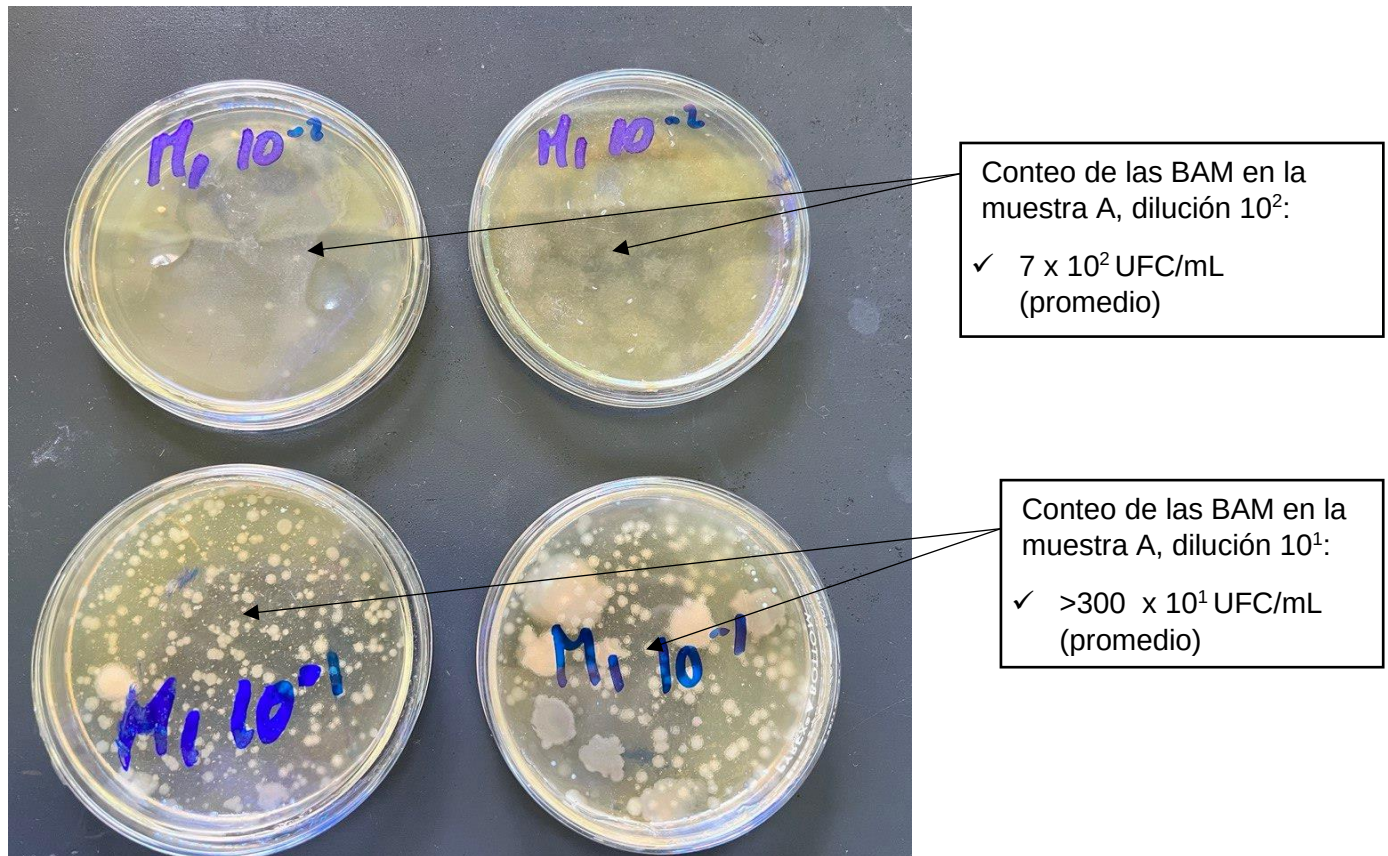


Se confirmó que la muestra 4 contiene *Pseudomona aeruginosa*.

Fuente: Resultados de laboratorio

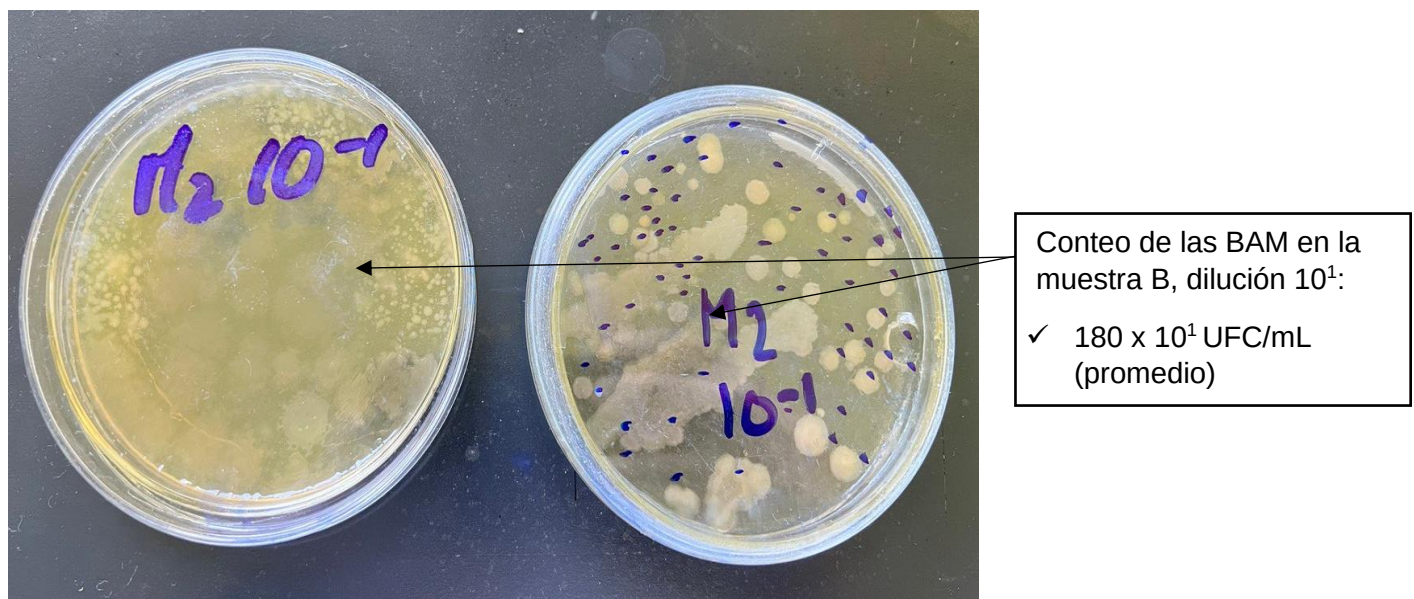
Fuente: Resultados de laboratorio

Imagen N° 9. *Conteo BAM: muestra 1, dilución 1 y 2*



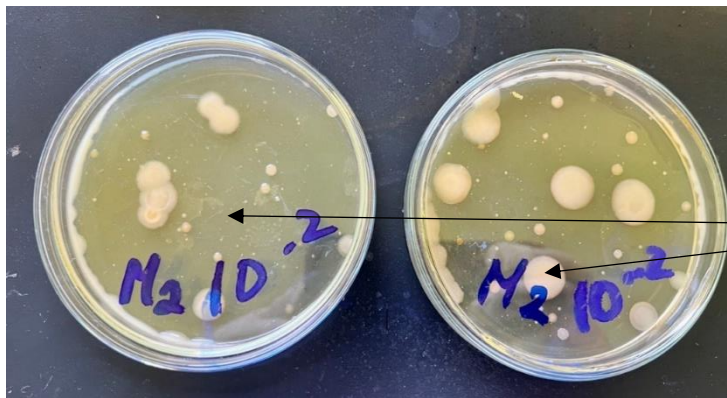
Fuente: Resultados de laboratorio

Imagen N° 10. *Conteo BAM: muestra 2, dilución 1*



Fuente: resultados de laboratorio.

Imagen N° 11. *Conteo BAM: muestra 2, dilución 2*

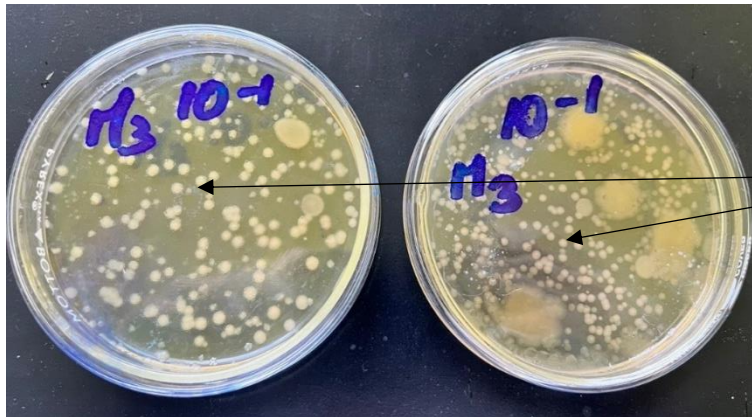


Conteo de las BAM en la muestra B, dilución 10^2 :

✓ 103×10^2 UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio

Imagen N° 12. *Conteo BAM: muestra 3, dilución 1*



Conteo de las BAM en la muestra C, dilución 10^1 :

✓ $>300 \times 10^1$ UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio

Imagen N° 13. *Conteo BAM: muestra 3, dilución 2*

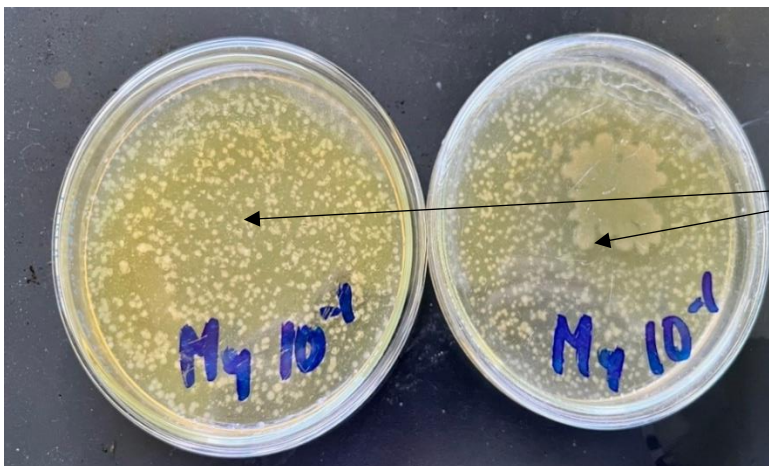


Conteo de las BAM en la muestra C, dilución 10^2 :

✓ 86×10^2 UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio

Imagen N° 14. *Conteo BAM: muestra 4, dilución 1*



Conteo de las BAM en la muestra E, dilución 10^1 :

✓ $>300 \times 10^1$ UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio

Imagen N° 15. *Conteo BAM: muestra 4, dilución 2*

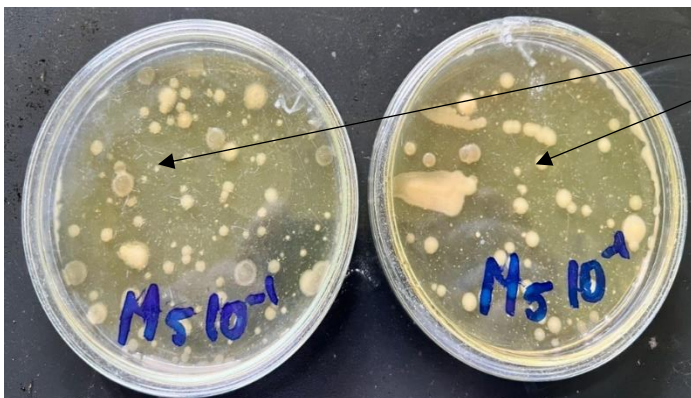


Conteo de las BAM en la muestra E, dilución 10^2 :

✓ 194×10^2 UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio

Imagen N° 16. *Conteo BAM: muestra 5, dilución 1*

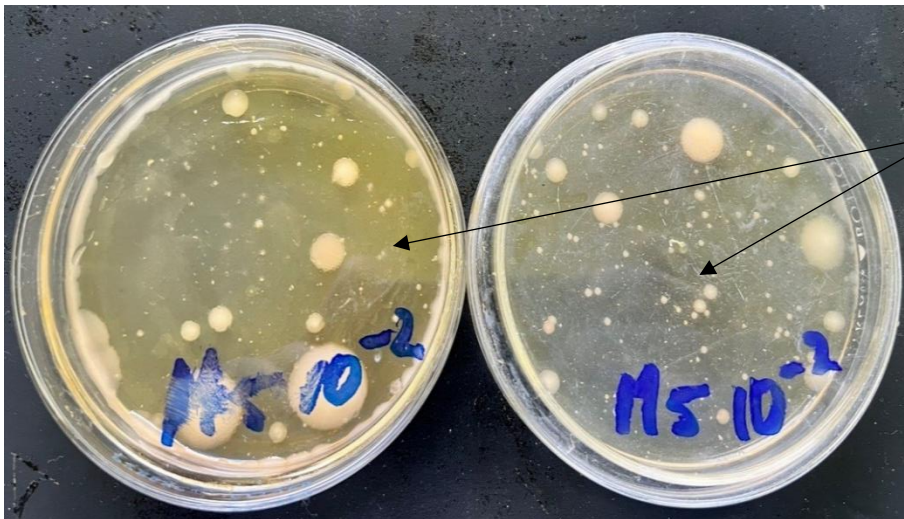


Conteo de las BAM en la muestra E, dilución 10^1 :

✓ 96×10^1 UFC/mL
(promedio)

Fuente: Resultados de laboratorio.

Imagen N° 17. *Conteo BAM: muestra 5, dilución 2*



Conteo de las BAM en la
muestra E, dilución 10^2 :

✓ 88×10^2 UFC/mL
(promedio)

Fuente: resultados de laboratorio.

Imagen N° 18. *Control medio ambiental*



Resultado de control
medio ambiental:
negativo.

Fuente: Resultados de laboratorio.

Imagen N° 19. Prueba confirmativa de coliformes totales



Diluciones de la prueba confirmativa que salieron positivas:

- Marca B: 1 dilución 10^{-1}
1 dilución 10^{-2}
- Marca E: 3 diluciones 10^{-1}

Control negativo de la prueba confirmativa

Resultados de la muestra B y E en la determinación de coliforme fecal: **negativo.**

Fuente: Resultados de laboratorio.

Imagen N° 20. Prueba coliforme fecales



Fuente: Resultados de laboratorio.

Imagen N° 21. Control negativo C.F



Fuente: Resultados de laboratorio.