



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO, División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-1

**SOLICITUD DE TÉRMINO
DE SERVICIO SOCIAL**

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre : <u>Paulina Anabel Saenz Rosas</u>	
Matricula : <u>2152025737</u>	Licenciatura : <u>Química Farmacéutica Biológica</u>
Domicilio : <u>Casas Grandes 153, departamento: 201, Colonia Narvarte Oriente, Alcaldía Benito Juárez, C.P. 03023, CDMX</u>	
Teléfono : <u>5555388458</u>	Celular : <u>5520817013</u>
Correo Electrónico : <u>psu_lina19@hotmail.com</u>	CURP : <u>SARP890330MGRNSL08</u>

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : <u>Seguimiento y evaluación de pruebas microbiológicas y de operación para el control de la calidad de agua en la producción de AGUAM purificada envasada del CEPAX, de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014</u>							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : <u>Centro de Producción de Agua Xochimilco, CEPAX</u>							
Dependencia : <u>Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco</u>							
Entidad Federativa : <u>Distrito Federal</u>							
Municipio : <u>Coyoacán</u>	Localidad : <u>Coyoacán</u>						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	<u>4</u>	<u>11</u>	<u>2019</u>		<u>4</u>	<u>5</u>	<u>2020</u>

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: <u>3.- Público</u>	Tipo: <u>2.- Interno</u>
Orientación: <u>10.- Otros</u>	

FIRMAS

Dr. Juan Esteban Barranco Florido No. Ec. 24927

Asesor Interno
Nombre, firma y No. Escritorio:

Paulina Saenz
Paulina Anabel Saenz Rosas

Alumno
Nombre, firma

I.Q. Antonio Contreras Escalante No. Ec. 5677

Asesor Externo
Nombre, firma y No. Escritorio:

Mario González Torres
QFB. Mario González Torres

Vº. Bº. de la Comisión
Nombre y firma de la persona que suscribe

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos
PRESENTE

Por este medio de la presente me permito comunicar a usted que la alumna PAULINA ANABEL SAENZ ROSAS, con matrícula 2152025737, concluyó el proyecto de Servicio Social: *Seguimiento y evaluación de pruebas microbiológicas y de operación para el control de la calidad de agua en la producción de AGUAM purificada envasada del CEPAX, de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014*, que se realizó en el Centro de Producción de Agua Xochimilco, CEPAX del Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, ubicado en Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud, Alcaldía de Coyoacán, C.P 04960, Ciudad de México, México. Del 04/11/2019 al 04/05/2020 bajo mi asesoría. Cubriendo un total de 480 horas

ATENTAMENTE



I.Q. Antonio Contreras Escalante No. Ec. 5677
ASESOR EXTERNO

Mtra. María Elena Contreras Garfias
c.p. Directora de la División de CBS UAM-X

Ciudad de México, 10 de diciembre de 2020

Dr. Juan Esteban Barranco Florido
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos
PRESENTE

Por este medio de la presente me permito comunicar a usted que la alumna **PAULINA ANABEL SAENZ ROSAS**, con matrícula 2152025737, concluyó el proyecto de Servicio Social: *Seguimiento y evaluación de pruebas microbiológicas y de operación para el control de la calidad de agua en la producción de AGUAM purificada envasada del CEPAX, de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014*, que se realizó en el Centro de Producción de Agua Xochimilco, CEPAX del Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, ubicado en Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud, Alcaldía de Coyoacán, C.P 04960, Ciudad de México, México. Del 04/11/2019 al 04/05/2020 bajo mi asesoría. Cubriendo un total de 480 horas

ATENTAMENTE



Dr. Juan Esteban Barranco Florido No. Ec. 24927
ASESOR INTERNO

Mtra. María Elena Contreras Garfias
c.c.p. Directora de la División de CBS UAM-X



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACEÚTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DEL SERVICIO SOCIAL:

“Seguimiento y evaluación de pruebas microbiológicas y de operación para el control de la calidad de agua en la producción de AGUAM purificada envasada del CEPAX, de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014 “

Correspondiente al proyecto genérico:

Evaluación de productos relacionados con la salud

P R E S E N T A:

Paulina Anabel Saenz Rosas

Matrícula: 2152025737

ASESORES:

Dr. Juan Esteban Barranco Florido **No. Económico: 24927**

I.Q. Antonio Contreras Escalante **No. Económico: 5677**

Lugar de realización: Centro de Producción de Agua Xochimilco, CEPAX, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, con dirección: Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud, Alcaldía de Coyoacán, C.P 04960, Ciudad de México, México.

Periodo: 4 de noviembre de 2019 al 4 de mayo de 2020

Ciudad de México, noviembre 2020

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Agua para uso y consumo humano.....	5
2.2 La calidad sanitaria	5
2.3 Sistemas cualitativos	5
3. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos	6
3.1 Validez de la prueba.....	7
4. TÉCNICAS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	9
4.1 Pruebas presuntivas.....	9
4.2 Pruebas confirmativas.....	9
4.3 Pruebas complementarias.....	9
4.4 Pruebas bioquímicas.....	10
5. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO	14
6. VALIDACIÓN	15
7. OBJETIVO GENERAL	16
7.1 Objetivos específicos	16
8. DESARROLLO EXPERIMENTAL	17
9. RESULTADOS	19
10. ANÁLISIS DE RESULTADOS	22
11. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS	24
12. CONCLUSIONES	25
13. BIBLIOGRAFÍA	26
14. ANEXO	27

14.1 PNO. Procedimiento para estimar la densidad de coliformes totales, fecales y <i>E. Coli</i> por la técnica de NMP, presentes en muestras de agua para consumo humano	27
15. RESUMEN	38

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento vital porque representa para nuestro planeta el 70% del total de superficie y para el cuerpo humano el 60% de su composición, así el agua es el centro de la vida. Su cuidado y consumo racional depende del ser humano, pues impacta en su salud, limpieza, nutrición e hidratación.

En el cuerpo humano, el agua se incorpora en cada célula, toda vez que se involucra en procesos como: respiración, regulación de temperatura, eliminación de desechos, digestión, entre otros.

Su importancia, también alcanza las esferas económica, social y demográfica, porque está involucrada en innumerables procesos, asimismo la tendencia demográfica indica un acelerado aumento de su gasto, con mayores riesgos de contaminación en los ecosistemas por la acción humana irresponsable

De acuerdo con el INEGI, en 2017, el porcentaje de hogares que se abastecieron de agua para beber principalmente de garrafón o botella, por ser la única forma de tener acceso a agua purificada, fue del 4.8%, es decir 1,277,988.36 hogares¹

En este trabajo se van a evaluar los garrafones, como producto terminado, así como diferentes puntos del proceso o actividades relativas a la obtención, acondicionamiento, almacenamiento y suministro de ~~Agua~~ Agua Purificada

Se usarán las pruebas microbiológicas contenidas en la NOM-210-SSA1-2014 para la estimación de la densidad de los coliformes en el agua potable y pruebas fisicoquímicas, debido a que el agua pasa por diferentes superficies que ocasionan arrastre o disolución con materia orgánica e inorgánica que podrían influir en la seguridad del producto, daños en las instalaciones (sarro o incrustaciones) e incrementos en los costos para el tratamiento de agua purificada

Las características fisicoquímicas del agua incluyen a los carbonatos, nitratos, fosfatos, cloruros, etc. Aquí se detectará la conductividad, dureza (carbonato de magnesio y carbonato de calcio), hierro y cloruros

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Agua para uso y consumo humano es aquella que no contiene contaminantes objetables, ya sean químicos o agentes infecciosos y que no causa efectos nocivos al ser humano. Este tipo de agua se evalúa bajo estándares de calidad de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014 para analizar y determinar que no contiene agentes patógenos, es decir que son No Detectables (ND) o en su defecto señalar su presencia

2.2 La calidad sanitaria del agua depende de la detección de organismos patógenos que se distinguen por proliferar en el ambiente, agregarse o adherirse a los sólidos y a la variación de su concentración en el tiempo, donde además la posibilidad de contraer enfermedades depende de la dosis, la invasión, la virulencia y el estado inmunológico del receptor²

El monitoreo de agentes patógenos para la verificación de la calidad microbiológica del agua incluye a las bacterias coliformes que se dividen de 2 grupos: totales y termotolerables, las últimas tenían el nombre de fecales, pero debido a la invariable presencia de *Escherichia coli* en siembras que superaban los 44.5°C, su aparición revela contaminación por materia fecal. En algunos casos, la contaminación repetida de bajo nivel puede dar lugar a enfermedades esporádicas significativas.³

2.3 Sistemas cualitativos, son utilizados para obtener la respuesta acerca de la presencia o ausencia de un analito en una muestra (SI/NO), de acuerdo con la normatividad y únicamente seguirán el proceso de análisis aquellas muestras que sean positivas. Dentro de estos sistemas cualitativos está el análisis sensorial e instrumental, del primero dan contestación los 5 sentidos como resultado de una reacción química que se compara con el blanco, además es usual que se utilicen *test kits* que son dispositivos diseñados para una aplicación concreta, mientras que sobre el instrumental se pueden utilizar técnicas químicas, como: colorimetría, análisis volumétrico, espectroscopia, fluorescencia de rayos X, etc. La respuesta que se obtenga debe transformarse en un SI/NO que implica un tratamiento de datos⁴

3. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos

El control de calidad del agua establece el cumplimiento de criterios sanitarios planteados, así como de instalaciones que permitan el abasto y consumo, mediante la correcta realización de los procesos, dando la posibilidad de evaluar y documentar el desempeño de los procedimientos, con el objetivo de proteger y mantener la salud de las personas⁵

La NOM-210-SSA1-2014 tiene como objetivo establecer los métodos generales y alternativos de prueba para la determinación de indicadores microbianos y patógenos en alimentos, bebidas y agua para uso y consumo humano. Es de observancia obligatoria en territorio nacional para personas físicas y morales⁶

Considera una serie de medidas de control de calidad para verificar la funcionalidad del procedimiento analítico, como:

- Cultivos control con cepas de *E. coli* y *E. aerogenes* para coliformes fecales
- Registrar las temperaturas de incubación con termómetros verificados
- Pesar la muestra en balanza calibrada y verificada
- Verificar el ciclo de esterilización de autoclaves con indicador biológico y termómetro de máximas calibrado o verificado
- Verificar el ciclo de esterilización de hornos con indicador biológico
- Realizar control de medios de cultivo con cepas tipo (evaluación biológica) y evaluación física
- Realizar control ambiental por el método de sedimentación

3.1 Validez de la prueba

- Cuando todos los tubos de la menor dilución sean positivos y todos los tubos de la dilución mayor sean negativos o la combinación de ambos.
- Si el crecimiento de los controles no es característico, la prueba se invalida.
- Los microorganismos presentes en la muestra crecerán en el medio cuando son incubados y se mantengan en las condiciones adecuadas para su desarrollo.

De acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014, para obtener el NMP en los resultados se aplica la teoría de la probabilidad, lo cual tiene como condición lo siguiente:

- Una distribución aleatoria de las bacterias que existen en la muestra.

Las bacterias se encuentran como entidades no agrupadas

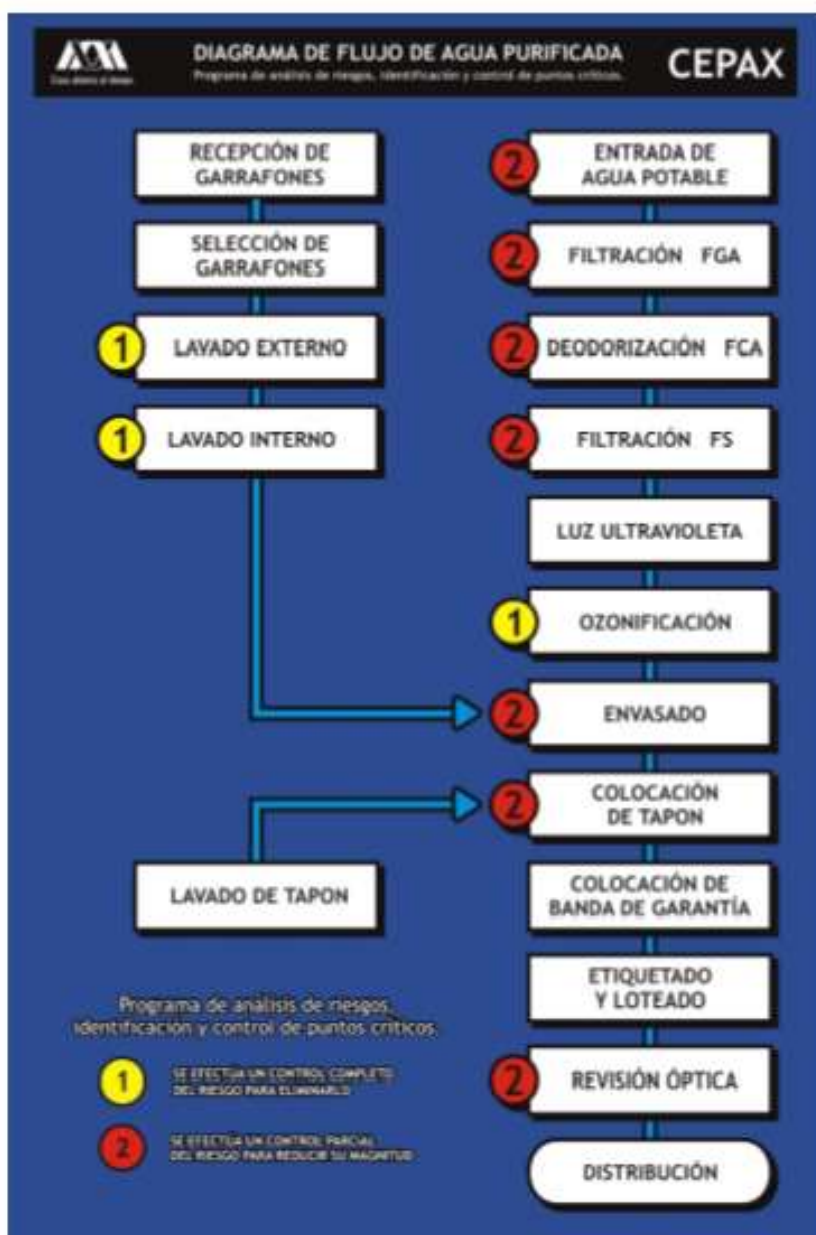


Figura 1. Diagrama del proceso de purificación de AGUAM.

4. TÉCNICAS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se utilizaron diferentes pruebas microbiológicas que a su vez se distinguen en distintas categorías que a continuación se describen.

4.1 Pruebas presuntivas

Son pruebas que, de manera rápida, económica, pero estandarizada, permiten deducir un resultado dicotómico Positivo/Negativo del analito, microorganismo, enfermedad o reacción química, bioquímica e inmunológica. Poseen sensibilidad y especificidad, pero pueden producir falsos positivos o falsos negativos. Para la búsqueda de coliformes se utilizará el caldo lauril triptosa, que es un medio selectivo recomendado para coliformes en agua, fermentadores de lactosa

4.2 Pruebas confirmativas

Son las pruebas que con un nivel aceptable de certeza establecen o identifican la presencia del analito o microorganismo que se busca. Usualmente, conllevan mayor complejidad analítica y es recomendable que tengan un fundamento analítico diferente al que se utilizó con las pruebas presuntivas, los costos pueden ser mayores. Las pruebas confirmatorias además de tener niveles de sensibilidad iguales o superiores al de las pruebas presuntivas, tienen altos niveles de especificidad⁷. Si en algún tubo se observó la formación de gas (Positivo) se sembrará de una asada en Caldo EC para coliformes fecales, que es un medio de detección rápida de *Escherichia Coli* en agua, leche y alimentos. En caldo verde brillante para coliformes totales.

4.3 Pruebas complementarias

Es una prueba optativa de calidad para todas las muestras de agua que tiene como objetivo confirmar el 10% de los tubos positivos de coliformes totales en caldo verde brillante. Para este caso se sembrará en agar Mc Conkey, un medio de cultivo

selectivo y diferencial para *Enterobacteriaceae* y otros Gram negativos. Después, si se observan positivos se inoculará de una asada en caldo lauril triptosa y en agar nutritivo inclinado, este último es un medio de cultivo no selectivo⁸

Si el agar nutritivo da positivo, se realiza Tinción de Gram (prueba diferencial). Según sea el resultado, las bacterias pueden dividirse en 2 grandes grupos: las grampositivas (pared gruesa de peptidoglicano) y las gramnegativas (doble membrana celular y fina pared de peptidoglicano). Una vez teñidas, las bacterias grampositivas se muestran de color morado (complejo crista violeta-yodo) y las gramnegativas de color rosa. La diferencia de color se debe a diferencias en la estructura de la pared celular de las células. Si se utiliza un colorante básico como el cristal violeta, que tiñe las células de morado, el tratamiento posterior con etanol decolora las células gramnegativas, pero no las grampositivas. Si luego realizamos tinción de contraste con un colorante diferente normalmente la safranina, de color rojo, se pueden distinguir 2 tipos de células al microscopio.⁹

	Coliformes totales	Coliformes fecales
Prueba presuntiva	Caldo lauril triptosa	Caldo lauril triptosa
Prueba confirmativa	Caldo verde brillante	Caldo EC
Prueba complementaria	Mc Conkey Caldo Lauril triptosa Agar nutritivo inclinado Tinción de Gram	Agar EMB-L Agar cuenta estándar Tinción de Gram Pruebas bioquímicas

Tabla 1. Pruebas microbiológicas para la identificación de Enterobacterias

4.4 Pruebas bioquímicas

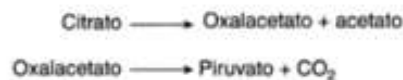
Son métodos fenotípicos de identificación bacteriana que permiten su identificación macroscópica por vías metabólicas o de enzimas, además son rápidas, debido a que requieren el crecimiento del microorganismo por incubación.

Indol: se determina si la bacteria posee la enzima *triptofanasa*. El triptófano forma parte de las peptonas del medio, si la bacteria posee *triptofanasa*, ésta cataliza la

potenciales de oxidación-reducción. La reacción global del metabolismo de la glucosa por los grupos *Klebsiella-Enterobacter* es la siguiente:



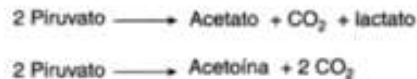
Citrato: algunas bacterias utilizan el citrato como única fuente de carbono. Los productos del metabolismo del citrato dependen del pH del medio. A un pH alto (alcalino) se producen más acetato y formato y disminuye la producción de lactato y CO₂. A un pH ácido, los principales productos del metabolismo del citrato son acetilmetilcarbinol y lactato. Sin tener en cuenta los productos finales producidos, el primer paso metabólico en la fermentación del citrato produce piruvato. La degradación del piruvato depende entonces del pH del medio



pH alcalino



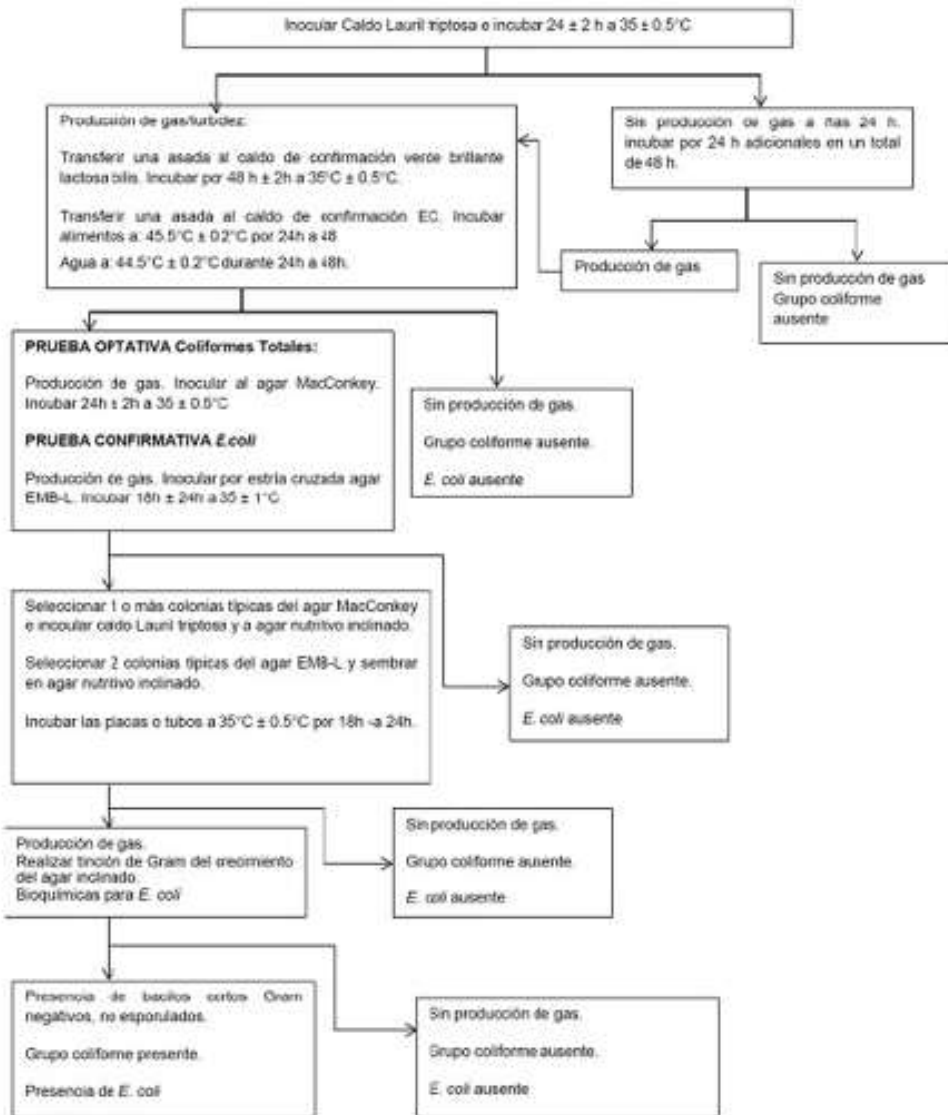
pH ácido



El medio para la fermentación del citrato también contiene sales inorgánicas de amonio. Un microorganismo que puede utilizar el citrato como su única fuente de carbono también utiliza las sales de amonio como su única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio son degradadas a amoníaco (NH₃) lo cual aumenta la alcalinidad. Las bacterias extraen el nitrógeno de las sales de amonio con producción de amoníaco (NH₃) lo que conduce a la alcalinización del medio y a la conversión de amoníaco (NH₃) a hidróxido de amonio (NH₄ OH).¹⁰



Diagrama de flujo del procedimiento para estimar la densidad de coliformes totales, fecales y *E. coli* presentes en muestras de agua para consumo humano



5. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO

1. Colocar el garrafón dentro de la campana de flujo laminar (en funcionamiento)
2. Limpiar la superficie del garrafón cercana a la tapa con una torunda impregnada del alcohol al 70% y dejar actuar por 15 s
3. Tomar la muestra directamente del envase
4. Abrir el garrafón, inclinarlo para la toma de muestra en matraz volumétrico de 500mL previamente esterilizado, tomar aproximadamente 50 mL
5. Una vez abierto se debe realizar el análisis en un periodo máximo de 30min
6. Enjuagar el matraz 2 veces con el agua que se ve a muestrear
7. Llenar el matraz a un 90% de su capacidad y tapar de inmediato con tapón esmerilado, Parafilm o aluminio
8. Identificar la muestra con los datos necesarios: nombre, fecha, hora, punto de muestreo, tipo de análisis
9. Hacer prueba de pH, conductividad, dureza, cloruro, fierro y nitrato
10. Reportar resultados

6. VALIDACIÓN

De acuerdo con Guía para Validación de Métodos Analíticos, la validación del método analítico es el proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada¹¹

Dependiendo del tipo de control, la validación se puede hacer mediante una inspección en el sitio, usando datos o publicaciones existentes o programas de monitoreo focalizados a fin de demostrar su eficacia en circunstancias normales y excepcionales¹²

Los métodos basados en cultivos, tales como cultivos de caldo o medios bacterianos asentados en agar detectan organismos por infección o crecimiento. Se aplican en gran parte para determinar el número de bacterias viables en el agua. Los ejemplos más conocidos son los métodos basados en cultivos para indicadores, como *E. coli*¹³

Un parámetro para la validación de ensayos microbiológicos es la descripción del método de ensayo. Los métodos de ensayo microbiológicos cualitativos, son métodos en los que el resultado se expresa en términos de ausencia/presencia¹⁴

Los procedimientos de confirmación e identificación del microorganismo deben ser validados estimando, cuando sea apropiado, su especificidad, exactitud relativa, desviación positiva, desviación negativa, límite de detección, efecto matricial, repetibilidad y reproducibilidad¹⁵

La validación de los métodos de ensayo debe reflejar las condiciones reales de las pruebas, es decir, usar matrices naturalmente contaminadas. La extensión de la validación necesaria dependerá del método y su aplicación, además debe realizarla personal calificado y siempre un parámetro para la validación de ensayos microbiológicos es la descripción del método de ensayo

7. OBJETIVO GENERAL

Dar continuidad al procedimiento de muestreo y análisis microbiológico de AGUAM Purificada que permita asegurar su calidad microbiológica para el consumo humano

7.1 Objetivos específicos

- Evaluar la calidad y el cumplimiento de la NOM-210-SSA1-2014, en el agua Purificada del CEPAX, de granel y producto envasado
- Verificar el cumplimiento de las especificaciones marcadas en la NOM-210-SSA1-2014 para los procedimientos de trabajo
- Verificar el cumplimiento del procedimiento microbiológico del sistema de filtración, ozonificación y el lavado de garrafones para AGUAM Purificada

8. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Preparación del área de trabajo

- Lavarse las manos con agua y jabón antes de iniciar
- Entrar al laboratorio con bata limpia, lentes de seguridad, guantes de polipropileno y cofia
- Al entrar al laboratorio es muy importante mantener la puerta cerrada para evitar que entre aire y polvo
- Encender la campana de flujo laminar, por lo menos 20 minutos antes de iniciar con los análisis de microbiología
- Extender, con ayuda de un atomizador y alcohol al 96%, con solución todas las superficie de la campana de flujo laminar para después limpiar con toallas desechables (rotar cada mes con hipoclorito de sodio al 0.1%)
- Utilizar un mechero Bunsen encendido para trabajar en una zona aséptica, propiciando una llama azul y trabajar alrededor de ella, aproximadamente a 15 cm
- Utilizar material esterilizado para preparar los medios de cultivo

NOTA. La distribución del material debe ser tal que se sitúen a una distancia segura de sustancias inflamables, además no debe entorpecer u obstruir la preparación de los medios.

Preparación de medios

- Armar la gradilla de metal con los 17 tubos de ensayo de 16mm x 150 mm
- Agregar 10 ml de caldo lauril triptosa
- Agregar una campana de Durham por tubo y colocarles su tapa
- Etiquetar los tubos con número, fecha, hora, identificación del punto de muestreo y tipo de análisis a efectuar
- Introducir en la autoclave y deja que alcance la presión de $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 15 mins, después abrir la válvula y esperar a que salga el aire para poderla abrir

- Colocar los tubos en la estufa a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$ para verificar viabilidad
- Utilizar matraces de 500 mL para la obtención y almacenamiento de las muestras, por un periodo máximo de 30 minutos, para realizar de los análisis.
- Inocular cada tubo de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014, de acuerdo con la prueba a realizar: presuntiva, confirmativa o complementaria

NOTA. Las muestras de agua se obtuvieron por parte del personal técnico del CEPAX de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, de los diferentes puntos del proceso de purificación de agua.

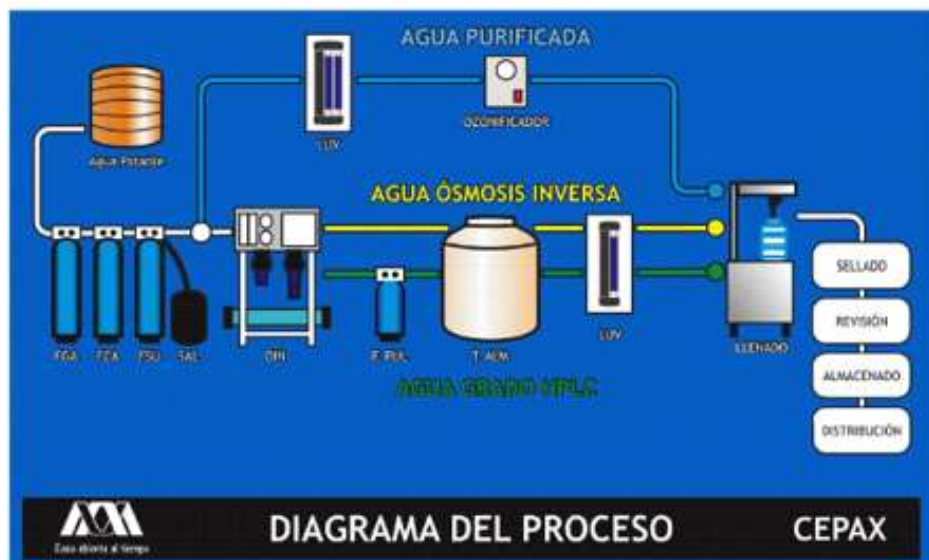


Diagrama 2. Proceso de producción de agua en el CEPAX

9. RESULTADOS

MUESTRA	COLIFORMES DETECTADAS	FECHA DE ANÁLISIS
Muestra de agua	No detectable (ND)	dd/mm/aaaa
Agua Purificada L- 251119 (G1)	ND	28/11/2019
Filtro suavizador L-031219	ND	03/12/2019
Filtro de carbón activado L-031219	1.1/100 ml NMP	03/12/2019
Cisterna CEPAX (tanque azul) L-031219	ND	03/12/2019
Agua Purificada L- 101219	ND	10/12/2019
Agua Purificada L- 111219	ND	11/12/2019
Agua Purificada L- 0712020	ND	08/01/2020
Agua Purificada L- 07012020 GRANEL	ND	08/01/2020
Agua Purificada L- 230120	ND	04/02/2020
Agua Purificada L- 270120	ND	04/02/2020
Agua Purificada L- 060220	ND	11/02/2020
Agua Purificada L- 040220 (en garrafón AGA)	ND	11/02/2020
Agua Purificada L- 130220	ND	18/02/2020
Agua de enjuague del tanque de 750l (negro)	ND	18/02/2020
Agua Purificada L- 210220	ND	25/02/2020
Filtro suavizador del 24/02/2020	>8.0/100 ml NMP	25/02/2020
Agua Purificada L- 280220	ND	03/03/2020
Agua Purificada L- 020320	ND	03/03/2020

Tabla 2. Resultados de pruebas microbiológicas

MUESTRA	pH	CONDUCTIVIDAD	DUREZA	HIERRO	CLORUROS
Muestra de agua	5 - 7	>1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$	36 mg/L	> 1 mg/L	0. 0 mg/L
Agua Purificada L- 251119 (G1)	6.88	14.4 μS	2.77 mg/L	0.20 mg/L	0.04 mg/L
Filtro suavizador L-031219	7.89	40 μS	6.4 mg/L	0 mg/L	0.01 mg/L
Filtro de carbón activado L-031219	7.57	75.3 μS	6.93 mg/L	0 mg/L	0 mg/L
Cisterna CEPAX (tanque azul) L-031219	7.45	32.4 μS	7.12 mg/L	0.09 mg/L	1.7 mg/L
Agua Purificada L- 101219	6.74	15.2 μS	5.02 mg/L	0 mg/L	0 mg/L
Agua Purificada L- 111219	6.83	15.7 μS	2.19 mg/L	0.69 mg/L	0.01 mg/L
Agua Purificada L- 07012020	6.74	13.3 μS	3.02 mg/L	0 mg/L	0.02 mg/L
Agua Purificada L- 07012020 GRANEL	6.97	12.4 μS	2.5 mg/L	0 mg/L	0.04 mg/L
Agua Purificada L- 230120	6.88	15.4 μS	2.98 mg/L	0.37	0.02
Agua Purificada L- 270120	6.79	14.2 μS	2.08 mg/L	0	0.03
Agua Purificada L- 060220	6.75	14.8 μS	-	-	-
Agua Purificada L- 040220 (en garrafón AGA)	6.85	18.1 μS	-	-	-
Agua Purificada L- 130220	6.5	15.6 μS	-	-	-
Agua de enjuague del tanque de 750l (negro)	7.02	16.7 μS	-	-	-
Agua Purificada L- 210220	6.75	18.7 μS	2.7 mg/L	-	-
Filtro suavizador del 24/02/2020	8.25	no dio lectura	2.63 mg/L	-	-
Agua Purificada L- 280220	6.88	20.3 μS	2.08 mg/L	-	-
Agua Purificada L- 020320	6.9	19.1 μS	2.73 mg/L	-	-

Tabla 3. Resultados de pruebas fisicoquímicas

Tubos positivo	NMP/100mL	95% de Limite de confianza (aproximado)	
		Inferior	Superior
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.05	6.3
2	2.6	0.3	9.6
3	4.6	0.8	14.7
4	8.0	1.7	26.4
5	>8.0	4.0	-

Referencia: American Public Health Association, Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 20th edition 1998, Washington DC.

Tabla 4. NMP 100 mL de muestra de agua o hielo en intervalos de confianza del 95% utilizando cinco tubos con 20 mL de muestra

10. ANÁLISIS DE RESULTADOS

- En las pruebas presuntivas se encontraron dos muestras positivas, del filtro de carbón activado (FCA) y del filtro suavizador (FS), pero en las pruebas confirmativas, los resultados fueron negativos.
- Sobre la muestra del FCA, de 5 tubos con 20mL de muestra, arrojó 1 tubo positivo, 1.1 NMP/100mL, en intervalos de confianza del 95% el Límite de confianza inferior fue de 0.05 y Limite de confianza superior fue de 6.3
- El carbón activado tiene enlaces covalentes (-C=C-), con electronegatividad cero, por tener alta porosidad permite la adsorción, es decir, la retención de moléculas en la superficie (entre el adsorbente y adsorbato), por lo tanto, el carbón activado es un buen eliminador de moléculas orgánicas (C-H); sin embargo, algunas moléculas orgánicas podrían contener otros átomos de alta electronegatividad
- La conductividad es la capacidad del agua con electrolitos para conducir electricidad, su unidad de medida es S (siemens), μS = microsiemens y está relacionada con la cantidad de sólidos disueltos (TDS). Los TDS en el agua pueden ser sales inorgánicas o rastro de compuestos orgánicos. La conductividad del agua purificada es de $>1.3 \mu\text{S}$ a 25°C , mientras que, en la muestra del FCA L-031219, mostró tener conductividad de $75.3 \mu\text{S}$ y Dureza Total de 6.93 mg/L, por lo que, había una mayor concentración de sólidos disueltos en el agua, que posiblemente se trató de carbonatos de calcio y magnesio.
- Sobre la función del filtro suavizador de ablandar el agua para evitar formación de sarro en el equipo, mediante intercambio iónico para obtener

bajo contenido de dureza, la muestra del 24/02/2020 mostró 5 tubos positivos, es decir >8.0 NMP/100mL, en intervalos de confianza del 95% el Límite de confianza inferior fue de 4.0 y Limite de confianza superior fue ---

- Se observa que la muestra del Filtro suavizador del 24/02/2020, tuvo un valor de conductividad que no fue posible leer, debido a que fue muy alto, también se sugiere que los TDS fueron altos, mientras que la Dureza fue 2.63 mg/L, dentro de los límites.

11. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

- Se determinó la calidad del agua mediante pruebas físicas y químicas de muestras de agua de diferentes puntos del proceso, hasta el producto final y su comparación con la NOM-210-SSA1-2014, de forma que se identifica si es idónea para el consumo humano.
- Se prueba que el trabajo de laboratorio microbiológico corresponde con las especificaciones de la NOM-210-SSA1-2014
- Se realizó el PNO para estimar la densidad de coliformes totales, fecales y *E. Coli* por la técnica de NMP en muestras de agua para consumo humano

12. CONCLUSIONES


1. Se realizaron análisis de 18 muestras de producto terminado y de diferentes puntos del proceso para determinar que los garrafones distribuidos al público son seguros, aptos para el consumo humano y cumple con la **Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.**
2. Se realizaron análisis microbiológicos a AGUAM Purificada que garantizan su seguridad al no detectar organismos patógenos y al ejecutar la toma de muestra en tiempo y forma respaldando un producto de calidad
3. Se realizaron análisis microbiológicos a diferentes puntos del proceso, de donde se podría mejorar el monitoreo de la capacidad y tiempo de vida, de algunos puntos, para mantener el sistema en óptimo funcionamiento

13. BIBLIOGRAFÍA

1. INEGI. (2017). *Indicadores de agua, medio ambiente*. 30/02/2020, de INEGI Módulo de Hogares y Medio Ambiente 2017 Sitio web: <http://www.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=Agua#tabMCcollapse-Indicadores>
2. OMS. (2011). *Guías para la calidad del agua de consumo humano*. 30/03/2020, de OMS Sitio web: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272403/9789243549958-spa.pdf?ua=1>
3. ~~Pereyda, A., Contreras, A. (2015). Implementación de las Pruebas Microbiológicas Indicadas en la NOM-201-SSA1 2002 Para el Control de la Calidad en la Producción de Agua Purificada Envasada y Agua Purificada de Microorganismos Diversos. BIDIUAM, pp. 34. 14/10/2019, Informe de Servicio Social~~
4. ~~Buisánchez, I., Tullols, E. & Rius F. (2010). VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS CUALITATIVOS. 27/11/2020, de Grupo de Quimiometría y Cuasimetría. Departamento de Química Analítica y Química Orgánica, Universitat Rovira i Virgili. Pl. Imperial Tàrraco. Sitio web: <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/qualit.pdf>~~
5. ~~Op.Cit. Pereyda, A. (2015)~~
6. Secretaría de Salud. (2015). *Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014 Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos*. Diario Oficial de la Federación, 81
7. Dra. Villanueva, J., Dra. Matamoros, M., (2017). *Ciencias Forenses y Pruebas Presuntivas*. *Revista de Ciencias Forenses de Honduras*, 2, 45-54.
8. ~~Op.Cit. Secretaría de Salud (2015)~~
9. ~~Madigan, M., Martinko, J., et al. (2015). BROCK, Biología de los microorganismos. Madrid: Pearson Educación.~~
10. ~~Macfaddin, J. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Argentina: Panamericana~~
11. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México (2002). *Guía de validación de métodos analíticos*
12. ~~Op.Cit. OMS (2011)~~
13. ~~Ibidem~~
14. Cuesta, A., (2005). *Guía para la acreditación de laboratorios de microbiología de alimentos*. 31/03/020, de FAO Sitio web http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comaagric/codex/rla3014/pdf/4-biolo.pdf
15. ~~Ibidem~~

14. ANEXO

14.1 PNO. Procedimiento para estimar la densidad de coliformes totales, fecales y *E. Coli* por la técnica de NMP, presentes en muestras de agua para consumo humano

 <p>Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Xochimilco</p>	PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FECALES Y <i>E. COLI</i> , POR LA TÉCNICA DE NMP, PRESENTE S EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: PED00
		Página 1 de 9

1. OBJETIVO:

Establecer el procedimiento microbiológico para estimar el número de coliformes, mediante la técnica del Número más probable (NMP) en muestras de agua purificada.


2. ALCANCE:

Desde la preparación de medios hasta el informe de la prueba

3. CAMPO DE APLICACIÓN:

Este método es aplicable para la estimación de la densidad de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* por la técnica del NMP presentes en muestras de alimentos para consumo humano y agua

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IQ. Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

 <p>Consejo abierto al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Xochimilco</p>	<p>PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FECALES Y E. COLI, POR LA TÉCNICA DE NMP, PRESENTE EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO</p>	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: PED00
		Página 2 de 9

4. REFERENCIAS:

Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

5. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS:


CEPAX: Centro de Producción de Agua-Xochimilco

Coliformes fecales: a los bacilos cortos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, que fermentan la lactosa con producción de ácido y de gas dentro de las 48h a $44.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en agua y a $45.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en alimentos usualmente en caldo E. coli.

Ciclo de esterilización: a la secuencia de parámetros definidos de operación (por ejemplo: tiempo, temperatura y presión) y las condiciones requeridas para obtener un producto estéril.

Colonias: al agrupamiento de células en forma de masas visibles, en un medio sólido que provienen de una unidad formadora de colonia

<p>Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social</p>	<p>Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor</p>	<p>Aprobó: IQ, Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX</p>
<p>Fecha y firma: enero 2020</p>	<p>Fecha y firma: febrero 2020</p>	<p>Fecha y firma: marzo 2020</p>

	PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FECALES Y E. COLI, POR LA TÉCNICA DE HMP, PRESENTES EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: PED00
		Página 3 de 9

***Escherichia coli* (E. coli):** al microorganismo que está presente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente, por lo que su presencia en una muestra de alimento no es deseable ya que indica la presencia de materia fecal.

Grupo Coliforme: a los bacilos cortos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, sin formación de spora, que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48h cuando se incuban a 35 °C.

Muestra: a la cantidad de material que posee todas las características físicas, fisicoquímicas y microbiológicas del producto a evaluar.

6. RESPONSABILIDADES:

6.1 Es responsabilidad del coordinador del CEPAX:

- 6.1.1 Seleccionar la muestra
- 6.1.2 Realizar la programación de la toma de muestra

6.2 Es responsabilidad del analista:


- 6.2.1 Comprender e interpretar la información que se describe en este PNO
- 6.2.2 Vigilar el cumplimiento de los lineamientos establecidos en este procedimiento

7. ACTIVIDADES

7.1 Consideraciones previas

- 7.1.1 Material y área de trabajo: la mesa de trabajo debe estar limpia, el material de cristal esterilizado. Uso de bata obligatorio, así como de guantes de látex o nitrilo, lentes, cofia y cubrebocas. No utilizar joyas, aros, maquillaje

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IQ. Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

 <p>Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Xochimilco</p>	PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FECALES Y E. COLI POR LA TÉCNICA DE NMP. PRESENTE EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: PC000
		Página 4 de 9

ni lentes de contacto durante las actividades del laboratorio y traer el pelo recogido.

7.1.2 Preparación de los medios de cultivo

7.1.2.1 Caldo lauril triptosa (medio selectivo para detección y recuento de coliformes en agua)

7.1.2.2 Disolver 106.8 g en 1 L de agua desionizada

7.1.2.3 Distribuir volúmenes de 10 mL en tubos de 16 mm x 150 mm

7.1.2.4 Agregar a cada tubo 1 campana de Durham invertida

7.1.2.5 Esterilizar en la autoclave a $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 15 minutos

7.1.2.6 Retirar de la autoclave

7.1.2.7 Colocar en la incubadora a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 24h para verificar viabilidad

7.1.2.8 Emplear una serie de 5 tubos por cada muestra de garrafón, considerando 2 tubos adicionales para control positivo y negativo

7.1.2.9 Caldo EC (medio selectivo)

7.1.2.10 Disolver 37.4 g en 1L de agua destilada

7.1.2.11 Dejar en reposo 5 minutos

7.1.2.12 Distribuir en porciones de 10 mL en tubos de ensayo de 16mm x 150 mm

7.1.2.13 Colocar las campanas de Durham invertidas

7.1.2.14 Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos

7.1.2.15 Colocar en la incubadora a 37°C por 24h para verificar viabilidad

7.1.2.16 Caldo verde brillante (medio selectivo, recomendado para el recuento de coliformes totales y fecales, por la técnica de NMP)

7.1.2.17 Disolver 40g en 1L de agua destilada

7.1.2.18 Distribuir en porciones de 10 mL en tubos de ensayo de 16mm x 150 mm

7.1.2.19 Colocar las campanas de Durham invertidas

7.1.2.20 Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos

7.1.2.21 Colocar en la incubadora a 37°C por 24h para verificar viabilidad

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IQ. Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

7.1.3. Procedimiento para determinar coliformes totales, fecales y *E. coli* en agua de consumo humano

7.1.3.1 Prueba presuntiva

7.1.3.2 Agitar vigorosamente la muestra 25 veces en un arco de 30 ° por 7s, mínimo 100mL de muestra

7.1.3.3 Inocular los tubos de caldo lauril triptona con 5 porciones de 20 mL de muestra

7.1.3.4 Incubar los tubos de caldo lauril inoculados a 35 °C ± 0.5 °C por 24h a 48h

7.1.3.5 Registrar resultados

7.1.3.6 Prueba confirmativa (para coliformes fecales y totales)

7.1.3.7 Tomar una asada y sembrar en un número igual de tubos de Caldo EC

7.1.3.8 Inocular en tubos de EC un control positivo de *E. coli* y un control negativo de *Enterobacter aerogenes*

7.1.3.9 Incubar a 44.5 °C ± 0.2 °C durante 24h a 48h.

7.1.3.10 Para determinar coliformes totales

7.1.3.11 Incubar en tubos de verde brillante a 35°C ± 0.5 °C por 48h ± 2h.

7.1.3.12 Registrar resultados


7.1.3.13 Calcular el NMP de Coliformes totales y coliformes fecales respetivamente.

Tabla 1. NMP 100 mL de muestra de agua e intervalos de confianza del 95% utilizando 5 tubos con 20mL de muestra

Tubos positivo	NMP/100mL	95% de Limite de confianza (aproximado)	
		Inferior	Superior
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.05	6.3
2	2.8	0.3	9.6
3	4.6	0.8	14.7
4	8.0	1.7	26.4
5	>8.0	4.0	-

Referencia: American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edition 1998, Washington DC.

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IQ, Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

 <p>Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Xochimilco</p>	<p>PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FECALES Y E. COLI, POR LA TÉCNICA DE NMP, PRESENTE EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO</p>	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: P2000
		Página 6 de 9

7.1.3.14 Interpretación de resultados

7.1.3.15 Expresar en NMP/100 mL de agua

7.1.3.16 Expresar "No detectable" o "ND", cuando se obtienen resultados negativos como lo indica la Modificación NOM-127-SSA1-1994

7.1.3.17 Validez de la prueba

7.1.3.18 Cuando todos los tubos de la menor dilución sean positivos y todos los tubos de la dilución mayor sean negativos o la combinación de ambos.

7.1.3.19 Si el crecimiento de los controles no es característico, la prueba se invalida

7.1.3.20 Prueba complementaria (para coliformes totales)

7.1.3.21 Tomar una asada de cada uno de los tubos positivos de caldo verde brillante

7.1.3.22 Sembrar por estría cruzada en agar Mc Conkey

7.1.3.23 Incubar a 35 °C ± 0.5 °C por 24h ± 2h.

7.1.3.24 Observar las colonias típicas fermentadoras de rosa intenso que pueden estar rodeadas de un halo opaco de precipitación de las sales biliares

7.1.3.25 Seleccionar 1 o más colonias aisladas

7.1.3.26 Inocular en igual número de tubos de fermentación con caldo lauril triptosa

7.1.3.27 Inocular en igual número de tubos de fermentación con agar nutritivo inclinado

7.1.3.28 Incubar a 35 °C ± 0.5 °C por 24h-48h

7.1.3.29 Examinar y observar si hay gas.

7.1.3.30 Anotar los resultados, si no hay resultados incubar por 24h más

7.1.3.31 Realizar tinción de Gram a partir del crecimiento en el agar nutritivo

7.1.3.32 Observar bacterias Gram negativas, en forma de bacilos no esporulados

7.1.3.33 Prueba presuntiva (para coliformes fecales)

7.1.3.34 Tomar una asada de cada uno de los tubos positivos de caldo EC

7.1.3.35 Sembrar por estría cruzada en agar EMB-L para su aislamiento.

7.1.3.36 Incubar las placas invertidas a 35 °C ± 1 °C por 24h.

7.1.3.37 Seleccionar 2 colonias de cada placa con la morfología colonial típica: colonias con centro negro, planas con o sin brillo metálico.

7.1.3.38 Sembrarlas en agar cuenta estándar (placa o agar inclinado)

<p>Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social</p>	<p>Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor</p>	<p>Aprobó: IQ. Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX</p>
<p>Fecha y firma: enero 2020</p>	<p>Fecha y firma: febrero 2020</p>	<p>Fecha y firma: marzo 2020</p>

- 7.1.3.39** Realizar pruebas de morfología microscópica y pruebas bioquímicas
7.1.3.40 Incubar las placas o tubos a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24h
7.1.3.41 Probar 1 o más colonias lo más parecido a *E. coli* de cada placa (si no hay colonias con morfología típica)
7.1.3.42 Realizar un frotis y teñirlo por Gram
7.1.3.43 Observar al microscopio la presencia de bacilos cortos Gram negativos

7.1.3.44 Pruebas bioquímicas (indol, rojo de metilo, VP, citrato)

7.1.3.45 Indol
7.1.3.46 Inocular un tubo con caldo triptona
7.1.3.47 Incubar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$.
7.1.3.48 Adicionar 0.2mL a 0.3mL de reactivo de Kovac, dejar caer las gotas por las paredes del tubo
7.1.3.49 No agitar
7.1.3.50 Si se observa el anillo rojo en la superficie, es una prueba positiva

7.1.3.51 VP
7.1.3.52 Inocular un tubo con caldo MR-VP
7.1.3.53 Incubar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $48\text{h} \pm 2\text{h}$.
7.1.3.54 Transferir 1mL a un tubo de 13mm x 100mm.
7.1.3.55 Adicionar 0.6mL de solución 1% -naftol y 0.2mL de KOH al 40% y agitar.
7.1.3.56 Si se desarrolla un color de rosa a rojo en 15min a 30min, es una prueba positiva.

7.1.3.57 Rojo de metilo
7.1.3.58 Inocular adicionar cinco gotas de solución de rojo de metilo (usando la otra parte del caldo MR-VP)
7.1.3.59 Es una prueba positiva cuando se desarrolla un color rojo
7.1.3.60 Si es amarillo definido es una prueba negativa

7.1.3.61 Citrato
7.1.3.62 Sembrar con inóculo ligero un tubo con caldo citrato de Koser.
7.1.3.63 Evitar turbiedad en el tubo

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IQ, Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

7.1.3.64 Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 96h

7.1.3.65 Es positiva si se desarrolla turbiedad detectable

7.1.3.66 Una prueba alternativa es citrato de Simmon

7.1.3.67 Inocular por estría

7.1.3.68 Incubar $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 48h

7.1.3.69 Es positiva si hay crecimiento y/o cambio a una coloración azul

7.1.3.70 Es negativa, si hay ausencia de crecimiento

7.1.3.71 Interpretación de resultados de las pruebas bioquímicas

7.1.3.72 Todos los cultivos que fermenten la lactosa con producción de gas dentro de las 48h a 35°C sean bacilos o bacilos cortos Gram negativos no esporulados y se obtengan las siguientes combinaciones para el IMVIC:

Tabla 2. Combinaciones para IMVIC


Pruebas	Biotipo 1*	Biotipo 2*
Indol	+	-
RM	+	+
VP	-	-
Citrato	-	-

* Son consideradas como E. coli.

7.1.3.73 Informe de la prueba

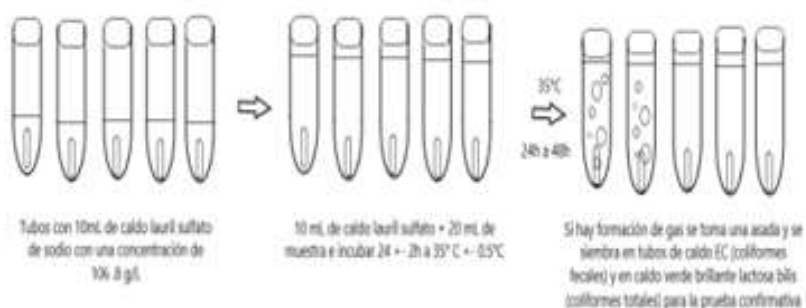
7.1.3.74 Calcular el NMP de E. coli basada en la proporción de los tubos positivos de caldo EC confirmados (Tabla 1)

Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: ICL Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAK
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

 <p>Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Xochimilco</p>	<p>PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LA DENSIDAD DE COLIFORMES TOTALES, FÉCALES Y <i>E. COLI</i>, POR LA TÉCNICA DE HMP, PRESENTES EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO</p>	Aseguramiento de la calidad
		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
		Fecha: febrero 2020
		Código: PED00
		Página 9 de 9

8. ANEXOS

Anexo	Descripción
8.1	Figura: prueba presuntiva



Elaboró: Paulina Anabel Saenz Rosas Prestadora de Servicio Social	Revisó: Dr. Juan Esteban Barranco Florido Asesor	Aprobó: IC, Antonio Contreras Escalante Responsable CEPAX
Fecha y firma: enero 2020	Fecha y firma: febrero 2020	Fecha y firma: marzo 2020

Vo. Bo. DE LOS ASESORES



Dr. Juan Esteban Barranco Florido



I.Q. Antonio Contreras Escalante



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACEÚTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DEL SERVICIO SOCIAL:

“Seguimiento y evaluación de pruebas microbiológicas y de operación para el control de la calidad de agua en la producción de AGUAM purificada envasada del CEPAX, de acuerdo con la NOM-210-SSA1-2014 “

Correspondiente al proyecto genérico:

Evaluación de productos relacionados con la salud

P R E S E N T A:

Paulina Anabel Saenz Rosas

Matrícula: 2152025737

ASESORES:

Dr. Juan Esteban Barranco Florido **No. Económico: 24927**

I.Q. Antonio Contreras Escalante **No. Económico: 5677**

Lugar de realización: Centro de Producción de Agua Xochimilco, CEPAX, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, con dirección: Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud, Alcaldía de Coyoacán, C.P 04960, Ciudad de México, México.

Periodo: 4 de noviembre de 2019 al 4 de mayo de 2020

Ciudad de México, noviembre 2020

15. RESUMEN

El agua purificada en garrafón es la forma de agua más consumida en los hogares, es indispensable tener acceso a ella para su consumo diario, por lo que, purificarla implica un proceso que garantice seguridad, es decir, se encuentre libre de gérmenes y cumpla con lo dispuesto en la Norma. México es uno de los mayores consumidores de agua embotellada en el mundo, aproximadamente más de 32 millones de litros anuales, consecuencia del estado de las tuberías. De acuerdo con la CONAGUA en 2017, el camino que recorre el agua desde su extracción hasta el grifo es incierto, pues toma en cuenta diversos factores que merman su seguridad, como: la calidad de la tubería, las llaves de las casas, incluso considera si hay mascotas¹.

La evaluación de la calidad del agua estima algunos indicadores, entre los que se destacan los coliformes fecales que se ubican en el tubo digestivo de humanos y animales y son excretados por las heces fecales. Los coliformes se definen como bacilos gram negativos, aerobios facultativos, que no esporulan y fermentan la lactosa con producción de gas en menos de 48 h a 35 °C. Sin embargo, Esta definición incluye varias bacterias que no son necesariamente intestinales; por esta razón, los coliformes fecales son importantes en las valoraciones de salubridad del agua. La presencia de células de *E. coli* en una muestra de agua se toma como prueba de contaminación fecal y significa que el agua no es apta para el consumo humano².

En el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la calidad de AGUAM Purificada, recolectando 18 muestras de los diferentes puntos del proceso y producto terminado para determinar si el agua purificada cumple con *Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos*, mediante parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de bajo costo, determinados principalmente por el método del Número más

Probable (NMP) que es un método de estimación probabilística de la densidad bacteriana presente en una muestra, basada en la dilución de la misma y sembrada en réplicas de tubos en caldo selectivo, en los cuales después de un periodo de incubación de 24h – 48 h a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ se observa la presencia de turbiedad en cada tubo.³

Los resultados obtenidos indican que las muestras de ~~Agua~~ Purificada y de los distintos puntos del proceso, son negativos y se expresa como “No Detectable” o ND. Se realizó un PNO para estimar el número de coliformes, mediante la técnica del Número más probable (NMP) para llevar a cabo una operación de manera reproducible en muestras de agua para consumo humano. Las muestras fisicoquímicas incluyeron las pruebas de dureza, conductividad, cloruros y hierro con resultados dentro de los límites permisibles.

Bibliografía

1. SEMARNAT. (2018). Estadísticas del agua en México. 07/12/2020, de CONAGUA Sitio web: <https://files.conagua.gob.mx/conagua/publicaciones/Publicaciones/EAM2018.pdf>
2. ~~Madigan, M., Martinko, J., et al.~~ (2015). BROCK, Biología de los microorganismos. Madrid: Pearson Educación, 985
3. SSA. (2015). NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. DOF, 81

Vo. Bo. DE LOS ASESORES



Dr. Juan Esteban Barranco Florido



I.Q. Antonio Contreras Escalante