

6
2 ej^o



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ANALISIS BACTERIOLOGICO DE
AGUA EMBOTELLADA COMERCIAL**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
MARIA GUADALUPE AVILES ROBLES
CUAUHTEMOC ZAMUDIO CASTELLANOS**

**ASESORES DE TESIS: OFI. ANDREA A. BECERRIL OSNAYA
MVZ. GERARDO CRUZ JIMENEZ
QFB. MARCELA HERNANDEZ VARGAS**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAINE KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'Nr Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Análisis Bacteriológico de agua embotellada comercial.

que presenta la pasantes María Guadalupe Avilés Robles
con número de cuenta: 8301083-3 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con ;
Cuahtémoc Zamudio Castellanos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautilán Izcalli, Edo. de Méx., a 16 de Marzo de 1996

PRESIDENTE Q. Bertha Rodríguez Samano
VOCAL Q.F.I. Andrea Becerril Osnaya
SECRETARIO M. en C. Elizabeth Toriz García
PRIMER SUPLENTE M.en C. Andrés Romero Rojas
SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Sofía González Gallardo

[Firmas manuscritas de los miembros del jurado]



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Análisis Bacteriológico de agua embotellada comercial.

que presenta el pasante: Cuahtémoc Zamudio Castellanos
con número de cuenta: 8754092-5 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo ; en colaboración con :
María Guadalupe Avilés Robles

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 15 de Marzo de 1996

PRESIDENTE Q. Bertha Rodríguez Samano
VOCAL Q.F.I. Andrea Becerril Osnaya
SECRETARIO M. en C. Elizabeth Toriz García
PRIMER SUPLENTE M. en C. Andrés Romero Rojas
SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Sofia González Gallardo

[Firmas manuscritas de los miembros del jurado]

AGRADECIMIENTOS

MARIA GUADALUPE AVILES RODRIGUEZ

A DIOS

AGRADEZCO A DIOS POR PERMITIRME LA VIDA Y LA DE MI FAMILIA PARA QUE JUNTOS COMPARTAMOS Y DISFRUTEMOS ESTE MI LOGRO QUE CON TANTO ESFUERZO HOY LLEGA A SU FELIZ TERMINO.

A MIS PADRES

RICARDO Y ALBERTHA CON MUCHO CARINO LES DOY LAS GRACIAS POR SU ESFUERZO Y DEDICACION REALIZADOS PARA QUE TUVIERA UNA EDUCACION DIGNA, POR SU AYUDA ECONOMICA Y MORAL, POR SUS CONSEJOS Y APOYO INCONDICIONAL EN LAS ALTAS Y BAJAS DE MI VIDA, NO TENGO CON QUE PAGAR LOS ESFUERZOS REALIZADOS POR MI PERSONA, ESPERANDO QUE ESTE NUESTRO LOGRO SEA UN PEQUEÑO FRUTO Y RECOMPENSA A TODOS LOS ESFUERZOS POR USTEDES REALIZADOS.

LOS AMO.

A MI ESPOSO E HIJO

ISIDRO TE DOY CON MUCHO CARINO LAS GRACIAS POR TU AYUDA Y APOYO PARA PODER REALIZAR MIS SUEÑOS DE LLEGAR A TITULARME, GRACIAS POR EL AMOR QUE DE TI RECIBO Y QUE ME DA FUERZAS PARA SEGUIR ADELANTE, A TI SAMY POR TU CARINO Y PACIENCIA DE ESTAR SIN UNA MAMA PARA PODER BRINDARTE UN FUTURO MEJOR.

LOS AMO.

A MIS HERMANOS

RICARDO, ANA, EDGAR Y MANUEL, LES DOY LAS GRACIAS CON CARINO POR SU AYUDA Y APOYO INCONDICIONAL PARA QUE MI SUEÑO SE HAGA REALIDAD, NO TENGO CON QUE PAGARLES EL CARINO QUE LE DAN A SAMUEL EN LOS MOMENTOS QUE NO ESTOY Y EL EMPUJON QUE ME HACE FALTA EN LOS MOMENTOS DIFICILES PARA SEGUIR ADELANTE.

LOS AMO.

ROSA Y MONSE LES AGRADEZCO SU AYUDA Y COMPRENCION BRINDADAS PARA PODER LLEGAR A ESTOS MOMENTOS TAN IMPORTANTES DE MI VIDA.

LAS QUIERO MUCHO.

AGRADEZCO A MI TIA MARÍA POR EL AMOR QUE LE BRINDO A MI HIJO EN LOS MOMENTOS QUE NO ESTUVE CON EL Y SU APOYO PARA PODER SEGUIR ADELANTE.

GRACIAS

A MIS AMIGOS

SILVIA, TAIS, CRISTINA, ELSA, LILIA, LAURA, MIREYA, GABY, ANA LIBIA, ROSITA, ELFREDO, RAUL Y ERNESTO POR HACER MAS ALEGRE Y AMENA LA ESTANCIA EN LA FACULTAD, POR ESTAR CONMIGO EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS Y SOBRE TODO POR LA AMISTAD QUE ME HAN BRINDADO.

LOS QUIERO.

A MIS PROFESORES

ANDREA, GERARDO Y MARCE LES DOY LAS GRACIAS POR SU AMISTAD Y APOYO BRINDADOS DURANTE EL TIEMPO QUE TENEMOS DE CONOCERNOS Y ESPECIALMENTE EN LA REALIZACION DE NUESTRA TESIS.

LOS QUIERO.

A LOS LABORATORISTAS

IRENE, CARLOS Y MARTIN POR SU AMISTAD Y CONSEJOS EN TODO MOMENTO MUCHAS GRACIAS.

CHARLIE, GERARDO, OSIRIS, ISABEL Y RAFA, LES AGRADEZCO LA AMISTAD Y AYUDA QUE ME HAN BRINDADO PARA PODER TITULARME MUCHAS GRACIAS.

A MI COMPAÑERO DE TESIS

CUAUHTEMOC TE AGRADEZCO EL HABERME PERMITIDO CONOCERTE, POR TU AMISTAD Y POR QUE GRACIAS A NUESTRO ESFUERZO REALIZADO LOGRAMOS NUESTRA META, LLEGAR A TITULARNOS, ESPERO QUE EN TU NUEVA VIDA DE PROFESIONISTA SE CUMPLAN TODOS TUS ANHELOS Y SEAS FELIZ CON TODOS LOS TUYOS.

MUCHAS GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS

CUANTÉMOC ZAMUDIO CASTELLANOS.

DOY GRACIAS:

-A DIOS, POR LA VIDA, SALUD, ILUMINARME, DARME LA FAMILIA QUE TENGO, ASÍ COMO PODER CONOCER LUGARES Y PERSONAS APRENDIENDO DE CADA UNA SIEMPRE, PERMITIRME CONTINUAR Y TERMINAR LA CARRERA.

-A MI MAMÁ JUANITA CASTELLANOS RODRÍGUEZ, POR SU AMOR, TERNURA, AYUDA, CARÍÑO Y APOYO QUE SIEMPRE ME HA DADO EN MI VIDA EN TODO LO QUE HE HECHO.

-A MI PAPÁ ESTEBAN ZAMUDIO FUENTES, POR SU CARÍÑO Y AMOR, ASÍ COMO ENSEÑARME LUCHAR CONTRA LA ADVERSIDAD, TENER CONFIANZA EN MI Y CONTINUAR CAMINANDO SIEMPRE ADELANTE.

-A LOS DOS, POR SU CONFIANZA Y AYUDA DE SIEMPRE, POR QUE ESTE LOGRO SE LOS DEDICO A USTEDES.

-A MI ESPOSA ANGÉLICA, POR SU AMOR, CONFIANZA, AYUDA Y APOYO QUE SIEMPRE ME HA BRINDADO, POR QUE ESTE LOGRO NO SOLO ES MIO SINO DE LOS DOS.

-A MIS HERMANOS, ESTEBAN, JUANITA, ANA MARÍA, POR SU APOYO INCONDICIONAL, AYUDA, CARÍÑO Y CONSEJOS QUE SIEMPRE ME HAN SERVIDO.

-A MIS CUÑADOS, PATY, FRANCISCO, FELIPE, A LOS CUALES APRECIO Y AGRADESCO SU APOYO QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO.

-A MIS SOBRINOS, PANCHO, ESTEBAN, JUANIS, CARO, JUANITO, SARITA, LETY, MAGDALENA, MARCE, TETE Y A EL PEQUEÑO ABRAM (BAM-BAM). DE LOS CUALES ME HAN DADO MUCHA FELICIDAD Y TERNURA.

-A MIS TIO-PADRÍNOS, EZEQUIEL Y NATIVIDAD, ASÍ COMO MIS PRIMOS CHUCHITO Y MARIANITA, POR SU CARINO Y APOYO DE SIEMPRE.

-A LA Q. BERTHA RODRÍGUEZ SAMANO, POR SU ATENCIÓN Y AYUDA QUE ME BRINDO SIEMPRE E INCONDICIONALMENTE, MUCHAS GRACIAS.

-A MIS MAESTROS QUE HE TENIDO DURANTE ESTA PREPARACIÓN UNIVERSITARIA, PERO MUY EN ESPECIAL CON TODO CARINO Y RESPETO A: Q.F.I. ANDREA BECERRIL OSNAYA.

M.V.Z. GERARDO CRUZ JIMÉNEZ.

Q.F.B. MARCELA HERNANDEZ VARGAS.

DE LOS CUALES RECIBI APOYO, AYUDA, AMISTAD, Y BUENOS CONSEJOS QUE SIEMPRE ME HAN SERVIDO, ASI COMO EL ESPIRITU DE SUPERACION QUE ME INCULCARON, A USTEDES QUE NUNCA OLVIDARE EN MI VIDA, MUCHAS GRACIAS.

-A TODOS MIS MAESTROS QUE ME DIERON CLACES DURANTE LA CARRERA, GRACIAS.

PERO ADEMAS CON RECUERDO Y AGRADECIMIENTO ESPECIAL PARA AQUELLOS QUE SIEMPRE ME DIERON SU TIEMPO, ASESORAMIENTO, APOYO Y AYUDA INCONDICIONAL QUE SIEMPRE RECUERDO Y AGRADESCO:

Q.F.B. TERESA RAMÍREZ SILVA.

Q.B.P. ANTONIO SANCHEZ

MUCHAS GRACIAS.

-A MIS COMPAÑERA Y AMIGA, GUADALUPE AVILES ROBLES, CON LA CUAL COMPARTI LOS DIFICILES Y BUENOS MOMENTOS QUE SIGNIFICO LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO. MUCHAS GRACIAS

-A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS ,PATY Y ANTONIO (DOC), CON LOS CUALES TUBE LA OPORTUNIDAD DE HACER EQUIPO EN LAS ULTIMAS MATERIAS, LAS CUALES SIGNIFICARON MUCHO PARA NOSOTROS, A USTEDES MI AGRADECIMIENTO Y RECUERDO DE SIEMPRE, GRACIAS.

-A LOS COMPAÑEROS DE ESCUELA ASI COMO LOS QUE CONOCI DURANTE LA REALIZACION DE EL SERVICIO SOCIAL, ISABEL, OSIRIS, GERARDO, CARLOS, RAFA, GRACIAS POR SU APOYO Y AYUDA QUE SIEMPRE ME BRINDARON.

A TODOS USTEDES MUCHAS GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS

-A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO Y A LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CAMPO # 1, POR LA OPORTUNIDAD DE PODER CONSIDERARLA COMO NUESTRA CASA, HACER UNA CARRERA UNIVERSITARIA Y PERMITIRNOS LABORAR EN ELLA.

-CON CARIÑO Y AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL PARA NUESTROS MAESTROS Y DIRECTORES DE TESIS:

Q.F.I. ANDREA BECERRIL OSNAYA.

M.V.Z. GERARDO CRUZ JIMÉNEZ.

Q.F.B. MARCELA HERNÁNDEZ VARGAS.

POR SU AMISTAD, APOYO, AYUDA Y CONSEJOS PARA LA REALIZACIÓN DE UN SUEÑO HECHO REALIDAD, LA REALIZACIÓN DE NUESTRA TESIS.

-A NUESTRO HONORABLE Y DISTINGUIDO JURADO:

Q. BERTHA RODRÍGUEZ SAMANO.

Q.F.I. ANDREA BECERRIL OSNAYA.

M.C. ELIZABETH TORÍZ GARCÍA.

M.C. ANDRÉS ROMERO ROJAS.

M.C. SOFÍA GONZÁLES GALLARDO.

POR SU ATENCIÓN Y SUGERENCIAS REALIZADAS A LA PRESENTE TESIS.

-A LA Q. BERTHA RODRÍGUEZ SAMANO, POR SU COMPRESIÓN Y AYUDA INCONDICIONAL QUE SIEMPRE NOS BRINDÓ, MUCHAS GRACIAS.

-AL ING. JUAN GARIBAY BERMUDEZ, POR SU TIEMPO Y ASESORAMIENTO ESTADÍSTICO, GRACIAS

-AL ING. RAFAEL RODRÍGUEZ CEBALLOS, POR SU AYUDA Y APOYO, GRACIAS.

-A LABORATORIOS MERCK-MÉXICO:

Q.F.B. VICTOR GIL AVILA MIRANDA.

Q.F.B. SERGIO HERNANDEZ ARESTI.

Q.B.P. XOCHITL CARRILLO BUSH.

Q.F.B. JESÚS HIGUERA.

POR SU ASESORÍA Y MATERIAL PROPORCIONADO PARA LA REALIZACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL, MUCHAS GRACIAS.

-A LOS LABORATORISTAS:

SRA. IRENE, SR. CARLOS, SR, MARTÍN.

POR SU AMISTAD Y APOYO DURANTE EL DESARROLLO DE LA TESIS Y EL TIEMPO QUE LABORAMOS JUNTOS, CON MUCHO RESPETO Y CARIÑO GRACIAS.

-AL TÉCNICO RODOLFO ROBLES, POR SU AYUDA PARA OBTENCIÓN DEL MATERIAL DIDÁCTICO UTILIZADO EN EL EXÁMEN PROFESIONAL, GRACIAS.

-A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE ALGUNA U OTRA MANERA NOS AYUDARON Y CONTRIBUYERON EN EL DESARROLLO DE LA TESIS, PERO TAMBIÉN AQUELLAS QUE NOS HICIERON MÁS DIFÍCIL EL CAMINO, PORQUE GRACIAS A ELLOS APRENDIMOS A VALORAR EL ESFUERZO QUE REALIZAMOS PARA PODER TITULARNOS.

MUCHAS GRACIAS.

INDICE

TITULO	PAG
I. ABREVIATURAS	
II. INDICE DE TABLAS	
III. INDICE DE DIAGRAMAS	
IV. INDICE DE GRAFICAS	
V. RESUMEN	
1.0. INTRODUCCION	
1.1. Definición de agua	1
1.2. Ciclo del agua	1
1.3. Clasificación del agua según su uso	3
1.4. Importancia del agua	4
1.5. Uso y demanda del agua en la actualidad	5
1.6. Contaminación del agua	6
1.7. Bacterias del agua	10
1.8. El agua como vehículo transmisor de enfermedades	13
1.9. Potabilización del agua	15
1.10. Purificación del agua	18
1.11. Análisis bacteriológico para evaluar la calidad del agua potable	20
2.0. JUSTIFICACION	25
3.0. OBJETIVOS	27

4.0. LISTA DE MATERIAL	
4.1. Cristalería	28
4.2. Equipo	28
4.3. Medios de cultivo	30
4.4. Reactivos	30
4.5. Material biológico	31
5.0. METODOLOGIA	32
5.1. Preparación de material y medios de cultivo	34
5.2. Validación de medios de cultivo	35
5.3. Validación de medios de cultivo líquidos	37
5.4. Validación de medios de cultivo sólidos	37
5.5. Preparación de la muestra	39
5.6. Técnica de fermentación en tubo múltiple	40
5.7. Cuenta de mesofílicos por la técnica de vaciado en placa	45
5.8. Determinación de Pseudomonas	48
5.9. Determinación de cloro	49
5.10. Identificación	50
6.0. RESULTADOS Y DISCUSION	53
7.0. ANALISIS ESTADISTICO	82
7.1. Microorganismos mesofílicos a 25°C	84
7.2. Microorganismos mesofílicos a 37°C	86
7.3. Comparación entre botella y garrafón de m.o. mesofílicos a 25°C	88
7.4. Comparación entre botella y garrafón de m.o. mesofílicos a 37°C	90
7.5. Coliformes totales	92

7.6. Comparación entre botella y garrafón para m.o. Coliformes totales	94
7.7. Pseudomonas	96
7.8. Cloro	99
7.9. Comparación entre botella y garrafón para la determinación de cloro	101
8.0. CONCLUSIONES	103
9.0. BIBLIOGRAFIA	105
VI. ANEXO 1: Relación de marcas analizadas	
VII. ANEXO 2: Medios de cultivo	
VIII. ANEXO 3: Placas EM-Ident E (MERCK)	
IX. ANEXO 4: Placas EM-Ident NF (MERCK)	
X. ANEXO 5: Tabla del NMP en serie de tres	

I. ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
AC	Agar cetrimida
ACE	Agar cuenta estándar
ADP	Agar dextrosa papa
AL	Agar Lethen
AN	Agar nutritivo
ATCC	Colección de Cepas Tipo Americanas
AWWA	American Water Work Asociation
CBVB	Caldo bilis verde brillante
cd	concentración doble
CL	Caldo lactosado
cm	centimetro
CP	Caldo Pseudomona
cs	concentración simple
°C	grados centígrados
F	Fermentadores
hrs	horas
Inc	Incubación
lb	libras
lt	litro
MC	Mc Conkey
mcl	microlitro
mcs	marcas

ml	mililitro
min	minuto
m.o.	microorganismo
nm	nanómetros
NMP	Número Más Probable
NF	No fermentadores
pág	página
PC	Computadora personal
pp	precipitado
ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
SSFE	Solución salina fisiológica estéril
UFC	Unidades formadoras de colonia

II. INDICE DE TABLAS

TITULO	PAG
Tabla 1: Clasificación del agua de acuerdo a su uso	4
Tabla 2: Contaminantes comunes de tipo físico, químico y biológico.	8
Tabla 3: Enfermedades transmitidas por el agua contaminada con m.o.	14
Tabla 4: Relación de marcas de agua potable embotellada analizadas	33
Tabla 5: Resultados de la validación de los medios de cultivo por promoción de crecimiento con cepas bacterianas ATCC.	55
Tabla 6: Resultados promedio de UFC/ml de m.o. mesofílicos a 25° y 37°C a partir de muestras de agua potable embotellada.	59

Tabla 7: Análisis de por ciento de muestras de - agua embotellada representada en UFC/ml a 25° y 37°C.	61
Tabla 8: Comparación de porcentajes entre las - presentaciones en las que se encuentra el agua potable embotellada en el mer- cado de las UFC/ml a 25° y 37°C.	61
Tabla 9: Resultados de la prueba presuntiva para calcular el NMP/100ml de coliformes to- tales.	64
Tabla 10: Resultados de la prueba confirmativa para NMP/100 ml de coliformes totales y fecales.	67
Tabla 11: Muestras que presentan crecimiento en CP y AC.	70
Tabla 12: Representación del resultado promedio del volumen gastado y de las ppm de cloro.	72
Tabla 13: Por ciento de muestras en la determina- ción de ppm de cloro.	73

Tabla 14: Porcentaje comparativo entre muestras de botella y garrafón en la determinación de cloro en ppm.	74
Tabla 15: Identificación de bacilos Gram(-), oxidasa (-), aislados de muestras de agua embotellada con el sistema SensIdent MERCK.	77
Tabla 16: Identificación de bacilos Gram (-), oxidasa (+), F y NF SensIdent MERCK.	77
Tabla 17: Frecuencia y porcentaje de m.o. aislados de muestras de agua potable embotellada.	78

III. INDICE DE DIAGRAMAS

TITULO	PAG
Diagrama 1: Homogenización y decloración de la muestra antes de la inoculación.	39
Diagrama 2: Técnica de fermentación en tubo multiple en serie de tres para determinar el NMP/100 ml.	44
Diagrama 3: Inoculación de las muestras para conteo de m.o. mesofilicos aerobios a 25° y 37°C.	47
Diagrama 4: Determinación de Pseudomonas apartir de muestras de agua potable embotellada.	48
Diagrama 5: Cuantificación en ppm de cloro en agua por la técnica de titulación con nitrato de plata.	49

Diagrama 6: Identificación de m.o. Gram(-), oxidasa (-).	51
Diagrama 7: Identificación de m.o. Gram (-), oxidasa (+), F y NF.	52

IV. INDICE DE GRAFICAS

TITULO	PAG
Gráfica 1: Representación de las UFC/ml presentes en las diferentes marcas evaluadas a 25° y 37°C.	60
Gráfica 2: Representación porcentual de los resultados obtenidos sobre el comportamiento mesófilico de las muestras evaluadas.	65
Gráfica 3: Representación porcentual del crecimiento de las muestras en presentación de botella desechable.	66
Gráfica 4: Porcentaje de muestras de garrafón que producen gas en CL.	66
Gráfica 5: Porcentaje de muestras positivas para coliformes totales, a partir de 23 muestras que presentan crecimiento en CL.	68

Gráfica 6: Porcentaje de muestras de garrafón
positivas para la prueba confirma-
tiva de coliformes totales. 69

Gráfica 7: Porcentaje de muestras positivas
para la detección de Pseudomona
en AC. 70

Gráfica 8: Presentación de muestras estudiadas
de agua embotellada vs. Cantidad
de cloruros en ppm. 73

V. RESUMEN

En este trabajo se realizó el análisis bacteriológico a 40 marcas de agua potable embotellada que corresponden: 30 muestras de botellas desechables y 10 a la presentación de garrafón de 20 litros.

Para determinar su calidad bacteriológica se realizaron las siguientes determinaciones:

- UFC/ml de m.o. mesofilicos por la técnica de vaciado en placa, a 25°C y 37°C.
- Determinación del número de coliformes totales y fecales con la técnica del NMP en tubos de fermentación múltiples en serie de tres.
- Detección de Pseudomonas con la ayuda de medios de cultivo selectivos para este género.
- ppp de cloro por titulación con Nitrato de plata.

Aunque la Norma Oficial no establece la identificación de los m.o. mesofilicos en este estudio se realizó dicha identificación utilizando un sistema microestandarizado (MERCK).

Los resultados obtenidos se compararon con los valores establecidos por la Norma Oficial de la Secretaria de Salud publicada en el Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, con clave: NOM-F-041-1993 y NOM-112-SSA1-1994.

Se realizó la validación de los medios de cultivo utilizados en la parte experimental para la obtención de resultados confiables y de elevada calidad.

En la parte experimental se obtuvieron los siguientes resultados:

El 57% de las 40 muestras rebazó el número de m.o. mesofílicos establecidos, no cumpliendo de esta manera con la Norma, el 10% de las aguas analizadas presentó coliformes totales por arriba del valor permitido, ninguna de las muestras presentó coliformes fecales por lo que todas cumplen con este parámetro.

El 25% de las muestras de agua potable embotellada contenían *Pseudomonas*, por lo que estas muestras no cumplieron con la Norma; en cuanto a las ppm de cloro el 100% de las marcas evaluadas se salen de especificación.

La identificación de los m.o. mesofílicos es un parámetro importante por considerar y que no se lleva a cabo, en este trabajo como se mencionó anteriormente se identificaron estos m.o. además de los coliformes totales aislados de las muestras en estudio con la ayuda de un sistema de microtitulación automatizado.

Se aislaron un total de 64 cepas, de las cuales el material disponible nos permitió analizar 54 y de estas solo se identificaron 37, ya que el resto fueron m.o. de vida libre.

De las 37 cepas identificadas el 27.02% de las cepas aisladas corresponden a *Enterobacter cloacae*, el 16.21% a *Pseudomona aeruginosa* y el 10.81% a *Citrobacter freundii*, aun cuando el porcentaje del resto de m.o. es bajo no dejan de tener importancia.

Como se menciona anteriormente aún cuando las UFC/ml no rebasan la Norma Oficial se identificaron los m.o. mesofilicos.

La mayoría de los m.o. identificados son patógenos al humano directamente como es el caso de la *Shigella*, *Enterobacter* y *Klebsiella* y algunos otros son patógenos oportunistas nosocomiales como *Pseudomona* y *Citrobacter*.

De lo anterior y desde el punto de vista bacteriológico solo el 43% de las muestras analizadas cumplen con la Norma establecida y son consideradas de buena calidad para el consumo humano.

Concluimos que es necesaria la identificación de los m.o. mesofilicos aún cuando no se rebase el valor establecido, ya que en este trabajo al identificar dichos m.o. se encontró que la mayoría son patógenos.

Se realizó un estudio estadístico tomando el total de marcas analizadas como una muestra aleatoria escogida al azar para inferir el comportamiento de esta muestra para una población de aguas potables embotelladas comerciales, utilizando pruebas de hipótesis (nula y alterna) de una distribución

normal para cada uno de los parámetros analizados, comparando sus valores con los establecidos en la Norma Oficial de la Secretaría de Salud.

Con este análisis estadístico establecemos que nuestra muestra si es representativa para inferir en una población de aguas potables embotelladas y concluimos que esta población no cumple con la Norma Oficial.

1. INTRODUCCION

1.1. DEFINICION DE AGUA:

Líquido incoloro, inoloro e insípido, con fórmula molecular H_2O , unidos por enlaces covalentes. Se encuentra en la naturaleza en los tres estados físicos: sólido, líquido y gaseoso. Punto de fusión cero grados centígrados, punto de ebullición cien grados centígrados.

Esencial para la vida animal y vegetal.

Frecuentemente se da por entendido, que el agua es un líquido inerte. Sin embargo, en realidad se trata de una sustancia que reacciona fácilmente y que posee propiedades importantes.^{1,2}

1.2. CICLO DEL AGUA:

Los mares del mundo están expuestos a grandes cantidades de radiación solar, produciendo la evaporación de sus aguas. La radiación solar es la fuente de energía para el ciclo del agua.

El vapor de agua formado de los mares, lagos, ríos y del suelo por radiación solar o que transpiran las hojas de las plantas pueden recorrer grandes distancias hacia la atmósfera.

Es interesante que la formación de nubes se registra cuando se produce una condensación de pequeñísimas partículas de polvo, humo y sal de mar en el aire. La precipitación depende de estas partículas. Cuando dichas partículas son lo suficientemente grandes, caen a la tierra en forma de lluvia, granizo o nieve.

Gran parte de la precipitación tiene lugar en el mar y no llega a la superficie terrestre; sin embargo, una parte de las nubes evaporadas de los mares se deposita en la tierra como agua dulce. El agua que llega a la litósfera se puede reevaporar casi de inmediato, o bien acumularse en lagos, corrientes o ríos, en forma de agua superficial.

La vida en los continentes es posible debido a que la gran cantidad de agua que cae sobre de ellos no vuelve rápidamente al mar, sino que es retenida por diversas causas. Una de las más importantes es la filtración de los terrenos permeables, que da origen a los llamados mantos acuíferos, verdaderas reservas donde el agua regresa poco a poco a la superficie. La vegetación, especialmente en los bosques que cubren el suelo, tienen gran importancia en el proceso de retención del agua, pues facilita la filtración de la misma.

Una porción de la precipitación queda capturada en las capas de nieve de las montañas, los casquetes y glaciares polares. Por último, gran parte del agua dulce de la litósfera fluye de nuevo hacia los mares para completar el ciclo del agua.

Por supuesto, antes de que el agua llegue a los mares, el hombre puede utilizarla numerosas veces en actividades tales como el riego agrícola, las necesidades industriales, para fines domésticos y para arrastrar desechos y aguas negras.^{2,3}

13. CLASIFICACION DEL AGUA SEGUN SU USO.

El agua puede ser sólida, líquida o gaseosa, incolora o presentar color, con alta o baja concentración de sales, apta o no para la vida biológica.

El agua utilizable constituye uno de los recursos más importantes del hombre. El agua potable es fundamental para la vida; las civilizaciones siempre han florecido cerca de abastecimientos adecuados de este líquido.

Las civilizaciones modernas han desarrollado técnicas para transportar el agua a grandes distancias y lograr administrarla de tal manera que se pueda usar y reutilizar en forma adecuada. Sin embargo puesto que el agua es abundante en ciertas regiones, se ha descuidado y usado mal, lo que ha conducido a su contaminación.^{2,3,5,6}

Tabla 1: Clasificación del agua de acuerdo a su uso.³

Potable	Se emplea en la alimentación y actividades domésticas.
Purificada	Utilizada en la industria farmacéutica para la elaboración de productos no estériles y cosméticos.
Inyectable	En la industria farmacéutica para la elaboración de soluciones intramusculares e intravenosas.
No potable	No propia para el consumo humano, por su alto contenido de sales, minerales y sustancias tóxicas. Siendo utilizadas en industrias como transporte, alimentación de calderas, textiles, minas, etc.

IA. IMPORTANCIA DEL AGUA:

Todas las grandes culturas de la antigüedad florecieron cerca del mar o de los ríos.

El agua es un recurso esencial para la vida. Menos del 1% del total del agua existente en el planeta está disponible para su empleo en todas las actividades del hombre, aún cuando la disponibilidad de agua potable varía enormemente de acuerdo con la localización geográfica. Tanto las condiciones naturales como las actividades humanas afectan la cantidad y la calidad del agua disponible.

La abundancia del agua y su amplia distribución son factores decisivos para el desarrollo industrial, económico y social.

En algunas ocasiones, la calidad del agua es inadecuada volviendo inservible el suministro de la misma para ciertos usos humanos, incluyendo la potable.^{2,4}

15. USOS Y DEMANDA DEL AGUA EN LA ACTUALIDAD:

El agua es y ha sido un elemento esencial en las actividades del hombre. Esta verdad toma mayor vigencia en nuestro tiempo, cuando el desarrollo tecnológico, la demanda de más y mejores productos y el explosivo aumento demográfico motivan que las principales actividades básicas que constituyen, así mismo, los principales satisfactores de necesidades, como son la agricultura, la ganadería, la pesca, la industria y los servicios públicos y urbanos, demandan cada día mayores volúmenes de agua con calidad adecuada para su uso.

Cualquier sociedad industrial utiliza enormes cantidades de agua.

La mayor parte del agua se emplea en riegos agrícolas, como medio en ciertos procesos industriales y para transportar desechos domésticos e industriales. Aproximadamente 40% del agua se emplea en el riego agrícola.

Más del 50% se usa en la industria, incluyendo las plantas de generación de energía eléctrica por medio de vapor, que representan más o menos 3/5 partes del uso industrial. Aproximadamente el 10% se emplea para los abastecimientos públicos municipales de agua.

Sólo un pequeño porcentaje del agua es para uso doméstico, pero estas aplicaciones aumentan a una velocidad mucho mayor que el índice de crecimiento de la población.

México es un país que en la actualidad confronta una destacada escasez y contaminación de sus fuentes naturales de agua. Se estima que la disponibilidad de agua de la República es de aproximadamente 410000 millones de m³/año, de los cuales actualmente se utilizan el 46% y que, hacia el año 2000, debido al incremento previsto en la generación de energía eléctrica y la industrial se aprovechará el 95%.

Todo esto sin contar que algunas zonas de la República Mexicana, han rebasado su disponibilidad regional y en consecuencia sobre explotan el recurso, con la necesidad de importar, adicionalmente agua de los lugares apartados.^{2,3,5,6}

1.6 CONTAMINACION DEL AGUA:

Por estar el agua íntimamente ligada a la vida, lo más importante es su calidad, por lo que es alarmante el grado de contaminación que en la actualidad han alcanzado diversos mantos acuíferos.

La contaminación del agua abarca un conjunto de fenómenos muy diversos; se trata de una alteración desfavorable de nuestro medio ambiente, en gran parte debida a la civilización, por efectos directos e indirectos. La contaminación afecta a un conjunto de seres que forman un sistema ecológico, es decir, un conjunto de organismos y sus relaciones recíprocas con el medio ambiente.

La contaminación puede deberse a sustancias nuevas introducidas en un medio, o al aumento de algunas otras que exceden la cantidad normal rompiendo el equilibrio y modificando la estructura y el funcionamiento del sistema ecológico afectado.

La contaminación tiene íntima relación con diversos factores:

1. Crecimiento demográfico.
2. Desarrollo industrial.
3. Urbanización.

Los tres factores anteriores presentan una evolución rápida y se suceden uno en función de otro.

Entre los problemas más notables que produce la contaminación del agua destacan:

1. Falta de agua potable y utilizable en la industria.
2. Pérdida de importantes fuentes de proteínas, especialmente del mar.
3. Condiciones favorables a las enfermedades y epidemias.
4. Aumento de enfermedades respiratorias y cardiovasculares en los núcleos urbanos.
5. Aumento de sustancias tóxicas y radioactivas en la materia viva.

En consecuencia, en algunas industrias se están diseñando procesos mediante los cuales el agua se pueda reciclar numerosas veces dentro de una misma planta, antes de limpiarla y liberarla al medio ambiente.

Por su puesto, no todas las industrias están intentando reciclar el agua y limpiar los afluentes de desecho.

Tipos de contaminantes:

A continuación se describe la naturaleza de algunos contaminantes del agua. En la siguiente tabla se indican los principales tipos de contaminantes.

Tabla 2: Contaminantes comunes de tipo físico, químico y biológico.³

Químico	Compuestos orgánicos. Iones inorgánicos. Material radiactivo.
Biológico	Bacterias patógenas. Virus. Algas. Maleza acuática.
Físico	Sólidos flotantes, espuma, calor. Líquidos insolubles.

Contaminantes químicos: a) inorgánicos.

b) orgánicos.

a) Los contaminantes inorgánicos provienen de descargas domésticas, agrícolas e industriales que contienen diversas sustancias disueltas. Entre estos contaminantes están las sales metálicas solubles como cloruros, sulfatos, nitratos, fosfatos y carbonatos. También los desechos de ácidos, bases y gases tóxicos disueltos, tales como bióxido de azufre, amoníaco y cloro.

b) Los contaminantes orgánicos son compuestos que contienen carbono y provienen de desechos domésticos, agrícolas e industriales. Entre estos están los desechos de seres humanos y animales, procesamiento de alimentos, compuestos químicos e industriales y compuestos de tipo sintético como los insecticidas.

Contaminantes biológicos:

Incluyen bacterias, virus, algas y otras plantas acuáticas.

Ciertas bacterias son inofensivas y otras participan en la descomposición de compuestos orgánicos del agua. Las bacterias y los virus indeseables son los que producen enfermedades como la tifoidea, disenteria, cólera, hepatitis, poliomielitis, etc.

Contaminantes físicos: a) líquidos.

b) sólidos.

a) Los contaminantes en forma líquida provienen de la descarga de desechos domésticos, agrícolas e industriales en las vías acuáticas, al igual que las fugas de fosas sépticas, terrenos de alimentación para animales, tierras de relleno sanitario. Estos líquidos contienen minerales disueltos, desechos humanos y animales.

b) Entre los contaminantes sólidos se incluyen materiales como arena, arcilla, tierra, cenizas, desechos sólidos, materia vegetal agrícola, grasas, papel, basura, metales y plásticos.

Los contaminantes físicos afectan al aspecto del agua, y cuando se sedimentan en el lecho o flotan en la parte superior del agua interfieren con la vida animal.^{2,3}

17. BACTERIAS DEL AGUA.

Todas las aguas naturales, dulces o saladas, tienen una población específica de bacterias adaptadas al medio ambiente, viviendo y reproduciéndose.

En general, el número de bacterias del agua es suficientemente pequeño para ser incóspicu y más aún, la mayoría de ellas no crecerán en los medios utilizados para examinar la calidad sanitaria del agua. El número de bacterias oscila desde unas cuantas por mililitro hasta un orden de elevada magnitud. Las cuentas altas son el resultado de la presencia de otro tipo de materia orgánica, como son, la descarga de aguas negras y desechos industriales.

Unos de los aspectos más importantes en la calidad del agua es el destino que tengan los patógenos, provenientes de los desperdicios humanos en el agua.

Lo que le suceda a las bacterias al invadir las aguas naturales depende del tipo de condiciones ambientales que prevalezcan en las aguas, como son:

- a) alimento.
- b) temperatura.
- c) agentes tóxicos.
- d) luz.

a) Las bacterias saprófitas se multiplican en el agua que contiene materia orgánica, pero las especies patógenas son más exigentes y no alcanzan a dividirse. Cuando las aguas negras son descargadas en una corriente, se eleva la concentración de materia orgánica ocasionando como respuesta, el crecimiento de muchos saprófitos y un incremento de bacterias patógenas. La competencia en tales circunstancias favorece a los saprófitos hasta el grado de nutrirse de los patógenos.

b) Las bajas temperaturas disminuyen la velocidad de la mayoría de las reacciones biológicas y, a temperaturas cercanas al punto de congelación, la competencia es prácticamente nula.

c) Las sustancias químicas de las fábricas, refinerías, minas y molinos de pulpa son los agentes más comunes que reducen la actividad microbiana.

Estos contaminantes se consideran los más nocivos, ya que no son materiales naturales a los cuales las bacterias estén adaptadas para utilizarlos como alimento, por lo que su desaparición es lenta y difícil.

Algunos materiales que han causado dificultades en el medio ambiente son: el cianuro, que es un inhibidor de la respiración, varios ácidos y fenoles, que a su vez, se utilizan como agentes antibacterianos; detergentes utilizados en lavandería, sulfitos que así mismo destruyen algo de la microflora acuática y el mercurio que es un veneno del metabolismo en general.

d) La luz tiene algún efecto destructivo sobre las bacterias que están en el agua y que se encuentran expuestas, sin embargo, la luz ultravioleta que es la más efectiva no penetra a las profundidades como lo hacen los rayos con mayores longitudes de onda.^{2,7}

10. EL AGUA COMO VEHICULO TRANSMISOR DE ENFERMEDADES:

Los organismos patógenos al hombre que se pueden transmitir por ingestión de agua incluyen bacterias, virus y protozoarios.

Estos m.o. se desarrollan en el intestino y abandonan el organismo en las heces. Entonces la contaminación fecal de los suministros de agua puede ocurrir y, si esta no es tratada adecuadamente, los patógenos entran a un nuevo huésped al consumir el agua. Si ésta se ingiere en grandes cantidades, puede ocasionar problemas gastrointestinales aún, si solamente contiene una baja cantidad de organismos patógenos.

Las bacterias entéricas se deben eliminar en forma efectiva del agua durante los procesos de purificación de modo de que no deben estar presentes en el agua potable.^{9,10}

Tabla 3: Enfermedades transmitidas por el agua contaminada con microorganismos.⁹

Nombre del microorganismo	Enfermedad	Reservorio
BACTERIAS:		
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea	Heces humanas
<i>Salmonella paratyphi</i>	Fiebre paratifoidea	Heces humanas
Otras <i>Salmonellas</i>	Salmonelosis	Heces humanas y animales
<i>Shigella</i>	Disenteria bacilar	Heces humanas
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Heces humanas
<i>E. coli</i>	Gastroenteritis	Heces humanas
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastroenteritis	Heces humanas y animales
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis	Heces humanas
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis	Aguas termales
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis	Secreciones humanas respiratorias
Otras <i>Mycobacterias</i>	Enfermedad pulmonar	Aire y agua
<i>Bacterias oportunistas</i>	Variable	Agua natural
VIRUS:		
<i>Poliovirus</i>	Poliomielitis	Heces humanas
<i>Coxsackie virus A y B</i>	Meningitis aséptica	Heces humanas
<i>Echo virus</i>	Meningitis aséptica	Heces humanas
Otros <i>enterovirus</i>	Encefalitis	Heces humanas
<i>Reovirus</i>	Enfermedades gastrointestinales y respiratorias	Heces humanas y animales
<i>Rotavirus</i>	Gastroenteritis	Heces humanas
<i>Adenovirus</i>	Enfermedades gastrointestinales y respiratorias	Heces humanas
<i>Hepatitis A</i>	Infecciones hepáticas	Heces
<i>Virus Norwalk</i>	Gastroenteritis	Heces Humanas
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	Meningoencefalitis amoebica	Tierra y agua

<i>Balantidium coli</i>	Balantidosis	Heces humanas
<i>Cryptosporidium</i>	Cryptosporidiosis	Heces humanas y animales
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disentería amebica	Heces Humanas
<i>Giardia lamblia</i>	Gastroenteritis	Heces humanas y animales
<i>Naegleria fowleri</i>	Meningoencefalitis amebica primaria	Tierra y agua
ALGAS:		
<i>Anabaena flos-acuae</i>	Gastroenteritis	Agua natural
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Gastroenteritis	Agua natural
<i>Alphanizomenon flos-acuae</i>	Gastroenteritis	Agua natural
<i>Schizothrix calciola</i>	Gastroenteritis	Agua natural

19. POTABILIZACION DEL AGUA:

Es raro que el agua disponible tenga tal claridad y pureza que no es necesaria su potabilización antes de su empleo. El tratamiento del agua se realiza tanto para que sea segura desde el punto de vista microbiológico, como para mejorar su utilidad para los propósitos domésticos e industriales. Los tratamientos se efectúan para eliminar los agentes tóxicos y los microorganismos patógenos en potencia y disminuir la turbidez, eliminar sabor y olor y reducir o quitar químicos dañinos como el hierro y el manganeso además de suavizar el agua para hacerla más útil. Es una práctica común el tratamiento de las aguas públicas, antes de su distribución.

El proceso de potabilización del agua incluye cinco pasos:

- 1.- Sedimentación
- 2.- Floculación.
- 3.- Filtración.
- 4.- Aireación.
- 5.- Cloración.

El agua primero es bombeada a tanques de sedimentación donde la grava y otras partículas son eliminadas.

Un tanque de sedimentación deberá emplearse si el abastecimiento de agua es muy turbia ya que tiene la desventaja de que puede ocurrir el crecimiento de algas en el tanque, añadiéndose olores y sabores y la contaminación del agua por el aflujo.

Durante la floculación se agrega al agua sulfato de aluminio produciendo un sólido gelatinoso y esponjoso que atrapa cualquier sólido suspendido y ayuda al proceso de sedimentación. Casi el 80% del material turbio, del color y las bacterias son eliminadas con este tratamiento.

Estos dos procesos se usan para aglomerar y remover del agua la materia suspendida y coloidal, incluyendo a bacterias y virus. Varios estudios han indicado que con sistemas de coagulación y sedimentación cuidadosamente operados se puede conseguir la remoción hasta del 90% de virus.

Después de la coagulación el agua aclarada es filtrada para quitar las restantes partículas y microbios suspendidos.

Los filtros pueden ser: a) Arena lenta.

b) Arena rápida.

a) Son ideales para instalaciones pequeñas como los sitios de refugio o rurales. El agua simplemente pasa através de una capa de arena de 2 a 4 pies de profundidad. La filtración lenta es capaz de remover más de un 99% de virus.

b) Se utilizan en grandes instalaciones. La velocidad de flujo de agua se mantiene alta, permaneciendo una altitud controlada de agua sobre el filtro.

Debido al gran tamaño del grano de la arena, los filtros rápidos sólo son relativamente eficaces para remover virus.

Sin embargo se usan generalmente en combinación con procesos de coagulación y sedimentación.

De 98 a 99.5% de las bacterias totales del agua dura pueden eliminarse por sedimentación y filtración adecuada.

La aireación es la etapa en la que el agua se le rocía aire por medio de bombas.

La cloración es el método más común para asegurar la inocuidad microbiológica en un abastecimiento de agua. En dosis suficientes causa la muerte a la mayoría de los microorganismos en 30 minutos. Además ya que los compuestos que producen sabor y olor son orgánicos por lo general, el tratamiento con cloro los reduce o eliminan.

También oxida el hierro soluble y los compuestos de manganeso y forma precipitados que pueden ser quitados.

El cloro puede añadirse al agua en forma de una solución concentrada de hipoclorito de sodio o de calcio así como de un gas en tanques a presión. El último método se utiliza con más frecuencia en grandes plantas de tratamiento de agua.

Después del tratamiento final es usual que el agua sea bombeada a tanques de almacenamiento, de los que fluye por gravedad al consumidor.^{2,3,9}

II. PURIFICACION DEL AGUA:

Cloración:

El agua entra de la red municipal pozo o manantial, a la cisterna, donde se efectúa la adición de cloro; esta cloración se mantiene entre 3.5 y 4.0 ppm durante un tiempo de contacto de una hora, como mínimo; tiempo suficiente para eliminar la carga microbiana que se pueda encontrar en el agua de entrada.

Filtración:

El agua que entra al sistema de filtración que proviene de cisternas por sistema de bombeo, pasa por una serie de camas de carbón activado y arena-grava, camas que sirven para eliminar el cloro que contiene el agua, así como olores y sabores desagradables.

Ultravioleta:

El agua proveniente de filtros pasa por luz ultravioleta con una longitud de onda de 150-250nm, actuando como un bactericida de los gérmenes de arrastre.

Ionización:

El 12% del agua que proviene de filtros se envía a un ionizador de plata mezclándose con el restante 88% del agua. La plata se adiciona como protección final a la contaminación microbiana. Esta adición de plata se maneja en un rango de 25 a 40 ppb.

Ósmosis inversa:

Este proceso no siempre se utiliza y consiste en hacer pasar el agua a través de una membrana muy delgada que detiene los minerales disueltos en ella, el agua tratada con este sistema es de una excelente calidad.

Suavización:

Proceso mediante el cual se elimina la dureza de agua a través de resinas de intercambio iónico.⁸

III. ANALISIS BACTERIOLOGICO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AGUA POTABLE.

Debe reconocerse que la valoración del riesgo de contraer enfermedades transmitidas por el agua es un asunto complicado. La probabilidad de ser una víctima de una enfermedad por ingerir agua contaminada es una pregunta estadísticamente relacionada con diferentes variables, como son: - El tipo y el número de patógenos ingeridos.

- La dosis requerida para la infección.
- Existencia de un amplio número de m.o. capaces de causar infección.
- La virulencia de la cepa específica.
- La edad del individuo (niños y personas de edad avanzada).
- Estado general de salud del individuo.
- La medida en la cual el individuo pudo haber quedado inmunizado al m.o. patógeno mediante una exposición anterior.⁹

Desde el punto de vista infeccioso, el riesgo de consumir agua contaminada con materia fecal radica en la presencia de bacterias patógenas, el razonamiento elemental sugeriría la investigación en el laboratorio de estos gérmenes para fines de control. El agua libre de estos patógenos se considera potable, caso contrario no se recomienda para su consumo.

El empleo de microorganismos indicadores tiene su origen en el caso de los coliformes, por la necesidad de llevar a cabo el control de la potabilidad del agua. Estos se manejaron por primera vez en 1893.

La validez de su uso como indicador de contaminación fecal en el agua se basa en los siguientes hechos:

1. Estos m.o. existen siempre en la materia fecal.
2. Sólo una fracción pequeña de todas las bacterias satisfacen la definición de organismo coliforme, no son huéspedes normales del intestino.
3. No se multiplican en aguas limpias o relativamente limpias.
4. En el agua expuesta a contaminación fecal siempre existe en proporción miles de veces superior a la de bacterias patógenas eventualmente presentes.
5. Tienden a morir en el agua a un ritmo semejante a las bacterias patógenas intestinales.
6. Su recuento en el laboratorio no implica el uso de equipo y material sofisticado. Tampoco se requiere de personal con alta calificación para ejecutar los análisis; es suficiente un nivel de adiestramiento de fácil asimilación.

Estas características de los coliformes se han utilizado como un recurso amplio y satisfactorio en todo el mundo para el control de la potabilidad del agua desde principios del siglo actual.⁹

Grupos indicadores de contaminación:

- * Coliformes totales.
- * Coliformes fecales.
- * *Estreptococos* fecales.
- * Otros indicadores de contaminación.

Coliformes totales:

Los principales indicadores de contaminación intestinal o por aguas negras, son las bacterias del grupo coliforme.

El Standard Methods define al grupo coliforme como bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporuladas, que fermentan lactosa con formación de gas y acidez a las 48 hrs a 35°C. Estas características de su cultivo son la base de las pruebas de rutina para determinar la presencia del grupo en una muestra de agua.

Existen diferentes variedades individuales de bacterias clasificadas dentro de este grupo, las cuales son huéspedes habituales de los intestinos de los animales de sangre caliente.

La *E. coli* es quizás el miembro más representativo de este grupo. Así como bacterias de los generos *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Edwardsiella*, *Arizona* y *Providencia*.

Se ha estimado que el número de bacterias coliformes en las descargas fecales, se encuentran en una concentración promedio de aproximadamente 10^7 organismos por gramo.^{11,12}

Coliformes fecales:

Los coliformes fecales se definen como bacilos cortos, Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, capaces de fermentar lactosa con producción de ácido y gas en periodos de 24 a 48 hrs a $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Las bacterias coliformes fecales constituyen un subgrupo de todos los organismos coliformes en el que se piensa están incluidos organismos con mayor probabilidad de haberse originado en el tracto intestinal del hombre y animales. Incluye primeramente *E. coli* y algunas especies termotolerantes de *Klebsiella*.¹¹

Estreptococos fecales:

El Ministerio Británico de la Salud (1956) los define como cocos Gram positivos, que forman generalmente pares o cadenas cortas, crecen en presencia de sales biliares, se pueden multiplicar y desarrollar a 45°C , producen ácido pero no gas cuando fermentan el manitol y la lactosa.

Estos m.o. se encuentran en las heces de los animales de sangre caliente, indican una contaminación reciente.

Viven menos tiempo en el medio acuático que el grupo de los coliformes, excepto cuando el agua tiene un contenido de electrolitos como son las aguas de riego, no se reproducen con tanta frecuencia como los coliformes. Desarrollan resistencia a los procesos de cloración del agua, mientras que los coliformes son más susceptibles.

Otros indicadores de contaminación:

Pseudomonas.

Generalmente aparecen como bastones delgados pequeños, frecuentemente unidos en pares y en cadenas cortas. Presentan flagelos polares, responsables de que tengan movimiento. Son Gram negativos, oxidasa positivos y aerobias estrictas, se incuban a 41.5°C, como *Pseudomona aeuroginosa*.

Bacterias enteropatógenas.

Los géneros *Salmonella* y *Shigella* pertenecen a la familia de las enterobacterias, son causantes de las enfermedades gastrointestinales como son fiebre tifoidea y disenteria bacilar.¹¹

2.0. JUSTIFICACION

Debido a los brotes diarreicos que se presentan con mayor frecuencia en los mes de verano, así como la epidemia colérica confirmada en el pais el 17 de Junio de 1991, la Secretaria de Salud ha implementado las medidas de seguridad para la población con respecto a medidas sanitarias :

1. Consuma alimentos preparados higiénicamente, hervidos o cocidos.
2. No se justifica eliminar del consumo los pescados y mariscos procedentes de las costas Mexicanas.
3. Consuma agua potable o hervida.
4. Lávese las manos antes y después de ir al baño.
5. Elimine sanitariamente el excremento.

Estas son las recomendaciones al público en general para prevenir el cólera y enfermedades diarreicas.

Puesto que el agua es una de las formas de transmisión del cólera y enfermedades diarreicas, ha de hacerse todo lo posible por proporcionar agua con calidad para lavarse y cocinar así como para beber y para el consumo humano.

Por lo anterior han surgido una gran cantidad de plantas industriales purificadoras de agua que envasan el producto y en su publicidad garantizan al usuario un agua de calidad óptima.

La comercialización y elaboración de éstas para consumo humano se ha generalizado en todo el país e inclusive han entrado una gran cantidad de marcas extranjeras al mercado, así como diferentes presentaciones de éstas, que deben ajustarse a las Normas (NOM-F-041-1993 y NOM-112-SSA1-1994) establecidas con respecto al agua embotellada.

Existe una Norma Gubernamental que está avocada a prevenir todo lo concerniente en la población en los problemas de salud a la comunidad.

La pregunta para reflexionar es, ¿ las aguas embotelladas que existen en el mercado pueden considerarse seguras y libres de bacterias patógenas y asegurar su consumo humano?

De lo anterior surge el haber desarrollado el presente trabajo, que tiene como finalidad evaluar desde el punto de vista bacteriológico el agua potable embotellada comercial, tomando una muestra al azar dentro de una población de marcas existentes en el mercado.

3.0. OBJETIVOS

GENERAL:

- Demostrar si las aguas embotelladas potables que se encuentran en el mercado, cumplen con las Normas Sanitarias establecidas por la Secretaria de Salud en el Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, para el consumo humano, aplicando técnicas estandarizadas (AWWA) para la evaluación de los parámetros establecidos en dicha Norma.

PARTICULARES:

- Cuantificar las UFC/ml de agua, de m.o. mesofilicos.
- Determinar la presencia y cantidad de coliformes totales y fecales en las muestras de agua.
- Cuantificar las ppm de cloro presentes en las muestras de agua potable embotellada.
- Detectar la presencia de *Pseudomona* inoculando el agua en medios selectivos.
- Identificar los m.o. (mesofilicos y coliformes) presentes en las muestras de agua potable embotellada y determinar si se encuentran clasificadas como m.o. patógenos, utilizando el sistema microestandarizado SensIdent-Merck.

4.0. MATERIAL

4.1. CRISTALERIA:

- * Tubos de ensaye de 20 x 200 (50 ml) con tapón de rosca.
- * Tubos de ensaye de fondo plano de 12 x 82 (20 ml) con tapón de rosca.
- * Tubos de ensaye de 16 x 150 (20 ml) con tapón de rosca.
- * Tubos de ensaye de 10 x 85 (8 ml) con tapón de rosca.
- * Campanas de Durham de 5 cm.
- * Pipetas graduadas de 1.0, 5.0 y 10 ml.
- * Matraz Erlen Mayer de 250, 500, 1000 y 2000 ml.
- * Vasos de precipitados de 250 y 400 ml.
- * Pipetas Pasteur.
- * Probeta graduada de 250 ml.
- * Buretas de 50 ml.
- * Termómetro de 250°C.

4.2. EQUIPO:

- * Balanza analítica SARTORIUS.
- * Balanza granataria digital SARTORIUS BASIC.
- * Microscopio compuesto OLYMPUS.
- * Agitadores magnéticos.

- * Parrilla con agitación y calor CORNING.
- * Autoclave ALL AMERICAN Modelo # 1925X
- * Baño María GRANT.
- * Horno Pasteur RIOS ROCHA.
- * Refrigerador AFRILATICA.
- * Estufa bacteriológica RIOSSA.
- * Parrilla con agitación CORNING.
- * Soporte universal y pinzas para bureta.
- * Mecheros Bunsen.
- * Asas bacteriológicas calibradas y rectas.
- * Espectrofotómetro y celdas MERCK.
- * Espátulas.
- * Pipeteros.
- * Gradillas.
- * Micropipetas de 50, 100 y 200 mcl.
- * Puntas para micropipetas.
- * Contenedores de 2 y 4 divisiones.
- * Fotómetro lector de placas de microtitulación (SCAN) MERCK.
- * Computadora cargada con el programa correspondiente a la identificación EM-Ident E y NF MERCK.
- * Cajas de Petri desechables estériles de 15 x 100.

4.3. MEDIOS DE CULTIVO:

- * Caldo lactosado (MERCK).
- * Caldo bilis verde brillante al 2% (BIOXON).
- * Caldo Pseudomona.
- * Agar Lethen (DIFCO).
- * Agar cuenta estándar (MERCK).
- * Agar dextrosa papa (MERCK).
- * Agar MacConkey (MERCK).
- * Agar cetrimida (MERCK).
- * Placas de EM-Ident E (MERCK).
- * Placas de EM-Ident NF (MERCK).

4.4. REACTIVOS:

- * Cloruro de sodio.
- * Glicerol.
- * Irgazan.
- * Sulfato de potasio.
- * Peróxido de hidrógeno.
- * Tiras reactivas de oxidasa (MERCK).
- * Nitrato de plata.
- * Cromato de potasio.
- * Cristal violeta.

- * Alcohol.
- * Acetona.
- * Lugol.
- * Safranina.
- * Reactivo de TDA (MERCK).
- * Reactivo Spot-Indole 1.09155 (MERCK).
- * Aceite de inmersión.
- * Bolsas con tiosulfato de sodio.
- * Papel pH.

4.5. MATERIAL BIOLÓGICO:

Cepas ATCC. *E. coli* 8739.

S. aureus 6538.

P. aeruginosa 27853.

5.0. METODOLOGIA

Se recolectaron al azar 40 marcas de agua potable embotellada que se encuentra comercialmente en el mercado, de las cuales 30 corresponden a la presentación de botella desechable y 10 a la presentación de garrafón.

Las marcas recolectadas se trabajaron por duplicado y se presentan en la tabla 4.

El significado de las claves utilizadas para identificar las marcas analizadas se pueden consultar en el Anexo 1.

Tabla 4: Relación de marcas de agua potable embotellada analizadas.

Num. de muestra	Clave	Presentación (ml)
1	EA	340
2	Aqa	1500
3	Sa	500
4	Bot	330
5	EN	330
6	Lz	500
7	AA	500
8	Sia	250
9	Bt	240
10	Ma	500
11	RN	500
12	Cl	500
13	Bit	500
14	GA	500
15	Te	355
16	Tr	500
17	Mt	1500
* 18	Bot	20000
19	Hk	4000
* 20	Pz	20000
* 21	EA	20000
22	Cs	1500
23	Ala	1500
* 24	Kl	20000
25	Ps	500
26	Na	1500
27	Ha	500
28	Sy	500
29	Pm	1500
30	Ht	500
31	Prr	1500
32	Apa	1500
33	Pra	500
34	Gl	1500
* 35	Cla	20000
* 36	WQ	20000
* 37	Msa	20000
* 38	Aga	20000
* 39	Gr	20000
* 40	Hn	20000

* Agua potable embotellada presentación de garrafón.

La parte experimental se planteó de la siguiente manera:

- * Preparación de material y medios de cultivo.
- * Validación de medios de cultivo.
- * Preparación de la muestra.
- * Inoculación de medios de cultivo sólidos y líquidos e incubación.
- * Observaciones y lecturas.
- * Aislamiento bacteriano y purificación.
- * Pruebas bioquímicas primarias.
- * Conservación de las bacterias.
- * Identificación de las bacterias aisladas.

Los ocho primeros pasos experimentales se realizaron en las instalaciones de el laboratorio de Microbiología (L-513) de la FES-C Campo 1; y la identificación bacteriana se llevó a cabo en el laboratorio de Bacteriología de Laboratorios MERCK de México.

5.1. PREPARACION DE MATERIAL Y MEDIOS DE CULTIVO.

El material de cristalería que se utilizó en la parte experimental se lavó con detergente líquido neutro (Extran) y enjuagó perfectamente con agua destilada.

Las pipetas utilizadas en la inoculación de los medios de cultivo deben estar provistas de un tapón de algodón en la parte superior, y éstas se colocaron en pipeteros los cuales

se esterilizaron en condiciones de calor seco en horno Pasteur (180°C durante 2 hrs).

Los medios de cultivo se prepararon según las especificaciones indicadas en los marbetes correspondientes a cada frasco del medio (Anexo 2).

Los desechos que se obtuvieron se esterilizaron en autoclave (121°C, 15 min).

La parte experimental de este proyecto se realizó bajo condiciones de esterilidad, restringiendo el área a personas ajenas y trabajando en un lugar cerrado para eliminar corrientes de aire.

5.2. VALIDACION DE MEDIOS DE CULTIVOS.¹³

Preparación de medios de cultivo: La preparación de los medios de cultivo se realizó según las indicaciones presentadas en los marbetes de los envases de cada medio sin ninguna variación (Anexo 2). Aclarando que el CL de doble concentración se preparó al 150%. A los medios CL concentración sencilla, doble y CBVB se les colocó una campana de Durham.

Para validar los medios de cultivo se emplearon las cepas tipo siguientes:

Cepas ATCC: *P. aeruginosa* 27853

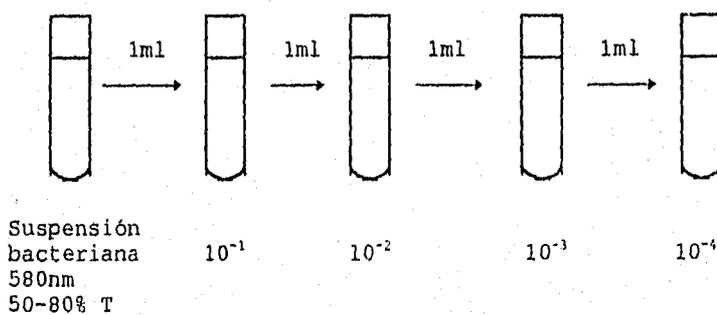
E. coli 8739

S. aureus 6538

Estas cepas se mantuvieron durante el desarrollo del trabajo en el medio de cultivo sólido Agar Lethen y en refrigeración a 4°C.

- Preparación de suspensiones bacterianas: Se realizaron suspensiones en SSFE de cada una de las cepas ATCC antes mencionadas ajustando a una concentración entre el 50 y 80% de transmitancia con la ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 580nm.

- Diluciones decimales: A partir de las suspensiones de cada una de las cepas se hicieron diluciones decimales, las cuales se realizaron utilizando tubos de ensaye cada uno con 9 ml de SSFE, pasando 1 ml de la suspensión a un primer tubo de ensaye, mezclando perfectamente y a partir de éste se tomó 1 ml y se pasó al segundo tubo y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-4} .



5.3. VALIDACION DE MEDIOS DE CULTIVO LIQUIDOS.

Se validaron los siguientes medios:

- Caldo lactosado concentración doble.
- Caldo lactosado concentración simple.
- Caldo bilis verde brillante.
- Caldo Pseudomona.

Para cada uno de los caldos se trabajaron dos tubos para probar las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} de las suspensiones bacterianas, colocando 1 ml de éstas en su tubo correspondiente, los tubos se incubaron a 37°C durante 48 hrs. Después de este periodo se observaron los resultados.

5.4. VALIDACION DE MEDIOS DE CULTIVO SOLIDOS.

Agar Cuenta Estándar:

Se utilizó una caja de medio para cada cepa y para cada dilución (10^{-3} y 10^{-4}); este tratamiento se realizó por el método de vaciado en placa.

Para la dilución 10^{-3} se colocaron 0.1ml de cada suspensión en diferentes cajas.

Para la dilución 10^{-4} se colocó 1ml de cada suspensión en cajas diferentes.

Se agregaron 20 ml del agar previamente preparado (Anexo 2), homogenizando perfectamente por rotación, dejando solidificar e incubando a 37°C por 24 horas, después de esto se contaron las colonias desarrolladas en el medio.

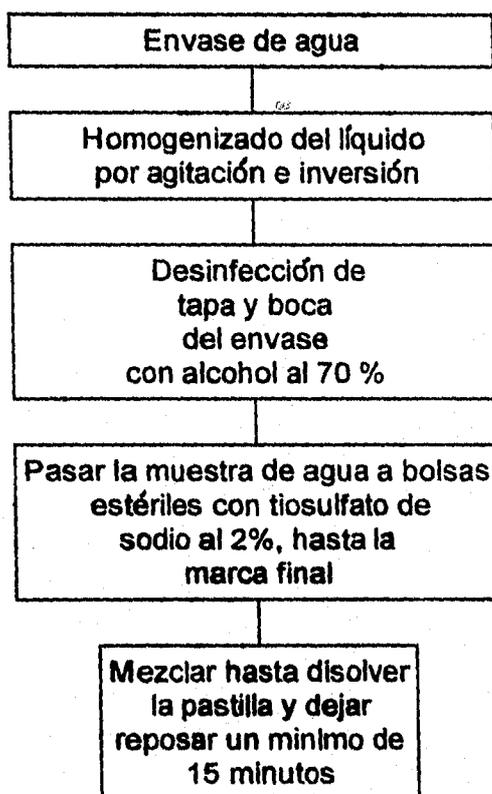
Agar Mac Conkey y Cetrimida:

Se utilizó una caja de medio de cultivo para cada una de las diluciones (10^{-3} y 10^{-4}), las cuales se dividieron en tres partes, colocando en cada una de las partes del agar una asada de las diferentes cepas, la cual se sembró por estriado, se incubaron a 37°C durante 24 hrs y se observó.

5.5. PREPARACION DE LA MUESTRA.

Previo a la inoculación de los medios de cultivo utilizados fué necesaria la decoloración total de la muestra de agua ha estudiar, utilizando bolsas estériles provistas de una tableta de tiosulfato de sodio.

Diagrama 1: Homogenización y decoloración de la muestra antes de la inoculación.



5.6. TÉCNICA DE FERMENTACION EN TUBO MÚLTIPLE:

La prueba estándar del grupo coliforme se realizó mediante la técnica en tubo múltiple, con el propósito de obtener un índice del grado de contaminación, por medio de la estimación del número de bacterias presentes en un determinado volumen de agua.

El análisis se realizó en dos etapas: Prueba Presuntiva y Confirmativa, que deben practicarse obligatoriamente para todos los tipos de agua.

Prueba Presuntiva:

- Se emplearon tres series de tres tubos cada una, con campana de Durham.
- Una de las series de tubos contenía 20ml de CL a concentración doble y dos series contenían 10ml de CL de concentración simple.
- Cada tubo de la primera serie se inoculó con 10ml de la muestra.
- Los tubos de la segunda serie se inocularon con 1ml de muestra.
- Los tubos de la tercera serie se inocularon con 0.1ml de muestra.
- Los tubos se incubaron en una estufa bacteriológica a una temperatura de 37°C, durante 48 hrs.

- Cualquier indicio de formación de gas dentro de la campana de Durham al finalizar el periodo de incubación indica la presencia de bacterias coliformes y se considera prueba positiva.

Prueba Confirmativa:

- Para realizar esta parte de la prueba, sólo se tomaron en cuenta los tubos con prueba presuntiva positiva.
- Se utilizaron tubos de fermentación con campana de Durham con 10ml de CBVB al 2%.
- Los tubos se resebraron con una asa bacteriológica y se incuban a 37°C durante 48 horas.
- Cualquier indicio de formación de gas dentro de la campana de Durham al finalizar este periodo, indica la presencia del grupo coliforme y se considera prueba positiva. Los resultados se expresan como NMP/100ml.

Coliformes fecales:

- Debido a que los coliformes fecales forman parte de los coliformes totales, su determinación se realizó apartir de los tubos considerados positivos para coliformes totales.
- Para realizar esta prueba se utilizaron tubos de fermentación con campana de Durham conteniendo 10ml de CBVB.

- Con el asa bacteriológica se transfirieron inóculos de cada uno de los tubos con prueba confirmativa positiva.
- Los tubos se incubaron a una temperatura de 45°C por un período de 48 horas.
- Cualquier indicio de formación de gas, dentro de la campana de Durham se considera prueba positiva. Los resultados se expresan como NMP/100ml.

En el caso de la técnica de fermentación en tubos múltiples, los resultados del estudio de los tubos y diluciones replicados se reportan en términos de Número Más Probable (NMP) de m.o. existentes. Este número, basado en determinadas fórmulas de probabilidad, es un cálculo de la densidad media de coliformes en la muestra.

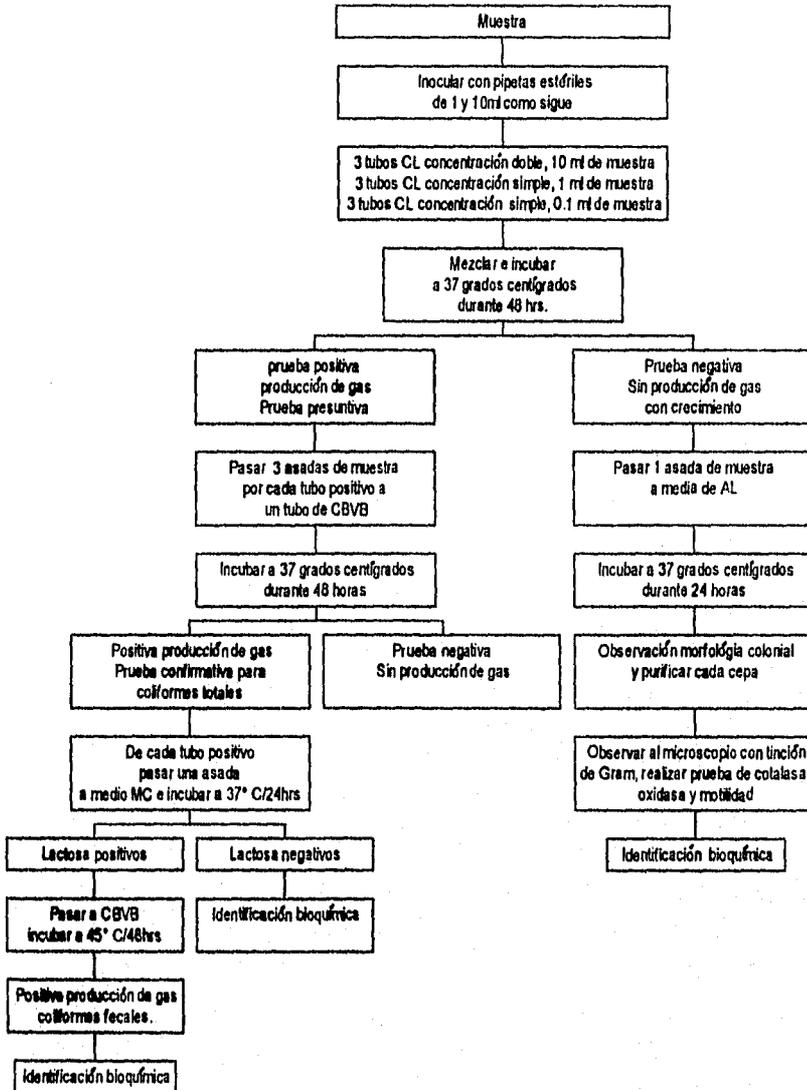
Se obtiene una información más satisfactoria cuando el mayor inóculo de la muestra estudiado muestra gas en alguno o en todos los tubos, y el más pequeño no muestra gas en ninguno o en la mayoría de los tubos.

Las tablas de NMP se basan en la hipótesis de una distribución de Poisson (dispersión aleatoria). Sin embargo, si la muestra no se ha agitado adecuadamente antes de hacer las porciones o si existen agrupamientos de bacterias, el

valor del NMP podrá resultar menor que el número real de densidad bacteriana.

Para determinar el NMP/100 ml de muestra en la técnica utilizada, Fermentación en Tubo Múltiple en Serie de Tres, después de la inoculación e incubación de los tubos fué necesario anotar el número de tubos positivos (producción de gas) de cada serie y registrar este valor como una cifra de tres dígitos, los cuales se compararon con la tabla presentada en el Anexo 3, para obtener el NMP/100 ml muestra.

Diagrama 2: Técnica de Fermentación en tubo múltiple en serie de tres para determinar el NMP/100ml



CL: Caldo lactosado; CBVB: Caldo bilis verde brillante; AL: Agar Lethen
MC: Agar MacConkey.

5.7. CUENTA DE MESOFÍLICOS POR LA TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA.

Cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en el agua, la técnica comúnmente utilizada es el recuento en placa, en medio de cultivo con un soporte nutricional adecuado y libre de agentes inhibidores.

En realidad, esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes en un tipo de agua determinado, ya que la variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente. No obstante, cuando se siguen fielmente las condiciones que se señalan en la técnica para su desarrollo, pueden llegar a proporcionar resultados lo suficientemente reproducibles para darle significado a la prueba.

Cuando la temperatura de incubación ha sido entre los 20 y los 37°C se les designa como bacterias mesofílicas aerobias, cuenta total viable, cuenta estándar en placa viable general, cuenta total aeróbica o cuenta en placa aeróbica.

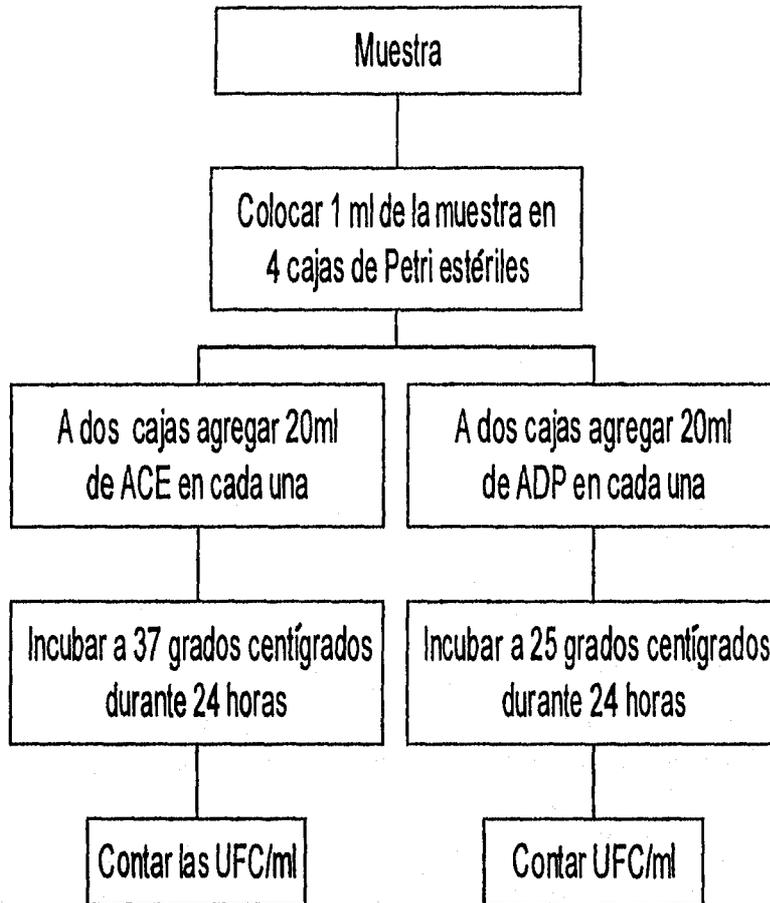
Al grupo de bacterias mesofílicas aeróbicas pertenece una gran variedad de microorganismos, de hecho, están incluidos todos aquellos m.o. capaces de desarrollarse entre 20 y 37°C, que son los extremos de las temperaturas a las cuales se realiza este recuento, en condiciones de aerobiosis.

En la flora mesofílica aerobia se encuentran bacilos, y cocos Gram positivos y Gram negativos.

La utilidad de las bacterias mesofílicas aerobias en la microbiología sanitaria se ha recomendado como:

- a) Indicador de la posible presencia de m.o. patógenos.
- b) Valorante comercial de un alimento.
- c) Indicador de las condiciones higiénicas en que ha sido manejado este producto.
- d) Indicador de la idoneidad de un ingrediente cuando se va a incorporar a un alimento.
- e) Seguimiento de la eficiencia de un proceso germicida o de preservación.
- f) Para predecir la vida de anaquel de un alimento.⁹

Diagrama 3: Inoculación de la muestra para conteo de m.o mesofílicos aerobios a 25 y 37 grados centígrados.

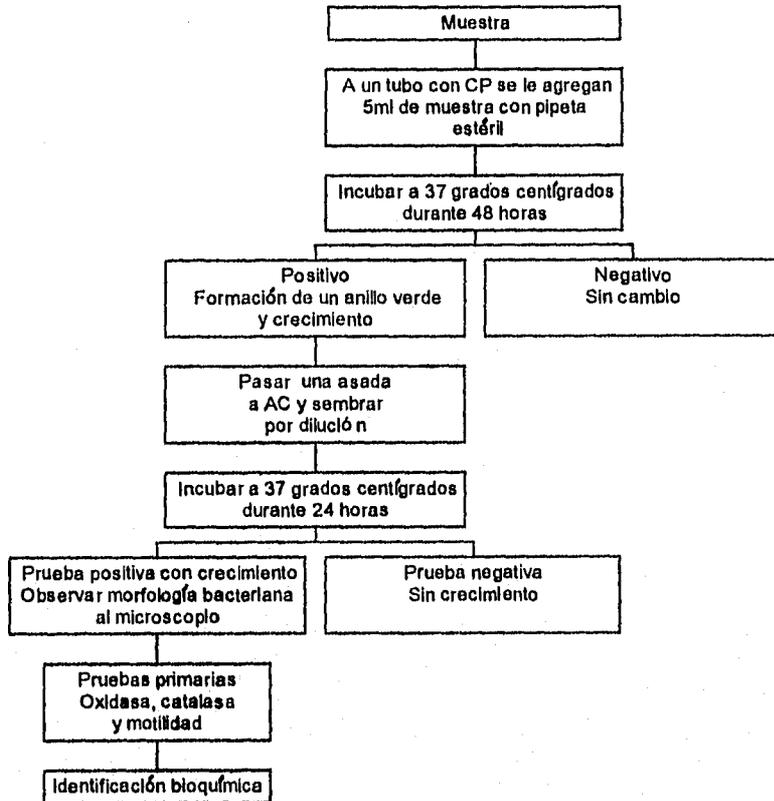


ACE: Agar cuenta estandar; ADP: Agar dextrosa papa; UFC: Unidades formadoras de colonia; ml: mililitro.

5.8. DETERMINACION DE PSEUDOMONAS

El aislamiento de Pseudomonas a partir de una muestra de agua se logra por la inoculación de dicha muestra en medios selectivos como son el CP y el AC, para este microorganismo patógeno, así como realizar su identificación bioquímica.

Diagrama 4: Determinación de Pseudomonas a partir de muestras de agua potable embotellada.

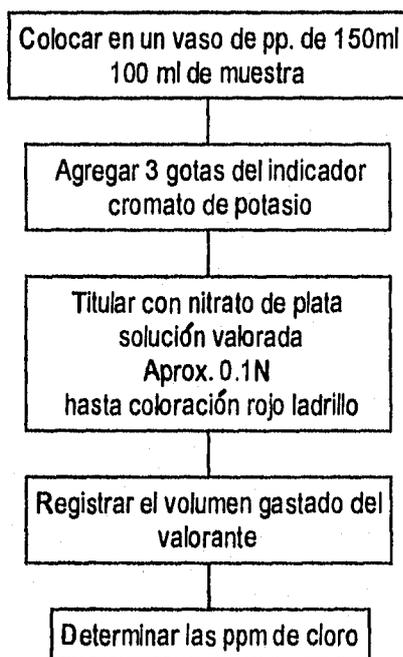


CP: Caldo Pseudomona; AC: Agar cetrimida; ml: mililitro.
Nota: Lo anterior debe realizarse por duplicado.

5.9. DETERMINACION DE CLORO.

A la muestra conteniendo cloro se adiciona una pequeña cantidad de cromato de potasio y se titula, con una solución valorada de nitrato de plata existiendo la tendencia a la formación de dos precipitados: el de cloruro de plata (blanco) y el de cromato de plata (rojo). El primero es más insoluble y en tanto existan iones cloro en la solución tendrá lugar la formación de cloruro de plata, cuando todo el cloro ha precipitado, un ligero exceso de iones plata, producirá cromato de plata de color rojizo que indica el final de la titulación.

Diagrama 5: Cuantificación en ppm de cloro en agua por la técnica de titulación con nitrato de plata.



pp: precipitados; ml: mililitro; N: Normal; ppm: partes por millón.

5.10. IDENTIFICACION^{MERCK}

Se realizó por medio de placas de microtitulación para la identificación automatizada o manual de enterobacterias y otras bacterias Gram negativas, oxidasa negativas y oxidasa positivas.

Las placas de microtitulación listas para su uso, contienen sustratos deshidratados al vacío. La adición de la suspensión bacteriana rehidrata los componentes.

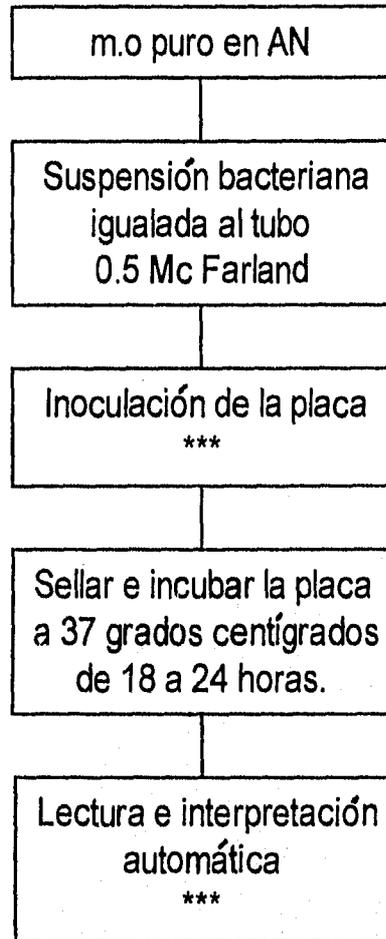
La interpretación automática se efectúa vía SensIdent Scan conectado a una unidad PC con el SensIdent Software.

SensIdent EM-Ident E. MERCK:

Son placas de microtitulación para realizar, manual o automáticamente la identificación de enterobacterias y otras bacterias Gram negativas, oxidasa negativa.

Esta placa consiste en 21 reacciones bioquímicas las cuales se evalúan e interpretan después de un tiempo de incubación.

Diagrama 6: Identificación de m.o. Gram (-)
oxidasa (-).



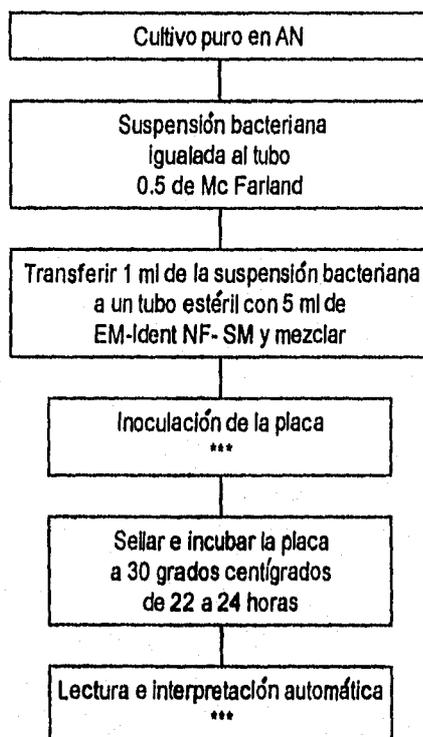
AN: Agar nutritivo; m.o.: microorganismo.
*** Ver Anexo 3.

SensIdent EM-Ident NF. MERCK.

La placa de microtitulación para realizar, manual o automáticamente, la identificación de bacterias Gram negativas no fermentadoras y algunas bacterias oxidasa positiva, fermentadoras de glucosa.

Esta placa consiste en 27 reacciones bioquímicas las cuales se evalúan e interpretan después de un periodo de incubación.

Diagrama 7: Identificación de m.o. Gram (-) oxidasa (+), F y NF.



AN: Agar nutritivo; m.o.: microorganismo.

*** Ver Anexo 4.

6.0. RESULTADOS Y DISCUSION

Para asegurar el funcionamiento de los medios de cultivo utilizados en cualquier estudio, fué necesaria la previa validación de dichos medios.

En el presente estudio se evaluaron los medios de cultivo tanto líquidos como sólidos (Anexo 2), utilizando la técnica promoción de crecimiento¹³, usando cepas ATCC: *E. coli* 8739, *S. aureus* 6538, *P. aeruginosa* 27853.

La validación mediante la promoción de crecimiento hace necesaria la utilización de diluciones como 10^{-3} y 10^{-4} , para detectar la sensibilidad de los medios de cultivo.

La selección de las cepas ATCC se efectuó de acuerdo a las diferentes características que muestran en los medios de cultivo usados en el trabajo; en la tabla 5 se observa que la cepa de *E. coli* presentó las características típicas de los m.o. coliformes, demostrando crecimiento y producción de gas en Caldo Lactosado a concentración doble, concentración sencilla y Caldo Bilis Verde Brillante (37°C/48hrs).

Al mismo tiempo las dos cepas restantes tuvieron un comportamiento útil para la validación tanto de CL, como de CBVB, debido a que presentaron crecimiento y no produjeron gas; observando de esta manera que cualquier m.o. mesofílico puede crecer en estos caldos y ser aislados a partir de ellos (Diagrama 2).

El CP y AC se evaluaron con *P. aeuroginosa*, debido a que los medios son altamente selectivos para este género, y no permitió el crecimiento de las otras dos cepas (Tabla 5).

El agar MC, por su composición es un medio diferencial (Anexo 2), que nos permitió evidenciar bacterias Gram (-), Lactosa (+) y Lactosa (-), con las cepas ATCC notamos el siguiente comportamiento: *E. coli* creció y es Lactosa (+), *P. aeuroginosa* creció y es Lactosa (-), y que *S. aureus* por ser un coco Gram (+) no creció en este medio de cultivo.

El ACE permite el crecimiento de cualquier m.o. por ser un medio nutritivo, en la tabla 5 se observa que las tres cepas crecen en este aún en concentraciones bajas de m.o.

Analizando los resultados mostrados en la tabla 5 y lo discutido anteriormente, nos permitió continuar con el trabajo de investigación debido a que las características de crecimiento y en su caso la producción de gas corresponden a las esperadas para las cepas de m.o. ATCC en cada uno de los diferentes medios evaluados por la técnica de promoción de crecimiento, aprobando de esta manera sus optimas condiciones de funcionamiento.

Tabla 5: Resultados de la validación de medios de cultivo por promoción de crecimiento con cepas bacterianas ATCC.

m.o.	dilución	CL-cd		CL-cs		CBVB	
		Crec.	Prod. gas	Crec.	Prod. gas	Crec.	Prod. gas
	10 ⁻³	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>							
	10 ⁻⁴	+	+	+	+	+	+
	10 ⁻⁵	+	-	+	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i>							
	10 ⁻⁴	+	-	+	-	+	-
	10 ⁻⁵	+	-	+	-	+	-
<i>S. aureus</i>							
	10 ⁻⁴	+	-		-	+	-

Continuación:

m.o.	Dilución	CP Crec.	ACE Crec.	MC Crec.	AC Crec.
	10 ⁻³	-	+	+	-
<i>E. coli</i>					
	10 ⁻⁴	-	+	+	-
	10 ⁻⁵	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>					
	10 ⁻⁴	+	+	+	+
	10 ⁻⁵	-	+	-	-
<i>S. aureus</i>					
	10 ⁻⁴	-	+	-	-

ATCC: Comisión de Cepas Tipo Americanas; m.o.: microorganismos; CL: Caldo lactosado; cd: concentración doble; cs: concentración sencilla; crec: crecimiento; prod: producción; CBVB: Caldo bilis verde brillante; CP: Caldo Pseudomona; ACE: Agar cuenta estandar; MC: Agar MacConkey; AC: Agar cetrimida.

Para poder determinar si un agua potable embotellada es segura para el consumo humano es necesario que cumpla con la Norma establecida por la Secretaria de Salud NOM-F-041-1993 sobre las aguas embotelladas publicada en el Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos.

La Norma establecida comprende:

1. Número de m.o. Mesofílicos < 100 UFC/ml.
2. Número de m.o. Coliformes totales < 2.
3. Ausencia de Coliformes fecales.
4. Ausencia de *Pseudomonas*.
5. ppm de cloro < 2.

En este trabajo se hizo un estudio comparativo entre los valores de los parámetros establecidos en la Norma Oficial y los resultados obtenidos de la evaluación en las 40 marcas (30 de botella desechable y 10 de garrafón) de agua potable embotellada comercial escogidas al azar y trabajadas por duplicado.

En la tabla 6 se observa el comportamiento que presentan las muestras al cuantificar las UFC/ml a 25°C y 37°C de m.o. mesofílicos, mediante la técnica de vaciado en placa (Diagrama 3), en la cual los valores representan el promedio de las UFC/ml del estudio hecho por duplicado.

Al utilizar la técnica de vaciado en placa para el conteo directo de las colonias, nos permitió contar un máximo de 300 y que al tener un número incontable de colonias se representa como 301, por la necesidad de obtener un número.

En la gráfica 1 se muestra en forma de barras los datos presentados en la tabla 6, en la cual se ve el número de marcas que sobrepasan el límite establecido (<100UFC/ml).

De las 40 marcas sometidas a la evaluación por duplicado en la determinación de m.o. mesofílicos, en la tabla 7 encontramos que a 25°C el 62.5% de las muestras cumplieron con la norma establecida (<100UFC/ml), y el 37.5% no la cumplen.

Por el contrario a 37°C el 47.5% cumplieron con la norma y el 52.5% no lo cumplen.

Con estos resultados se determinó que el aumento de temperatura favorece la promoción de crecimiento de m.o. que no se desarrollan a temperatura ambiente o a la temperatura de almacenamiento (vida de anaquel) de las aguas embotelladas y que al umentar la temperatura las muestras que cumplían con la Norma ya no lo hacen.

En base a la tabla 8 en la cual se establecen las diferencias de resultados entre botellas y garrafones, notamos que en las muestras de botellas a 37°C se incrementó su porcentaje un 10% con respecto al de 25°C, saliéndose este porcentaje de la Norma Oficial.

En cuanto a las muestras de garrafón la diferencia es aún más evidente, ya que de 25°C a 37°C hubo una variación porcentual de 30%.

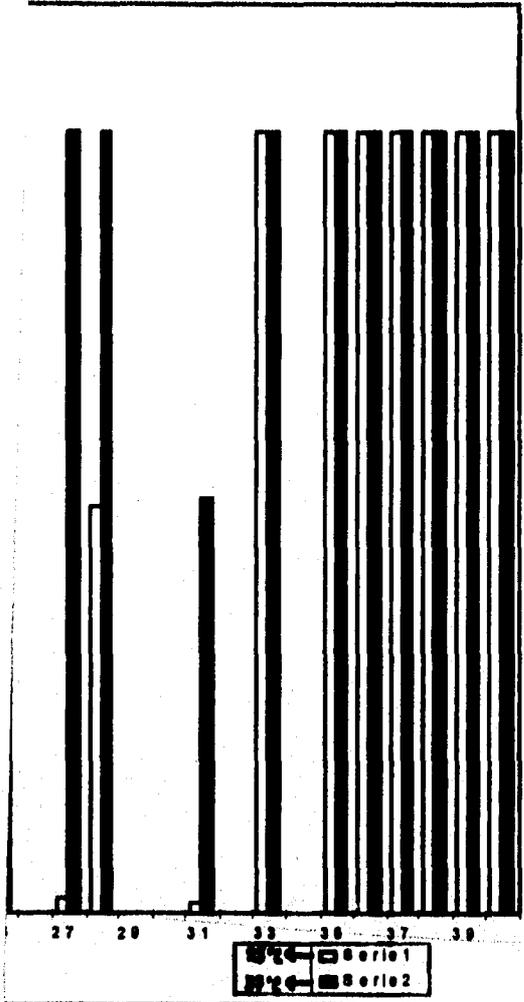
Observamos que el 100% de muestras de garrafón a 37°C no cumplen con la Norma Oficial.

Con los datos anteriores y comparando los resultados de ambas presentaciones, se observó que el aumento de las UFC puede ser debida a los contenedores posiblemente contaminados, ya que la misma marca trabajada en presentaciones diferentes muestran mayor contaminación en la presentación de garrafón.

Tabla 6: Resultados promedio de UFC/ml de m.o mesofílicos a 25° y 37°C a partir de muestras de agua potable embotellada.

Clave	Promedio de UFC/ml	
	25°C	37°C
EA	-	-
Aqa	150.5	150.5
Sa	-	-
Bot	-	-
EN	0.5	5.5
Lz	301	301
AA	156	100
Sia	-	-
Bt	-	-
Ma	-	-
RN	-	150.5
Cl	-	-
Bit	-	-
GA	-	-
Te	-	-
Tr	301	301
Mt	-	-
*Bot	301	301
HK	1.5	301
*Pz	-	301
*EA	45	301
Cs	131	301
Ala	-	-
*K1	90	301
Ps	108.5	150.5
Na	-	-
Ha	5.5	301
Sy	156.5	301
Pm	-	-
Ht	-	-
Prr	4	159.5
Apa	-	-
Pra	301	301
GL	-	-
*Cla	301	301
*WQ	301	301
*Msa	301	301
*Aga	301	301
*Gr	301	301
*Hn	301	301

las diferentes marcas



Gráfica 1: Representación de las UFC/m³ presentes en las diferentes marcas evaluadas a 25° y 37°C.

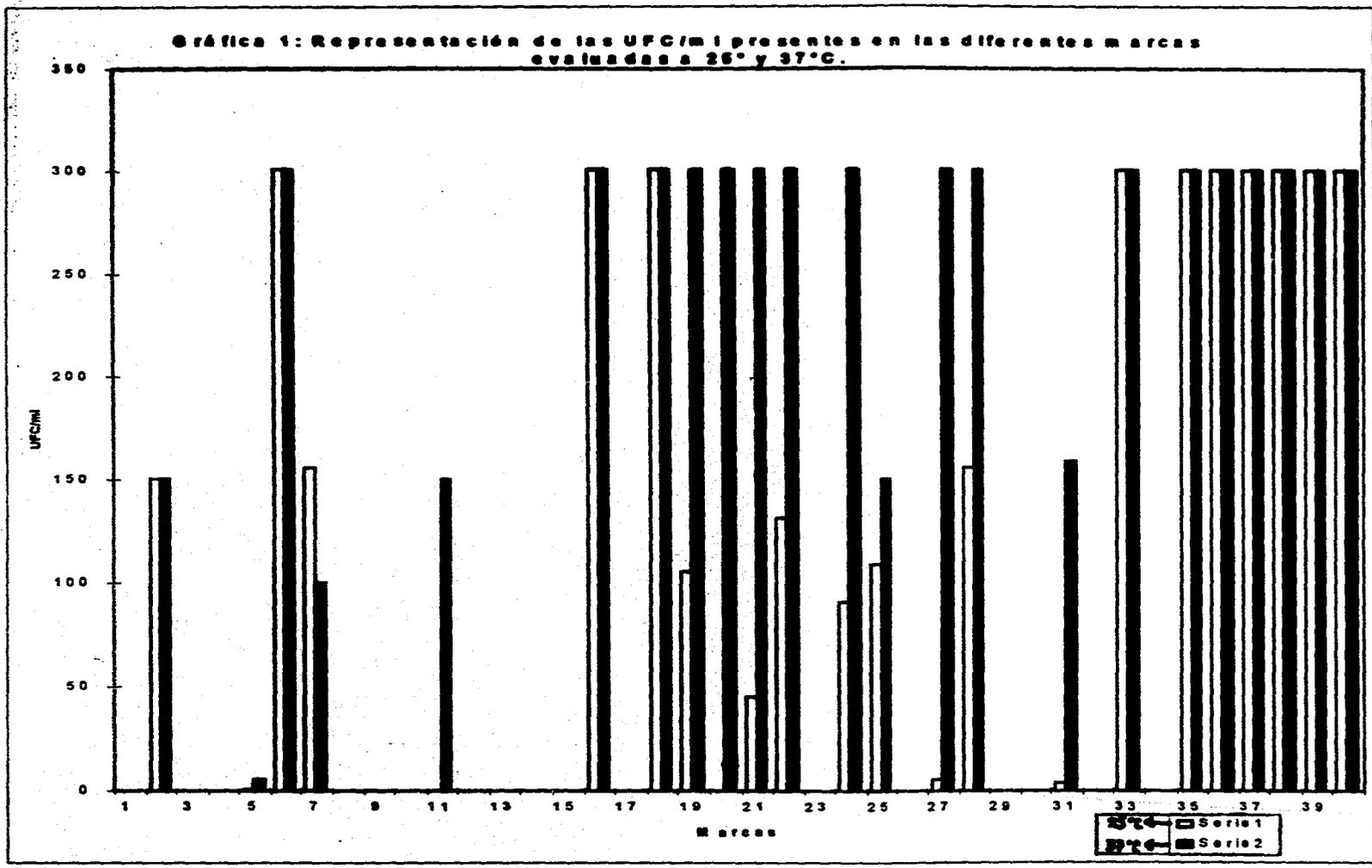


Tabla 7: Análisis de por ciento de muestras de agua embotellada representada en UFC/ml a 25° y 37°C

	0	20	50	17	42.5
1-100	5	12.5	2	5	
101-200	5	12.5	4	10	
201-300	0	0	0	0	
más de 300	10	25	17	42.5	

UFC/ml; Unidades formadoras de colonia por mililitro.

Tabla 8: Comparación de porcentajes entre las presentaciones en las que se encuentra el agua potable embotellada en el mercado de las UFC/ml a 25° y 37°C.

	19	63.3	17	56.6	1	10	0	0
1-100	2	6.6	2	6.6	2	20	0	0
101-200	5	16.6	4	13.3	0	0	0	0
201-300	0	0	0	0	0	0	0	0
más de 300	3	10	7	23.3	7	70	10	100

UFC/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro; #mcs: número de marcas.

El CL es un medio de cultivo el cual debido a sus componentes de enriquecimiento (Anexo 2), permite el crecimiento de una gran variedad de m.o. y por la Lactosa contenida en su formulación permite evidenciar la presencia presuntiva de m.o. coliformes (37°C/48 hrs), ya que al utilizar este carbohidrato como fuente de carbono el m.o. coliforme tiene la capacidad de producir gas; observando este fenómeno por desplazamiento del líquido dentro de la campana de Durham contenida en el tubo de este medio.

De acuerdo a la metodología establecida para determinar el NMP/100ml en la prueba presuntiva para Coliformes totales (Diagrama 2) en la que se especifica el uso de serie de tres tubos, nos permitió analizar los resultados de la tabla 9, en la cual se muestra el número de tubos positivos con crecimiento y producción de gas de cada serie por cada muestra. De este análisis establecemos, que el 8.66% de las muestras en estudio (40 marcas) son positivas a la prueba presuntiva de Coliformes totales, mostrándose el NMP/100ml respectivo en esta tabla (Ver Anexo 5).

Basandonos en los datos obtenidos de UFC/ml (Tabla 6) y los resultados mostrados en la tabla 9, se pudo establecer que el 57% de las marcas en estudio presentaron crecimiento mesofílico y el 43% fueron negativas (Gráfico 2).

En la Gráfica 3 se observa que el 43% de las muestras en presentación de botella desechable (30) mostraron crecimiento mesofílico y el 57% no mostraron este crecimiento.

En la Gráfica 4 encontramos que el 100% de muestras en la presentación de garrafón (10) presentaron crecimiento mesofílico y que el 50% del número total de estas muestras presentaron producción de gas en CL para la prueba presuntiva de Coliformes totales.

Para confirmar que estos m.o. productores de gas en CL corresponde a los Coliformes totales, fué necesario el uso del CBVB (Diagrama 2), el cual es selectivo gracias al colorante verde brillante y a la bilis de buey que presenta en su formulación (Anexo 2), los cuales ayudan inhibiendo a los m.o. Gram (+) y Gram (-) exigentes, así como la Lactosa como única fuente de carbono. Al incubar el CBVB a 37°C/48 hrs, favorece el crecimiento de los Coliformes totales notando su presencia nuevamente por la formación de gas en la campana de Durham.

En el caso de los Coliformes fecales este medio se transforma a un medio altamente selectivo por las condiciones de incubación 45°C/48 hrs (Diagrama 2).

A las 5 muestras que presentaron ser positivas a la prueba presuntiva para Coliformes totales (Tabla 9), se les realizó la prueba confirmativa para estos m.o.

En la tabla 10 mostramos el número de tubos positivos con producción de gas en CBVB a 37°C/48 hrs, de cada serie y para cada muestra, determinando con los tres dígitos obtenidos el NMP/100ml para Coliformes totales (Anexo 5).
 Otro dato importante mostrado en la tabla 10 es que el 100% de las muestras positivas para Coliformes totales pertenecen a la presentación de garrafón (10), y que además son negativas para la determinación de Coliformes fecales según la metodología del Diagrama 2.

Tabla 9: Resultados de la prueba presuntiva para calcular el NMP/100ml de coliformes totales.

Clave	Crec. en CL			Prod. Gas en			NMP/100ml
	cd 10ml 0.1ml	cs 3 1ml	cs 3 1ml	CL cd 10ml 0.1ml	cs 3 1ml	cs 3 1ml	
EA	-	-	-	-	-	-	0
Aqa	3	3	3	-	-	-	0
Sa	-	-	-	-	-	-	0
Bot	-	-	-	-	-	-	0
EN	3	3	-	-	-	-	0
Lz	3	3	3	-	-	-	0
AA	3	3	3	-	-	-	0
Sia	-	-	-	-	-	-	0
Bt	-	-	-	-	-	-	0
Ma	-	-	-	-	-	-	0
RN	3	3	3	-	-	-	0
Cl	-	-	-	-	-	-	0
Bit	-	-	-	-	-	-	0
GA	-	-	-	-	-	-	0
Te	-	-	-	-	-	-	0
Tr	3	3	3	-	-	-	0
Mt	-	-	-	-	-	-	0
*Bot	1	1	1	-	-	-	0
Hk	3	3	3	-	-	-	0
*Pz	3	3	3	-	-	-	0
*EA	3	3	3	-	-	-	0
Cs	3	3	3	-	-	-	0

Ala	-	-	-	-	-	-	0
*Kl	3	3	3	-	-	-	0
Ps	3	3	3	-	-	-	0
Na	-	-	-	-	-	-	0
Ha	3	3	3	-	-	-	0
Sy	3	3	3	-	-	-	0
Pm	-	-	-	-	-	-	0
Ht	-	-	-	-	-	-	0
Prr	3	3	3	-	-	-	0
Apa	-	-	-	-	-	-	0
Pra	3	3	3	-	-	-	0
GL	-	-	-	-	-	-	0
*Cla	3	3	3	3	3	0	240
*WQ	3	3	3	1	0	0	4
*Msa	3	3	3	2	1	0	15
*Aga	3	3	3	-	-	-	0
*Gr	3	3	3	3	3	1	460
*Hn	3	3	3	3	0	0	23

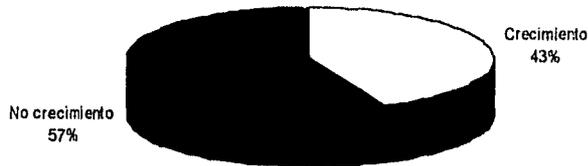
* Presentación de garrafón.

Nota: El valor del NMP/100ml se obtiene apartir de la tabla correspondiente.^{14,15} (Anexo 5)

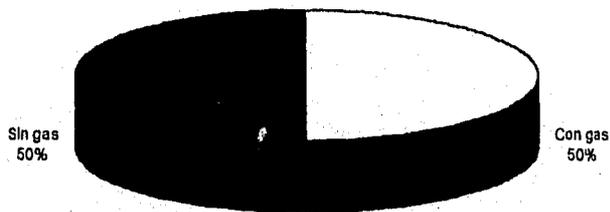
Gráfica 2: Representación porcentual de los resultados obtenidos sobre el comportamiento mesofílico de las muestras evaluadas.



Gráfica 3: Representación porcentual del crecimiento de las muestras en presentación de botella desechable.



Gráfica 4: Porcentaje de muestras de garrafón que producen gas en CL.



Nota: El 100% de las muestras de garrafón presentan crecimiento en CL.

Tabla 10: Resultados de la prueba confirmativa para NMP/100ml de coliformes totales y fecales.

Clave	Prod. Gas en CEVB a 37°C			NMP/100ml Coliformes Totales	Prod. Gas en CEVB a 45°C		
	cd 10ml	cs 1ml	cs 0.1ml		cd 10ml	cs 1ml	cs 0.1ml
*Cla	3	2	0	93	0	0	0
*WQ	1	0	0	4	0	0	0
*Msa	0	0	0	0	0	0	0
*Gr	3	3	1	460	0	0	0
*Hn	3	0	0	23	0	0	0

* Corresponden a la presentación de garrafón

En la Gráfica 5 se establece que de 23 muestras positivas con crecimiento en CL el 17% de muestras presentaron crecimiento y producción de gas en la prueba confirmativa para Coliformes totales y que el 83% solamente mostraron crecimiento.

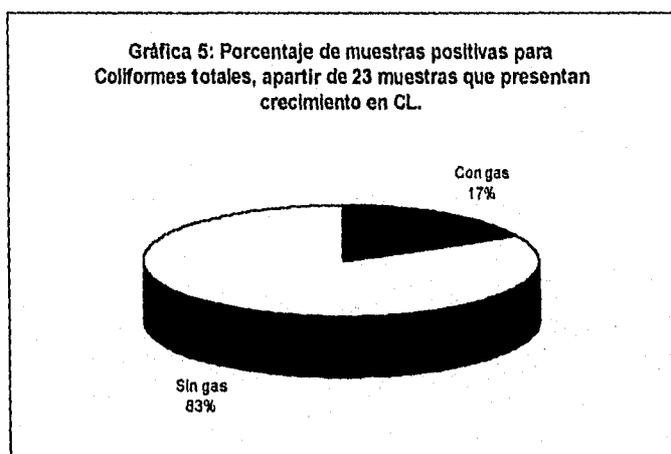
Las cinco muestras positivas a la prueba confirmativa de Coliformes totales correspondieron a la presentación de agua embotellada en garrafón (Tabla 10), y en esta misma tabla observamos la ausencia de Coliformes fecales en el total de las muestras trabajadas de ambas presentaciones.

Una forma más evidente de ilustrar los resultados con respecto al comportamiento sobre la prueba presuntiva y confirmativa para Coliformes totales de los garrafones analizados, es observando las gráficas 4 y 6, las cuales muestran que todas las muestras en presentación de garrafón

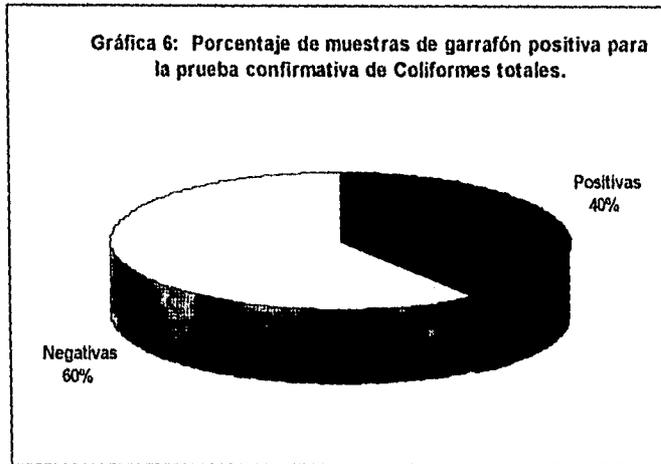
tienen crecimiento en CL, y que el 50% son positivas a la prueba presuntiva y que el 40% son positivas a la prueba confirmativa.

En base a la utilización de la tabla presentada en el anexo 3 se encontró que las 4 marcas positivas a la determinación de coliformes totales se encuentran por arriba del dato permitido (< 2) por la Norma oficial.

Cabe recordar que estas 4 marcas corresponden a las muestras de agua potable embotellada en garrafón.



Gráfica 6: Porcentaje de muestras de garrafón positiva para la prueba confirmativa de Coliformes totales.



La selectividad del CP y del AC es debida a los componentes en su formulación (Anexo 2), permitiendo de esta manera hacer un aislamiento seguro de Pseudomonas en este caldo, que posteriormente se comprueba su crecimiento en AC.

Los resultados de la tabla 11 muestran que 10 de las 40 marcas analizadas son positivas en CP (Diagrama 4), el cual corresponde al 25% del total de las muestras, así mismo este porcentaje representa al obtenido en el crecimiento en AC.

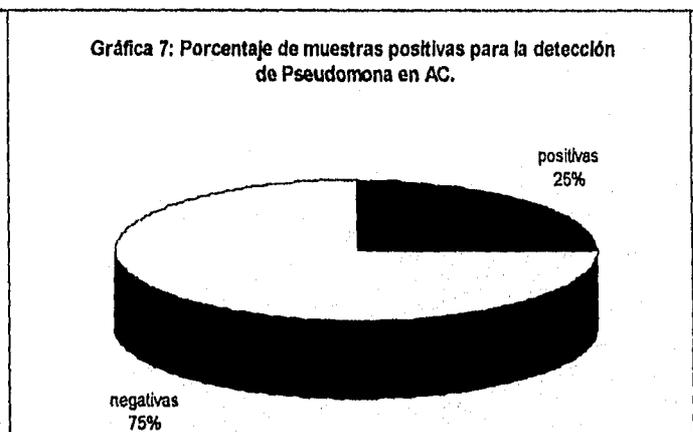
En el Gáfico 7 se resume que del 25% de muestras positivas, el 10.0% corresponde a la presentación de botella desechable y el 15.0% restante a la presentación de garrafón.

Tabla 11: Muestras que presentan crecimiento en CP y AC.

Clave	Crecimiento en CP	Crecimiento en AC
Lz	+	+
Prr	+	+
Pra	+	+
Ha	+	+
*Pz	+	+
*Kl	+	+
*Msa	+	+
*Aga	+	+
*Cla	+	+
*Hn	+	+

CP: Caldo Pseudomona; AC: Agar cetrimida.

Gráfica 7: Porcentaje de muestras positivas para la detección de Pseudomona en AC.



La determinación de ppm de cloro se realizó mediante una técnica de titulación (Diagrama 5), utilizando la fórmula siguiente:

Las ppm de cloro fueron calculadas de la siguiente manera.

$$\text{ppm Cl}^- = \frac{V \times N \times 0.03546 \times (1 \times 10^6)}{100}$$

V = Volumen gastado de nitrato de plata (ml)

N = Normalidad de nitrato de plata (mol/lt)

0.03546 = Peso equivalente de cloro

100 = volumen de la muestra en (ml)

La Normalidad del nitrato de plata utilizado en la valoración fue de 0.1035 N

En la tabla 12 se muestra el volumen gastado de nitrato de plata y las ppm correspondientes para cada muestra.

En la gráfica 8, tabla 13 y 14 se presentan en una escala de 0 a 60 las ppm de cloro; se demostró que el 100% de las muestras no cumplen con la Norma Oficial de la Secretaría de Salud, ya que el valor obtenido en esta determinación se encuentra por arriba de las 2 ppm de cloro permitidas.

No se estableció ninguna relación entre las ppm de cloro contenidas en las muestras analizadas y el total de UFC/ml de las mismas, ya que algunas presentan una gran cantidad de cloro y pocas UFC/ml y otras presentan gran cantidad de cloro y elevadas UFC/ml.

Tabla 12: Representación del resultado promedio del volumen gastado y de las ppm de cloro.

Clave	V (ml)	ppm	Clave	V (ml)	ppm
EA	0.49	18.35	*Bot	0.39	14.68
Aqa	0.37	13.76	Hk	0.37	13.76
Sa	0.34	12.84	*Pz	0.59	22.02
Bot	0.58	21.65	*EA	1.39	51.38
EN	0.42	15.59	Cs	0.29	11.01
Lz	1.27	46.79	Ala	0.99	36.70
AA	1.72	63.30	*Kl	0.39	14.68
Sla	0.37	13.76	Ps	0.57	21.10
Bt	0.19	7.34	Na	0.49	18.35
Ma	0.37	13.76	Ha	0.49	18.35
RN	0.72	26.60	Sy	0.34	12.84
Cl	0.39	14.68	Pm	0.32	11.92
Bit	0.39	14.68	Ht	0.62	22.93
GA	0.47	17.43	Prr	0.42	15.59
Te	0.39	14.68	Apa	0.52	19.26
Tr	0.27	10.09	Pra	0.54	20.18
Mt	1.27	46.79	GL	0.94	34.86
*Cla	0.49	18.35	*Aga	1.69	62.39
*WQ	0.34	12.84	*Gr	0.34	12.84
*Msa	1.59	58.72	*Hn	1.59	58.72

*Corresponden a la presentación de garrafón.

V: Volumen; ppm: partes por millón; ml: mililitros.

Gráfica 8: Presentación de muestras estudiadas de agua embotellada contra cantidad de cloro en ppm.

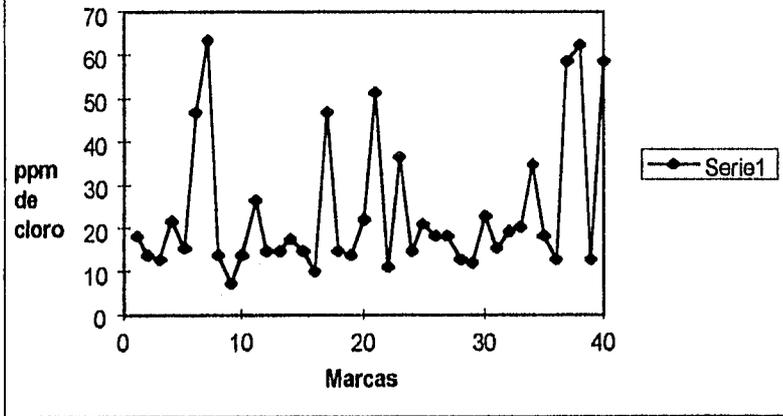


Tabla 13: Porcentaje de muestras en la determinación de ppm de cloro.

ppm de Cl	# de mcs	%
0-2	0	0
3-20	26	65
21-40	7	17.5
41-60	5	12.5
más de 60	2	5

ppm: partes por millón; Cl: cloro; #mcs: número de marcas.

Tabla 14: Porcentaje comparativo entre muestras de botella y garrafón en la determinación de Cl⁻ en ppm.

ppm Cl ⁻	Garrafón		Botellas	
	# mcs	%	# mcs	%
0-2	0	0	0	0
3-20	4	40	22	73.3
21-40	2	20	5	16.6
41-60	3	30	2	6.6
más de 60	1	10	1	3.3

ppm: partes por millón; #mcs: número de marcas.

Con respecto al contenido de m.o. mesofílicos, la Norma Oficial no establece un tipo de m.o. mesofílicos que puedan o no estar presentes en las aguas potables embotelladas.

En el presente trabajo se llegó a la identificación de los m.o. mesofílicos aislados en las muestras mediante un sistema de identificación (Diagrama 6, 7), para conocer que tipo de m.o. estaba presente en el agua que podría ser consumida por individuos de los cuales se desconoce su predisposición a este tipo de m.o., independientemente de su temperatura corporal que como se menciona favorece su desarrollo.

De 23 muestras positivas con crecimiento de m.o. mesofílicos, coliformes y Pseudomonas, se aislaron 64 cepas.

Con respecto a la identificación, de las 64 cepas, el material disponible solo nos permitió analizar un total de 54 y de éstas solo 37 se lograron identificar por el sistema

microestandarizado SensIdent MERCK y el resto de las cepas que son 17 no se lograron identificar debido a que se trataba de m.o. de medio ambiente o vida libre.

De las cepas sometidas a identificación 24 correspondieron a la presentación de botella desechable y 30 a la presentación de garrafón.

Aún cuando algunas de las marcas no se salieron de la norma establecida con respecto al número de UFC/ml se realizó la identificación de la cepa aislada para conocer el tipo de m.o.

En las tablas 15 (m.o. oxidasa negativa) y 16 (m.o. oxidasa positiva) se muestran el tipo de m.o. identificado y en la tabla 17 además su frecuencia de aislamiento, destacando que la bacteria con mayor aislamiento es *Enterobacter cloacae* (27.02%), seguido por *Pseudomona aeruginosa* (16.21%), y *Citrobacter freundii* (10.81%), aun cuando el porcentaje del resto de los m.o. es bajo no dejan de ser evidentes.

Algunos m.o. aislados no tienen una patogenicidad establecida y de algunos otros no se reporta ningún dato en bibliografía. De lo anterior es difícil poder establecer alguna relación sobre la contaminación del agua y la patogenia que se produzca en el caso de aquellos m.o. de los que no se tiene ningún dato.

Como se menciona anteriormente, aún cuando las UFC/ml no rebasan la Norma Oficial se identifican los m.o. mesofílicos aislados de estas muestras (Diagrama 2), como son :

EA - *Citrobacter freundii*.

EN - *Shigella species*.

Prr - *Acinetobact Iwoffii*.

Estos son algunos de los m.o. potencialmente patógenos al humano.

Otro dato importante tomado de la relación de las tablas 15 y 16 es que la mayoría de los m.o. identificados son patógenos al humano directamente como en el caso de *Shigella*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, y algunos otros son patógenos oportunistas nosocomiales como *Pseudomona* y *Citrobacter*.

Considerando que estos m.o. se encuentran en un producto de consumo humano, debe establecerse un mayor control en el tipo de m.o. mesofílicos permitidos.

Tabla 15: Identificación de Bacilos Gram (-), oxidasa (-), aislados de muestras de agua embotellada con el sistema - SensIdent MERCK.

Clave	m.o. Identificado
EA	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Escherichia hermanii</i>
EN	<i>Shigella species</i>
Hk	<i>Acinetobacter iwoffii</i>
Ha	<i>Acinetobacter iwoffii</i>
Prr	<i>Acinetobacter iwoffii</i>
*WQ	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
*Cla	<i>Enterobacter cloacae</i>
*Gr	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Citrobacter Freundii</i>
*Hn	<i>Enterobacter cloacae</i>

*Garrafón; m.o.: microorganismo.

Tabla 16: Identificación de bacilos Gram (-) Oxidasa (+), F y NF SensIdent MERCK

Clave	m.o. Identificado
Lz	<i>Pseudomona aeuroginosa</i>
Tr	<i>Como. Testosteroni</i>
*Pz	<i>Pseudomona aeuroginosa</i>
*Kl	<i>Pseudomona aeuroginosa</i>
Ps	<i>Burkinella picketii</i>
Ha	<i>Pseudomona alcaligenes</i>
Sy	<i>Burkinella cepacia</i>
	<i>Moraxella phenylpyruvica</i>
Prr	<i>Pseudomona mendocina</i>
Pra	<i>Pseudomona alcaligenes</i>
	<i>Aeromona hydrophila</i>
*Msa	<i>Pseudomona aeuroginosa</i>
*Aga	<i>Pseudomona stutzeri</i>
*Hn	<i>Pseudomona mendocina</i>
	<i>Pseudomona alcaligenes</i>
*Cla	<i>Pseudomona aeuroginosa.</i>

*Garrafón; m.o.: microorganismo.

Tabla 17: Frecuencia y porcentaje de m.o. aislados de muestras de agua potable embotellada.

Microorganismo	Frecuencia	Porcentaje
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	26.31
<i>Pseudomona aeuroginosa</i>	6	15.78
<i>Citrobacter freundii</i>	4	10.52
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	3	7.89
<i>Pseudomona alcaligenes</i>	3	7.89
<i>Pseudomona mendocina</i>	2	5.26
<i>Aeromona hidrophyla</i>	2	5.26
<i>Escherichia hermanii</i>	1	2.63
<i>Shigella species</i>	1	2.63
<i>Como. testoteroni</i>	1	2.63
<i>Burkinella picketii</i>	1	2.63
<i>Burkinella cepacia</i>	1	2.63
<i>Moraxella phenylpyruvica</i>	1	2.63
<i>Pseudomona stutzeri</i>	1	2.63
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2.63

De acuerdo a los resultados, análisis e información realizada en el presente trabajo sobre la calidad bacteriológica del agua embotellada comercial, es difícil de comparar con algún otro trabajo sobre los parámetros estudiados.

La información hemerográfica encontrada es sobre los siguientes temas:

- Desarrollo de metodologías para agilizar las determinaciones.^{1,4,5}
- Comparación de metodologías y técnicas.^{2,3,13}
- Implementación de equipo de muestreo y análisis.^{5,8,14}
- Diseño de diferentes medios de cultivo.^{6,8,13,14}
- Análisis microbiológicos realizados en diferentes poblaciones de E.U. sobre aguas municipales.^{7,8,9,11,12,15}
- Relación de determinaciones con otros parámetros fisicoquímicos.¹⁰

La bibliografía encontrada trata de las diferentes técnicas para el análisis en aguas recicladas y aguas negras, pero no sobre aguas embotelladas como el estudio que se realizó.

El único antecedente es el reportado en la Revista del Consumidor (Noviembre 1995, Núm. 225), en la cual el laboratorio de pruebas de la PROFECO analiza aguas embotelladas, estableciendo la calidad sanitaria de las

marcas analizadas al comparar sus resultados con la Norma NOM-F-041-1993 de la Secretaria de Salud.

La calidad sanitaria evaluada consistió en la medición de la cantidad de mesofílicos aerobios, coliformes totales y fecales, y verificación de gérmenes patógenos como Pseudomona.

En el trabajo realizada por la PROFECO concluyen que: la calidad de las aguas envasadas desde el punto de vista sanitario fue poco satisfactoria.

Las técnicas utilizadas en la evaluación del agua potable embotellada son técnicas estandarizadas en el país, así como, en Estados Unidos, establecidas por la AWWA y consisten en determinar UFC/ml, NMP/100ml de muestra tanto para coliformes totales como para coliformes fecales, cada una tiene diferentes variantes en su realización como son:

- UFC/ml por filtración en membrana y vaciado en placa.
- NMP en serie de 3, 5 y 10.

Los datos son confiables si cada una se sigue en forma correcta y se ha validado previamente.

En este trabajo se realizaron las técnicas de vaciado en placa para el conteo de UFC/ml de m.o. mesofílicos y NMP en series de 3 para determinar coliformes totales y fecales.

Para determinar la calidad sanitaria de las muestras evaluadas de agua, los resultados obtenidos son comparados a los valores establecidos en la Norma Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos y obligatoria en el territorio Nacional para las personas físicas como morales que requieren de efectuar estas evaluaciones en productos Nacionales o de importación, y la cual no tiene concordancia con Normas Internacionales y la vigilancia de su cumplimiento corresponde a la Secretaría de Salud.

Por lo anterior diferimos de lo reportado por la Revista del Consumidor, porque sus resultados no son muy específicos, así como no precisan en sus conclusiones a que se refiere poco satisfactorio desde el punto de vista sanitario, y no separan en grupos las marcas de aguas embotelladas que no deberían ser consumidas según su criterio, tampoco describen en cada caso cuando las aguas no son de buena calidad sanitaria el tipo de m.o. encontrado en cada caso.

7.0 ANALISIS ESTADISTICO.

En el presente estudio se analizaron 40 marcas de agua potable embotellada, las cuales corresponden:

- 30 a presentación de botella desechable.
- 10 a presentación de garrafón.

Estas muestras fueron sometidas a las siguientes determinaciones:

- UFC/ml de agua para m.o. mesofílicos.
- NMP/100ml de agua para coliformes totales.
- NMP/100ml de agua para coliformes fecales.
- Determinación de Pseudomonas.
- Cuantificación de cloro en ppm.

Estudiándose estos parámetros por duplicado.

Los resultados obtenidos se compararon con los datos establecidos en la Norma Oficial de la Secretaría de Salud NOM-F-041-1993 y publicada en el Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico mediante pruebas de hipótesis para comparar los resultados experimentales con los parámetros establecidos, en los cuales, estos resultados de marcas escogidos al azar, son tomados como una muestra aleatoria para inferir sobre el comportamiento de una población de aguas potables embotelladas comercialmente.

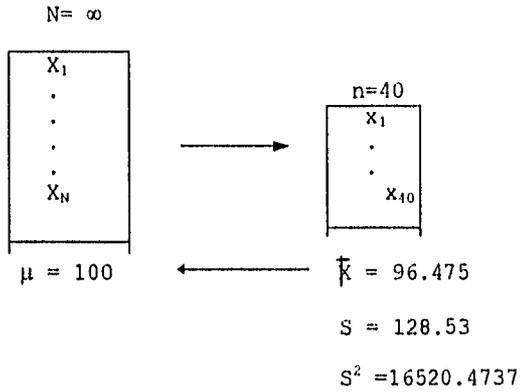
En este estudio se plantearon:

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_1: \mu > \mu_0$$

Con un nivel de significación $\alpha = 0.1\%$ (altamente significativo), en todos los casos.

7.1 MICROORGANISMOS MESOFÍLICOS A 25°C.



$H_0: \mu \leq 100$ UFC/ml de agua (si cumple con la Norma)

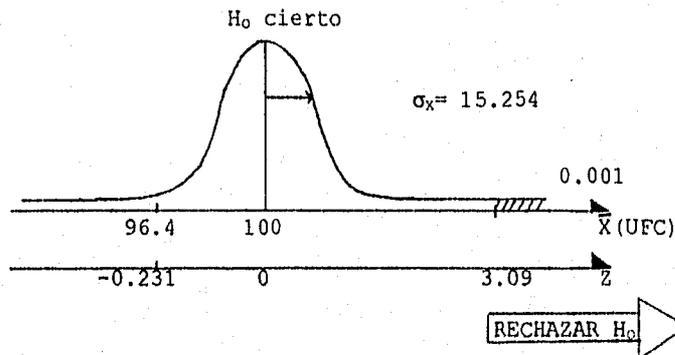
$H_1: \mu > 100$ UFC/ml de agua (no cumple con la Norma)

Regla de Decisión: Si $Z_c < Z_t$ entonces aceptar H_0 .

$$\sigma_x = 128.53 / (40)^{-1/2} = 15.254$$

$$Z_t = 3.09$$

$$Z_c = 96.475 - 100 / 15.254 = -0.231 \text{ (no significativo)}$$



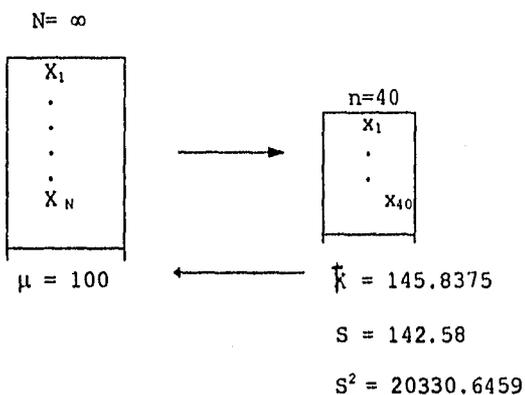
Justificación: Como $-0.231 (Z_c) < 3.09 (Z_t)$

Decisión: Aceptar H_0

Respuesta: Las muestras de aguas embotelladas contienen ≤ 100 UFC/ml de agua de microorganismos mesofílicos a 25°C .

La determinación de microorganismos mesofílicos a 25°C nos establece en el análisis estadístico un valor de $Z_c < Z_t$ y a través de una curva de distribución normal se encuentra en la región de aceptación; y por lo tanto, la población de aguas potables embotelladas cumplen con la Norma Oficial.

72 MICROORGANISMOS MESOFILICOS A 37° C



$H_0: \mu \leq 100$ UFC/ml de agua (si cumple con la Norma)

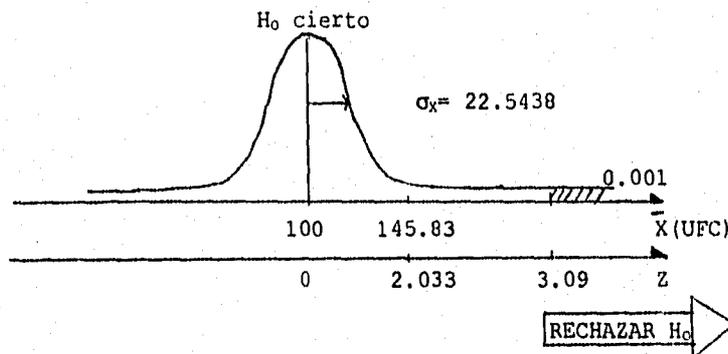
$H_1: \mu > 100$ UFC/ml de agua (no cumple con la Norma)

Regla de decisión: Si $Z_c < Z_t$ entonces aceptar H_0

$\sigma_x = 142.58 / (40)^{-1/2} = 22.5438$

$Z_t = 3.09$

$Z_c = 145.8375 - 100 / 22.5438 = 2.0332$ (no significativo)



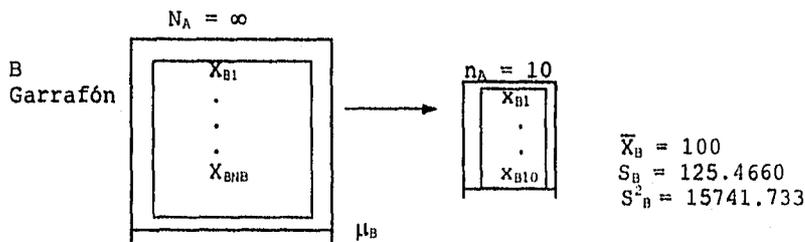
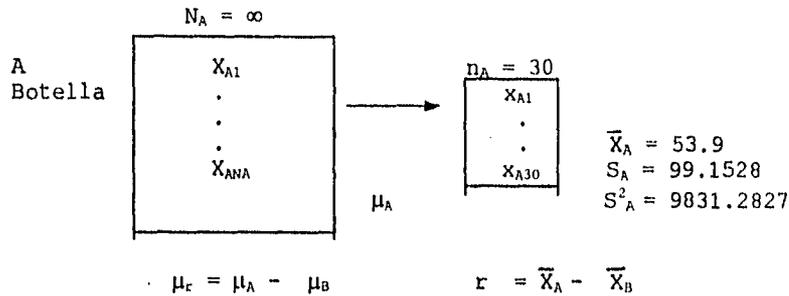
Justificación: Como $2.033 (Z_c) < 3.09 (Z_t)$

Decisión: Aceptar H_0

Respuesta: Las muestras de aguas embotelladas contienen ≤ 100 UFC/ml de agua de microorganismos mesofílicos a 37°C .

La determinación de microorganismos mesofílicos a 37°C nos establece en el análisis estadístico un valor de $Z_c < Z_t$ y a través de una curva de distribución normal se encuentra en la región de aceptación; y por lo tanto, la población de aguas potables embotelladas cumplen con la Norma Oficial.

7.3 COMPARACION ENTRE BOTELLA Y GARRAFON DE MICROORGANISMOS MESOFILICOS A 25°C



$H_0: \mu_r = 100$ UFC/ml de agua (si cumple con la Norma)

$H_1: \mu_r \neq 100$ UFC/ml de agua (no cumple con la Norma)

Regla de decisión: si $-t_c \leq t_c \leq t_c$ entonces aceptar H_0

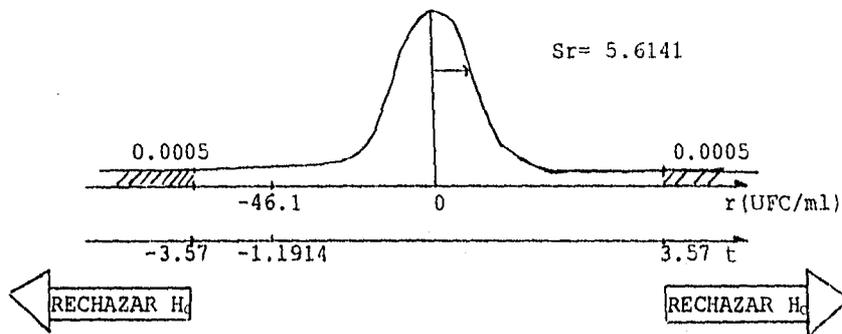
$\pm t_c = \pm 3.57$

$r = 53.9 - 100 = -46.1$

$$s_r = \sqrt{(0.1333) (285107.1983) + (141675.597)} = 38.6924$$

$$t_c = -46.1 / 38.6924 = -1.1914 \text{ (no significativo)}$$

H_0 cierto



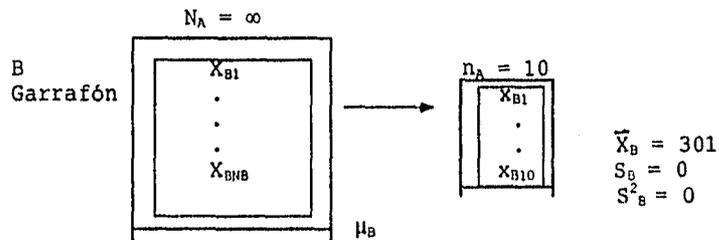
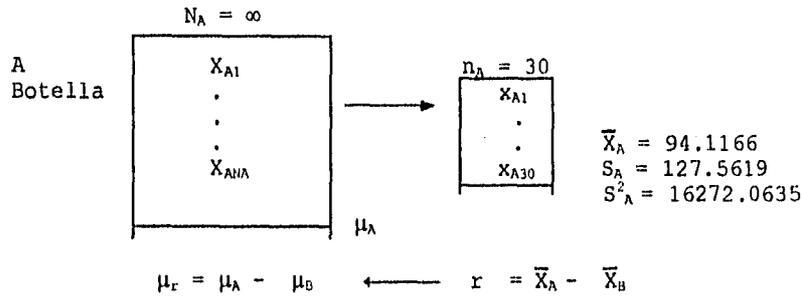
Justificación: Como $-1.1914 (t_c) > -3.57 (t_c)$

Decisión: Aceptar H_0 .

Respuesta: $\mu_r = 0$; y por lo tanto no se encuentra diferencia en el contenido de microorganismos mesofílicos a 25°C entre la presentación de botella y garrafón.

Es decir, las poblaciones de agua potable embotellada comercial no presentan diferencia entre las presentaciones de botella y garrafón.

7.4 COMPARACION ENTRE BOTELLA Y GARRAFON DE MICROORGANISMOS MESOFILICOS A 37° C



$H_0: \mu_r = 0$ (No hay diferencia entre botella y garrafón)

$H_1: \mu_r \neq 0$ (Sí hay diferencia entre botella y garrafón)

Regla de decisión: si $-t_c \leq t_c \leq t_c$ entonces aceptar H_0 .

$\pm t_c = \pm 3.57$

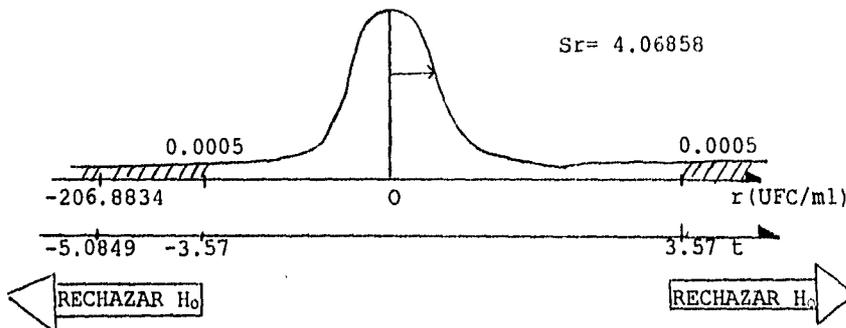
$r = 94.1166 - 301 = -206.8834$

$S_r = \sqrt{(0.1333) (471889.8415)}$
 $= 40.6858$

38

$t_c = -206.8834 / 40.6858 = -5.0849$ (altamente signific)

H_0 cierto



Justificación: Como $-5.0849 (t_c) < -3.57 (t_e)$

Decisión: Rechazar H_0

Respuesta: $\mu_r < 0$; y por lo tanto si se encuentra diferencia en el contenido de microorganismos mesofilicos a 37°C entre la presentación de botella y garrafón.

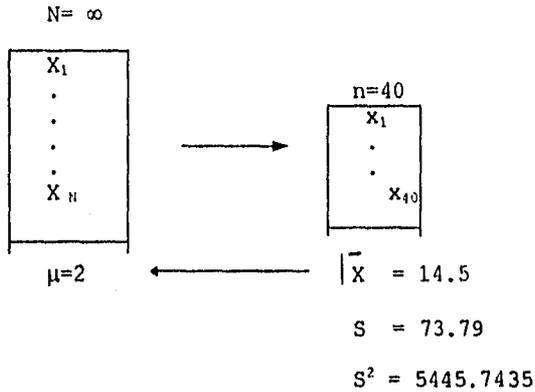
Estableciendo que el contenido de microorganismos mesofilicos a 37°C se encuentra mayor UFC/ml de agua en la presentación de garrafón que en las de botella, y este incremento se puede estimar con el siguiente intervalo del 99.8% de confianza.

$$\mu_r = -206.8834 \pm (3.57) (40.6858)$$

$$-352.1317 \leq \mu_r \leq -61.63 \quad (\text{UFC/ml de agua})$$

Es decir, en las poblaciones de agua potable embotellada comercialmente si hay diferencia entre las presentaciones de botella y garrafón.

7.5 COLIFORMES TOTALES.



$H_0: \mu \leq 2$ Coliformes totales/100ml (si cumple con la Norma)

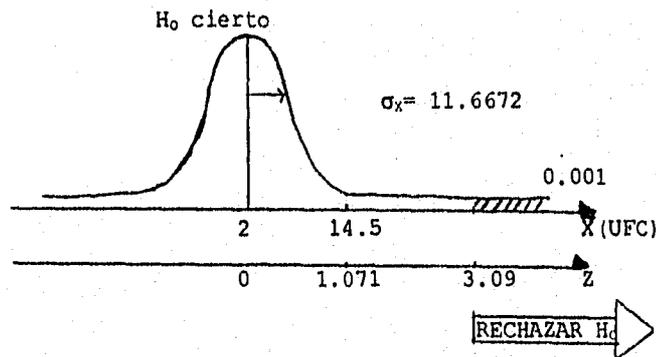
$H_1: \mu > 2$ Coliformes totales/100ml (no cumple con la Norma)

Regla de decisión: Si $Z_c < Z_t$ entonces aceptar H_0 .

$\sigma_x = 73.79 / (40)^{-1/2} = 11.6672$

$Z_t = 3.09$

$Z_c = 14.5 - 2 / 11.6672 = 1.071$ (no significativo)



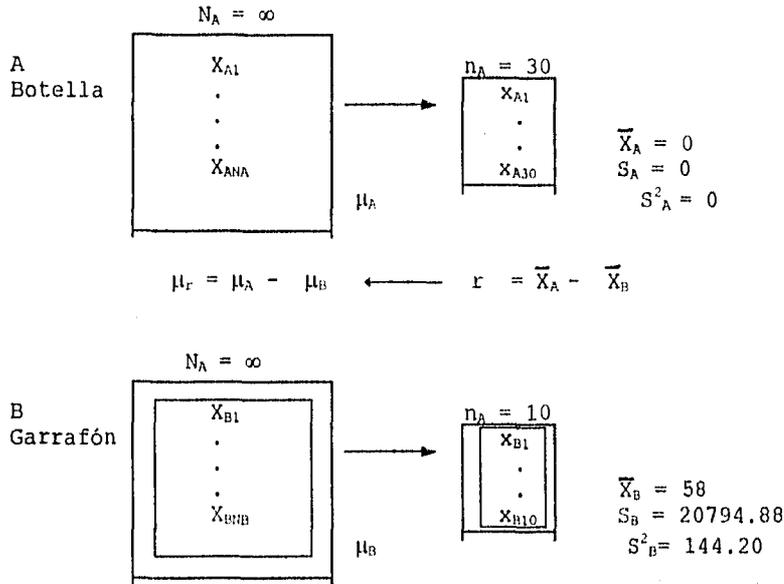
Justificación: Como $1.071 (Z_c) < 3.09 (Z_t)$

Decisión: Aceptar H_0

Respuesta: La población de aguas embotelladas contienen ≤ 2 coliformes totales / 100 ml de agua.

La determinación de microorganismos coliformes totales y el análisis estadístico nos establece un valor de $Z_c < Z_t$ y a través de una curva de distribución normal se encuentra en la región de aceptación; y por lo tanto, la población de aguas potables embotelladas cumplen con la Norma Oficial.

7.6 COMPARACION ENTRE BOTELLA Y GARRAFÓN PARA MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES.



$H_0: \mu_r = 0$ (No hay diferencia entre botella y garrafón)

$H_1: \mu_r \neq 0$ (Si hay diferencia entre botella y garrafón)

Regla de decisión: si $-t_t \leq t_c \leq t_t$ entonces aceptar H_0 .

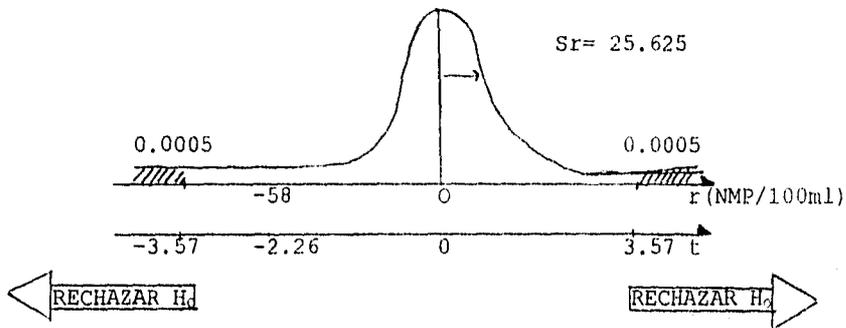
$\pm t_t = \pm 3.57$

$r = 94.1166 - 301 = -206.8834$

$$S_r = \sqrt{\frac{(30+10)}{(30 \times 10)} \left[\frac{(30-1) \cdot 0 + (10-1) \cdot 20794.88}{38} \right]} = 25.625$$

$$t_c = -58 / 25.625 = -2.26 \text{ (no significativo)}$$

H_0 cierto



Justificación: Como $-2.26 (t_c) > -3.57 (t_r)$

Decisión: Aceptar H_0 .

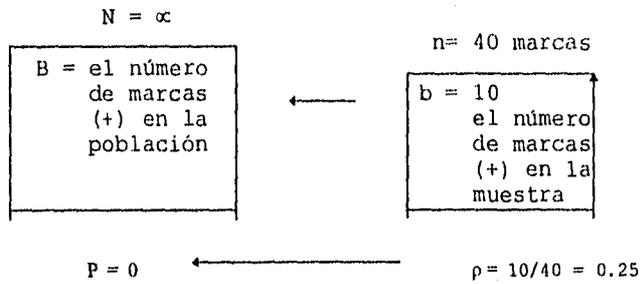
Respuesta: $\mu_r = 0$; y por lo tanto no se encuentra diferencia en las poblaciones sobre el contenido de microorganismos coliformes totales entre la presentación de botella y garrafón.

7.7 PSEUDONORMAL.

Unidad experimental = una marca

Exito (favorable) = +

Fracaso
(No favorable) = -



$H_0: P = 0$ (-)

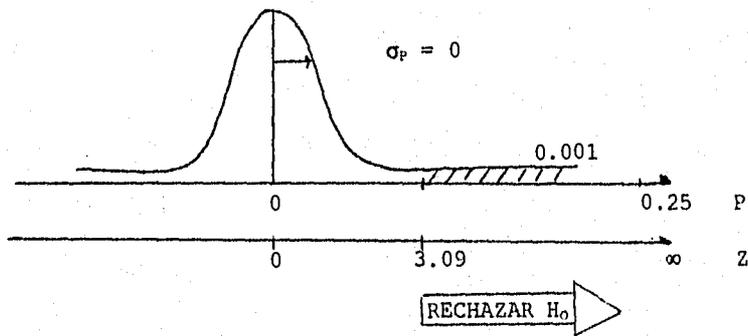
$H_1: P > 0$ (+)

Regla de decisión: Si la $Z_c < a Z_t$ entonces aceptar H_0

$Z_c = 0.25 - 0 / 0 = \infty$

$Z_t = 3.0$

H_0 cierto



Justificación: como $\infty > 3.09$

Desición: rechazar H_0

Respuesta: $P > 0$; No cumple con la norma oficial.

Por lo tanto se determina la presencia de Pseudomonas en las muestras de agua potable embotellada, de las cuales solo se encuentran en la presentación de garrafón y por eso no se hace la diferencia entre ambas presentaciones.

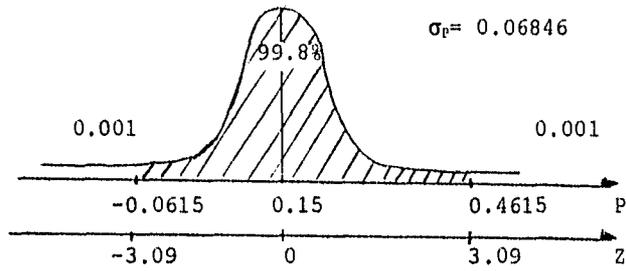
Para conocer el porcentaje de muestras escogidas al azar dentro de una población que presente Pseudomonas se establece lo siguiente:

$$\sigma_p = \sqrt{\frac{(0.25)(0.75)}{40}} = 0.06846$$

$$P = 0.25 \pm (3.09) (0.06846)$$

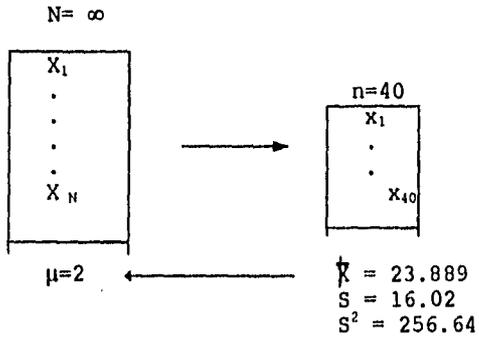
$$0 \leq P \leq 46.15 \%$$

H_0 falso



Por lo tanto, podemos asegurar que en la población de aguas embotelladas comercialmente con una confianza del 99.8% la presencia de Pseudomonas, se encontrará entre un 46.15 %.

7.8 CLORO



$H_0: \mu \leq 2$ ppm de cloro. (si cumple con la Norma)

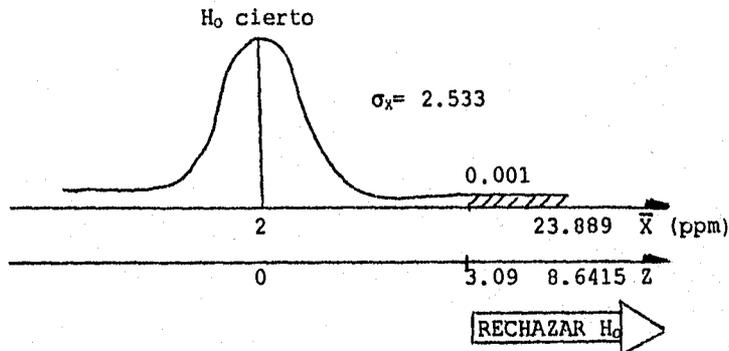
$H_1: \mu > 2$ ppm de cloro. (no cumple con la Norma)

Regla de decisión: Si $Z_c < Z_t$ entonces aceptar H_0 .

$$\sigma_x = 16.02 / (40)^{-1/2} = 2.533$$

$$Z_t = 3.09$$

$$Z_c = 23.889 - 2 / 2.533 = 8.6415 \text{ (altamente significativo)}$$



Justificación: Como $8.6415 (Z_c) > 3.09 (Z_t)$

Decisión: Rechazar H_0

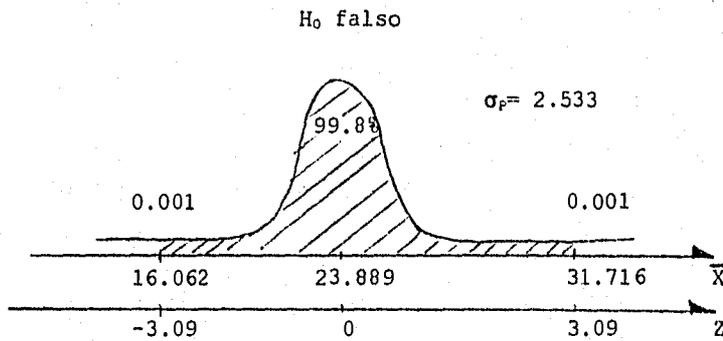
Respuesta: La poblacions de aguas embotelladas contienen > 2 ppm de cloro/ 100 ml de agua.

La cuantificación de las partes por millon (ppm) de cloro / 100 ml de agua y el análisis estadístico nos establece un valor de $Z_c > Z_t$ y a través de una curva de distribución normal se encuentra en la región de rechazo; y por lo tanto, la población de aguas potables embotelladas no cumplen con la Norma Oficial.

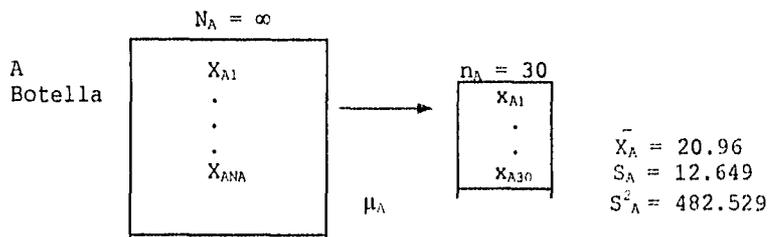
Para establecer el intervalo de confianza de las ppm de cloro/100 ml de agua en la población establecemos lo siguiente:

$$\mu = 23.889 \pm (3.09) (2.533)$$

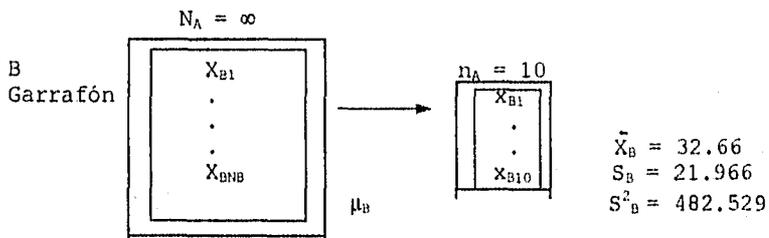
$$16.02 \leq \mu \leq 31.716 \text{ ppm de cloro / 100 ml de agua.}$$



7.9 COMPARACION ENTRE BOTELLA Y GARRAFÓN EN LA DETERMINACION DE CLORO.



$\mu_r = \mu_A - \mu_B$ ← $r = \bar{X}_A - \bar{X}_B$



$H_0: \mu_r = 0$ (No hay diferencia entre botella y garrafón)

$H_1: \mu_r \neq 0$ (Si hay diferencia entre botella y garrafón)

Regla de decisión: si $-t_c \leq t_c \leq t_c$ entonces aceptar H_0

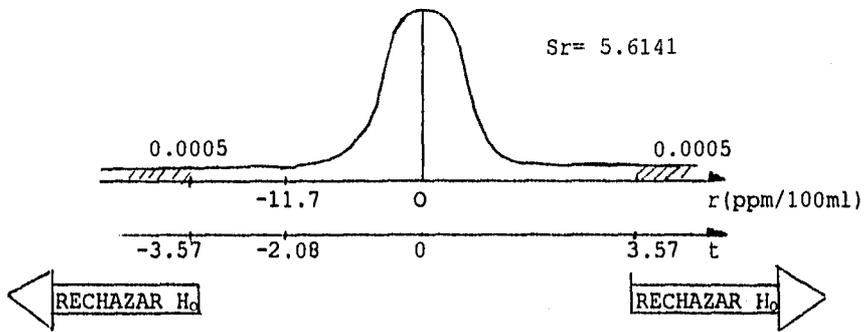
$\pm t_c = \pm 3.57$

$r = 20.96 - 32.66 = -11.7$

$$Sr = \sqrt{\frac{(30+10)}{(30 \times 10)} \left[\frac{(30-1)160 + (10-1) 482.529}{38} \right]} = 5.6141$$

$$t_c = -11.7 - 0 / 5.6141 = -2.08 \text{ (no significativo)}$$

H_0 cierto



Justificación: Como $-2.08 (t_c) > -3.57 (t_{\alpha})$

Decisión: Aceptar H_0

Respuesta: $\mu_r = 0$; y por lo tanto no se encuentra diferencia en el contenido de las ppm de cloro/ 100 ml de agua entre la presentación de botella y garrafón.

8.0 CONCLUSIONES.

- En cuanto al número de m.o. mesofílicos el 57% de las 40 muestras estudiadas no cumplen con la Norma.
- El 10% no cumple con la Norma en los especificado para coliformes totales.
- No se encontraron coliformes fecales en la muestras, por lo tanto, cumplen con este inciso.
- De las muestras estudiadas 10 de las 40 no cumplen con la Norma de ausencia de Pseudomona, representando esto el 25%.
- El 100% de las muestras evaluadas para la determinación de cloro muestran un valor en ppm por arriba de lo especificado.
- Desde el punto de vista bacteriológico y en comparación con los parámetros referidos a este punto en la Norma Oficial, solo el 43% de las muestras trabajadas cumplen con la Norma establecida.

- Después de las evaluaciones de las 40 muestras y siendo muy estrictos al comparar los resultados obtenidos con los valores mostrados en la Norma Oficial de la Secretaría de Salud, se concluye que ninguna de las muestras analizadas cumplen con estas especificaciones, ya que el 100% se encuentran por arriba del valor permitido para las ppm de cloro contenidas.
- Se concluye que es necesaria la identificación de m.o. Mesofílicos aun cuando no se rebase el valor establecido de la Norma Oficial.
- El análisis estadístico planteado sobre el valor de las determinaciones de las muestras escogidas al azar (40 marcas) de aguas potables embotelladas, nos permitió inferir sobre el comportamiento de una población de aguas potables embotelladas comerciales. Así como establecer que nuestra muestra es representativa y determinar que la población de aguas potables embotelladas comerciales no cumple con la Norma Oficial de la Secretaría de Salud.

9.0. BIBLIOGRAFIA.

- 1.L.Snoeyink Vernan, Jenkis David; Química del agua; Ed. Limusa; México, D.F.; 1990
- 2.Dicksin, T.R.; Química y enfoque ecológico; Ed. Limusa; México D.F.,1980
- 3.Alcantara Barbosa Ma. Consuelo; Química de Hoy; Ed.Mac Graw Hill;México D.F; 1992
- 4.Recursos Mundiales 1990-1991;Una guía del ambiente mundial; Editada por el Instituto de Geografía e Historia; México D.F; 1991.
- 5.Guerra Luis Manuel; Agua y energía en la Ciudad de México,Perspectivas para el año 2000; Fundación Friedrich Ebert;México D.F.; 1991
- 6.Alvarez Rosas José; Criterios para el uso y manejo de las aguas residuales en la agricultura; Memorias Querétaro; México D.F.; 1988
- 7.McBee-Temple Walter; Introducción a la Microbiología; Tercera Edición; Ed.CECSA; México D.F.; 1984
- 8.Manual de control de calidad; Grupo SESER; Electropura;México D.F.; 1990
- 9.Mc Junkin F. Eugene, Agua y salud humana; Ed.Limusa; México D.F.; 1988
- 10.Fuerts Frobisher; Microbiología, Ed.Interamericana; México D.F.; 1990

- 11.Hopwood David A.,et al; Enciclopedia of Microbiology;
Segunda edición; Ed.Academic Press;Vol.I y IV; USA; 1992
- 12.Fair, Geyer, Okun; Ingeniería Sanitaria y de aguas
residuales; tercera edición; Ed.Limusa; México D.F.; 1980
- 13.Medios de cultivo y validación; Comite Nacional de
Validación de SSA.; Agosto 1990.
- 14.El Moderno sistema para identificación y susceptibilidad,
SensIdent; MERCK; E.Merck; Darmstadt,Germany; 1995.
- 15.Brow Alfred E.; Experimental Microbiology Fundamentals and
aplications; 2° edition; Macmillan Publishing Comp.; N.Y.
USA; 1988.
- 16.Totura/Funke; Microbiology and Introducction; The Benjamin
Cumming Publishing; USA; 1988
- 17.Manual de laboratorio del departamento de Microbiologia,
Laboratorio de Microbiología Sanitaria; I.P.N., ENCB;
México D.F.; 1985
- 18.Greenberg A.; Standar Methods for the examination of water
and waste water; 16th; American Public Health As. DC.1990.
- 19.Katamay M. M.; Assesing Defined- substrate Technology for
meeting monitoring requeriments of the total coliforms
rule.; Reserch and Technology, ; Journal AWWA,; pág. 83-
87.; September 1990.
- 20.Reasoner Donald J.; Drinking water Microbiology research
in the united satates an overview of de past decade;
Wat.Sci.Tech. Vol 20, No. 11/12, pág. 101-107, 1988.

21. Domek Matthew J.; et al; Evidence for the role of Copper in the injury proces of coliform bacteria in drinking water; Appl.and Env. Microbiology, Aug. 1984, pág. 289-293.
22. Stukel A. Therese, et al; A longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community drinking water supplies; Env. Sci. Technol. 1990; 24; pág. 571-575
23. Rose Joan B. ; Emerging Issues for the Microbiology of drinking water; WATER/ Engineering & Management, July 1990; pág. 23-29.
24. Reasoner Donald J; Detection of fecal colimorms in water by using 14C Mannitol; Appl. Env. Microbiology; Apr 1989 pág. 907-911.
25. Chen Min; Simple medium that preserves low concentrations of E. coli for use in the water Bacteriology proficiency test; Appl.Env. Microbiology; Jan. 1990 pág. 146-149
26. Le Chevallier Mark; Coliform Regrowth in drinking water: A review; Research and technology; Journal AWWA; November 1990; pág. 74-86.
27. Wayne W. Daniel; Bioestadística; Bases para el análisis de las Ciencias de la Salud; Editorial Limusa, S.A.; 1982.
28. William C. Scheffler; Bioestadística; Fondo Educativo Interamericano, S.A.; 1981.
29. Métodos Normalizados para análisis de agua potable y residual; American Water Works Ass.

30. Control de Calidad y Tratamiento de agua; American Water Works Ass.
31. Melnick, Joseph; Microbiología Médica; Editorial Manual Moderno S.A. de C.V.; México, D.F.; 1985.
32. Diario Oficial de la Federación; Tomo DV, No. 14; México, D.F.; 19 de Octubre de 1995.
33. Revista del Consumidor; No. 225; México, D.F.; Noviembre de 1995.

VI. ANEXO 1

RELACION DE MARCAS ANALIZADAS.

Núm. de muestra	Clave	Marca comercial.
1	EA	Electro Pura.
2	Aqa	Aqualex.
3	Sa	Santa Maria.
4	Bot	Bonafont.
5	EN	Evian.
6	Lz	La Paz.
7	AA	Agua Inverpura.
8	Sia	Sierra Fria.
9	Bt	Baby Font.
10	Ma	Montañeza.
11	RN	Richardson.
12	Cl	Comercial.
13	Bit	Bidart.
14	GA	AGA
15	Te	Tlacote.
16	Tr	The Sailor
17	Mt	Mundet.
*18	Bot	Bonafont.
19	Hk	Harmony-Brock.
*20	Pz	Pureza.
*21	EA	Electro Pura.
22	Cs	Cactus.
23	Ala	Alpina
*24	Kl	Kristal.
25	Ps	Proplus.
26	Na	Niagara.
27	Ha	Hidropura.
28	Sy	Sydney.
29	Pm	Premium
30	Ht	Hidrovit.
31	Prr	Premier.
32	Apa	Alpura.
33	Pra	Puriagua.
34	Gl	Gabal.
*35	Cla	Cristalina.
*36	WQ	Water Quality.
*37	Msa	Más Pura.
*38	Aga	AGA
*39	Gr	Glaciar.
*40	Hn	Huracan.

VII. ANEXO 2

MEDIOS DE CULTIVO.

Agar cetrimida: 45.5g/lt

(MERCK)	Peptona de gelatina	20.0g
	Cloruro de magnesio	1.4g
	Sulfato de potasio	10.0g
	N-cetil-N,N,N-trimetil amonio bromuro	0.5g
	Agar-agar	13.6g

pH del medio listo al usarse a 37°C 7.0-7.4

Añadir 10 ml de glicerina por lt.

Agar cuenta estándar: 22.5g/lt

(MERCK)	Peptona de caseína	5.0g
	Extracto de levadura	2.5g
	D(+) Glucosa	1.0g
	Agar-agar	14.0g

pH del medio listo para usarse a 30°C 7.0 +/- 0.1

Agar dextrosa papa: 39g/lt

(MERCK)	Infusión de papa	4.0g
	D(+) Glucosa	20.0g
	Agar-agar	15.0g

pH del medio listo para usarse a 25°C 5.6 +/- 0.1

Agar Lethen: 32g/lt

(DIFCO)	Peptona de caseína	6.0g
	Dextrosa	1.0g
	Extracto de carne	3.0g
	Lecitina de soya	1.0g
	Tween 80 polisorbato	6.0g
	Agar bacteriológico "A"	15.0g

pH final del medio 7.0 +/- 0.2

Agar Mc Conkey: 50g/lt

(MERCK)	Peptona de caseína	17.0g
	Peptona de carne	3.0g
	Lactosa	10.0g
	Cloruro de sodio	5.0g
	Mezcla de sales biliares	1.5g
	Rojo neutro	0.03g
	Cristal violeta	0.001g
	Agar-agar	13.5g

pH del medio listo para usarse a 37°C 7.1 +/- 0.1

Caldo lactosado: 13g/lt

(MERCK)	Peptona de gelatina	5.0g
	Extracto de carne	3.0g
	Lactosa	5.0g

pH del medio listo para usarse a 25°C 6.9 +/- 0.1

Caldo Pseudomona:

Glicerol	4.0g
Irgazan	0.005g
Peptona de gelatina	4.0g
Sulfato de potasio	2.0g
Agua destilada csp	100.0ml

Caldo bilis verde brillante al 2%: 40g/lt

(BIOXON) Bilis de buey deshidratada	20.0g
Lactosa	10.0g
Peptona de gelatina	10.0g
Verde brillante	13.3mg

pH final 7.2 +/- 0.2

VIII. ANEXO 3

PLACAS EM-DENTE

PLACA DE MICROTITULACION PARA REALIZAR, MANUAL O AUTOMÁTICAMENTE, IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS Y OTRAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS, OXIDASA NEGATIVAS. (MERCK)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	TDA	ESC	IND	LDC	ADH	CIT	VP	RHA	ADO	XYL	ONPG	PGUR
B	H ₂ S	H ₂ S ESC ctr	URE	ODC	DEC ctr GLU	MAL	S- ctr	SUC	INO	SORB	ONPX	CS- ctr
C	TDA	ESC	IND	LDC	ADH	CIT	VP	RHA	ADO	XYL	ONPG	PGUR
D	H ₂ S	H ₂ S ESC ctr	URE	ODC	DEC ctr GLU	MAL	S- ctr	SUC	INO	SORB	ONPX	CS- ctr
E	TDA	ESC	IND	LDC	ADH	CIT	VP	RHA	ADO	XYL	ONPG	PGUR
F	H ₂ S	H ₂ S ESC ctr	URE	ODC	DEC ctr GLU	MAL	S- ctr	SUC	INO	SORB	ONPX	CS- ctr
G	TDA	ESC	IND	LDC	ADH	CIT	VP	RHA	ADO	XYL	ONPG	PGUR
	H ₂ S	H ₂ S ESC ctr	URE	ODC	DEC ctr GLU	MAL	S- ctr	SUC	INO	SORB	ONPX	CS- ctr

Abreviaturas:

TDA	Triptofano desaminasa.
ESC	Esculina.
IND	Indol.
LDC	Lisina descarboxilasa.
ADH	Arginina deshidrolasa.
CIT	Citratos.

VP	Voges-Proskauer.
RHA	Rhamnosa.
ADO	Adonitol.
XYL	Xilosa.
ONPG	o-Nitrofenil- β -galactopiranosidasa.
PGUR	p-Nitrofenil- β -glucuronidasa.
URE	Urea.
ODC	Ornitin descarboxilasa.
GLU-ctr	Control de glucosa.
MAL	Maltosa
SUC	Sucrosa.
INO	Inositol.
SOR	Sorbitol.
ONPX	o-Nitrofenil-Xilopiranosidasa.

Inoculación:

- Sacar la placa de microtitulación del paquete (máximo 2 horas antes de la inoculación) y marcarla por un lado.
- Inocular dos filas para cada identificación bacteriana, pipeteando 100 μ l de la respectiva suspensión en cada uno de los 24 pozos (ej. filas A + B o C + D, etc.)

Dispensar 2 gotas de aceite mineral estéril en cada uno de los siguientes pozos: Prueba 1: B1 y B2

Prueba 2: D1 y D2

Prueba 3: F1 y F2

Prueba 4: H1 y H2

Sellado e incubación:

- Después de inocular los pozos, sellar con las tiras perforadas suministradas e incubar durante 18-24 horas a 37 °C. Evitar un periodo más prolongado.
- Lectura e interpretación:
- Retirar la tira adhesiva antes de leer.
- Agregar 50 µl del reactivo de TDA y del reactivo spot-Indol en los siguientes pozos:

TDA: A1, C1, E1, G1.

spot-indol: A3, C3, E3, G3.

- Esperar al mínimo dos minutos (máximo 30) para permitir el desarrollo completo de color, antes de iniciar la lectura.
- Leer la placa con el sensIdent Scan.

IX. ANEXO 4

PLACA IDENTINT

PLACA DE MICROTIULACIÓN PARA REALIZAR, MANUAL O AUTOMATICAMENTE,
IDENTIFICACION DE BACTERIAS GRAMI NEGATIVAS NO FERMENTADORAS Y
ALGUNAS BACTERIAS OXIDASA POSITIVAS, FERMENTADORAS DE GLUCOSA.
(MERCK)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	IND D	SU CF	HBA	ONPG	IND	SUC F	HBA	ONPG	IND	SUC F	HBA	ONP G
B	ES C	S - Ctr r	LAC	LIPC	ESC Ctr	S - Ctr	LAC	LIPC	ESC Ctr	GLU	LAC	LIP C
C	ES C Ctr r	GL U A	AD IP	DIP	ESC Ctr	GLU A	AD IP	DIP	ESC Ctr	GLU A	AD IP	DIP
D	UR E	MA N	SU BE	PRO	URE	MAN	SU BE	PRO	URE	MAN	SU BE	PRO
E	OD C	MA LT	MA LA	MLO	ODC	MA LT	MA LA	MLO	ODC	MA LT	MA LA	MLO
F	AD H	NA G	PAA	CH IT	ADH	NAG	PAA	CH IT	ADH	NAG	PAA	CH IT
G	DE C Ctr r	MA NT	HI ST	APH	DEC Ctr	MA NT	HI ST	APH	DEC Ctr	MA NT	HI ST	APH
H	GL U F	GL U T	ASS Ctr	CS Ctr	GLU F	GLU T	ASS Ctr	CS Ctr	GLU F	GLU T	ASS Ctr	CS Ctr

Abreviaturas:

IND	Indol.
ESC	Esculina.
ESC Ctr	Esculina Control.
URE	Urea.
ODC	Ornitina Descarboxilasa.
ADH	Arginina Deshidrolasa.
DEC Ctr	Descarboxilasa control.
GLUF	Fermentación de glucosa.
SUCF	Fermentación de sacarosa.
S Ctr	Control de azucar.
GLUA	Asimilación de glucosa.
MANN	Asimilación de manosa.
MALT	Asimilación de maltosa.
NAG	N-acetil-glucosamina.
MANT	Asimilación de manitol.
GLUT	Asimilación de gluconato.
HBA	Asimilación ácido hidroxi-butirica.
LACT	Asimilación de lactato.
ADIP	Asimilación de adipafato.
SUBE	Asimilación de suberato.
MALA	Asimilación de malato.
PAA	Asimilación acido fenilacética.
HIST	Asimilación de histidina.
ASS Ctr	Control de asimilación.

ONPG	o-Nitrofenil- β -galactosidasa.
LIPC	Fosfolipasa.
DIP	2,5-fosfodiesterasa.
PRO	Prolina-amidasa.
MLO	Maltosidasa.
CHIT	Citinasa.
ADPH	fosfatasa ácida.
CS Ctr	Control sustrato-cromogénico.

Inoculación:

- Sacar la placa de microtitulación del paquete (máximo 2 horas antes de la inoculación) y marcarla por un lado.
- Inocular 4 columnas por cada identificación bacteriana, pipeteando 100 μ l de la respectiva suspensión en cada uno de los 32 pozos (ej. columnas 1-4, 5-8, 9-12)
- Dispensar 2 gotas de aceite mineral estéril en cada uno de los siguientes pozos:

Prueba 1: B1 a H1 y A2 + B2

Prueba 2: B5 a H5 y A6 + B6

Prueba 3: B9 a H9 y A10 + B10

Sellado e incubación de la placa:

- Después de inocular los pozos, sellar la placa con las tiras perforadas suministradas e incubar durante 22-24 horas a 30 °C. Evitar un periodo de incubación más prolongado.

Lectura e interpretación:

- Retirar la tira adhesiva de a placa.
- Agregar 50 μ l del reactivo spot-Indol en los pozos A1,A5,A9
- Esperar al menos 5 minutos para permitir el desarrollo del color, antes de iniciar la lectura.
- Leer la placa con el SensIdent Scan.

X. ANEXO 5

NUMERO MAS PROBABLE DE ORGANISMOS

Tubos inoculados: 3 con 10 ml de la muestra
 3 con 1 ml de la muestra
 3 con 0.1 ml de la muestra

No. tubos positivos	NMP/100ml		limites de confianza (95%)	
	10ml	1ml	Minimo	Maximo
0	0	1	3	9
0	1	0	3	13
1	0	0	4	20
1	0	1	7	21
1	1	0	7	23
1	1	1	11	36
1	2	0	11	36
2	0	0	9	36
2	0	1	14	37
2	1	0	15	44
2	1	1	20	89
2	2	0	21	47
2	2	1	28	100
3	0	0	23	120
3	0	1	39	130
3	0	2	64	380
3	1	0	43	210
3	1	3	75	230
3	1	2	120	380
3	2	0	93	380
3	2	1	150	440
3	2	2	210	470
3	3	0	240	1300
3	3	1	460	2400
3	3	2	1100	4800