

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Participante: Joaquin Alejandro Soto Juha

Matricula: 2153061219

Licenciatura: Químico Farmacéutico Biológico

Asesor: I. Q. Antonio Contreras Escalante

Lugar de realización: Centro de producción de agua Xochimilco

Título

Control Microbiológico del Medio Ambiente de las Áreas de Lavado de Garrafones y del Sistema de Producción de Aguam Purificada del CEPAX

Introducción

El agua purificada es un recurso esencial que consume el ser humano ya que ayuda al óptimo desarrollo de las actividades diarias. En México el agua purificada embotellada por las grandes empresas representa casi un 80% del mercado nacional con una constante tendencia al alza, debido principalmente a la desconfianza de los consumidores de este producto, esto ocurre por un fenómeno que es denominado “estrés hídrico” el cual describe que cada vez hay menor disponibilidad de agua y de una calidad dudosa, por lo cual es una condición sine qua non el garantizar que esta sea de calidad, incluso ya está considerado esto como un derecho humano universal.

Dado que existen diversas fuentes de suministro del agua (ríos, pozos, manantiales entre otros), que son administradas por los gobiernos, en las cuales están presentes riesgos de incluir diversos contaminantes, en este trabajo, se buscará garantizar la inocuidad del producto mediante la identificación, prevención y eliminación de los riesgos de contaminación, particularmente del tipo microbiológico proveniente del medio ambiente de las áreas de producción y de los operarios.

En este contexto, y siguiendo lo establecido en las normas NOM-251-SSA1-2009 y NOM-201-SSA1-2015, se evaluarán las instalaciones de operación del Centro de Producción de Agua Xochimilco (CEPAX) de la UAM para verificar que se cumplan consistentemente con los lineamientos sanitarios oficiales relacionados a actividades de producción de agua purificada para consumo humano dentro de la unidad.

Objetivo

Monitorear la calidad de las condiciones sanitarias de las instalaciones del CEPAX mediante un programa de exposición de placas de agar para verificar que se cumplan puntualmente las condiciones establecidas en la NOM-251-SSA1-2009 y la NOM-201-SSA1-2015.

Objetivos Específicos

- Desarrollar un procedimiento de control microbiológico ambiental para las áreas de lavado y llenado de garrafones de Aguam purificada con base en el diagrama de control de riesgos aplicado en la industria.
- Determinar los puntos de riesgos durante las etapas de intervención del personal operativo con la inyección de aire de flujo laminar en las áreas de producción.
- Determinar los puntos de riesgos sanitarios durante el funcionamiento de los equipos de filtración con la inyección de aire de flujo laminar.
- Integrar y relacionar los resultados del control microbiológico obtenidos con las buenas prácticas de manufactura seguidas en el CEPAX.

Metodología

Preparación de medios de cultivo

1.- Agar nutritivo (AN): Para su preparación se realizó una suspensión al 2% del medio deshidratado Agar Nutritivo MERCK® en agua desionizada y se agitó vigorosamente para así dejarlo reposar durante 15min. Una vez finalizado el reposo se calentó en vapor hasta disolución completa. La solución se esterilizó en autoclave durante 15 min a 121°C.

Se vertió aproximadamente 20mL de la solución a cada caja Petri preparada, se dejó enfriar y posteriormente se llevó a una incubadora a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48h para asegurar su inocuidad e idoneidad para el estudio. (Para cuantificación de bacterias mesófilas totales).

2.- Agar bilis y rojo violeta (ABRV): Para su preparación se realizó una suspensión al 4.15% del medio deshidratado Agar Bilis y Rojo Violeta Bixon® agitando vigorosamente en agua desionizada. Se aplicó calor hasta que la disolución con agitación frecuente. Se llevó a esterilizar en autoclave durante 15 min a 121°C.

Se vertió aproximadamente 20mL de la solución a cada caja Petri preparada, se dejó enfriar y posteriormente se llevó a una incubadora a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48h para asegurar su inocuidad e idoneidad para el estudio. (Para cuantificación de bacterias coliformes).

3.- Agar dextrosa papa (ADP): Para su preparación se preparó una disolución al 3.9% del medio deshidratado Agar Dextrosa Papa Bixon® agitando vigorosamente en agua desionizada, y se dejó remojar 15 min. Se calentó hasta hervir con agitación constante y posteriormente se llevó a esterilizar en autoclave durante 15 min a 121°C.

Antes de su vaciado en cajas Petri se le agregó 1.4% (v/v) de una disolución estéril de ácido tartárico al 10% para ajustar el pH a 3.5.

Se vertió aproximadamente 20mL de la solución a cada caja Petri preparada, se dejó enfriar y posteriormente se llevó a una incubadora a $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48h para asegurar su inocuidad e idoneidad para el estudio. (Para cuantificación de hongos y levaduras).

Para el estudio se utilizaron cajas Petri de vidrio de 90x15mm.

4.- Monitoreo de la carga microbiológica del medioambiente de las instalaciones del CEPAX

El monitoreo de las instalaciones se llevo a cabo utilizando el método de sedimentación de Omeliansky para calcular las unidades formadoras de colonia por metro cubico (UFC/m³).

Para el conteo de UFC/m³ se utilizó la fórmula de Omeliansky:

$$N = \frac{a * 5x10^4}{bt}$$

Dónde N es UFC/m³, a= #de colonias por caja Petri, b= superficie de la caja Petri (cm²) y t= tiempo de exposición (min).

Los puntos de monitoreo se establecieron de acuerdo con el diagrama de riesgo que se tiene en las instalaciones (Imagen S1).

Los puntos seleccionados de las instalaciones fueron:

- 1 Equipo de lavado de garrafondes
- 2 Esclusa de transferencia de garrafondes
- 3 Mesa de llenado de garrafondes de Aguam
- 4 Equipo de filtración y tanque a granel
- 5 Esclusa de acceso de personal
- 6 Salida de producto terminado
- 7 Lavabos

El total de los puntos de muestreo se indican en el diagrama de las instalaciones del CEPAX en la Figura S2.

Las placas fueron expuestas durante 45 minutos en las diferentes áreas que comprenden las instalaciones de lavado y llenado de garrafondes de Aguam purificada.

Las condiciones medioambientales en los que se condujo el estudio se modificaron con el fin de establecer el entorno idóneo para la producción de Aguam purificada, así como la evaluación de las instalaciones y el impacto del personal operativo. Dichas condiciones fueron 1) Instalaciones sin inyección de aire de flujo laminar y sin personal trabajando; 2) Instalaciones con inyección de aire de flujo laminar y sin personal trabajando; y 3) Instalaciones con inyección de aire de flujo laminar

con personal operando, abarcando así un amplio rango de estrés medioambiental de las instalaciones.

Actividades realizadas

Se programaron las actividades para cubrir un total de 480 horas de acuerdo con lo establecido por el art. 12 del reglamento de servicio social a nivel licenciatura.

Inicio: 2 de mayo 2019.

Final: 2 de diciembre 2019.

Teniendo una suma total de 480 h distribuidas en los meses de trabajo presentados en el cronograma de actividades.

2019

Actividad	Mayo	Junio	Julio	Septiembre	Octubre	Noviembre
Inducción y análisis de la normatividad.	X					
Determinación de puntos de riesgos en las áreas operativas.		X				
Preparación de medios y placas.		X				
Elaboración del plano de las instalaciones del CEPAX.			X			
Planeación de puntos de análisis de acuerdo con el diagrama de puntos de riesgos.			X			
Exposición y condiciones para desarrollo de las placas.				X	X	
Registro y análisis de resultados.						X
Elaboración de reporte.						X

Objetivos y metas alcanzadas

Se logró Monitorear la calidad de las condiciones sanitarias de las instalaciones del CEPAX mediante el diseño de un programa de exposición de placas Petri con distintos tipos de agar para verificar que se cumplan puntualmente las condiciones establecidas en la NOM-251-SSA12009 y la NOM-201-SSA1-2015.

El procedimiento desarrollado para el monitoreo de la carga microbiológica del medioambiente mostró ser eficiente para bacterias mesófilas, coliformes; al igual que para hongos y levaduras. Con los resultados obtenidos de los análisis se logró demostrar los puntos de mayor riesgo de contaminación presentes en las instalaciones del CEPAX.

Resultados y discusión

Al concluir los análisis efectuados en las instalaciones del CEPAX muestran niveles aceptables de la carga microbiana. En la tabla 1 se puede observar que en condiciones estáticas las partículas viables en aire se encuentran controladas, que, aunque se muestran mayores niveles a las obtenidas cuando funciona el sistema de inyección de aire de flujo laminar, estas se encuentran en parámetros aceptables. Pesé a que dentro de las normas de producción de agua y alimentos (251 y 201) no determinan los niveles máximos que estas partículas viables deban de tener dentro de espacios de producción de estos elementos, la carga microbiológica del medioambiente de las instalaciones, a excepción de los puntos 1 y 7, muestran resultados menores a los límites impuestos en la NOM-059-SSA grado D ($<200\text{UFC}/\text{m}^3$) para zonas limpias para realizar fases menos críticas de la fabricación de productos estériles.

Tabla 1. Cuantificación de bacterias mesófilas en instalaciones del CEPAX sin personal y sin inyección de aire de flujo laminar.

Área	Bacterias mesófilas	
	UFC	UFC/m ³
1	17	297
2	8	140
3	10	175
4	7	122
5	7	122
6	5	87
7	15	262

De igual manera, las pruebas para identificación de bacterias coliformes arrojaron resultados favorables, dándonos en las áreas de mayor importancia nulo crecimiento en las placas como se observa en la tabla 2. La excepción fue el área 7 donde se observa una mayor presencia de bacterias coliformes, esto se atribuye a la cercanía de los lavabos con los sanitarios de los operadores.

Los hongos y levaduras se mantuvieron estables en niveles bajos, sin embargo, se han encontrado estudios en los que se relacionan un incremento de su presencia durante épocas de lluvia (Hameed, 2012). Por lo que se recomienda la evaluación de la presencia de hongos y levaduras en épocas de lluvias.

Tabla 2. Cuantificación de bacterias coliformes, hongos y levaduras en las diferentes áreas de las instalaciones del CEPAX.

Bacterias coliformes			Hongos y levaduras		
Área	UFC	UFC/m ³	Área	UFC	UFC/m ³
1	0	<17	1	1	17
2	0	<17	2	0	<17
3	0	<17	3	0	<17
4	0	<17	4	1	17
5	0	<17	5	0	<17
6	0	<17	6	0	<17
7	2	35	7	1	17

Así mismo es importante implementar un mejor aislamiento en el área de la esclusa del personal operario para evitar cualquier posibilidad de contaminación cruzada dada su cercanía con el área de lavabos y sanitarios.

Previo al inicio de operaciones de lavado y llenado de garrafones se decidió hacer un análisis intermedio con los sistemas de inyección de aire de flujo laminar encendidos y sin la presencia del personal en las áreas operando.

Como se logra observar en la tabla 3 gracias a los sistemas de filtración de aire que se tienen y a la inyección de aire de flujo laminar, se registró una disminución de las partículas viables en el medio ambiente en aquellas zonas en las que este abarca. Sin embargo, aquellas áreas en las que no se tiene el sistema de filtración e inyección de aire la carga microbiológica se vio aumentada debido a la a la mayor actividad del personal en las zonas. Otro aspecto al que se sugiere dar mayor seguimiento es el alto nivel que se obtiene en el área de lavado de garrafones, siendo de alta importancia este punto, pudiendo dar origen a una contaminación del envase primario. En caso de seguir dicho nivel de partículas viables en el área mencionada, se deben considerar cambios en el diseño del área de lavado de garrafones de tal manera que esta tenga mayor aislamiento del medio ambiente, y permitir que los sistemas de filtración e inyección de aire también abarquen esta área.

Tabla 3. Presencia de Bacterias mesófilas en ausencia del personal y con inyección de aire de flujo laminar.

Bacterias mesófilas		
Área	UFC	UFC/m ³
1	30	524
2	8	140
3	1	17
4	4	70
5	5	87
6	1	17
7	20	349

El estudio realizado con todas las condiciones de operación mostro un positivo resultado habiendo un incremento mínimo en bacterias mesófilas del medio ambiente, así como una nula variación en bacterias coliformes, hongos y levaduras.

En este caso se monitorearon las zonas en las que el personal operativo tenia mayor interacción, como se muestra en la tabla 4. Aunque el incremento se da en las áreas de filtros y tanque a granel, así como el área de llenado, el nivel de la carga microbiológica no es la suficiente para considerarla crítica. Sin embargo, un continuo estudio mensual de las instalaciones nos seguirá garantizando un producto de alta calidad tal como lo es el Aguam purificada.

Tabla 4. Monitoreo de bacterias mesófilas de las instalaciones del CEPAX con personal operando y con inyección de aire de flujo laminar.

Bacterias mesófilas		
Área	UFC	UFC/m ³
1	25	437
2	5	87
3	7	122
4	7	122
6	2	35

Se evaluaron de igual manera el aseo del personal dado su contacto constante con el producto y su intervención del proceso con motivo de eliminar la incertidumbre de las posibles fuentes. Gratificadamente los operadores siguen adecuadamente los protocolos de limpieza previos a la producción, los resultados obtenidos no fueron mayores a 18 UFC en promedio por guantes posterior a todo el proceso de producción.

Como estudio adicional se evaluaron la presencia de partículas viables posterior a un periodo mayor dos semanas sin actividades en las instalaciones, algunas observaciones negativas que se le hacen a las instalaciones se le atribuyen a la puerta principal, ya que polvo, y tierra lograron colarse en cantidades altas a las instalaciones sin que esta estuviera abierta. Además, se sugiere antes de iniciar operaciones, posterior a la limpieza del equipo y material utilizado en el proceso, el encendido del filtro e inyección de aire de flujo laminar por al menos 10 minutos para disminuir los niveles de bacterias mesófilas en el medio ambiente.

Tabla 5. Evaluación de la carga microbiológica ambiental tras 2 semanas de inactividad en las instalaciones.

Bacterias mesófilas		
Área	UFC	UFC/m ³
2	4	70
3	9	157
4 (filtros)	11	192
4(tanque a granel)	8	140

Conclusión

1. La técnica de análisis mostró ser eficiente para monitorear las condiciones microbiológicas ambientales de las instalaciones de lavado de garrafones y producción de Aguam purificada para consumo humano del CEPAX.
2. Se verificó que los procedimientos de limpieza seguidos por los operarios se cumplen puntualmente, así como el buen funcionamiento de los filtros de aire y el sistema de inyección de aire de flujo laminar. Sin embargo, se recomienda la remodelación del área de lavado de garrafones para minimizar el riesgo de contaminación cruzada.
3. Las instalaciones del CEPAX cumplen y superan los estándares de calidad establecidos en las NOM's 251 y 201 de producción de agua, lo cual asegura un producto final cuya calidad satisfaga completamente con las crecientes expectativas de los usuarios.

Referencias

Hameed, A., Abdel H. (2012). Sedimentation with the Omeliansky Formula as an Accepted Technique for Quantifying Airborne Fungi. Polish Journal of Environmental Studies, Vol 21, No. 6, pp 1539-1541.

Asociación Nacional de Productores y Distribuidores de Agua Purificada A.C. (2004). Conceptos de HACCP. Num. 89

Wood, S. (2018). The Importance of Laboratory Information Management System in Food QC and Safety Testing. New food magazine Issue 3, pp 18-20.

Paullier j. (2015, 28 de julio). Por qué México es el país que más agua embotellada consume en el mundo. BBCnews. Recuperado el 15 de octubre de 2019 de https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/07/150722_mexico_consumo_agua_embotellada_jp.

Secretaría de Salud. (2015). NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Recuperado el 11/10/2019 de Diario Oficial de la Federación Sitio web: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015.

Secretaría de Salud. (2015). NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Recuperado el 11/10/2019 de Diario Oficial de la Federación Sitio web: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015.

Anexos

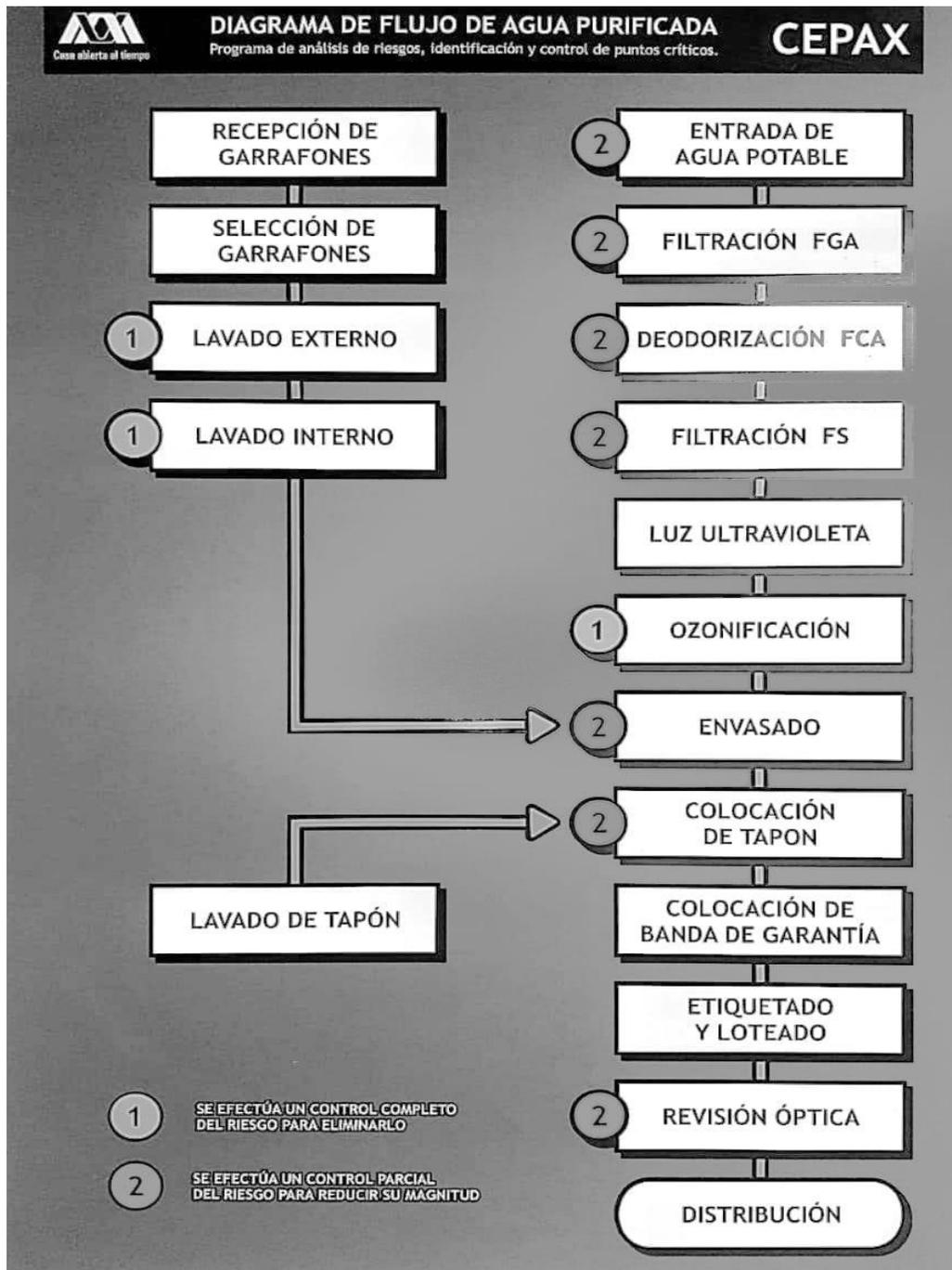


Imagen S1. Diagrama de puntos de riesgo de las actividades realizadas para la producción de Aguam purificada.

DISTRIBUCIÓN DE ÁREAS DEL CEPAX

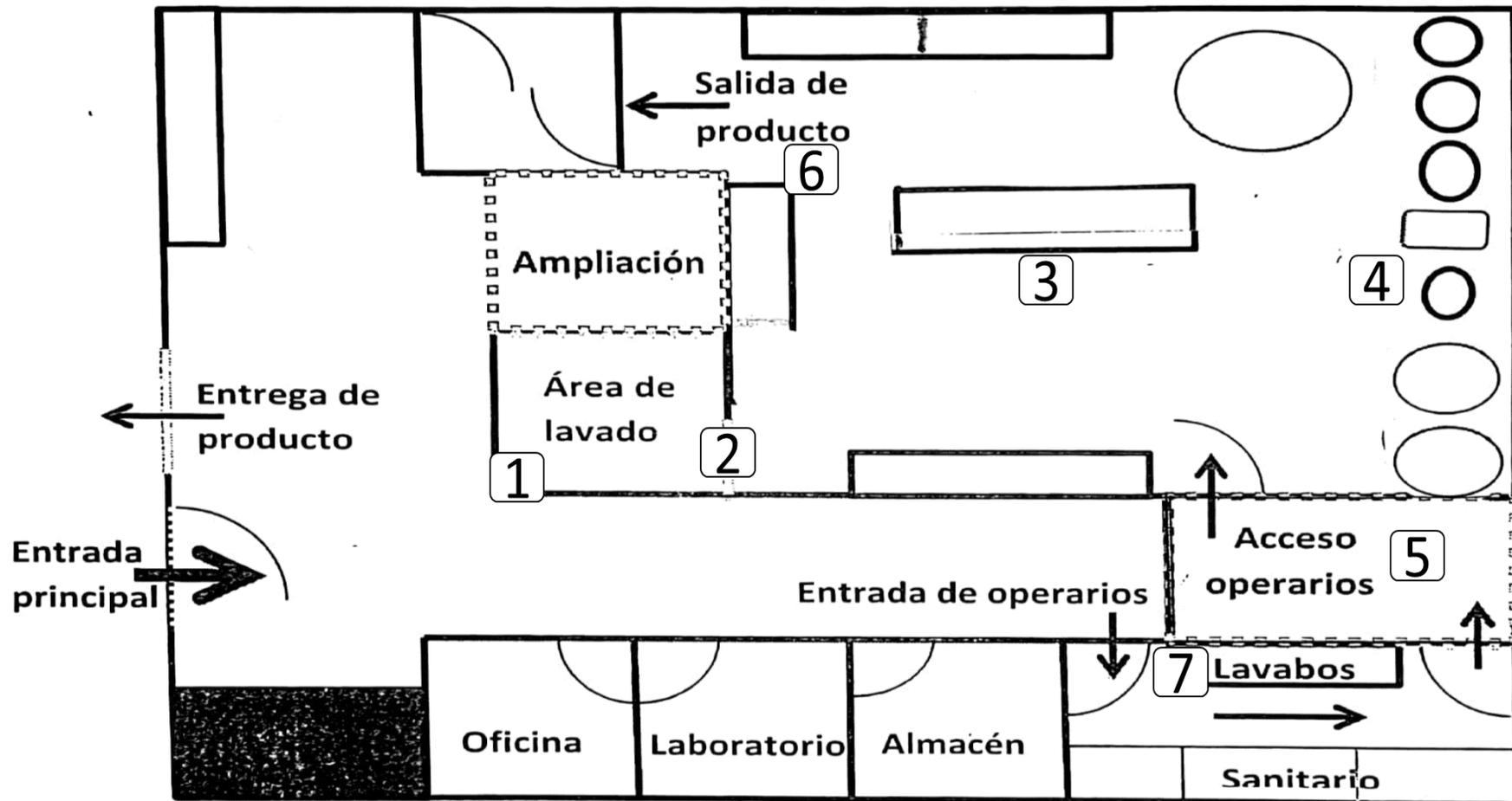


Imagen S2. Diagrama de las instalaciones del CEPAX con las áreas de monitoreo señaladas.

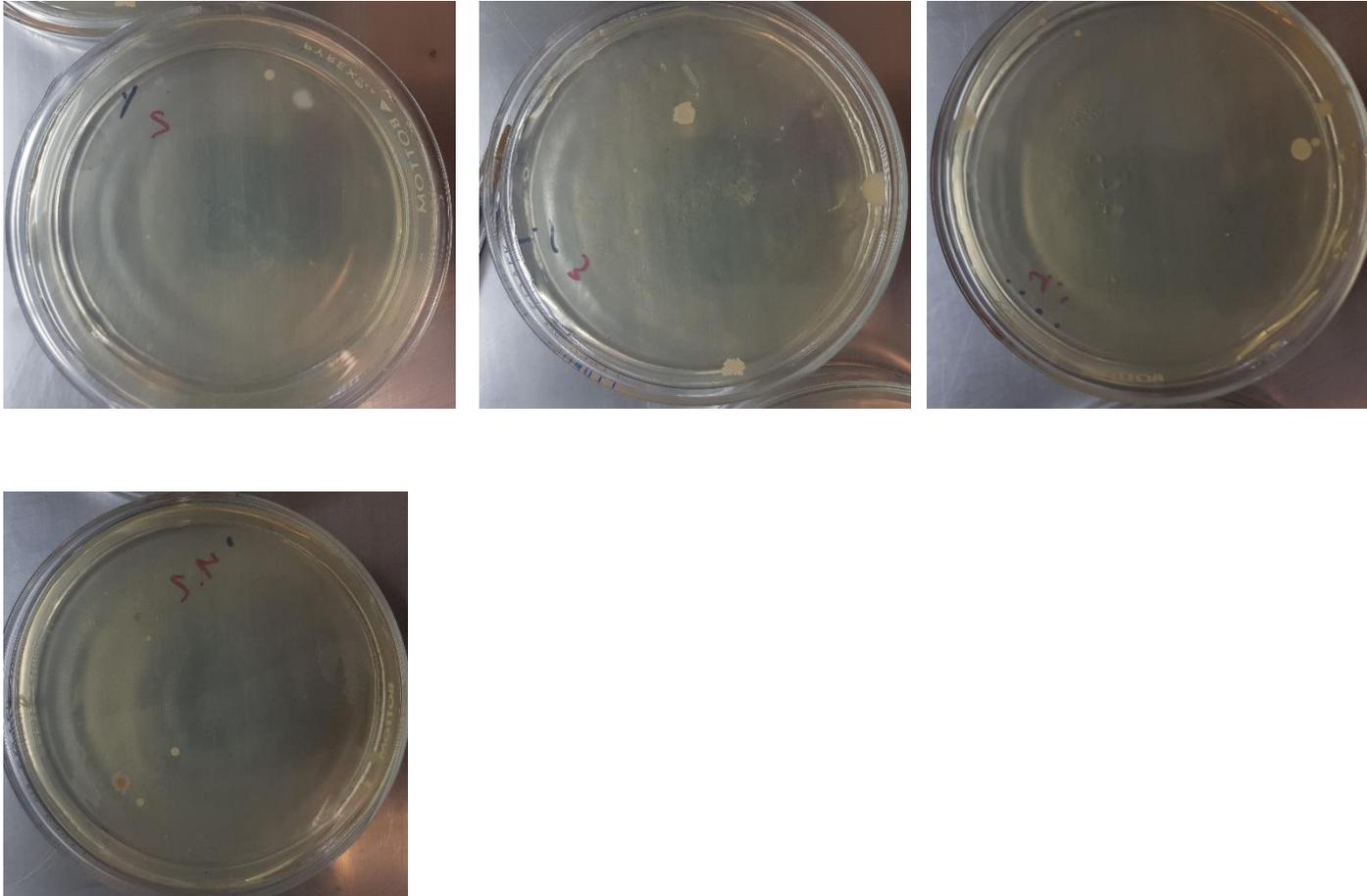


Imagen S3. Placas expuestas sin personal operando y sin inyección de aire de flujo laminar en las áreas 2, 3 y 4.1 (zona de filtros) y 4.2 (zona de tanque a granel).

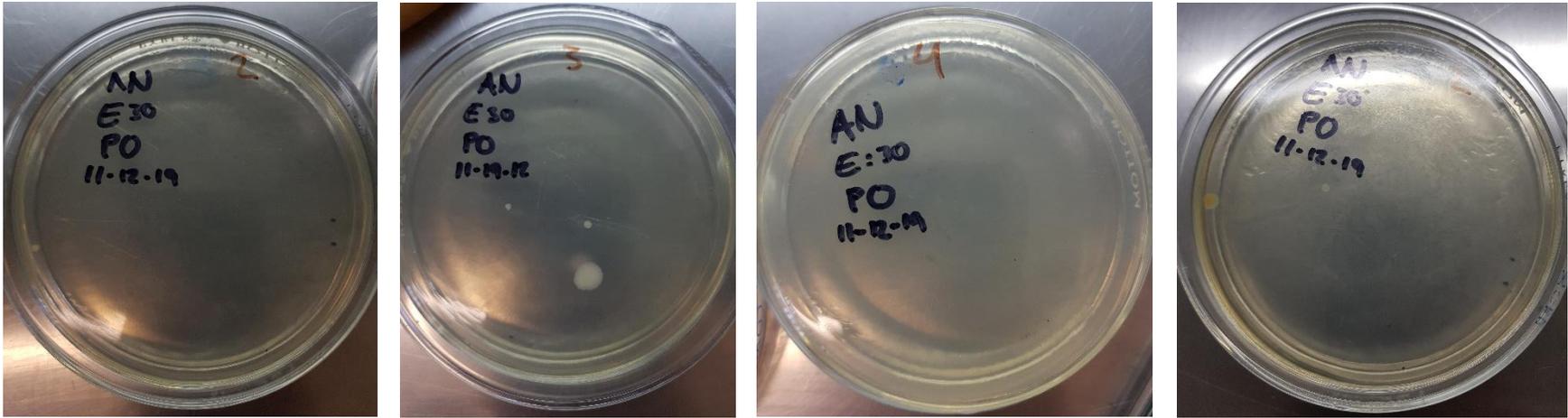


Imagen S4. Placas expuestas con personal operando con inyección de aire de flujo laminar en las áreas 2, 3, 4 y 5.