GOBIERNO DE COLOMBIA

MINSALUD

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Revisión de literatura sobre **peligros biológicos** presentes en

agua envasada



REPÚBLICA DE COLOMBIA
MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Revisión de Literatura

PELIGROS BIOLÓGICOS PRESENTES EN AGUA ENVASADA

Bogotá, D.C. 2017

ALEJANDRO GAVIRIA URIBE
Ministro de Salud y Protección Social

CARMEN EUGENIA DÁVILA GUERRERO
Viceministro de Protección Social

LUIS FERNANDO CORREA
Viceministro de Salud Pública y Prestación de Servicios (e)

ELKIN DE JESÚS OSORIO SALDARRIAGA
Dirección de Promoción y Prevención

CLAUDIA MILENA CUELLAR SEGURA
Dirección de Epidemiologia y Demografía

MINSALUD

MARTHA LUCÍA OSPINA MARTÍNEZ
Directora General Instituto Nacional de Salud

FRANKLYN EDWIN PRIETO ALVARADO
Director de Vigilancia y
Análisis de Riesgo en Salud Pública

OSCAR EDUARDO PACHECO
Subdirector de Prevención Vigilancia y
Control en Salud Pública

HERNÁN QUIJADA BONILLA
Subdirector de Análisis del Riesgo y Respuesta Inmediata

IVÁN CAMILO SÁNCHEZ BARRERA
Coordinador de Grupo de Evaluación de Riesgos en
Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

REVISION DE LITERATURA SOBRE PELIGROS BIOLÓGICOS PRESENTES EN AGUA ENVASADA

Instituto Nacional de Salud (INS)
Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas.

ISSN: 2422-0965

Para citar: Instituto Nacional de Salud, Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas. Revisión de literatura sobre peligros biológicos presentes en agua envasada. 2017

Todos los derechos reservados. El Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos, autoriza la reproducción y difusión del material contenido en esta publicación para fines educativos y otros fines NO comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, especificando claramente la fuente. El Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos, prohíbe la reproducción del material contenido en esta publicación para venta, reventa u otros fines comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Estas solicitudes deben dirigirse al Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas.

Avenida Calle 26 No 51-20, Bloque B Of. 210 o al correo electrónico eria@ins.gov.co; ERIA 2017

Todos los derechos reservados ©

Colombia, noviembre de 2017

GRUPO DE REDACCIÓN

Marlib Paloma SÁNCHEZ TORRES
Médica Cirujana, MSc. Toxicología

Yuly Andrea GAMBOA MARÍN
Bacterióloga y Laboratorista,
MSc. Microbiología,
Magister en Gerencia de Programas
Sanitarios en Inocuidad de Alimentos

REVISORES CIENTÍFICOS NACIONALES

Carolina CALDERÓN.
Bacterióloga.
Gerencia Latinoamérica y El caribe,
Instructores, Consultores y Auditores IFS.
Miembros y Asociados ONAC

Iván Camilo SÁNCHEZ BARRERA
Ing. Químico,
Especialista y MSc. en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos.

EDITOR

Clara Lucía DELGADO MURILLO
Profesional Especializado
Comunicaciones INS

DIAGRAMACIÓN

María Camila RODRÍGUEZ ROA
Diseñadora

Resumen

La industria del agua embotellada se encuentra creciendo aceleradamente tanto en Colombia como en el mundo. En el país el mercado del agua embotellada creció en un 4% en términos de volumen en el año 2015, debido al incremento en los ingresos disponibles totales, al crecimiento económico continuo y a una tendencia más fuerte hacia el bienestar, el autocuidado y estilos de vida más saludables. Para el año 2014, se encontraban registrados en Colombia 1128 establecimientos envasadores de agua y para el año 2015 se registraron 1760, observándose un aumento del 56.02%. Este crecimiento de la industria impone retos en las entidades que ejercen las funciones de inspección, vigilancia y control, con el fin de asegurar la inocuidad de este producto.

Según datos del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), en el año 2015 se tomaron 120 muestras de agua, de las que 34 fueron rechazadas por aspectos de inocuidad, lo que representa el 28.33%. Adicionalmente, el INVIMA tuvo conocimiento de 645 resultados no conformes por aspectos de inocuidad emitidos por los laboratorios de la Red de Salud Pública y del INVIMA, de estos rechazos 182 estuvieron relacionados con la presencia de Pseudomona aeruginosa en el agua, lo que corresponde al 28.21%. Estos resultados generan preocupación sobre la inocuidad del producto, debido a que en Colombia el agua envasada se consume de forma directa por toda la población y se comercializa de manera masiva.

Teniendo en cuenta la gravedad de la situación, se genera el presente documento, que contiene una revisión sobre Pseudomona aeruginosa como peligro microbiológico presente en el agua envasada. Con la información científica disponible y los datos suministrados por el INVIMA fue posible realizar la identificación y caracterización del peligro, así como emitir algunas recomendaciones y medidas de prevención y control. Se concluye que, aunque la Pseudomona aeruginosa es un microorganismo ubicuo en diferentes ecosistemas terrestres y acuáticos puede ser eliminado durante los diferentes procesos de tratamiento del agua y que su presencia en el producto final es un indicador microbiológico de relevancia.

La autoridad sanitaria debe realizar seguimiento estricto y permanente a los índices microbiológicos estipulados por la normatividad vigente y en caso de incumplimiento tomar las medidas sanitarias correspondientes. Se recomienda a las diferentes plantas de tratamiento implementar un Sistema de Gestión de Inocuidad Alimentaria (SGIA) que garantice la seguridad del agua embotellada para los consumidores, ya que si se llevan a cabo adecuadas prácticas de manufactura y se siguen los principios del sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés) el producto final debe ser aceptable e inocuo desde el punto de vista microbiológico.

Contenido

JUSTIFICACIÓN, TÉRMINOS DE REFERENCIA, ALCANCE Y OBJETIVOS

Justificación del Gestor
Términos de Referencia
Alcance
Objetivo

INTRODUCCIÓN

1. IDENTIFICACIÓN DEL PELIGRO

1.1. Agua Envasada
1.1.1. Características generales
1.1.2. Producción y Consumo Mundial
1.1.3. Producción y Consumo Nacional
1.1.4. Cadena productiva o procesamiento
1.1.5. Otras formas de captación de agua

1.2. Peligros microbiológicos
1.2.1. Características generales
1.2.2. Fuentes de contaminación

1.3. Presencia del peligro en la cadena alimentaria
1.3.1. Presencia durante la producción y almacenamiento
1.3.2. Presencia de microorganismos en el agua embotellada
1.3.3. Métodos para la eliminación de *P. aeruginosa*
1.3.4. Métodos de Detección

2. CARACTERIZACIÓN DEL PELIGRO

2.1. Mecanismo de acción de los agentes microbianos

2.2. Efectos adversos en salud

2.3. Información epidemiológica
2.3.1. Contexto internacional
2.3.2. Contexto nacional

2.4. Reglamentación
2.4.1. Contexto Internacional
2.4.2. Contexto Nacional

Contenido

3. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

3.1. En las plantas embotelladoras

3.2. Para los consumidores

3.3. En el ámbito hospitalario para prevenir y controlar la aparición de brotes

4. CARENCIA DE DATOS Y FUTURAS NECESIDADES DE INVESTIGACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

ACRÓNIMOS, SIGLAS Y ABREVIATURAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Tablas

Tabla 01. Mercado de Agua Envasada en Estados Unidos 16

Tabla 02. Mayores Consumidores de Agua Envasada en el Mundo 17

Tabla 03. Litros de agua embotellada consumidos per cápita durante el año 2014 18

Tabla 04. Ubicación de establecimientos envasadores de agua 19

Tabla 05. Estudios de detección de *P. aeruginosa* y *Salmonella* spp., en agua envasada 37

Tabla 06. Brotes de ETA relacionados con agua que fueron notificados entre 2008 y 2016 47

Tabla 07. Características microbiológicas de las aguas en la Unión Europea 49

Tabla 08. Características fisicoquímicas de las aguas envasadas 52

Tabla 09. Características microbiológicas de aguas envasadas 53

Figuras

Figura 01. Proceso de producción del agua envasada 20

Figura 02. Doce pasos en el procesamiento y control de calidad del agua envasada 27

JUSTIFICACIÓN, TÉRMINOS DE REFERENCIA, ALCANCE Y OBJETIVOS

Justificación del Gestor

En el año 2014 se vigilaban 1128 establecimientos envasadores de agua, en el año 2015 se vigilaron 1760 lo que implica que aumentó en 632 establecimientos envasadores de agua, sugiriendo un crecimiento de este tipo de industria del 56.02%.

En el año 2014 de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) atendidas, el agua envasada estuvo implicada en una de las 20 ETA, el establecimiento nunca había sido objeto de vigilancia y al mismo se le aplicó medida sanitaria de seguridad consistente en clausura general total.

En el año 2015 de las ETA atendidas, el agua envasada estuvo implicada en una de las 69 ETA, sin embargo, este es un dato incierto porque normalmente no se tiene en cuenta este producto en la investigación epidemiológica de campo.

El INVIMA ha realizado en años anteriores planes de verificación microbiológica y fisicoquímica para este tipo de producto:

En el año 2014 se tomaron 117 muestras de las cuales salieron rechazadas 51 lo que representa un 43.59% de la muestras.

En el año 2015 se tomaron 120 muestras de las que salieron rechazadas 34 por aspectos de inocuidad, lo que representa un 28.33% de la muestras.

En el año 2015 el INVIMA tuvo conocimiento de 645 Resultados no conformes por aspectos de Inocuidad emitidos por los Laboratorios de la Red de Salud Pública y el INVIMA, de los que 182 resultados corresponden a rechazos por *Pseudomona* aeruginosa en agua envasada es decir el 28.21%, todos los establecimientos fueron objeto de intervención.

Se tiene interés en la revisión sobre *Pseudomona* debido a que es un producto que normalmente se consume sin ningún tratamiento posterior y es utilizado para preparación de alimentos para bebes (teteros) o consumo directo de personas inmunodeprimidas como enfermos de VIH, madres gestantes, adultos mayores, etc.

Términos de Referencia

TOR 1. ¿Cuál es la peligrosidad en salud pública de la presencia de *Pseudomona* aeruginosa en agua envasada en Colombia y en otros países?

TOR 2. ¿Existe experiencia de otros países en relación con el proceso de producción de agua envasada y la presencia de *Pseudomona* aeruginosa en el producto final?

TOR 3. ¿Qué normatividad existe a nivel internacional en cuanto a parámetros microbiológicos en agua envasada?

TOR 4. ¿Qué nuevos métodos de captación de agua se han reportado para agua envasada?

Alcance

El presente documento es una revisión de literatura que recopila información científica nacional e internacional sobre la presencia de *Pseudomona* aeruginosa en agua potable tratada envasada o en agua mineral o de manantial para el consumo de la población general.

Objetivo

Consolidar información técnica y científica que permita dar respuesta a los interrogantes definidos por el gestor de riesgo (INVIMA) en relación con peligros y efectos en salud por la presencia de *Pseudomona* aeruginosa en las aguas potables tratadas que se obtengan, envasen, transporten y comercialicen en el territorio nacional con destino al consumo humano y que deben cumplir con las condiciones sanitarias que se fijan en la Resolución 12186 de 1991 y las aguas minerales o de manantial.

INTRODUCCIÓN

El agua embotellada hace referencia a las aguas potables tratadas que se obtengan, envasen, transporten y comercialicen en el territorio nacional con destino al consumo humano, que deben cumplir con las condiciones sanitarias que se fijan en la Resolución 12186 de 1991 y a las aguas minerales o de manantial.

La popularidad del agua envasada puede explicarse por varios factores, uno de los más relevantes es la creencia generalizada de que el agua embotellada es más segura para tomar que el agua del grifo, muchos consumidores consideran que el agua comercializada es mejor con respecto a los índices microbiológicos y por lo tanto más saludable, siendo recomendada especialmente para personas mayores, personas con alteración del sistema inmunológico, mujeres embarazadas y niños (Falcone-Dias, Vaz-Moreira, and Manaia 2012). También es comúnmente utilizada para preparar alimentos para bebés, irrigar heridas y enjuagar lentes de contacto en situaciones de emergencia. Sin embargo, en la literatura se ha descrito el rápido crecimiento de microorganismos en muestras de agua embotellada tomadas después del proceso de embotellado, por lo que el producto final no es estéril (Diduch, Polkowska, and Namiesnik 2016).

El atractivo y popularidad del agua embotellada para los consumidores también puede atribuirse a su versatilidad, que la hace apta para el consumo a cualquier hora del día y en casi cualquier entorno o situación, toda vez que no tiene necesariamente que mantenerse fría o helada (como las bebidas gaseosas, los refrescos o zumos de fruta) o caliente (como el café o el té convencionales). Los variados tipos de empaque, que van desde múltiples a una sola porción facilitan diferentes tipos de usos en comparación con otras bebidas comerciales listas para consumir. En medio de preocupaciones acerca de enfermedades como la obesidad y otras cuestiones de salud, la ausencia de calorías e ingredientes artificiales en el agua embotellada atrae a consumidores conscientes, incluso cuando el agua del grifo puede ser de forma segura potable, muchas personas prefieren el agua embotellada, que consideran superior en sabor, la fácil disponibilidad de agua envasada dondequiera que se vendan bebidas también marca una diferencia crucial entre el agua embotellada y del grifo (IBWA 2016).

La industria de agua embotellada ha cobrado importancia al alejar a los consumidores de otras bebidas envasadas, percibidas como menos saludables. Mientras algunos consumidores cambiaron las bebidas carbonatadas con contenido regular de calorías por sus versiones de dieta, muchos otros hicieron la transición al agua embotellada. Además, cuando se incrementó la prevención sobre los edulcorantes, se disminuyó el volumen de consumo de bebidas regulares y de dieta y se incrementó el de agua embotellada. Finalmente, otro factor que hace del agua embotellada una bebida popular en su costo, ya que es una alternativa económica en el mercado (IBWA 2016). El propósito principal de este documento es evaluar la idoneidad de los requisitos microbiológicos existentes para este tipo de productos en el contexto de la protección de la salud de los consumidores.

1. IDENTIFICACIÓN DEL PELIGRO

1.1. Agua Envasada

1.1.1. Características generales

El agua envasada es cualquier agua potable que sea manufacturada, distribuida y comercializada, es agua que se destina al consumo humano y que se envasa en botellas de grado alimentario u otros recipientes sin ingredientes añadidos, excepto agentes antimicrobianos adecuados y seguros que pueden ser añadidos opcionalmente. El agua embotellada puede ser utilizada como ingrediente de otras bebidas (jugos y agua saborizada). No se incluyen los siguientes ingredientes alimentarios que se declaran en el etiquetado como "agua", "agua carbonatada", "agua desinfectada", "agua filtrada", "agua mineral", "agua de soda", "agua con gas", y " agua tónica". (FDA 2015).

Las fuentes aprobadas de agua embotellada pueden ser manantiales, sistemas municipales, u otras fuentes que hayan sido inspeccionadas y analizadas y se consideren seguras y de alta calidad sanitaria, con o sin tratamiento. El agua puede ser sometida a una serie de tratamientos, tales como la destilación, la carbonatación, la ozonización y la filtración. En general el tratamiento de la fuente de agua depende de la calidad de la fuente, del tipo de agua que está siendo manufacturada y de la localización (D. Warburton *et al.* 1998), siendo aplicables los procesos de potabilización de agua, con el fin de disminuir la presencia de peligros físicos, químicos y microbiológicos.

En cuanto a la nomenclatura, el nombre del alimento es agua embotellada. Alternativamente, se pueden utilizar los siguientes términos:

- Agua Subterránea: agua de una zona saturada del subsuelo que se encuentra bajo una presión igual a o mayor a la presión atmosférica. El agua subterránea no debe estar bajo la influencia directa de las aguas superficiales (Directiva 2009/54/EC).
- Agua Mineral: agua que contiene no menos de 250 ppm de sólidos disueltos totales (TDS, por sus siglas en inglés), que provienen de una o más perforaciones o manantiales, que proceden de una fuente de agua subterránea protegida geológica y físicamente. El agua mineral se distingue de otros tipos de agua por su nivel constante y proporciones relativas de minerales y oligoelementos en el punto de salida de la fuente, teniendo en cuenta los ciclos y fluctuaciones naturales. No pueden añadirse minerales a este tipo de agua. Si el contenido de TDS está por debajo de las 500 ppm se denominará agua de bajo contenido mineral y si es mayor de 1.500 ppm será agua de alto contenido mineral (Directiva 2009/54/EC).
- Agua Mineral Natural: agua microbiológicamente pura que tenga su origen en una capa freática o yacimiento subterráneo y que brote de un manantial en uno o varios puntos de alumbramiento naturales o perforados (Directiva 2009/54/EC).
- Agua Purificada: agua que ha sido producida por destilación, deionización, ósmosis inversa, u otros procesos afines.

- Agua de Manantial: el agua de manantial se tomará solamente del manantial o a través de una perforación que aproveche la formación subterránea que alimenta el manantial. Debe existir una fuente natural que haga que el agua fluya a la superficie a través de un orificio natural, la ubicación del manantial debe ser identificada. El agua de manantial recogida con el uso de una fuerza externa deberá ser del mismo estrato subterráneo que la del manantial, lo cual debe ser demostrado mediante una conexión hidráulica medible que utilice un método hidrogeológico válido entre el orificio y el manantial natural. Adicionalmente, deberá tener las mismas propiedades físicas, antes del tratamiento, y ser de la misma composición y calidad, que el agua que fluye de forma natural a la superficie de la tierra. Si el agua de manantial se recoge mediante el uso de una fuerza externa, el agua debe continuar fluyendo naturalmente a la superficie de la tierra a través del orificio natural del manantial (Directiva 2009/54/EC).
- Agua potable envasada embotellada: agua utilizada para llenar recipientes herméticamente cerrados, de materiales, formas y capacidades diversos, y que es inocua y apta para el consumo directo sin que sea necesario un tratamiento ulterior. El agua potable embotellada se considera un alimento. Las expresiones "de beber" y "potable" se usan indistintamente con respecto al agua.
- Aguas destinadas al consumo humano: todas las aguas, ya sea en su estado original, ya sea después de tratamiento, para beber, cocinar, preparar alimentos u otros usos domésticos, sea cual fuere su origen e independientemente de que se suministren a través de una red de distribución, a partir de una cisterna o envasadas en botellas u otros recipientes (Directiva 2009/54/EC).

El agua purificada embotellada, no es solamente agua potable embotellada, una vez que la fuente de agua municipal entra en la planta de agua embotellada, se emplean varios procesos para asegurar que cumple con los estándares de pureza y condiciones de esterilidad. Estos tratamientos pueden incluir la ozonización, ósmosis inversa, destilación y deionización. El producto final se coloca a continuación en una botella bajo condiciones sanitarias y se vende para el consumidor (IBWA 2016).

1.1.2. Producción y Consumo Mundial

En Estados Unidos, para el 2014 el volumen de consumo de agua envasada alcanzó 11 billones de galones, presentando un aumento del 7,4% con respecto al año 2013, siendo la segunda bebida con mayor consumo por volumen después de las bebidas carbonatadas, demostrando una clara propensión a la expansión, dejando atrás los descensos experimentados por la industria durante la recesión económica en 2008 y 2009. Sin embargo, el consumo de agua embotellada es aproximadamente la mitad de las bebidas gaseosas y supera ligeramente el consumo de leche y cerveza, aunque se ha venido observado un continuado aumento del consumo per cápita, los ingresos por ventas para el mercado de agua embotellada en EE.UU. en 2014 fueron de $13 mil millones en dólares, con un aumento del 6,1% con respecto al año anterior.

Tabla 1-1. Mercado de Agua Envasada en Estados Unidos

Mercado de Agua Envasada en Estados Unidos				
Ingresos y Volúmenes de Producción 2012-2014	Millones de Galones	% Anual de Cambio	Millones de Dólares	% Anual de Cambio
2012	9,675.2	6.2%	$11,816.1	6.7%
2013	10,131.3	4.7%	$12,286.7	4.0%
2014	10,874.8	7.3%	$13,068.6	6.4%

Fuente: análisis equipo de trabajo ERIA

Los estadounidenses incrementaron el consumo anual de agua mineral en casi 11 galones, pasaron de 23.2 galones por persona en 2004 a 34 galones en 2014, una década más tarde. Estos cambios en el consumo per cápita indican entusiasmo por un producto que los consumidores consideran una alternativa saludable a otras bebidas (Rodwan 2014). Por categorías, el agua sin gas regularmente representa el mayor segmento de la industria en Estados Unidos, los 10.4 billones de galones consumidos de agua sin gas representaron el 96% del total del volumen del 2014. El agua embotellada surgió como un fenómeno en la industria de bebidas no sólo en los Estados Unidos, si no virtualmente en todas las regiones geográficas industrializadas en el mundo.

Tabla 1-2. Mayores Consumidores de Agua Envasada en el Mundo

Mercado Global de Agua Embotellada Países Líderes en Consumo y Tasas de Crecimiento Anual del Compuesto 2009-2014				
2014		Millones de Galones		TCAC*
Rango	País	2009	2014	2009/14
1	China	5,692.3	11,459.0	15.0%
2	Estados Unidos	8,453.1	10,874.8	5.2%
3	México	6,891.6	8,645.3	4.6%
4	Indonesia	2,940.5	5,306.5	12.5%
5	Brasil	4,255.3	5,151.3	3.9%
6	Tailandia	1,743.3	4,375.5	20.2%
7	Italia	2,949.1	3,241.2	1.9%
8	Alemania	2,842.5	3,226.9	2.6%
9	Francia	2,165.2	2,410.6	2.2%
10	India	1,111.5	2,068.7	13.2%
Subtotal		39,044.5	56,759.9	7.8%
Subtotal Otros Países		14,513.4	17,947.9	4.3%
TOTAL MUNDIAL		53,557.9	74,707.9	6.9%

*TCAC: Tasa de crecimiento anual del compuesto.

Tomado de: Rodwan, 2014

En cuanto al consumo de agua embotellada en América Latina se cuenta con información proviene de las ventas en supermercados, tiendas y almacenes, por lo que no se incluyen las compras en bares o restaurantes. América Latina es una región con amplias reservas de agua dulce que están bien distribuidas; por lo tanto son muy pocos los países que necesitan importar grandes cantidades de agua embotellada. México lideró en 2014 el consumo de agua embotellada en Latinoamérica con un registro de 163,5 L per cápita (America Economía 2014).

Tabla 1-3. Litros de agua embotellada consumidos per cápita durante el año 2014

Litros de Agua Embotellada per Cápita Consumidos en los Países Latinoamericanos 2014	
País	Litros
México	163.5
Guatemala	120.1
República Dominicana	119.7
Argentina	113.8
Uruguay	70.6
Ecuador	39.9
Brasil	34.3
Chile	23.7
Venezuela	20.2
Colombia	18.6
Perú	16.9
Costa Rica	14.1
Bolivia	6.9

Fuente: Euro monitor

En Inglaterra, según Zenith Internacional la producción de agua embotellada para el 2015 fue de 2.246 millones de litros y el consumo fue de 2.141 millones de litros; como país, se consume más agua embotellada que jugos/néctares de frutas, vino o licores. En el Reino Unido el consumo de agua embotellada superó los 44 litros por persona en 2015, este crecimiento a largo plazo del consumo de agua embotellada es una muestra, tal vez, de la aceptación de la premisa de beber ocho vasos de agua al día para una óptima salud. En cuanto a los tipos de agua embotellada, el agua mineral natural representa el 60% del mercado, el agua de manantial el 33%, las aguas envasadas (es decir, la llamada "agua de mesa") representan el 5% y el agua purificada el 2% del total del mercado (Gomescaseres *et al.* 2001; Zenith International 2016).

1.1.3. Producción y Consumo Nacional

En Colombia el agua envasada es un producto utilizado para consumo directo por todos los tipos de población, en el país se comercializa de manera masiva y siempre se comercializa embotellada. Según la información suministrada por el INVIMA, se presenta a continuación información de las envasadoras de agua que son vigiladas en el país.

Tabla 1-4: Ubicación de establecimientos envasadores de agua vigiladas por el INVIMA a 31 enero de 2016

Grupo de trabajo Territorial	Número de establecimientos	%
CO1	172	9,77%
CO2	309	17,56%
CO3	146	8,30%
CC1	193	10,97%
CC2	214	12,16%
OCC1	211	11,99%
OCC2	200	11,36%
Eje Cafetero	18	1,02%
Orinoquía	240	13,64%
Nariño	57	3,24%
TOTAL	1760	100,00%

CO3: Centro Oriente 3; CC1: Costa Caribe 1; CC2: Costa Caribe 2, OCC1: Occidente 1, OCC2: Occidente 2. Fuente: Base de Datos Censo Fábricas de Alimentos Dirección Operaciones Sanitarias

Según la Encuesta Anual Manufacturera, en el año 2014 la producción de agua purificada en Colombia fue de 991.477.078 L, siendo la segunda bebida no alcohólica con mayor producción después de las bebidas gaseosas que alcanzaron los 3.182.344.476 L. Se vendieron 898.764.187 L de agua envasada. El valor total de producción fue de 560.402.257 millones de pesos y el valor total de ventas fue 492.851.489 millones de pesos.

En cuanto al mercado del agua embotellada en Colombia, según Euro Monitor International, este creció un 4% en términos de volumen en 2015, debido probablemente al incremento en los ingresos disponibles totales, al crecimiento económico continuo en el país, y a una tendencia más fuerte hacia el bienestar, el autocuidado y estilos de vida más saludables. En 2014 y 2015, FEMSA fue el líder en el mercado con valor de las acciones del 48%, impulsado por las marcas, Brisa y Manantial. La compañía cuenta con una red de distribución bien establecida que le permite llegar a una amplia base de consumidores que frecuentan las tiendas minoristas de comestibles tradicionales. Además, la firma fue el único gran jugador en cuanto al agua embotellada con gas y sin gas en 2015, con participaciones en las acciones del 87% y 96%, respectivamente (Euromonitor International 2016).

1.1.4. Cadena productiva o procesamiento

Las diferentes empresas realizan el embotellado en diversos tipos de envases que pueden ser o no reciclados y que deben tener sistema de sellado hermético. En algunos casos se realiza almacenamiento y luego se realiza la distribución. Es un producto que se almacena y distribuye a temperatura ambiente y en la venta final en algunos casos se refrigera. Existe un gran contraste entre los equipos, procesos y tecnología de punta utilizada por las grandes empresas y las plantas artesanales de las pequeñas embotelladoras, es una industria que requiere una baja inversión. En términos generales el proceso productivo de aguas envasadas se presenta en el siguiente gráfico:

Figura 1-1: Proceso de producción del agua envasada



Fuente: INVIMA

La captación o toma del agua en el país se realiza de diferentes fuentes como son: acueductos municipales o veredales, pozos profundos y de aguas superficiales como ríos quebradas o manantiales. Las demás etapas de tratamiento son definidas por la empresa y dependen de la caracterización de la fuente; lo que está definido es que se cumpla con los parámetros establecidos en la Resolución 12186 de 1991 conforme al Artículo 4. Con base en lo estipulado en la normatividad vigente, se identifican los siguientes puntos críticos para la vigilancia y el control sanitario:

- Plantas
- Depósitos
- Vehículos

Las acciones de inspección vigilancia y control (IVC), son realizadas por profesionales y técnicos que trabajan en la línea de intervención de atención al ambiente y deben actuar sobre cuatro factores de riesgo en cada punto crítico a través de visitas de IVC. La información anteriormente descrita fue suministrada por el INVIMA. En la industria de agua embotellada el proceso de fabricación es relativamente simple, lo que significa que no requiere procesos de transformación complejos, los impactos considerados en la fase de fabricación se relacionan principalmente con la energía requerida durante el proceso de producción a nivel de la fábrica. El proceso de fabricación puede incluir los siguientes pasos (Nestlé Waters 2016).

Recolección: el agua se recolecta a través de tuberías de acero inoxidable, bien sea proveniente de un pozo local o agua del suministro municipal. Las pruebas de calidad de la fuente original se deben llevar a cabo periódicamente para monitorear y detectar anomalías. Algunas embotelladoras almacenan el agua en tanques donde le realizan un tratamiento inicial con hipoclorito de sodio (NaClO), para impedir la formación de microorganismos, el agua debe permanecer en esta etapa mínimo 2 horas.

1. Cloración: los agentes clorados se utilizan en todo el mundo para la desinfección del agua en general, debido a que son bactericidas económicos e inactivan todos los tipos de células vegetativas mediante la destrucción selectiva de ciertos sistemas enzimáticos intracelulares. Sin embargo, estos agentes tienen varias desventajas, pueden ser irritantes en altas concentraciones, pueden generar la formación de compuestos carcinogénicos y mutagénicos y además existen serias consecuencias si se liberan en el medio ambiente. El cloro puede reaccionar con compuestos orgánicos y formar subproductos tóxicos (trihalometanos y ácidos haloacéticos) que pueden ser residuales en el agua causando exposición de los seres humanos y afectar las especies nativas terrestres y acuáticas.

2. Filtración:
   a. Filtros de arena: mediante el uso de bombas, el agua pasa a través de filtros de arena para detener los sólidos en suspensión o partículas de mayor tamaño.
   b. Filtración con carbón activado: este paso generalmente se realiza cuando el agua se origina a partir de un sistema de agua potable municipal o público, se lleva a cabo para eliminar los olores y sabores presentes en el agua producidos por la materia orgánica y el cloro presente y consiste en la eliminación de átomos de cloro y THMs (trihalometanos) a través de un proceso diario supervisado de filtración con carbón activado.

3. Proceso de desmineralización: un "ablandador" de agua se usa para reducir el grado de dureza del agua. La desmineralización elimina los minerales no deseados (a través de ósmosis inversa o destilación).

4. Almacenamiento y supervisión del agua: el agua recibida en los tanques de almacenamiento se controla a diario.

5. Proceso de remineralización: este proceso se realiza sólo en agua mineral, se añaden minerales seleccionados para satisfacer los gustos y preferencias de los consumidores en los países donde la legislación lo permite.

6. Micro filtración: el agua es conducida a los filtros pulidores que son elementos de cartuchos sintéticos con microperforaciones que retienen cualquier partícula de carbón presente en el agua. Es un proceso de microfiltración grado farmacéutico, que elimina partículas tan pequeñas como 0,2 micras. También es capaz de eliminar los posibles contaminantes microbiológicos. Este paso puede ser controlado sobre una base horaria.

7. Desinfección con luz ultravioleta: la radiación ultravioleta tiene un efecto complejo sobre las bacterias Gram negativas, la luz ultravioleta (UV) induce estrés nutricional, daño celular en las bacterias, alteración en la función e integridad de la membrana celular, lo que aumenta la susceptibilidad a los cambios osmóticos y daño en el ADN (Fernández and Pizarro 1999). De los componentes celulares que absorben energía en el rango de luz UV las flavoproteínas y los citocromos de la cadena respiratoria parecen ser los cromóforos que participan en la muerte celular, los componentes dañados de la cadena respiratoria producen peróxido de hidrógeno y el anión superóxido, estos

compuestos generan a su vez el radical hidroxilo, que es probablemente el intermediario principal en la inducción de daño oxidativo.

Otro efecto adverso es el daño en el ADN, durante mucho tiempo se consideró que este efecto era el que conducía a la muerte celular, pero recientemente se ha propuesto como un mecanismo alternativo el agotamiento de la energía debido a la inactivación de la cadena respiratoria (Oppezzo, Costa, and Pizarro 2015). Para realizar la desinfección se hace pasar el agua a través de una lámpara UV que inhibe la capacidad de reproducción de las bacterias. La filtración UV proporciona una desinfección adicional del producto, esto puede ser controlado sobre una base horaria.

8. Desinfección con Ozono: la ozonización es un proceso eficiente para eliminar contaminantes orgánicos y también para reducir o inactivar agentes patógenos a través de la producción in situ de radicales altamente reactivos que tienen propiedades bactericidas, el ozono destruye microorganismos por la oxidación progresiva de los componentes celulares vitales: las glicoproteínas y glicolípidos de la membrana bacteriana, los grupos sulfidrilo y aminoácidos de las enzimas, péptidos, proteínas y los ácidos grasos poliinsaturados, lo que causa aumento en la permeabilidad de la membrana y finalmente la lisis celular; la muerte celular también puede ocurrir debido a la potente destrucción y el daño de los ácidos nucleicos, la timina es más sensible al ozono que la adenina, guanina y citosina.

   El objetivo de utilizar la ozonificación es mantener el agua en un estado de pureza e impedir la formación de microrganismos que contaminen el agua. Los efectos bactericidas del ozono han sido documentados en bacterias Gram positivas, Gram negativas, esporas y células vegetativas (Guzel-Seydim, Greene, and Seydim 2004). En un estudio que evaluó la abundancia de marcadores genéticos específicos para bacterias oportunistas realizando la cuantificación antes y después del tratamiento con ozono, se evidenció reducción de hasta un 60% en la población *P. aeruginosa* en los análisis de biología molecular después del tratamiento con ozono. La población de bacterias sobreviviente se caracteriza por un contenido del nucleótido guanina más alto en el ADN genómico, que como se ha descrito, es menos reactivo al tratamiento con ozono comparado con el ADN rico en timina (Alexander *et al.* 2016). Esta fase puede ser controlada sobre una base horaria y una vez finalizada, el agua pasa por un tanque pulmón antes de entrar en la llenadora y comenzar el proceso de embotellado.

9. Embotellado: la sala de embotellado debe ser altamente higiénica para asegurar que el envasado se lleve a cabo en un ambiente controlado microbiológicamente. Los envases deben pasar a través de una enjuagadora para garantizar su limpieza antes de entrar a la llenadora, una vez el envase es ubicado bajo la válvula respectiva es llenado, luego pasa a la taponadora que coloca una tapa en la boca del envase que se ajusta para conseguir completo sellado, evitando que se derrame el contenido e ingresen elementos contaminantes. Durante el proceso de llenado, tapado o sellado de los contenedores, el rendimiento de la taponadora o sellador deberá ser monitoreado y los recipientes llenos inspeccionados visual o electrónicamente para asegurar que estén bien tapados o sellados, si es así se pasará al proceso de codificado y etiquetado.

10. Empaque: las botellas son llevadas al codificado de envases para registrar el lote y la fecha de caducidad del producto. En la fase final de embalaje se puede utilizar una caja o película plástica que es ajustada en un túnel de termoencogido. El aseguramiento de la calidad del empaquetado se realiza mediante inspección humana y en algunos casos mediante equipos modernos diseñados para asegurar la eliminación de cualquier defecto de embalaje.

11. El saneamiento en la línea de producción: puede incluir equipos de limpieza automatizados para garantizar máxima limpieza, eficacia y control. Sin embargo, en el caso de *P. aeruginosa* es necesario tener en cuenta la capacidad que tiene para formar biopelículas, proliferando y acumulándose en la matriz donde es frecuente que el microorganismo se vuelva resistente a la acción de desinfectantes. Se realizó un estudio para probar el poder de desinfección del ozono y el cloro contra bacterias productoras de biopelículas, específicamente en acero inoxidable. Las superficies fueron expuestas a ozono (0.6 ppm por 10 minutos) y cloro (100 ppm por 2 minutos), los resultados indicaron que tanto el ozono como el cloro redujeron significativamente las bacterias formadoras de biopelícula que se adhieren a las superficies de acero inoxidable en comparación con el control (Dosti, Guzel-Seydim, and Greene 2005).

12. Almacenamiento del producto terminado, distribución y comercialización.

13. Otras consideraciones: muestras de agua del producto pueden ser tomadas y analizadas por la planta al finalizar la elaboración y antes del embotellado, con la frecuencia que se considere necesaria para asegurar la uniformidad y eficacia de los procesos realizados. Cuando se toman muestras al inicio del proceso se pueden obtener los recuentos significativos de bacterias que se suceden en la fuente de agua, en este caso se podría detectar el número real de bacterias que entran a la cadena y realizar la evaluación de su importancia. Por otro lado, si en el muestreo inicial no se evidencia riesgo microbiológico, pero se encuentran aislamientos positivos en cualquier otro punto del proceso o en el producto final, esto podría ser atribuido a contaminación en las líneas de proceso, tuberías y filtros.

14. Equipos: Se debe llevar un registro con la fecha y el tipo de inspección realizada de los equipos, las condiciones en que se encuentran, y el rendimiento y la eficacia de los mismos.

1.1.5. Otras formas de captación de agua

La desalinización parece ser una de las soluciones para la escasez de agua dulce en el mundo, entre los procesos de desalinización para la producción de agua potable se encuentran la destilación y los procesos que utilizan membranas como la osmosis inversa (OI), la nanofiltración (NF) y la electrodiálisis (ED). Sin embargo, es el proceso de OI el que ha surgido como líder y se considera clave para aumentar el suministro y la producción de agua potable en todo el mundo, haciendo que el uso de este tipo de tecnología se haya incrementado en los últimos años. La OI es un proceso eficiente y fiable, los materiales han mejorado y los costos han disminuido, esta tecnología puede producir agua dulce a partir de agua de mar a la mitad o a un tercio del costo de la destilación, actualmente las membranas de OI son la principal tecnología para nuevas instalaciones de desalinización, y se aplican a diferentes tipos de fuentes de agua salada usando pretratamiento y diseño de sistemas de membrana (Greenlee *et al.* 2009).

La OI permite la separación de sales y moléculas de agua a través de una membrana semipermeable gracias a un gradiente de presión. El material polimérico de las membranas de OI crea una estructura en forma de banda estratificada, y el agua debe seguir una trayectoria tortuosa a través de la membrana para alcanzar el lado del permeado, las membranas de OI pueden atrapar contaminantes de tamaño pequeño y iones monovalentes, mientras que otras membranas, incluyendo las de NF, ultrafiltración (UF) y microfiltración (MF), están diseñadas para eliminar materiales de mayor tamaño. Las membranas pueden utilizarse en puntos muertos y en sistemas en contra flujo. Las membranas para OI usualmente funcionan en contra flujo y están organizadas como módulos enrollados en espiral, donde las hojas

de la membrana se encuentran alrededor de un tubo interno que recoge el permeado. La mayoría de procesos permiten la filtración por el flujo a través de poros, donde el fluido es forzado mediante presión hidrostática positiva, el flujo del fluido a través de las membranas también se produce por difusión. En el modelo de solución-difusión, el transporte de agua a través de una membrana de OI se produce en tres etapas: i) absorción en la superficie de la membrana, ii) difusión a través del espesor de la membrana y iii) desorción desde la superficie permeada de la membrana. Una vez que la molécula de agua se ha absorbido en la superficie de la membrana, el gradiente de concentración de agua (del sistema agua-membrana) a través de la membrana hace que las moléculas difundan hacia el lado permeado (Greenlee *et al.* 2009).

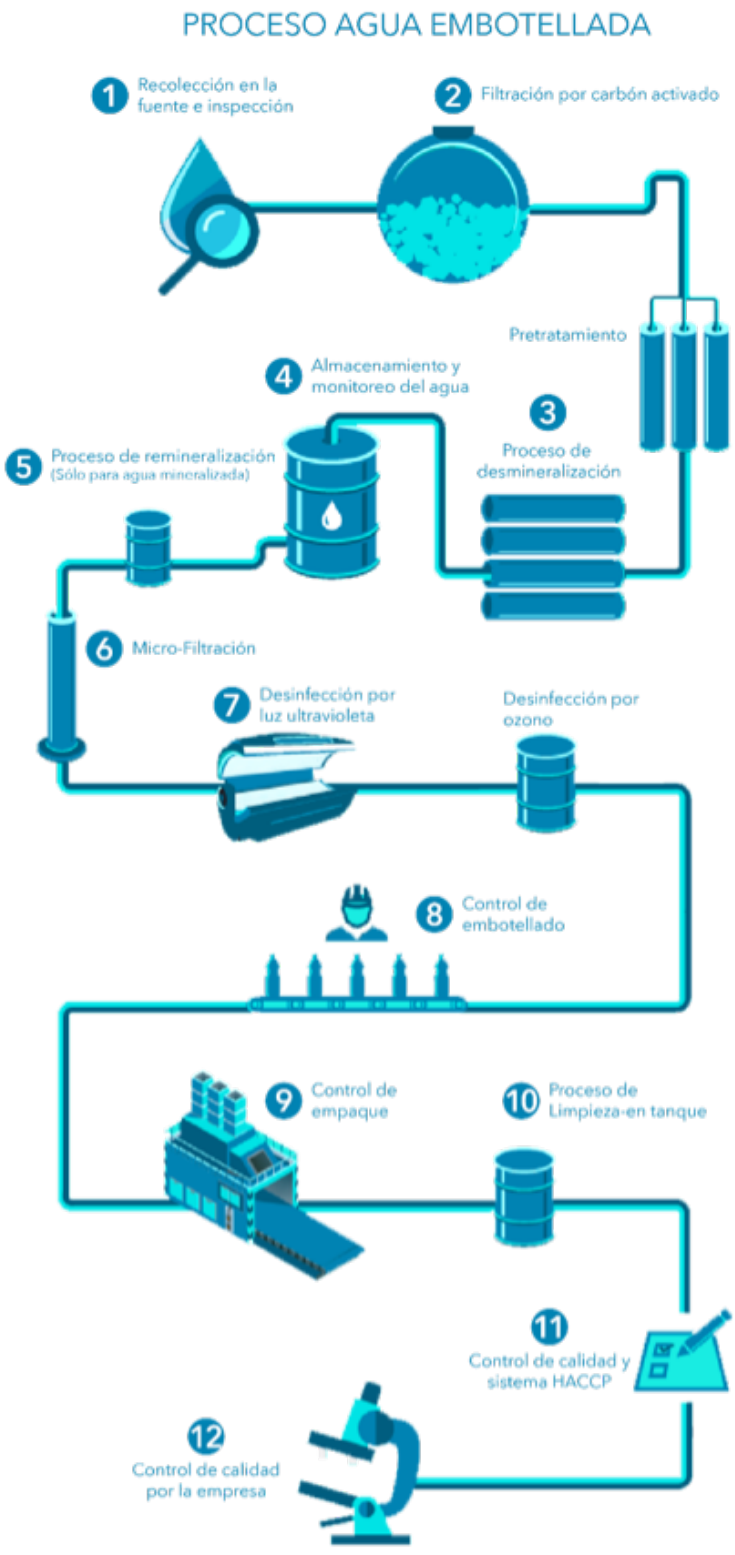
Para la desalinización de agua de mar es importante el pre-tratamiento (antes de la membrana de OI) para mantener el rendimiento en términos del flujo del permeado y la tasa de retención y también para aumentar el ciclo de vida de la membrana, que es especialmente sensible a los residuos biológicos. Las bacterias que se encuentran en el agua salada pueden adherirse a la superficie de la membrana de OI, donde se acumulan y crecen gracias a nutrientes como el carbono orgánico disuelto y a la formación de biopelículas. Una estrategia para disminuir los residuos biológicos es remover los nutrientes y precursores mediante la selección de una ruta de pre-tratamiento adecuada antes de la OI, esto es esencial para mejorar la productividad de la desalinización (reduciendo la necesidad de limpieza química que afecta el tiempo de vida de la membrana) y también para reducir los impactos ambientales de la ruta global de desalinización (liberación de productos químicos, disposición de módulos usados).

Usualmente, se utiliza la UF, que es un proceso de separación física que utiliza un gradiente de baja presión a través de una membrana con poros de alrededor de 0.01 mm. La principal ventaja de la UF es que intensifica la planta y produce un permeado de calidad consistente independientemente de la condición inicial del agua, este proceso permite en particular eliminar coloides, partículas y microorganismos. Sin embargo, la UF sola puede no ser lo suficientemente eficaz para eliminar el carbono orgánico y partículas de bajo peso molecular. Los pasos adicionales que podrían integrarse en el proceso, como por ejemplo una fase de adsorción continúan siendo evaluados y estudiados (Monnot *et al.* 2016).

La OI es la tecnología líder en nuevas plantas de gran escala (con una capacidad mayor 1000 m3 d-1) y la integración de la OI en el tratamiento del agua salada continua desarrollándose, se busca intensificar y mejorar el proceso con el objetivo de disminuir el tamaño de los equipos y el consumo de energía, mejorar la eficiencia de las plantas y la seguridad, reducir los costos y minimizar la generación de residuos y el impacto ambiental. La utilización de la tecnología de OI contribuye a lograr estos objetivos. Este tipo de tecnología puede ser aplicada también en plantas de desalinización descentralizadas comunitarias, que son plantas pequeñas destinadas a satisfacer las necesidades de comunidades remotas localizadas en áreas cercanas al mar, estas plantas deben ser lo más autónomas posible, tener bajos costos de operación y utilizar fuentes de energía renovables, para superar la escasez de agua en regiones costeras (Monnot *et al.* 2016).

Muchos países han comenzado a utilizar la desalinización para la producción de agua potable, pero ninguna otra región del mundo la ha implementado en la escala del Medio Oriente, seguido por España que utiliza la desalinización desde 1964 para abastecer de agua potable las Islas Canarias y Baleares, así como la Costa Meridional y Oriental, otro país que ha implementado esta tecnología en Europa es Italia. España e Italia poseen la mayoría de la capacidad europea de desalinización, cada una con un 2,6% de la de producción mundial, Japón posee el 3,7% y ha estado empleando la OI desde 1974. Este tipo de plantas se han establecido para la producción de agua potable (Greenlee *et al.* 2009).

Figura 1-2. Doce pasos en el procesamiento y control de calidad del agua envasada



Fuente: Tomado de Nestlé, 2016

1.2. Peligros microbiológicos

1.2.1. Características generales

Debido al incremento en el consumo de agua envasada en la última década, se ha generado una creciente preocupación sobre la calidad microbiológica de este producto, que como cualquier otro en la industria de alimentos debe ser procesado, empacado, trasportado y almacenado de una manera segura desde el punto de vista sanitario y ser apropiadamente etiquetado. Como la mayoría de los alimentos, las aguas embotelladas no son estériles y pueden contener bacterias de origen natural, así como otras introducidas durante la fabricación y la manipulación del consumidor. A. hydrophila, *P. aeruginosa*, *Salmonella* y coliformes son indicadores de falencias en las buenas prácticas de manufactura. A. hydrophila y *P. aeruginosa* son patógenos oportunistas que han estado implicados en enfermedades transmitidas por agua y alimentos (Güler 2007; D. Warburton *et al.* 1998).

Las especies pertenecientes al género *Salmonella*, poseen antígenos somáticos (O), que son lipolisacaridos, y flagelares (H) que son proteínas; es el grupo más complejo de Enterobacteriaceae, con más de 2.200 serotipos descritos en el esquema de Kauffman-White; de acuerdo con este esquema se agrupan (A, B, C y siguientes) sobre la base del antígeno somático O y se subdividen en serogrupos (1, 2 y siguientes) por su antígeno flagelar H (es decir, A1 A2, B1, B2) (Koneman *et al.* 2004). Más de 1.400 serotipos clasificados dentro del grupo I de hibridación del DNA puede infectar a humanos (Brooks, Butel, and Morse 2005).

Los miembros de la familia *Pseudomona*daceae son bacilos gramnegativos rectos o ligeramente curvos, aerobios estrictos, la mayoría de las cepas son móviles, por medio de uno o más flagelos polares; algunos producen pigmentos hidrosolubles y se distribuyen ampliamente en suelo, plantas, agua y animales. *P. aeruginosa* es la especie que se recupera con mayor frecuencia de las muestras clínicas, siendo el principal patógeno del grupo (Brooks, Butel, and Morse 2005; Koneman *et al.* 2004).

Las bacterias del género *Pseudomona* se encuentran ampliamente distribuidas en diversos ambientes, especialmente en los húmedos y como organismos oportunistas son responsables de infecciones severas. La especie más importante es *P. aeruginosa*, frecuentemente implicada en infecciones que varían en su localización y severidad y van desde superficiales, como la folilculitis, piodermitis, otitis, queratitis, hasta infecciones de la apófisis mastoides y del cráneo en personas diabéticas. La *P. aeruginosa* puede ser al agente etiológico de neumonía en pacientes con neumopatía y mucoviscidosis expuestos a aerosoles de agua contaminada (Legnani *et al.* 1999).

Pseudomona aeruginosa puede sobrevivir en diversos ambientes, temperaturas y una amplia gama de hábitats; asimismo, dado que sus requerimientos nutritivos son escasos crece fácilmente en medios de cultivo habituales, es de fácil identificación en el laboratorio y la determinación de sensibilidad a los antimicrobianos, con excepción de algunos fenotipos (Balasubramanian *et al.* 2013; Fariñas and Martínez-Martínez 2013).

Este bacilo Gram negativo es reconocido por ser uno de los principales agentes causales de neumonía nosocomial, es un patógeno que produce un elevado número de toxinas y tiene en su superficie diversos componentes que lo hacen especialmente virulento comparado con otros microorganismos; entre éstos se incluyen los pili, flagelos, lipopolisacárido y otros productos excretados como exotoxina A, S y U, elastasa, proteasa alcalina, citotoxinas y fosfolipasas (Valles and Mariscal 2016), la formación de

biopelículas y resistencia a los antibióticos. La expresión de estos rasgos está bajo regulación estricta, y que responde a las señales ambientales en gran medida desconocidos (Balasubramanian *et al.* 2013). La formación de biopelículas está bajo el control de un mecanismo de reconocimiento densidad celular llamado quórum sensing que ayuda en la expresión coordinada de genes (Balasubramanian *et al.* 2013).

Una característica particular de la *P. aeruginosa* es la habilidad de crecer en ambientes bajos en nutrientes (oligotrófico). El microorganismo puede crecer en el agua destilada utilizada para diluir medicamentos que se administran por vía intravenosa (Kayser *et al.* 1975). Existen varios estudios que han investigado el crecimiento de *P. aeruginosa* en ambientes acuáticos naturales, en agua potable, y en soluciones salinas especialmente preparadas. Incluso las aguas minerales más cuidadosamente controladas contienen microorganismos autóctonos en la fuente, principalmente bacterias psicrofilas y oligotróficas como Aeromonas, *Pseudomona*s, Xanthomonas y Flavobacterium entre otras. Una vez el agua es embotellada, estas bacterias se multiplican y pueden alcanzar niveles elevados.

1.2.2. Fuentes de contaminación

El agua de manantial contiene una microbiota natural compuesta principalmente por especies de los géneros Achromobacter, Flavobacterium, Alcaligenes, Acinetobacter, Cytophaga, Moraxella y *Pseudomona*s. Si estos microorganismos no se eliminan adecuadamente durante el procesamiento y envasado, la multiplicación bacteriana puede ocurrir entre 1-3 semanas después del embotellado (Tamagnini y González, 1997) citado por (Zamberlan da Silva *et al.* 2008).

Cada fuente de agua mineral tiene un perfil único de población bacteriana (Guillot y Leclerc 1993), citado por (Kerr *et al.* 1999), por lo que los microorganismos presentes en un acuífero pueden producir sustancias antagonistas o estimulantes que influyen en la presencia o ausencia de otros; es así como se debe considerar que en los estudios las fuentes de agua son diferentes, en consecuencia varia la composición y poseen diversas interacciones entre la flora autóctona y los patógenos (Kerr *et al.* 1999).

Algunos factores que pueden afectar la composición de flora incluyen la edad del agua, la geología del acuífero, sus características químicas, tecnología de extracción, tipo y tamaño del envase y almacenamiento después del embotellado (Loy, Beisker, and Meier 2005). El mayor riesgo microbiano del agua es el relacionado con el consumo de agua contaminada con excrementos humanos o animales (OMS 2006). No obstante, cada tipo de agua se caracteriza por un perfil distinto de especies de *Pseudomona* y el mismo genotipo no se ha encontrado en diferentes tipos de agua (Vaz-Moreira, Nunes, and Manaia 2012).

El género *Pseudomona* spp., es uno de los grupos más diversos y ecológicamente significativos; su carácter protrotrofo, versatilidad metabólica y la capacidad de hacer frente a diferentes tipos de estrés favorecen la presencia de este patógeno en los principales medios terrestres y acuáticos naturales; lo que incluye el agua potable (Vaz-Moreira, Nunes, and Manaia 2012). *P. aeruginosa* no es un componente normal de la flora de las aguas minerales naturales. Cuando se detecta, normalmente se encuentra en bajas cantidades; no obstante, puede sobrevivir y multiplicarse en aguas minerales naturales; su presencia se considera un indicador de la contaminación del agua en la fuente o durante el proceso de envasado (Codex Alimentarius 1985), como consecuencia de la colonización del acuífero y la posible capacidad de crecer en el agua potable. Cabe resaltar que de acuerdo con el estudio de Vaz-Moreira 2012 los aislamientos de *Pseudomona* spp. detectados en el agua suministrada al consumidor no correspondían con los de la fuente de agua (Vaz-Moreira, Nunes, y Manaia 2012).

Algunos autores mencionan que hay un efecto sinérgico de *P. aeruginosa* sobre la supervivencia de *Salmonella* en agua (Jeena *et al.* 2006; Nsanze, Babarinde, and Al Kohaly 1999; Stender *et al.* 2000; D. Warburton, Bowen, and Konkle 1994).En cuanto a otros microorganismos estudios como el de Kerr y Cols 1999 evidencian que E. coli O157: H7 puede sobrevivir en agua mineral no carbonatada embotellada durante largos períodos aún con limitación de nutrientes (Kerr *et al.* 1999).

1.3. Presencia del peligro en la cadena alimentaria

A través de diferentes publicaciones se han descrito diversos aspectos de la flora microbiana del agua embotellada y su importancia en salud pública, no obstante se resalta la complejidad de este ecosistema (Hunter 1993; Loy, Beisker, y Meier 2005). La mayoría de los estudios reportados son descriptivos, se basan en el análisis de pocas marcas y han muestreado aguas en diferentes etapas de su extracción y posterior distribución para la venta. De acuerdo con Loy y Cols 2005 no es posible generalizar acerca de la composición de la flora microbiana de las aguas minerales embotelladas (Loy, Beisker, y Meier 2005).

La presencia de coliformes en el agua potable puede sugerir la posible presencia de microorganismos entéricos patógenos tales como *Salmonella* spp., Shigella spp., y Vibrio cholerae; sin embargo, los coliformes son la única contaminación microbiológica que se legisla tanto en el agua de tubería como agua embotellada (Zamberlan da Silva *et al.* 2008). Se ha demostrado que patógenos como E. coli, *Pseudomona* spp. y *Salmonella* spp. sobreviven y se multiplican en el agua embotellada constituyendo un potencial de causar brotes en los consumidores (Hunter 1993; Kerr *et al.* 1999; D. Warburton, Bowen, y Konkle 1994). No obstante, la presencia de *P. aeruginosa* en las plantas embotelladoras de agua puede ser observada cuando se realizan análisis de rutina (Casanovas-Massana, Lucena, y Blanch 2010), por lo anterior, la norma ISO 16266: 2006 proporciona un procedimiento estandarizado para aislar y cuantificar *P. aeruginosa* en el agua (Casanovas-Massana, Lucena, y Blanch 2010).

1.3.1. Presencia durante la producción y almacenamiento

En el agua embotellada, las bacterias pueden provenir de la fuente natural del agua o ingresar durante el procesamiento, en consecuencia estos microorganismos podrían multiplicarse durante el almacenamiento hasta alcanzar dosis infecciosas para los consumidores (Hunter 1993; Rosenberg 2003; D. W. Warburton 2000); durante el proceso de embotellado, los microrganismos pueden ingresar a través de los equipos utilizados para bombear o transportar el agua desde la fuente hasta la planta o durante las etapas del proceso de envasado (Güler 2007; Morais *et al.* 1997). Cabe resaltar que a diferencia del agua potable que fluye a través de tuberías, una vez que el recipiente se llena y es sellado puede permanecer almacenado en los puntos de venta o en el hogar durante semanas o incluso meses (Rosenberg 2003). No obstante, es importante considerar que en el agua embotellada con niveles iniciales bajos de bacterias heterótrofas puede haber cambios leves en los primeros siete meses de almacenamiento (Kokkinakis, Fragkiadakis, y Kokkinaki 2008; Tsai y Yu 1997).

Si bien durante el embotellado se pueden realizar procesos de desinfección, los microorganismos que persistan pueden adherirse al recipiente, multiplicándose a expensas de la materia orgánica disponible; esta condición puede variar entre marcas, dependiendo de la fuente de abastecimiento, aunque en la mayoría de los casos, el nivel de materia orgánica es bajo (Hamilton 1991; Schmidt-Lorenz 1976) citado por (Rosenberg 2003).

En cuanto al tipo de material, algunos estudios señalan que las bacterias generalmente se detectan más frecuentemente en recipientes de plástico que en las botellas de vidrio, dado que este material tiende a ser más permeable al oxígeno externo y vapores extraños; por otra parte la liberación de nutrientes a partir del plástico es también una posibilidad que contribuye a un mayor crecimiento de bacterias (Hunter 1993; Rosenberg 2003), no obstante, aunque el aumento de las bacterias en botellas almacenadas puede estar relacionado con ciertos materiales, otros autores señalan que no hay relación (Criado *et al.* 2005; Hunter 1993) .

Otros factores pueden que pueden intervenir son: i) el agua carbonatada donde la disminución en el pH resultante de la carbonatación actúa para prevenir el crecimiento bacteriano (Rosenberg 2003); ii) la temperatura del almacenamiento puede contribuir con la calidad del agua embotellada (Kokkinakis, Fragkiadakis, and Kokkinaki 2008).

1.3.2. Presencia de microorganismos en el agua embotellada

La presencia de microorganismos en el agua envasada ha sido reportada por diferentes autores. Warburton y Cols en 1986, evaluaron la calidad microbiológica del agua embotellada comercializada en Canadá. Se analizaron 114 muestras de agua embotellada, tanto nacionales como importados, se analizaron para el recuento de colonias aerobias, coliformes, coliformes fecales y *E. coli*. No se encontraron coliformes fecales o *E. coli*. 19 (46%) de los 41 lotes de agua purificada superaron los estándares de recuento de colonias aerobias. Dos lotes, uno de agua mineral nacional y otro de agua importada excedieron las normas para coliformes (D. Warburton *et al.* 1986). Richards y Cols 1992 analizaron 104 muestras, encontrando *P. aeruginosa* en cuatro de ellas (Richards, Stokely, y Hipgrave 1992). Manaia y Cols 1990, también aislaron de *P. aeruginosa* a partir de dos muestras de agua mineral sin gas, las cuales fueron retiradas del mercado (Manaia *et al.* 1990).

Nsanze y Cols en 1999, evaluaron la calidad microbiológica del agua embotellada de diferentes fuentes en los Emiratos Árabes Unidos. El estudio se realizó en 80 muestras de agua embotellada provenientes de cuatro empresas. Los resultados mostraron que los cuatro tipos de agua analizados presentaban contaminación bacteriana, detectando más de diez especies diferentes. El microrganismo más frecuente, detectado en todos los tipos de agua analizados fue *Acinetobacter iwoffii*. Los autores mencionan que el almacenamiento de agua a 4°C reduce la multiplicación microbiana, mientras que de 25 a 37°C, la mayoría de los microorganismos se multiplican y a 42°C, la mayoría fueron eliminados (Nsanze, Babarinde, y Al Kohaly 1999).

Bharath y Cols en el año 2003, realizaron un estudio para determinar la calidad microbiológica de las marcas nacionales e importadas de agua embotellada disponibles en Trinidad. Se analizaron 344 botellas de agua. 18 (5,2%) muestras contenían coliformes, cinco (1,5%) muestras contenían *E. coli.* En 26 (7,6%) muestras se detectó *Pseudomona* spp., no se detectó coliformes termotolerantes ni *Salmonella* spp. Se concluyó que en base a los límites recomendados para coliformes en agua potable, el 5% de agua embotellada que se comercializa en Trinidad podría ser considerado no apto para el consumo humano (Bharath *et al.* 2003).

En el estudio de Jeena y Cols del año 2006, se analizaron 105 muestras de agua potable embotellada provenientes de 30 marcas diferentes de India, se analizó la carga total de microorganismos heterótrofos y coliformes, encontrando que aproximadamente el 40% de las muestras excedió el límite de 100 UFC/mL establecido por el departamento de salud, así como la Oficina de Normas de la India (BIS), Gobierno de India. Se detectó la presencia de coliformes y bacterias Gram positivas del género *Kurthia*

y *Corynebacterium*, entre otros. Se resalta el hallazgo de bacterias heterótrofas resistentes a ampicilina, ácido nalidíxico, novobiocina y oxitetraciclina, lo que puede representar riesgos para la salud de los consumidores, especialmente para los individuos inmunocomprometidos (Jeena *et al.* 2006).

Kassenga en el 2007 estudió la calidad microbiológica del agua embotellada y empacada en bolsas de plástico, que se comercializa en Dar es Salaam, Tanzania. Se analizaron 130 muestras que representan 13 marcas de agua embotellada recogidas de tiendas, supermercados y vendedores ambulantes, para detecrtar coliformes totales y coliformes fecales, así como bacterias heterótrofas. Estos fueron comparados con 61 muestras de agua del grifo. Se detectaron bacterias heterotróficas en 92% de las muestras de agua embotellada analizados. Se encontró que la calidad microbiológica del agua del grifo fue menor en comparación con el agua embotellada, considerando que el 49,2% y el 26,2% de los puntos de muestreo respectivamente evidenciaron la presencia de coliformes totales y coliformes fecales (Kassenga 2007).

Zamberlan Da Silva y Cols en 2008 investigaron la calidad bacteriológica del agua del grifo de suministro de agua municipal, y se compararon con muestras de botellas de agua mineral obtenidas a partir de dispensadores y con muestras de botellas de agua mineral (20 litros) antes de la instalación en dispensadores; se analizó coliformes totales, coliformes termotolerantes, *E. coli, Streptococcus faecalis, P. aeruginosa, Staphylococcus* spp. Los resultados mostraron que 36,4% de las muestras de agua del grifo de sistemas municipales de agua y 76,6% de las botellas de agua mineral a partir de dispensadores de agua fueron contaminados por al menos una bacteria coliforme o indicador y al menos una bacteria patógena. La calidad bacteriológica del agua del grifo fue superior en comparación con las botellas de 20 litros de agua mineral recogidos de dispensadores de agua y en comparación con las muestras obtenidas de botellas nuevas de 20 litros de agua mineral antes de la instalación en los dispensadores. Los autores resaltan la importancia de contar con un sistema de vigilancia fortalecido para la industria del agua embotellada y recomiendan llevar a cabo la enumeración de *Pseudomonas* periódicamente (Zamberlan da Silva *et al.* 2008).

Varga en el año 2011 examinó la calidad bacteriológica del agua mineral natural embotellada comercializada en Hungría. Se analizaron 492 muestras de marcas nacionales e importadas de aguas minerales carbonatadas y no carbonatadas, adquiridas en los puntos de venta. Se analizaron para detectar la presencia microrganismos indicadores, formadores de esporas sulfito-reductores anaerobios (clostridios), coliformes totales, *E. coli, Enterococcus* spp., y *P. aeruginosa*. Los resultados mostraron que 5,3% y el 10,2% de las muestras de agua mineral carbonatadas y no carbonatadas respectivamente, fueron positivas para al menos un indicador específico u otro de los microrganismos buscados, es así como 38 unidades de la muestra (7,7%) no cumplió con las normas establecidas por la Directiva 2009/54 / CE (Varga 2011).

En Colombia, Vidal y Cols en el año 2009 evaluaron la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua envasada en bolsas, producida en la ciudad de Sincelejo-Colombia. Realizando la estimación de coliformes totales y fecales, *P. aeruginosa* y mesófilos en agua envasada de 13 marcas. En el estudio, reportan la presencia de mesófilos en el 92% de las marcas de agua envasada en bolsa, coliformes totales en el 33%, una marca presentó coliformes fecales, otra *P. aeruginosa* y el reporte microbiano fue mayor en las envasadoras que poseían registro INVIMA. Los investigadores concluyen que gran parte del agua envasada en bolsas de la ciudad de Sincelejo genera un riesgo a la salud de los consumidores, debido a la presencia de patógenos, lo que está relacionado con inadecuados procesos de producción y a la intermitencia del suministro del agua utilizada como materia prima (Vidal, J., Consuegra, A., Gomescaseres, L. 2009). Por su parte, Gomescaseres y Cols en el 2001 reportaron coliformes fecales

en el 27% del agua envasada y en el 81% de las bolsas de empaque del producto expendido de manera ambulante en la ciudad de Cartagena (Gomescaseres *et al.* 2001) citado por (Vidal, J., Consuegra, A., Gomescaseres, L. 2009).

1.3.3. Métodos para la eliminación de *P. aeruginosa*

Los métodos comúnmente utilizados para la eliminación de *P. aeruginosa* corresponden a cloración, ozonificación, yodización y desinfección con radiación UV. La ozonización se puede utilizar sola o en combinación con otros tratamientos (irradiación UV, la carbonatación y ultrafiltración) (Mena and Gerba 2009; D. Warburton *et al.* 1998).

Cloración: Utilizando niveles de cloro residual > 1ppm es suficiente para eliminar una concentración inicial de 3.8 x 104 UFC/mL de *P. aeruginosa* después de 10 segundos de contacto. Por otra parte, se ha demostrado que aguas naturales requieren 0.5 mg de cloro por litro para eliminar el 99.9% de células de *P. aeruginosa* por una hora a 25°C. Aún no se ha encontrado resistencia de *P. aeruginosa* al tratamiento por cloración. En las tuberías una concentración de 10 a 15 ppm de cloro residual son suficientes para eliminar las biopeliculas formadas (Mena and Gerba 2009).

Ozononificación: *P. aeruginosa* no es más resistente que otros microorganismos como *Salmonella* o *Yersenia* frente a la ozonificación. Se ha reportado la reducción de 6 unidades logarítmicas con dosis de 0.64 a 188 ppm de Ozono en menos de 1 minuto. Este método se utiliza ampliamente en proceso de embotellado y destruye bacterias o biopelículas (Güler 2007); aun los que puedan estar presentes en botellas nuevas o recicladas (D. Warburton, Bowen, and Konkle 1994)(D. Warburton *et al.* 1998).

Radiación UV: La dosis aproximada para inactivar el 90% de *P. aeruginosa* corresponde a 5,500 µWs/cm2. A una longitud de onda de 250 a 270 nm, *P. aeruginosa* mostró ser más sensible que otros microrganismos (*E. coli* y *S. aureus*) al tratamiento por radiación UV. Sin embargo, en 1990 Wolf reportó lo contrario (Wolfe 1990). En *P. aeruginosa* la muerte celular por la exposición UVA parece depender del daño oxidativo (daño indirecto mediado por oxígeno), por otro lado, la bacteria tiene un efecto protector contra la acción letal de rayos UVA en las células irradiadas en presencia de piocianina, un pigmento de fenazina sintetizado por *P. aeruginosa* y relacionado con condiciones de crecimiento desfavorables y virulencia, el efecto de la piocianina se atribuye a la absorción de rayos UV por el pigmento. Adicionalmente, las bacterias que se encuentran en la biopelícula son más resistentes a la acción de la luz UV, la resistencia podría ser explicada por la absorción de UV por el alginato de la matriz de la biopelícula (Oppezzo, Costa, y Pizarro 2015).

Otros: Se ha reportado que la presencia de iones de plata en una concentración de 80 µg/L pueden producir una disminución del 99.999% después de 6 horas de contacto.

La sensibilidad de *P. aeruginosa* a diferentes desinfectantes puede ser difícil de determinar debido a factores como la temperatura, condiciones previas de crecimiento y la fase de crecimiento durante los ensayos (Mena and Gerba 2009).

1.3.4. Métodos de Detección

De acuerdo con la Directiva 2009/54/EC, relativa a la explotación y comercialización de aguas minerales naturales el agua que brota del manantial y la que se comercializa deberá estar exenta de a. parásitos

y microorganismos patógenos; b. de *E. coli* y otros coliformes, y de estreptococos fecales, en 250 mL de la muestra examinada; c. de clostridios sulfito reductores, en 50 mL de la muestra examinada; d. de *P. aeruginosa*, en 250 mL de la muestra examinada (Unión Europea 2009). Por su parte, la ISO 16266: 2006 especifica un método para el aislamiento y la enumeración de *P. aeruginosa* en muestras de agua embotellada por filtración por membrana (ISO 2006).

Algunos estudios emplean diferentes metodologías para la detección de microorganismos en agua que incluyen filtración por membrana, cultivo y aislamiento en medios de cultivo. En el estudio de Casanovas-Massana y Blanch 2012 se empleó el agar R2A (Oxoid, CM0906) que corresponde a un medio nutricionalmente reducido, que mejora la recuperación de bacterias en condiciones de estrés (Casanovas-Massana and Blanch 2012).

Tabla 1-5. Estudios de detección de P. aeruginosa y Salmonella spp., en agua envasada

Título	Año	Técnica para la detección	Referencia
A further review of the microbiological quality of bottled water sold in Canada: 1992–1997 survey results	1998	La presencia de *P. aeruginosa* se determinó realizando filtración por membrana y recuperación en agar tripticasa de soya se realizó aislamiento en agares selectivos.	(D. Warburton et al. 1998)
Rapid detection, identification, and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* in bottled water using peptide nucleic acid probes	2000	El estudio propone un método de hibridación in situ quimioluminiscente (CISH, por sus siglas en inglés) que proporciona detección, identificación y enumeración de *P. aeruginosa* en agua embotellada en un día. Las microcolonias de *P. aeruginosa* se detectan directamente en filtros de membrana luego de 5 horas de incubación mediante el uso de un péptido de ácido nucleico marcado con peroxidasa de soja (PNA), las sondas son dirigidas a una secuencia específica de la especie en *P. aeruginosa* rRNA. Dentro de cada microcolonia, la reacción de la peroxidasa con un sustrato quimioluminiscente genera luz que posteriormente es capturada, cada punto de luz representaba una microcolonia de *P. aeruginosa*.	(Stender et al. 2000)
Microbial quality of domestic and imported brands of bottled water in Trinidad	2003	*P. aeruginosa* se detectó en agar MacConkey. Para la detección de *Salmonella* y sus serotipos se inoculó 1 mL de cada muestra de agua en 9 mL de caldos de enriquecimiento con tetrationato y a selenito cistina (SC). El aislamiento se realizó en agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato), agar sulfito de bismuto, agar Hektoen entérico y agar MacConkey. El aislamiento y la identificación se realizó como recomienda (FAO 1992).	(Bharath et al. 2003). (FAO 1992)
Risk assessment of heterotrophic bacteria from bottled drinking water sold in Indian markets	2006	Detección y enumeración de coliformes por el método de filtro de membrana (0,45 mm, Sartorius, Alemania) en 250 mL de la muestra. Recuperación en agar tripticasa de soya, y cultivo en agar selectivo para *P. aeruginosa* y en agar xilosa lisina desoxicolato para *Salmonella*.	(Jeena et al. 2006)
Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary	2011	Para detectar *P. aeruginosa*, las membranas se cultivaron en agar selectivo CN suplementado con cetrimida y ácido nalidíxico. Las colonias sospechosas de *P. aeruginosa* fueron confirmados por la prueba de oxidasa, acetamida y solución de King B Medio (Merck) de acuerdo con la norma húngara MSZ EN.	(Varga 2011)

Título	Año	Técnica para la detección	Referencia
Diversity of the heterotrophic microbial populations for distinguishing natural mineral waters	2012	Se filtró entre 20 mL y 100 mL de muestras de agua en membranas de nitrocelulosa de 0,44 micras; se incubaron en placas de R2A (Oxoid, CM0906) a 22 ± 2 ° C y a 36 ± 2 ° C. Después de la incubación se aislaron y se subcultivaron en placas de R2A, el cultivo se confirmó en placas R2A y con tinción de Gram.	(Casanovas-Massana and Blanch 2012)

2. CARACTERIZACIÓN DEL PELIGRO

2.1. Mecanismo de acción de los agentes microbianos

El género *Pseudomonas*, en parte debido a su larga historia evolutiva, es uno de los grupos más diversos y ecológicamente más significativos de bacterias en el planeta, el carácter prototrofo, versatilidad metabólica, la plasticidad del genoma y la capacidad de hacer frente a diversas formas de estrés (físico, químico, compuestos antimicrobianos), son notables características de los miembros de este género y son las fuerzas impulsoras para la adaptabilidad, lo que explica la presencia de *Pseudomonas* en los principales ambientes terrestres y acuáticos naturales, así como en el hogar y ámbito hospitalario. Adicionalmente, dada su alta prevalencia, amplia distribución en ambientes acuáticos y la plasticidad genética pueden ser reservorios importantes de resistencia a los antimicrobianos en agua potable (Mena y Gerba 2009).

La amplia distribución de *Pseudomona* spp. puede generar algunas preocupaciones desde el punto de vista de la salud pública, ya que dentro de este género ubicuo de bacterias se incluyen especies patógenas oportunistas que pueden colonizar animales y seres humanos a través del agua contaminada (Mena y Gerba 2009). En cuanto a patógenos oportunistas la especie *P. aeruginosa* ha sido la más estudiada, puede causar infecciones severas en individuos sanos o inmunocomprometidos, infecciones en piel, ojos y oídos en individuos que han estado expuestos a través de piscinas o bañeras de hidromasaje. Aunque menos frecuentemente, debido a su baja virulencia, otros patógenos como *P. fluorescens*, *P. stutzeri* y *P. putida* han sido asociados con infecciones iatrogénicas en humanos (por la administración de líquidos endovenosos, medicamentos y hemoderivados contaminados o secundarias a la presencia de catéteres) (Carpenter *et al.* 2008).

La infectividad de la bacteria está dada por la alteración en el balance entre la virulencia del microrganismo y la resistencia del hospedero, los factores de virulencia ayudan a la bacteria a invadir, causar enfermedad y evadir las defesas del huésped. La interacción entre *P. aeruginosa* y el hospedero está dada en su mayoría por la secreción de determinantes de virulencia que interactúan con blancos específicos. Los mecanismos de virulencia incluyen la secreción de toxinas, la habilidad para formar biopelículas y la resistencia antimicrobiana intrínseca o adquirida. Los mecanismos de virulencia de *P. aeruginosa* incluyen determinantes asociados a la célula (lipopolisacáridos y flagelos) y numerosos factores de secreción (elastasas, proteasas, exotoxinas, piocianina y polisacáridos extracelulares) (Balasubramanian *et al.* 2013).

Exotoxina A, piocianina, elastasa, y el sistema de secreción de tipo III son los determinantes de virulencia más significativos. Entre los genes que codifican estas exotoxinas se encuentran (toxA, phzM, lasB, ExoU, and ExoS). La exotoxina A es una ADP-ribosil transferasa codificada por el gen toxA. La piocianina es un pigmento del tipo fenazina con capacidad de reducir y oxidar moléculas, lo que lleva a alterar la

fisiología y homeostasis de la célula causando finalmente daño celular mediante la interferencia con: i) La dinámica del transporte de electrones, ii) La respiración celular mediante la disminución de los niveles de NADPH y glutatión, iii) El metabolismo de energía disminuyendo los niveles de ATP mediante la alteración de la homeostasis del calcio, iv) La expresión génica, causando inducción de mucinas, citocinas inflamatorias, quimiocinas, v) Los mecanismos de respuesta inmune innata (aumenta la apoptosis de los neutrófilos), vi) Alteración del balance redox por aumento de las especies reactivas de oxígeno (Silva *et al.* 2014).

La especie *P. aeruginosa* sintetiza diferentes proteasas como las elastasas (LasA y LasB), proteasa alcalina, proteasa IV (PIV) y una proteasa pequeña, denominada PASP (*P. aeruginosa* small protease), que participan en múltiples procesos fisiológicos como nutrición, crecimiento y proliferación, y en etapas esenciales en el proceso infeccioso como adhesión, invasión, degradación de las barreras del hospedero, diseminación y evasión de la respuesta inmune (Thibodeau y Butterworth 2013). Entre las proteasas, las elastasas realizan la escisión de los componentes de la matriz extracelular en la célula blanco como elastina, colágeno, fibrina y fibronectina produciendo daño epitelial, así como inmunoglobulinas y otros componentes del sistema inmune (por ejemplo, IgA e IgG), interferón gamma (INF-γ), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-α) y proteínas del complemento (por ejemplo, C1q y C3) (Andrejko *et al.* 2013).

El sistema de secreción tipo III inyecta proteínas tóxicas efectoras en el citoplasma de células eucariotas, hasta el momento se han descrito 4 proteínas efectoras (ExoU, ExoS, ExoT y ExoY). ExoT y ExoY tienen efecto mínimo en cuanto a la virulencia, ExoU y ExoS son las proteínas que más contribuyen a la patogénesis de la bacteria, sin embargo no son secretadas por la misma cepa. Estas exotoxinas son los determinantes de virulencia más importantes en *P. aeruginosa* (Shi *et al.* 2012).

En contraste con otros patógenos, *P. aeruginosa* crece en el ambiente bajo un amplio rango de temperaturas y es muy hábil para sobrevivir en circunstancias con cantidades relativamente bajas de nutrientes. La cápsula de polisacáridos le permite adherirse a las superficies y en condiciones favorables multiplicarse rápidamente en superficies en contacto con sistemas de suministro de agua para formar biopelículas. Aunque la mayoría de las bacterias son retenidas dentro de la biopelícula, algunas pueden flotar libremente en el agua, especialmente cuando están estáticas durante períodos prolongados (Loveday *et al.* 2014).

La biopelícula es una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) hidratadas, es producida por el microrganismo formando un entorno inmediato en el que puede vivir, las EPS son principalmente polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, que proporcionan la estabilidad bioquímica a la biopelícula mediante la adhesión a superficies y la formación de una red polimérica tridimensional que conecta e inmoviliza transitoriamente las células de la matriz. Adicionalmente, la matriz de la biopelícula actúa como un sistema digestivo externo, manteniendo enzimas extracelulares cerca de las células, lo que les permite metabolizar biopolímeros sólidos o disueltos en coloide, estas funciones, propiedades y componentes de las EPS de la matriz hace de las biopelículas una de las formas más exitosas de la vida en la tierra (Flemming y Wingender 2010).

La formación de biopelículas permite la presencia del microorganismo en los sistemas de agua por largos periodos de tiempo, *P. aeruginosa* puede formar biopelículas en sustratos abióticos (plástico, silicona y vidrio) así como bióticos (tejidos); la biopelícula constituye una barrera protectora que confiere tolerancia a los antimicrobianos, resistencia a los componentes del sistema inmune del huésped y suministra protección contra los efectos de daño de las especies reactivas de oxígeno y radiación ultravioleta (Silva *et al.* 2014). Esta película permite también a las bacterias causar infecciones persistentes y contaminación de los dispositivos médicos, así como incrustaciones en las tuberías industriales.

La variabilidad y adaptabilidad son características fundamentales en microorganismos que poseen la habilidad de sobrevivir y prosperar en una gran variedad de condiciones ambientales, las bacterias que mejor se adaptan tienen una amplia reserva de información genética que codifica vías bioquímicas diseñadas para hacer frente a diferentes de situaciones ambientales. Los organismos que tienen la capacidad genética para responder a condiciones de estrés, lo hacen cuando son estimulados por señales específicas, el reconocimiento de estas señales y la conversión de esa información en una respuesta transcripcional o de comportamiento es la esencia de la transducción de señales. Uno de los mecanismos por el que la *P. aeruginosa* detecta señales externas es utilizando un sensor de proteínas que a través de la transferencia de grupos fosforilo activa reguladores específicos de la transcripción, estos pares de proteínas sensor-regulador se denominan sistemas de dos componentes (TCS). El genoma PAO1 codifica 127 miembros del sistema TCS comparado con los 60 en E. coli, lo que refleja la adaptabilidad de *P. aeruginosa*. Las modificaciones en los TCS alimentan vías de señalización que juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica en respuesta a las condiciones del ambiente (Fabret, Feher, and Hoch 1999).

Otro problema de *P. aeruginosa*, es que al ser una especie nosocomial tiene alto riesgo de adquirir resistencia frente a la mayoría de los antibióticos de última generación, debido a la adquisición de múltiples mecanismos de resistencia importados y codificados cromosómicamente o a una mutación que conduce a la sobreexpresión de bombas de eflujo, presencia de betalactamasas y regulación negativa de porinas de la membrana externa. *P. aeruginosa* ocasiona graves infecciones nosocomiales de difícil manejo en pacientes con fibrosis quística, quemados e inmunocomprometidos (Harada *et al.* 2012).

2.2. Efectos adversos en salud

Varias especies de *Pseudomonas* han sido asociadas con enfermedad en humanos: P. fluorescens, *P. stutzeri* y *P. aeruginosa*. La mayoría de infecciones por bacterias de este género resulta del contacto con fluidos contaminados en el entorno médico y con excepción de *P. aeruginosa*, las infecciones se presentan en pacientes que han sufrido algún tipo de trauma (como heridas o cirugía). Sin embargo, en la literatura se han documentado algunas excepciones, reportándose infecciones por *P. stutzeri* causadas por transfusión de sangre contaminada, casos de bacteremia en pacientes inmunocomprometidos o con antecedente de trauma, neumonía en pacientes alcohólicos y un caso de osteomielitis vertebral adquirida en la comunidad en un paciente previamente sano (Reisler y Blumberg 1999).

Considerando el tipo de infección, cantidad de casos, morbilidad y mortalidad, *P. aeruginosa* es de este género, el patógeno más significativo para humanos debido a que tiene el potencial de causar infección en casi cualquier órgano o tejido, especialmente en pacientes que tienen una enfermedad de base, edades en los extremos de la vida o están inmunocomprometidos. *P. aeruginosa* es una causa importante de neumonía necrotizante aguda y de neumonía en pacientes con fibrosis quística (Lau, Hassett, y Britigan 2005; Mahajan-Miklos *et al.* 1999).

Puede causar infección aguda o crónica, bacteremia en pacientes en UCI, infección del sitio operatorio, infecciones del tracto urinario, neumonía en pacientes con quemaduras severas, VIH, cáncer de pulmón, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquiectasias, fibrosis quística e infección en el neonato (Balasubramanian *et al.* 2013). En pacientes inmunocomprometidos también puede causar endocarditis, osteomielitis, meningitis e infecciones en la piel, oído y ojos.

Pseudomona aeruginosa es uno de los patógenos más temidos asociados con infección nosocomial, especialmente en pacientes con ventilación mecánica, ya que la neumonía por *P. aeruginosa* se ha asociado con un aumento atribuible de las tasas de mortalidad del 14% y un mayor período de estancia hospitalaria para los supervivientes (Rello *et al.* 1996).

En el Reino Unido *Pseudomona* spp., es la séptima causa más frecuente de bacteriemia y representa el aproximadamente el 4% de las infecciones con una incidencia de 7,3 por 100.000 habitantes. Hay evidencia de aumento de la gravedad por la enfermedad causada por *Pseudomona* spp. También se han reportado brotes por *P. aeruginosa* en unidades de cuidados intensivos (UCI) que han puesto de manifiesto el potencial de estas bacterias de establecer reservorios microbianos en el entorno hospitalario. La *P. aeruginosa* provoca septicemia principalmente en pacientes inmunocomprometidos, las condiciones predisponentes incluyen neoplasias hematológicas, la deficiencia de inmunoglobulina, neutropenia, la diabetes mellitus, el trasplante de órganos, quemaduras graves, y el SIDA. Otros factores predisponentes incluyen la quimioterapia, la administración de esteroides, terapia con antibióticos, líneas intravenosas (IV), el cateterismo urinario, cirugía, traumatismo, y el parto prematuro. La mortalidad sigue siendo elevada a pesar de los avances en el tratamiento, el hecho de que la *P. aeruginosa* puede causar una alta mortalidad, incluso en pacientes sin enfermedad subyacente grave, destaca su potencial patógeno en el torrente sanguíneo (Mena y Gerba 2009).

La incidencia de colonización por *P. aeruginosa* en personas sanas o en aquellas que ingresa al hospital es relativamente baja. Las tasas de colonización específicas por sitio son: piel (0-2%), mucosa nasal (0-3,3%), garganta (0-6,6%) y materia fecal (2,6-24%). Durante la hospitalización, las tasas de infección o colonización se pueden aumentar en gran medida, especialmente en pacientes con quemaduras, en el tracto respiratorio inferior de pacientes sometidos a ventilación mecánica, en el tracto gastrointestinal de los pacientes que reciben quimioterapia, o prácticamente en cualquier sitio en las personas tratadas con antibióticos (Mena y Gerba, 2009).

En cuanto a los niños, un estudio reveló que sólo <0,3 a 1,0% de 310 lactantes sanos tenían *P. aeruginosa* en el tracto nasofaríngeo y aunque la bacteria no es común, se encontró en lactantes de hasta 1 mes. Sin embargo, los niños sanos expuestos a *P. aeruginosa* por lo general se resisten a la enfermedad, los nacidos prematuros son más susceptibles, esto puede dar lugar a brotes de septicemia, meningitis y neumonía, la bacteria puede también causar complicaciones en recién nacidos con enterocolitis necrotizante.

2.3. Información epidemiológica

2.3.1. Contexto internacional

Se ha demostrado que patógenos como E. coli, *Pseudomona* spp. y *Salmonella* spp. sobreviven y se multiplican en el agua embotellada constituyendo un agente potencial causante de brotes en los consumidores (D. Warburton, Bowen, y Konkle 1994). Para evaluar el riesgo potencial de contaminación microbiana que representa para los consumidores, el ensayo de coliformes ha sido un método aceptado para la calidad microbiana del agua.

Son escasos los brotes asociados al consumo de agua de manantial embotellada, CDC, 1996 reporta un brote en Estados Unidos de V. cholerae non-O1 que involucró el uso de botellas grandes reutilizables; aunque se detectó coliformes, no se determinó la fuente de contaminación (CDC_a 1996). En 1997, se

informó de un brote de Campylobacter jejuni en 106 personas de la Guardia Nacional de Minnesota después de un ejercicio de entrenamiento en Grecia. La fuente del brote fue agua embotellada consumida durante los ejercicios sobre el terreno (CDC_b 2000).

Los brotes de infecciones causadas por *P. aeruginosa* son comunes, y el agua, especialmente en las unidades de cuidados intensivos, puede ser una de las fuentes. En UCI se emplea frecuentemente agua embotellada estéril para la preparación de medicamentos que van a ser administrados por sonda nasogástrica o para el cuidado de la orofaringe en los pacientes, esto debido a que el agua es una fuente típica de brotes de infecciones causadas por patógenos microbianos en los hospitales (Eckmanns *et al.* 2008).

Craun y Colaboradores en el año 2010, mencionan que entre 1971 y 2006 se presentaron 780 brotes y 577,094 casos causados por agua para consumo humano en Estados Unidos, donde los agentes etiológicos reportados fueron bacterias diferentes a Legionella, químicos, parásitos, virus y algunos no determinados; el 1,4%, es decir 12 brotes fueron asociados con el uso de agua envasada comercialmente (Craun *et al.* 2010). En el presente documento se describen los brotes en los que ha estado implicada el agua como fuente, y se aclara que las infecciones por patógenos oportunistas como la *P. aeruginosa* en el ámbito hospitalario pueden originarse por diferentes factores y fuentes y no exclusivamente por el agua.

Se ha descrito un brote de infección por *P. aeruginosa* secundario al consumo de agua embotellada en seis UCI en un hospital universitario en Alemania. Se tomaron muestras clínicas y ambientales de las UCI, que fueron cultivadas y genotipificadas, los resultados microbiológicos fueron revisados semanalmente para determinar el número de infecciones y pacientes colonizados por *P. aeruginosa*. De los especímenes clínicos de 19 pacientes se aisló la misma cepa de *P. aeruginosa*, y en cuatro de las 103 muestras ambientales se encontró *P. aeruginosa*. Sin embargo, sólo el aislamiento tomado de una botella de agua estéril fue genéticamente compatible con las cepas encontradas en las muestras clínicas. Durante el período de 6 semanas que duró el brote, el número semanal de nuevos pacientes infectados o colonizados con *P. aeruginosa* fue de 88,9 (IC 95% 54,3 a 122,2) / 1000 días-cama. Este número volvió al nivel usual (46,9 (IC 95% 40,7-53,1) / 1000 días-cama) después de la eliminación del agua embotellada (Eckmanns *et al.* 2008).

En un hospital de Francia se realizó el reporte de un brote por *P. aeruginosa*., durante un período de cuatro meses, diez pacientes fueron sospechosos de haber adquirido la infección nosocomial por *P. aeruginosa* en el oído, la nariz y la garganta. Se compararon los aislamientos obtenidos de muestras clínicas y ambientales. Sólo el agua de una fuente de agua potable estaba contaminada por *P. aeruginosa*. Este aislamiento y los de tres pacientes tenían perfiles de ADN polimórfico amplificado indistinguibles. Los pacientes tenían enfermedades oncológicas graves, la fuente de agua potable se utilizaba para su alimentación por la gastrostomía y fue el origen del brote. Otro tipo de fuente fue instalado con un tratamiento ultravioleta terminal, después de lo que no se identificaron nuevas infecciones relacionadas con el agua potable (Costa *et al.* 2015).

2.3.2. Contexto nacional

La información que se presenta a continuación fue suministrada por el Grupo Técnico de Vigilancia Epidemiológica de Alimentos y Bebidas del INVIMA y está relacionada con la investigación epidemiológica de campo que realiza el grupo y las acciones de inspección, vigilancia y control. Es importante tener en

cuenta que normalmente en la investigación de campo no se tiene en cuenta el agua envasada y que adicionalmente aún hay una baja notificación de eventos al INVIMA, por parte del Centro Nacional de Enlace, del INS y de los Entes Territoriales de Salud.

El 7 de noviembre de año 2014, por el INVIMA se intervino un establecimiento que estuvo vinculado a una ETA ocurrida en la estación de la policía del municipio de San Andrés de Tumaco, en donde el número de casos expuestos vs enfermos fue: 46/46, al establecimiento productor se realizó visita y conforme a la situación sanitaria encontrada se tomó Medida Sanitaria de Suspensión Temporal Total.

En el año 2015, se intervino un establecimiento ubicado en la ciudad de Cúcuta involucrado en una ETA ocurrida en la misma ciudad y que coincidió con los problemas de cierre de frontera, a la planta se le realizó visita, se emitió concepto favorable con observaciones y se tomó muestra para análisis, que salió aceptable. Sin embargo, no se estableció causalidad con agua embotellada ni con el microorganismo.

El 9 de abril de año 2016, por el INVIMA se intervino un establecimiento que estuvo vinculado a una ETA ocurrida en Institución Educativa en la ciudad de Montería, en donde el número de casos expuestos vs enfermos fue: 352/80 personas, al establecimiento productor se realizó visita y conforme a la situación sanitaria encontrada se tomó Medida Sanitaria de Clausura Temporal Total.

En el año 2015, el INVIMA tuvo conocimiento de 645 resultados no conformes por aspectos de inocuidad emitidos por los Laboratorios de la Red de Salud Pública y el INVIMA, de los que 182 resultados corresponden a rechazos por *P. aeruginosa*, en agua envasada es decir el 28.21%, todos los establecimientos fueron objeto de intervención.

En la siguiente tabla se presenta información sobre la notificación de brotes de ETA (enfermedades transmitidas por alimentos) que recibió el INS en el periodo comprendido entre 2008 y la semana epidemiológica 38 de 2016. Se realizó una relación de los brotes en los que se sospechaba que el agente patógeno fue vehiculizado por agua: agua potable (agua para consumo) o agua envasada, observándose también que durante el año 2010 se presentó un brote; en el año 2014 se presentaron 80 brotes y en el año 2015 se presentaron 11 brotes, todos relacionados con agua embotellada. Sin embargo, en ningún brote se aisló *P. aeruginosa*.

Tabla 2-1. Brotes de ETA relacionados con agua que fueron notificados entre 2008 y 2016

Año	Alimento	Número de brotes	Número de casos	Número de brotes con agente etiológico aislado o indicadores de calidad	Agente etiológico o indicadores de calidad
2008	Agua para consumo	11	288	2	Ascaris lumbricoides, Salmonella typhi
2009	Agua para consumo	15	530	1	Coliformes fecales
2010	Agua para consumo	18	603	11	Coliformes fecales, coliformes totales, Adenovirus, E. coli, Salmonella typhi, hepatitis A, organofósforados
	Agua envasada	1	7	1	
2011	Agua para consumo	18	379	10	Coliformes fecales, coliformes totales, E. coli, Salmonella typhi, hepatitis A, Shiguella spp., P. aeruginosa

Año	Alimento	Número de brotes	Número de casos	Número de brotes con agente etiológico aislado o indicadores de calidad	Agente etiológico o indicadores de calidad
2012	Agua para consumo	26	407	13	Coliformes fecales, coliformes totales, E. coli, Salmonella typhi, hepatitis A, Adenovirus, Aeromona hydrophila
2013	Agua para consumo	18	407	4	Coliformes fecales, coliformes totales, Rotavirus, Adenovirus
2014	Agua para consumo	50	45	5	Coliformes fecales, coliformes totales, Rotavirus, Adenovirus, E. coli
	Agua envasada	80	3		
2015	Agua para consumo	25	300	0	Aeromona hydrophila
	Agua envasada	11	2		
2016	Agua para consumo	9	153	0	NA

Fuente: Equipo de Enfermedades Transmitidas por Alimentos, 2016. Instituto Nacional de Salud

2.4. Reglamentación

2.4.1. Contexto Internacional

En la Unión Europea (UE), de acuerdo con las directrices 80/777/EC (remplazada por la 98/83/EC) y 96/70/EC, la única fuente de agua embotellada puede ser agua subterránea profunda, y cualquier tipo de desinfección con productos químicos (con exclusión de ozonización) está prohibido, en la Directiva 2003/40/EC se fija la lista y los límites de concentración y las indicaciones de etiquetado para los componentes de las aguas minerales naturales, así como las condiciones de utilización del aire enriquecido con Ozono para el tratamiento de las aguas minerales naturales y de las aguas de manantial.

Las aguas minerales naturales se pueden distinguir del agua potable común por su pureza en origen y su nivel constante de minerales, las aguas de manantial están destinadas para consumo humano en su estado natural y se embotellan en la fuente. Estas aguas se caracterizan por un contenido relativamente bajo de carbón orgánico de limitada biodisponibilidad y los microorganismos autóctonos presentes en ellas no tienen prácticamente ninguna influencia en las características organolépticas del agua, ni en la salud del consumidor general. En el producto final, la población total de colonias de bacterias después de 12h desde el momento del embotellado no puede exceder 100 UFC mL-1 (después de incubación durante 72h a una temperatura de 20 a 22 °C) y 20 UFC mL-1 (después de incubación durante 24h a 37°C). Por otra parte, una muestra de agua de 250 mL debe estar libre de patógenos tales como *E. coli* y *P. aeruginosa*.

La Directiva 2009/40/EC regula la comercialización y explotación de las aguas minerales naturales, algunas disposiciones de la presente Directiva son también aplicables a las aguas de manantial como los requisitos microbiológicos y requisitos de etiquetado. La Directiva 2003/40/EC, establece la lista, los límites de concentración y los requisitos de etiquetado para las aguas minerales naturales y las condiciones de utilización del aire enriquecido con ozono para el tratamiento de las aguas minerales naturales y aguas de manantial.

La Directiva 98/83/CE relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, cuyo objetivo es proteger la salud humana de los efectos adversos de la contaminación de las aguas destinadas al consumo humano garantizando su salubridad y limpieza. Los Estados miembros debe tomar todas las medidas necesarias para garantizar que la supervisión periódica de la calidad de las aguas destinadas al consumo humano se lleva a cabo, con el fin de comprobar que el agua disponible para los consumidores cumple los requisitos de la Directiva y, en particular, los valores paramétricos establecidos de conformidad con el artículo quinto. Las normas de calidad se calcularán sobre la calidad organoléptica y microbiológica del agua, así como en la eficacia del tratamiento del agua potable.

Los valores paramétricos se basan en los conocimientos científicos disponibles y también en el principio de prevención, estos valores se seleccionan para que las aguas puedan consumirse con seguridad durante toda la vida y representen, por tanto, un alto nivel de protección de la salud. Sin embargo, se recomienda con el fin de prevenir riesgos microbiológicos y químicos; que a la luz de una futura revisión, la fijación de los valores paramétricos esté basada en motivos de salud pública y en un método de evaluación del riesgo.

Tabla 2.4-1. Características microbiológicas de las aguas en la Unión Europea

Parámetros Microbiológicos	
Parámetro	**Valor paramétrico (número/100 mL)**
Escherichia coli (E. coli)	0
Enterococos	0
A las aguas comercializadas en botellas u otros recipientes se aplicarán los valores siguientes	
Parámetro	**Valor paramétrico (número/100 mL)**
Escherichia coli (E. coli)	0/250 mL
Enterococos	0/250 mL
Pseudomona aeruginosa	0/250 mL
Recuento de colonias a 22 °C	100/mL
Recuento de colonias a 37 °C	20/mL

En Estados Unidos la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) regula el agua embotellada como alimento, La Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (FDCA, por sus siglas en inglés) promulgada por el Congreso, le otorga a la FDA amplia actividad regulatoria sobre alimentos introducidos en el comercio interestatal. En el marco del FDCA, los fabricantes son responsables de la producción de alimentos seguros, sanos y con etiquetas adecuadas, incluyendo agua embotellada.

La FDA dispone regulaciones específicas para agua envasada en el código de regulaciones federales título 21 parte 165, que define diferentes tipos de agua embotellada como agua embotellada y agua de manantial y establece niveles permisibles para contaminantes (químicos, físicos, microbiológicos y radiológicos). Los siguientes son los estándares de calidad microbiológica:

- Coliformes totales (técnica de fermentación por tubos múltiples): No más de una de las unidades analíticas de la muestra tendrá un Número Más Probable (NMP) de 2.2 o más organismos coliformes por 100 mL y ninguna unidad analítica tendrá un NPM 9.2 o más organismos coliformes por 100 mL.

- Coliformes totales (método de filtración por membrana): No más de una de las unidades de análisis en la muestra tendrá 4.0 o más organismos coliformes por 100 mL y la media aritmética de la densidad de coliformes de la muestra no excederá un organismo coliforme por 100 mL.

- *E. coli:* Si hay presencia de *E. coli* el agua embotellada se considerara adulterada.

- En este título no se encuentran regulaciones específicas para *P. aeruginosa*.

En el código de regulaciones federales título 21 parte 129 se habla sobre el procesamiento y envasado de agua embotellada. Estableciendo que las instalaciones, métodos, prácticas y controles empleados en el procesamiento, envasado, almacenamiento y transporte de agua embotellada estén en conformidad con las buenas prácticas de manufactura para asegurar que el agua sea segura y que haya sido procesada en condiciones sanitarias adecuadas. Esta reglamentación incluye la protección de la fuente de agua de contaminación, el saneamiento en las instalaciones de embotellado, el control de calidad para garantizar la inocuidad bacteriológica y química del agua, como realizar el muestreo y el análisis de contaminantes microbiológicos, químicos y radiológicos en las fuentes de agua y en el producto final. En este título se establece:

- Las muestras de agua en el origen, es decir de cada fuente utilizada por la planta deben ser tomadas y analizadas con la frecuencia que se considere necesaria, pero con una periodicidad mínima de una vez al año para contaminantes químicos y una vez cada cuatro años para contaminantes radiológicos.

- Cuando la fuente de agua no es potable se debe realizar muestreo y análisis para coliformes totales al menos una vez cada semana. Si se detectan organismos coliformes, las pruebas de seguimiento debe llevarse a cabo para determinar si alguno de los organismos coliformes son *E. coli*. Las fuentes de agua que contengan *E. coli* no se consideran inocuas ni de calidad sanitaria.

- Una fuente de agua previamente positiva para *E. coli* será considerada negativa (para este microorganismo) después de que cinco muestras recogidas durante un periodo de 24 horas en el mismo punto de muestreo (que originalmente dio positivo para *E. coli*) sean negativas.

Dentro de los códigos del *Codex Alimentarius* se encuentra dos relacionados con agua envasada:

- CAC/RCP 48-2001. Código de prácticas de higiene para las aguas potables embotelladas/ envasadas (distintas de las aguas minerales naturales): En el Código se recomiendan técnicas

generales para captar, elaborar, envasar, almacenar, transportar, distribuir y ofrecer a la venta diversas aguas potables (distintas del agua mineral natural) para el consumo directo.

- CAC/RCP 33-1985 (revisado en 2011). Código de prácticas de higiene para la captación, elaboración y comercialización de las aguas minerales naturales. En el Código se recomiendan prácticas de higiene adecuadas para la captación de las aguas minerales naturales, su tratamiento, embotellado, envasado, almacenamiento, transporte, distribución y venta para el consumo directo, a fin de garantizar un producto inocuo, sano y saludable. Estas prácticas de higiene son particularmente importantes porque algunas de las medidas de control de la higiene que habitualmente se aplican a las aguas embotelladas, no pueden usarse para las aguas minerales naturales.

- La norma del Codex Internacional para las aguas minerales naturales de la Comisión del *Codex Alimentarius*, indica que el agua embotellada debe ser rechazada si 250 mL de agua contienen > 2 UFC de P. aeruginosa y no indica el tiempo después del llenado de la botella a la que se debe realizar esta prueba.

2.4.2. Contexto Nacional

En Colombia, el Ministerio de Salud mediante la Resolución 12186 de 1991 fijó las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano. Para efectos de la Resolución, se entiende por agua potable tratada al elemento que se obtiene al someter el agua de cualquier sistema de abastecimiento a los tratamientos físicos y químicos necesarios para su purificación.

El agua potable tratada deberá cumplir con las condiciones que a continuación se establecen:

Tabla 2.4-2. Características fisicoquímicas de las aguas envasadas

Características Físicas		
Características	**Expresadas en**	**Valor permitido**
Color	Unidades Platino Cobalto UPC	15
Olor y Sabor	-	Inobjetable
Turbiedad	Unidades Nefelométricas	2
Sólidos Totales	Mg/L	200
pH	-	6.5 – 9.0
Sustancias Activas		
Azul de Metileno	ABS, ALS	0.5
Grasas y Aceites	Grasas y Aceites	ND
Cloruros	Cl-3	250
Dureza Total	CaCO	150
Hierro Total	Fe	0.3
Magnesio	Mg o CaCO3	36
Manganeso	Mn	0.1
Sulfatos	SO4	250

Sustancias Activas		
Sodio	Na	200
Cinc	Zn	5.0
Productos Sometidos a Desinfección por Cloración*		
Característica	**Mínimo**	**Máximo**
Cloro residual libre	0.5 mg/L	1.0 mg/L
Cloro total	0.6 mg/L	1.2 mg/L
Productos Sometidos a Desinfección por Ozono**		
Característica	**Mínimo**	**Máximo**
Ozono	0.2 mg/L	0.5 mg/L

*Los productos objeto de esta reglamentación que sean sometidos a desinfección por cloración, deberán cumplir los siguientes parámetros en el momento del envasado.

**Los productos sometidos a desinfección con ozono, deben cumplir con los siguientes parámetros en el momento del envasado.

Tabla 2.4-3. Características microbiológicas de aguas envasadas

Parámetros	n	m	M	C
NMP coliformes totales	**3**	**_**	**< 2/100mL**	**0**
NMP coliformes fecales	3	_	< 2/100mL	0
NMP *Pseudomona aeruginosa*	3	-	< 2/100mL	0

n = Número de muestras a examinar
m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad
M = Índice máximo permisible para Identificar nivel de calidad aceptable
c = Número de muestras permitidas con resultados entre n y M
< = Léase menor de
> = Léase mayor de

Se efectuaran los tratamientos fisicoquímicos necesarios tales como decantación, floculación, coagulación, filtración, microfiltración, cloración, ozonización, rayos U.V. y pasteurización. Cualquier otro tratamiento no contemplado en este artículo debe ser sometido previamente a estudio y aprobación del Ministerio de Salud.

Los envases para el agua potable tratada deben ser de material atoxico e inalterable, de tal forma que se evite su contaminación, así mismo deberán garantizar su protección y el mantenimiento de las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas.

El agua potable tratada con destino al consumo humano deberá envasarse HQ recipientes de cualquiera de los siguientes materiales:

- Vidrio
- Plásticos de polietileno O PVC grado alimenticio
- Plasticarton
- Cartón encerado
- Policarbonato
- Poletilen-tereftalato PET
- Otros materiales poliméricos grado alimenticio

Los envases para el agua potable tratada deberán cumplir con las condiciones de rotulado exigidas en la Resolución 8688 de 1979 y las disposiciones que la adicionen o modifiquen.

3. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

3.1. En las plantas embotelladoras

Se considera necesario implementar un Sistema de Gestión de Inocuidad Alimentaria (SGIA) que asegure la seguridad del agua embotellada. Este sistema debe incluir diseño sanitario, especificaciones del programa de limpieza y desinfección, del mantenimiento de los equipos, estricto control de las materias primas (incluidas tapas, envases y etiquetas) y el análisis de los puntos críticos de control. Un SGIA es una red de elementos interrelacionados que se combinan para garantizar que los alimentos no causan efectos adversos en la salud humana.

El enfoque sistemático para el análisis de peligros con la ayuda de un modelo de aproximación práctico debe lograr control sobre el producto/material no conforme y también sobre productos potencialmente peligrosos. La implementación de un SGIA cubre todas las operaciones de fabricación, desde la recepción de materias primas, almacenamiento de materiales, elaboración, envasado, almacenamiento y distribución. El sistema incluye programas, planes, políticas, procedimientos, prácticas, procesos, metas, objetivos, métodos, controles, funciones, responsabilidades, relaciones, documentos, registros y recursos (Singh 2015).

La empresa debe definir y documentar la política de inocuidad alimentaria, un ejemplo de política puede ser: "La dirección y el personal de la empresa se comprometen a producir y a distribuir de manera consistente agua inocua y de alta calidad, que cumpla con los estándares internacionales, para todos sus clientes y consumidores". Para lograr la calidad prometida, la empresa debe adherirse estrictamente a los principios del sistema de gestión de inocuidad de los alimentos basados en el requisito de la norma ISO 22000: 2005- Normas de Seguridad Alimentaria (ISO, 2005) desde la recepción de las materias primas y a lo largo del procesamiento, envasado y almacenamiento del agua y la empresa debe también cumplir con los demás requisitos legales aplicables y de consumo.

Prerrequisitos del programa:

- Aseguramiento de la calidad de los proveedores/inspección de los insumos
- Higiene y salud de los empleados
- Limpieza y desinfección
- Mantenimiento de los equipos
- Instalaciones sanitarias
- Trazabilidad de los productos
- Control de plagas
- Almacenamiento de las materias primas
- Almacenamiento del producto final

Enfoque sistemático implementando los principios del sistema de HACCP, para lo cual se pueden consultar las siguientes referencias:

- ISO 22000: 2005 sistema de gestión de inocuidad alimentaria (ISO, 2005).
- Recomendación del Código Internacional de Prácticas: Principios generales de higiene de los alimentos (Wallace y Williams, 2001).
- Código de prácticas de higiene para la industria de alimentos y bebidas.
- ISO 16266: 2006 establece un procedimiento estandarizado para aislar y cuantificar P. aeruginosa en el agua y recomienda ensayos complementarios a temperaturas crecientes (4 ° C y 42 ° C) con el fin de confirmar el aislamiento de cepas de P. aeruginosa.

Se evalúan los riesgos y su nivel de significancia:

- Identificación de riesgos según las características del producto
- Identificación de riesgos según las características del producto final
- Identificación de riesgos para los diagramas de flujo de los procesos haciendo la verificación en sitio
- Identificación de riesgos para las pruebas de identificación de los peligros potenciales

Control de los productos no conformes:

- Identificar y controlar los productos o materiales no conformes.
- Establecer responsabilidades en el control de los productos no conformes según se considere apropiado.
- Re-verificación.
- Disposición de materiales no conformes.
- Los registros deben contener: la naturaleza de las no conformidades, números de lote, cantidades, causas y consecuencias, medidas adoptadas, las personas responsables.

Acciones correctivas, la documentación del proceso debe incluir:

- Revisión de las no conformidades
- Las causas de las no conformidades
- Los criterios para entrar en la acción correctiva
- Determinar e implementar las acciones necesarias
- El seguimiento del estado de la acción
- Revisar la efectividad de la acción correctiva

Para prevenir la contaminación durante el procesamiento en general y al momento del embotellado se recomienda (FDA 2016).

- Las superficies de contacto con el producto: todos los contenedores, utensilios, tuberías y equipos utilizados en el transporte, procesamiento, manipulación y almacenamiento del agua deben estar limpios y ser desinfectados adecuadamente.

- Todos los equipos de la planta y los utensilios deben ser adecuados para su uso previsto. Todas las superficies en contacto con el agua deberán estar construidos de material no tóxico y no absorbente que pueda ser limpiado y desinfectado adecuadamente. Los tanques de almacenamiento deben poder cerrarse para excluir todo material extraño y estar adecuadamente ventilados.

- Las salas de operación en las que se manipula el agua no deben acceso directo a cualquier otra habitación utilizada para otros fines.

- Se debe asegurar una ventilación adecuada para minimizar la condensación en las salas de tratamiento, salas de embotellado, en el lavado de contenedores y áreas de desinfección.

- El llenado, tapado, cerrado, sellado, y el embalaje de los contenedores deberá ser hecho de una manera higiénica de modo que se evite la contaminación del agua embotellada.

- La sala de embotellado debe estar separada de las demás operaciones de la planta embotelladora o de las áreas de almacenamiento por paredes, techos y puertas de cierre automático para proteger contra la contaminación. Las aberturas para permitir el transporte no deberán exceder el tamaño necesario para permitir el paso de los contenedores.

- Si se emplea un sistema de operación diferente al sellado bajo presión, se debe proporcionar una protección adecuada para evitar la contaminación del agua y el sistema.

- Los envases y las tapas o sellos que se compren deben ser adecuadamente almacenados en condiciones sanitarias y mantenerse en un lugar limpio y seco hasta que sean utilizados. Antes de su uso deben ser examinados, y si es necesario, se deben lavar, enjuagar y desinfectar.

- El lavado y desinfección de contenedores y envases debe llevarse a cabo en una habitación cerrada para reducir al mínimo cualquier posible contaminación después de la desinfección de los contenedores antes de entrar en la sala de embotellado.

- Todos los recipientes primarios multiservicio deberán ser lavados, enjuagados y desinfectados por lavadoras mecánicas o por cualquier otro método que dé resultados adecuados. Las lavadoras mecánicas deben ser inspeccionadas con tanta frecuencia como sea necesario para asegurar un rendimiento adecuado. Los registros de mantenimiento físico, inspecciones y condiciones en que se encuentran, y el rendimiento de la lavadora mecánica deberán ser llevados por la planta.

- Las herramientas para el transporte deberán mantenerse en condiciones tales que se garantice que no contaminarán el envase primario y el producto final.

Recomendaciones de limpieza y desinfección para las instalaciones de planta embotelladora de agua (FDA 2016):

- Vapor en sistema cerrado: Al menos 170°F (76°C) durante al menos 15 minutos o por lo menos 200°F (93°C) durante al menos 5 minutos.

- Agua caliente en sistema cerrado: Al menos 170°F (76°C) durante al menos 15 minutos o por lo menos 200 grados. F (93°C) durante al menos 5 minutos.

- Los desinfectantes químicos deberán ser equivalentes en la acción bactericida a una exposición de 2 minutos de 50 ppm de cloro disponible a 57 grados. F (13,9°C) cuando se utiliza como una inmersión o solución circulante. Los desinfectantes químicos aplicados como un aerosol o niebla deberán tener, como mínimo, de 100 ppm de cloro disponible a 57°F (13,9°C) o su equivalente en acción bactericida.

- 0,1 parte por millón de ozono en un sistema cerrado durante al menos 5 minutos.

3.2. Para los consumidores

Una vez abierta, el agua embotellada debe consumirse en su totalidad, de lo contrario debe refrigerarse y ser consumida en 3 o 4 días máximo.

No se recomienda consumir el agua directamente de la botella si no va a ser finalizada, esto puede contaminar el agua.

Si el agua embotellada se va a utilizar para preparar alimentos para bebes, está debe ser hervida primero. En el caso de consumir agua en envases retornables de 5 galones (19,8 L), una vez finalizada el agua no utilice los envases para contener ningún tipo de sustancia, estos deben ser entregados sin reutilizar y sin cambios a la embotelladora.

Se debe lavar y desinfectar con regularidad el dispensador o la tapa a través de la cual pasa el agua para el consumo directo, esto en el caso de los envases de mayor capacidad que así lo requieren.

3.3. En el ámbito hospitalario para prevenir y controlar la aparición de brotes

Es probable que el agua embotellada contaminada sea una posible explicación para el aumento de la tasa de aislamiento de varios agentes patógenos en las UCI. Los brotes causados por el agua contaminada se limitan generalmente en el tiempo, ya que la contaminación suele estar restringida a un pequeño número de botellas o lotes de botellas, sin embargo crean un riesgo de introducción de nuevos patógenos y/o clones bacterianos en el medio hospitalario.

En los hospitales, especialmente se recomienda el uso de agua estéril para las actividades críticas, como por ejemplo, para llenar los humidificadores en las unidades de cuidados intensivos (UCI), para la preparación de medicamentos que van a ser administrados por sonda nasogástrica y en los receptores de trasplante y demás pacientes inmunocomprometidos se debe utilizar agua estéril para beber y para la higiene bucal.

Debe considerarse la posibilidad de eliminar el uso de agua embotellada en las unidades de cuidados intensivos, o al menos realizar pruebas microbiológicas en estas aguas de forma regular. En su lugar, se puede utilizar agua mineral estéril o agua del grifo filtrada. Estas medidas no son necesariamente más costosas y eliminan los riesgos potenciales para los pacientes.

Debe tenerse en cuenta que la exposición al agua potable contaminada también puede causar infecciones nosocomiales por *P. aeruginosa*. Esto pone de relieve la importancia de incluir *P. aeruginosa* en la evaluación de potabilidad en las fuentes de agua, por lo menos en los departamentos de los hospitales que admiten las poblaciones en riesgo. El uso de fuentes de agua potable con un tratamiento terminal de luz UV puede ser un control adicional, pero no elimina la necesidad de realizar pruebas microbiológicas periódicas (Costa *et al.* 2015).

El tratamiento con filtros de carbón activado granular es una técnica importante para el control microbiológico en la producción de agua mineral. La presencia de *P. aeruginosa* en agua tratada con filtros de carbón activado puede ser utilizada para evaluar la validez de esté tratamiento. Desafortunadamente, se ha confirmado la presencia del patógeno en agua tratada, por esta razón, la presencia de *P. aeruginosa* en el agua es un indicador microbiológico importante establecido por la Organización Internacional para la Estandarización (ISO).

El tratamiento estándar del agua remueve la mayoría de la contaminación microbiana. Sin embargo, en los grandes edificios, tales como hospitales, hay muchos lugares dentro de la tubería, donde las bacterias son capaces de proliferar y formar biopelículas. Estos lugares incluyen partes del sistema donde puede haber un estancamiento o mayores niveles de nutrientes por acumulación de materia orgánica, tales como fuentes de agua con bajo nivel de uso, tramo muerto y materiales no metálicos utilizados para las canalizaciones. Como es una bacteria aeróbica que se basa en la oxidación para metabolizar hidratos de carbono, *P. aeruginosa* se desarrolla mejor en las partes distales del sistema de distribución de agua, como grifos y lavamanos en donde existe suficiente acceso al oxígeno. Una vez establecidas las biopelículas, en particular en los tramos muertos, los biocidas pueden no ser capaces de penetrarlas y las bacterias pueden permanecer profundamente dentro de la biopelícula (Loveday *et al*. 2014).

Se ha reportado en la literatura diferentes intervenciones durante los brotes en hospitales para reducir la contaminación en las tuberías de agua como: evitar el consumo de agua; la sustitución de algunos elementos y accesorios; el desmantelamiento de puntos de salida de agua, seguido de limpieza y desinfección con cloro y peróxido de hidrógeno; autoclave o aumento de la temperatura en la salida del agua; cloración a concentraciones más elevadas de lo normal en todo el sistema; instalación de filtros externos en las fuentes de agua o de sistemas de filtración de agua. En la mayoría de los estudios se reportan varios intentos para erradicar la bacteria y el empleo de diferentes metodologías. La eliminación de los elementos y accesorios, como por ejemplo, aireadores, y la instalación de dispositivos tales como filtros en el punto de uso y sistemas para garantizar la seguridad microbiológica del agua se han reportado como efectivos pero costosos. Sin embargo, estos estudios no han proporcionado evidencia plausible sobre el efecto de la intervención.

Algunas intervenciones que han demostrado eficacia en la reducción de la contaminación son: filtros en el punto de uso y desinfección con 0.5 mg/L de cloro (se observó disminución en la recuperación de *Pseudomona* spp.) y 2.7 mg/L de cloro (no se recuperó *Pseudomona* spp.). Sin embargo estos métodos generan preocupación por los efectos que pueda generar la cloración en la plomería y el alto costo de los filtros, por lo cual se propone la instalación de un circuito de agua, el cual produce agua de calidad microbiológica y de forma sostenida en el tiempo (Aumeran *et al.* 2007). Otro estudio demostró una disminución del 85% ($P < 0.0001$) en la colonización en infección de los pacientes admitidos a UCI una vez se implementó la utilización de filtros de agua en el puto final de utilización (Trautmann *et al*. 2008).

P. aeruginosa es un patógeno oportunista invasivo que causan infecciones nosocomiales severas, cuando se producen brotes es necesario realizar la identificación precisa de la fuente de infección. La caracterización genética del patógeno utilizando métodos de tipificación proporciona herramientas rápidas y válidas que son útiles para el rastreo de la fuente de P. aeruginosa, previniendo infecciones causadas por esta bacteria a través del agua.

La tipificación de *P. aeruginosa* mediante métodos fenotípicos tradicionales es necesaria para la vigilancia epidemiológica del agua, pero puede carecer de poder discriminatorio y estabilidad. En comparación con las limitaciones de los métodos tradicionales, las técnicas moleculares ofrecen una mejoría considerable, y pueden complementar los datos fenotípicos para obtener una mayor comprensión de la diversidad de la bacteria.

Para lograr el máximo de la diferenciación y rastrear el origen de los patógenos transmitidos por los alimentos cuando se realicen investigaciones epidemiológicas y de vigilancia, se recomienda utilizar una combinación de dos o más métodos de tipificación.

4. CARENCIA DE DATOS Y FUTURAS NECESIDADES DE INVESTIGACIONES

- Es escasa la información sobre la presencia de *P. aeruginosa* y otros microganismos en agua potable y en agua embotellada en Colombia. En consecuencia es necesario adelantar investigaciones académicas sobre la presencia de patógenos, distribución de los genes de virulencia y caracterización genética de *P. aeruginosa*.

- No se encontraron publicaciones sobre presencia de *Salmonella* spp en agua envasada en Colombia.

- Es necesario adelantar estudios sobre la evaluación microbiológica del producto comercializado en sitios de expendio.

- No se encontró información sobre brotes de infección por *P. aeruginosa* causados por el consumo de agua embotellada.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La presencia de *P. aeruginosa* es por lo general un indicador de contaminación durante el proceso de embotellado, este patógeno oportunista puede crecer en agua con bajo contenido de nutrientes y sobrevivir por largos periodos de tiempo (Casanovas-Massana and Blanch 2012; Rosenberg 2003). Sin embargo, existe un riesgo mínimo de infección por *P. aeruginosa* para la población general si este patógeno está presente en el agua embotellada. La bacteria tendría que ser ingerida a una taza de 5.0 X103 a 1.0 X 104 UFC/mL en 2L de agua ingeridos diariamente, para tener una probabilidad de 1: 10.000 de colonizar el intestino. No obstante, *P. aeruginosa* no es considerada como un patógeno especifico de agua envasada teniendo en cuenta que una vez sufra el tratamiento de potabilización o de eliminación de patógenos ya no estaría presente. Sin embargo, la detección de *P. aeruginosa* en el agua embotellada se considera inaceptable, ya que es un patógeno oportunista capaz de causar infecciones en los consumidores inmunocomprometidos (Varga 2011). Por lo anterior, debe continuar siendo un indicador microbiológico vigilado por las autoridades sanitarias, y por ende es necesario fortalecer el sistema de vigilancia en la industria de agua embotellada (Zamberlan da Silva et al. 2008).

- Las aguas minerales naturales se consideran microbiológicamente aceptables, se originan en una capa freática o yacimiento subterráneo y emergen de forma natural en un manantial o son extraídas por perforación. Este tipo de agua no puede ser tratada para eliminar o destruir microorganismos, sólo se permite la separación de los constituyentes inestables y la eliminación, introducción o reintroducción de dióxido de carbono según las regulaciones de la unión europea. La norma también establece que en la fuente u origen y durante la comercialización del agua mineral natural deberá estar exenta de: *P. aeruginosa*, enterococos, *E. coli*, otros coliformes y anaerobios sulfito reductores. Sin embargo, en este caso miembros de algunas especies de bacterias que hacen ser parte de la microbiota del agua podrían causar enfermedades en individuos vulnerables como por ejemplo, personas en los extremos de la vida, pacientes inmunocomprometidos y mujeres en embarazo. Por lo general, la flora autóctona no representa ninguna preocupación para la población sana, así mismo, la evidencia clínica y epidemiológica es insuficiente para concluir que los altos recuentos de heterótrofos en el agua potable constituyen un riesgo para la salud del consumidor (Falcone-Dias, Vaz-Moreira, y Manaia 2012). Datos epidemiológicos muestran que las bacterias autóctonas en las aguas minerales naturales nunca han dado lugar a trastornos patológicos detectables en los seres humanos, esto aplica principalmente para las aguas minerales importadas. Por tanto aunque *P. aeruginosa* es un patógeno de importancia clínica su incidencia de ETA en agua envasada es baja teniendo en cuenta las estadísticas en Colombia y en otros países como estados unidos.

- De acuerdo con Kokkinakis, Fragkiadakis, y Kokkinaki en el año 2008, las plantas embotelladoras que implementen el sistema HACCP deben considerar la fuente de abastecimiento de agua; de tal manera que se abarquen todas las etapas (desde las materias primas hasta los productos

finales), e incluso capacitar al personal de los puntos de venta; lo anterior contribuye con el control de la contaminación durante el embotellado y prevención de la proliferación durante el almacenamiento y la distribución (Kokkinakis, Fragkiadakis, Kokkinaki 2008).

- Puede ser necesario implementar modificaciones adicionales o combinaciones de procesos para aumentar el efecto bactericida y mejorar la higienización del aguas (por ejemplo, concentraciones más altas de ozono / mayor tiempo de contacto, combinaciones con el tratamiento de luz ultravioleta). Por otra parte, diferentes tecnologías como el proceso de oxidación avanzada, en el que se combina la radiación ultravioleta con la fotocatálisis por dióxido de titanio (TiO2) han probado ser eficaces para la eliminación de bacterias.

- La mayoría de los países tienen normas nacionales en las que se establecen las características microbiológicas para el agua embotellada, algunos tienen un sistema de certificación nacional y aunque no existe un sistema de certificación internacional universalmente aceptado, se podría decir que en general, un requisito para las aguas minerales y embotelladas es que 250 mL de agua deben estar completamente libres de *P. aeruginosa*. En algunas regulaciones menos rigurosas como la del *Codex Alimentarius* se aceptan máximo 2 UFC. Estos parámetros deben continuar siendo exigidos a los embotelladores de agua por las autoridades que ejercen las funciones de inspección, vigilancia y control con el objetivo de proteger la salud de los consumidores.

- Aunque las aguas minerales naturales se han consumido desde los tiempos de los romanos, sólo hasta el siglo XX se ha visto el surgimiento de la industria del agua mineral natural y el consumo de estos productos a gran escala como una alternativa a las bebidas no alcohólicas y al agua potable (Varga 2011). Debido a que en los últimos años, ha habido un enorme aumento en la demanda de agua embotellada en todo el mundo, incluyendo Colombia, se ha producido un rápido crecimiento de la industria de agua embotellada, que en el país representa la segunda bebida no alcohólica con mayor producción después de las bebidas gaseosas y a la cantidad creciente de nuevas plantas embotelladoras es necesario un mayor autocontrol por parte los productores de agua, así como una supervisión más sistemática por parte de las autoridades oficiales de control de los alimentos.

- Es necesario establecer en el país una normatividad específica para agua embotellada mineral, ya que hasta el momento la Resolución 12186 de 1991, fija las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano.

ACRÓNIMOS, SIGLAS Y ABREVIATURAS

CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Centros para el control de enfermedades de los Estados Unidos)
CISH	Hibridación in situ quimioluminiscente
CS	Selenito cistina
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
EPS	Sustancias poliméricas extracelulares
ETA	Enfermedad Transmitida por Alimentos
FDA	U.S. Food and Drugs Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos)
FDCA	Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (La Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos)
HACCP	Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control
INVIMA	Instituto Nacional para la Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Colombia)
IV	Intravenosa
IVC	Inspección Vigilancia y Control
ISO	International Organization for Standardization (La Organización Internacional de Normalización)
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
PNA	Peroxidasa de soja
MF	Microfiltración
NF	Nanofiltración
NMP	Número Más Probable
OI	Osmosis Inversa
SIVIGILA	Sistema de Vigilancia en Salud Pública
SGIA	Sistema de Gestión de Inocuidad Alimentaria
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UE	Unión Europea
UF	Ultrafiltración
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
UV	Ultravioleta
WHO/OMS	World Health Organization/Organización Mundial de la Salud

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexander, Johannes et al. 2016. "Ozone Treatment of Conditioned Wastewater Selects Antibiotic Resistance Genes, Opportunistic Bacteria, and Induce Strong Population Shifts." Science of the Total Environment 559: 103–12. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.154.

América Economía. 2014. "El Consumo de Agua Embotellada En América Latina. [Internet]. América Economía; [Citedo 2016 Jul 13]. Disponible En: Http://www.americaeconomia.com/negocios-Industrias/grafico-Del-Dia-El-Consumo-de-Agua-Embotellada-En-America-Latina."

Andrejko, Mariola, Agnieszka Zdybicka-Barabas, Monika Janczarek, and Małgorzata Cytryńska. 2013. "Three Pseudomona aeruginosa Strains with Different Protease Profiles." Acta biochimica Polonica 60(1): 83–90. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23513190.

Aumeran, C. et al. 2007. "Pseudomona aeruginosa and Pseudomonas Putida Outbreak Associated with Contaminated Water Outlets in an Oncohaematology Paediatric Unit." Journal of Hospital Infection 65(1): 47–53.

Balasubramanian, Deepak, Lisa Schneper, Hansi Kumari, and Kalai Mathee. 2013. "A Dynamic and Intricate Regulatory Network Determines Pseudomona aeruginosa Virulence." Nucleic Acids Research 41(1): 1–20.

Bharath, J. et al. 2003. "Microbial Quality of Domestic and Imported Brands of Bottled Water in Trinidad." International Journal of Food Microbiology 81(1): 53–62.

Brooks, Geo F, Janet S Butel, and Stephen A Morse. 2005. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick Y Adelbert. . BOOK.

Carpenter, Robert J. et al. 2008. "Pseudomonas Putida War Wound Infection in a US Marine: A Case Report and Review of the Literature." Journal of Infection 56(4): 234–40.

Casanovas-Massana, Arnau, and Anicet R. Blanch. 2012. "Diversity of the Heterotrophic Microbial Populations for Distinguishing Natural Mineral Waters." International Journal of Food Microbiology 153(1–2): 38–44. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.012.
Casanovas-Massana, Arnau, Francisco Lucena, and Anicet R. Blanch. 2010. "Identification of Pseudomona aeruginosa in Water-Bottling Plants on the Basis of Procedures Included in ISO 16266:2006." Journal of Microbiological Methods 81(1): 1–5. http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2009.12.013.

CDC_a. 1996. "Surveillence for Waterborne Disease Outbreak - United States, 1993-1994." (Centers for Disease Control and Prevention). Morbidity and 1996. Morbidity Weekly Report 45: 1–33.

CDC_b. 2000. "Surveillance for Waterborne-Disease Outbreaks --- United States, 1997--1998." (Centers for Disease Control and Prevention). Morbidity and 1996. Morbidity Weekly Report 49: 1–35.

Codex Alimentarius. 1985. Código de Prácticas de Higiene Para La Captación, Elaboración Y Comercialización de Las Aguas Minerales Naturales (CAC/RCP 33-1985).

Costa, D. et al. 2015. "Nosocomial Outbreak of Pseudomona aeruginosa Associated with a Drinking Water Fountain." Journal of Hospital Infection 91(3): 271–74. http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2015.07.010.

Craun, Gunther F., et al. "Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006." Clinical Microbiology Reviews 23.3 (2010): 507-528.

Criado, Maria Victoria, Virginia E. Fernández Pinto, Alicia Badessari, and Daniel Cabral. 2005. "Conditions That Regulate the Growth of Moulds Inoculated into Bottled Mineral Water." International Journal of Food Microbiology 99(3): 343–49.

Diduch, Malwina, Zaneta Polkowska, and Jacek Namiesnik. 2016. "The Role of Heterotrophic Plate Count Bacteria in Bottled Water Quality Assessment." Food Control 61: 188–95.

Dosti, Bilal, Zeynep Guzel-Seydim, and Annel K. Greene. 2005. "Effectiveness of Ozone, Heat and Chlorine for Destroying Common Food Spoilage Bacteria in Synthetic Media and Biofilms." International Journal of Dairy Technology 58(1): 19–24.

Eckmanns, T. et al. 2008. "An Outbreak of Hospital-Acquired Pseudomona aeruginosa Infection Caused by Contaminated Bottled Water in Intensive Care Units." Clinical Microbiology and Infection 14(5): 454–58.

Euromonitor International. 2016. "Bottled Water in Colombia. [Internet]. London: Euromonitor International Ltd. [Citado 18 Jul 2016]. Disponible En: Http://www.euromonitor.com/bottled-Water-in-Colombia/report."

Fabret, Céline, Victoria a Feher, and James a Hoch. 1999. "Two-Component Signal Transduction in Bacillus Subtilis : How One Organism Sees Its World MINIREVIEW Two-Component Signal Transduction in Bacillus Subtilis : How One Organism Sees Its World †." Journal of bacteriology 181(7): 1975–83.

Falcone-Dias, Maria Fernanda, Ivone Vaz-Moreira, and C M. Manaia. 2012. "Bottled Mineral Water as a Potential Source of Antibiotic Resistant Bacteria." Water Research 46(11): 3612–22.

FAO. 1992. "Manual of Food Quality Control 4. Rev. 1." Microbiological Analysis. Rome: 27–48.
Fariñas, María Carmen, and Luis Martínez-Martínez. 2013. "Infecciones Causadas Por Bacterias Gramnegativas Multirresistentes: Enterobacterias, Pseudomona aeruginosa , Acinetobacter Baumannii Y Otros Bacilos Gramnegativos No Fermentadores." Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica 31(6): 402–9.

FDA. 2015. "Food and Drug Administration. Requirements for Specific Standardized Beverages. Washington: U.S. Food and Drug Administration; 2015. Code of Federal Regulations, Title 21, Volume 2. [Citado 2016 Marzo 9]. Disponible En: Https://www.accessdata.fda.gov/scri."

———. 2016. "US Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations Title 21, Volume 2. Silver Spring, Maryland: Food and Drug Administration Department of Health and Human Services; 2016."

Fernández, R. O., and R. A. Pizarro. 1999. "Pseudomona aeruginosa UV-A-Induced Letal Effect: Influence of Salts, Nutricional Stress and Pyocyanine." Photochem Photobiol Biology 50: 59–65.

Flemming, Hans-curt, and Jost Wingender. 2010. "The Biofilm Matrix." Nature reviews. Microbiology 8(9): 623–33. http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2415\nhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20676145.

Gomescaseres, L, R López, F Peterson, and M Maza. 2001. Cartagena, Colombia: Universidad de Cartagena, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas "Evaluación de La Calidad Bacteriológica Del Agua Envasada Comercializada En La Zona Céntrica de Cartagena [Tesis de Grado]." JOUR.

Greenlee, Lauren F. et al. 2009. "Reverse Osmosis Desalination: Water Sources, Technology, and Today's Challenges." Water Research 43(9): 2317–48.

Güler, Cüneyt. 2007. "Evaluation of Maximum Contaminant Levels in Turkish Bottled Drinking Waters Utilizing Parameters Reported on Manufacturer's Labeling and Government-Issued Production Licenses." Journal of Food Composition and Analysis 20(3–4): 262–72.

Guzel-Seydim, Zeynep B., Annel K. Greene, and A. C. Seydim. 2004. "Use of Ozone in the Food Industry." LWT - Food Science and Technology 37(4): 453–60.

Hamilton, N. and F.A. Rosenberg. 1991. "Examination of Bottled Drinking Watercontainers for Biofilm Formation, P. 1473-1490, Proceedings of the Water Quality Technology Conference."

Harada, Kazuki et al. 2012. "Characterization of Pseudomona aeruginosa Isolates from Dogs and Cats in Japan: Current Status of Antimicrobial Resistance and Prevailing Resistance Mechanisms." Microbiology and Immunology 56(2): 123–27.

Hunter, P R. 1993. "The Microbiology of Bottled Natural Mineral Waters - A Review." Journal of Applied Bacteriology 74(MAY 1993): 345–52.

IBWA. 2016. "International Bottled Water Association. Types of Water – Bottled. [Internet]. Virginia: International Bottled Water Association; [Citado 2016 Jul 12]. Disponible En: Http://www.bottledwater.org/types/bottled-Water."

ISO. 2006. "ISO 16266:2006 - Water Quality - Detection and Enumeration of Pseudomona aeruginosa - Method by Membrane Filtration."
Jeena, M. I. et al. 2006. "Risk Assessment of Heterotrophic Bacteria from Bottled Drinking Water Sold in Indian Markets." International Journal of Hygiene and Environmental Health 209(2): 191–96.

Kassenga, Gabriel R. 2007. "The Health-Related Microbiological Quality of Bottled Drinking Water Sold in Dar Es Salaam, Tanzania." Journal of Water and Health 5(1): 179–85. http://jwh.iwaponline.com/content/5/1/179.abstract.

Kayser, W V et al. 1975. "Bacteriological Evaluation of an Ultra-Pure Water-Distilling System." 30(4): 704–6.

Kerr, M. et al. 1999. "Survival of Escherichia coli O157:H7 in Bottled Natural Mineral Water." Journal of Applied Microbiology 87(6): 833–41.

Kokkinakis, Emmanuel N., Georgios A. Fragkiadakis, and Aikaterini N. Kokkinaki. 2008. "Monitoring Microbiological Quality of Bottled Water as Suggested by HACCP Methodology." Food Control 19(10): 957–61.

Koneman, Elmer et al. 2004. Diagnóstico Microbiológico: Texto Y Atlas Color. Editorial Médica Panamericana. BOOK.

Lau, Gee W., Daniel J. Hassett, and Bradley E. Britigan. 2005. "Modulation of Lung Epithelial Functions by Pseudomona aeruginosa ." Trends in Microbiology 13(8): 389–97.

Legnani, P. et al. 1999. "Survival and Growth of Pseudomona aeruginosa in Natural Mineral Water: A 5-Year Study." International Journal of Food Microbiology 53(2–3): 153–58.

Loveday, H. P. et al. 2014. "Association between Healthcare Water Systems and Pseudomona aeruginosa Infections: A Rapid Systematic Review." Journal of Hospital Infection 86(1): 7–15. http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2013.09.010.

Loy, Alexander, Wolfgang Beisker, and Harald Meier. 2005. "Diversity of Bacteria Growing in Natural Mineral Water after Bottling." Applied and Environmental Microbiology 71(7): 3624–32.

Mahajan-Miklos, Shalina, Man Wah Tan, Laurence G. Rahme, and Frederick M. Ausubel. 1999. "Molecular Mechanisms of Bacterial Virulence Elucidated Using a Pseudomona aeruginosa -Caenorhabditis Elegans Pathogenesis Model." Cell 96(1): 47–56.

Manaia, C M, O C Nunes, P V Morais, and M S da Costa. 1990. "Heterotrophic Plate Counts and the Isolation of Bacteria from Mineral Waters on Selective and Enrichment Media." The Journal of applied bacteriology 69(6): 871–76. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2126789.

Mena, Kristina D, and Charles P Gerba. 2009. "Risk Assessment of Pseudomona aeruginosa in Water." In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol 201, Springer. CHAP, 71–115.

Monnot, Mathias, Hòa Thi Khánh Nguyên, Stéphanie Laborie, and Corinne Cabassud. 2016. "Seawater Reverse Osmosis Desalination Plant at Community-Scale: Role of an Innovative Pretreatment on Process Performances and Intensification." Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2016.09.020.

Morais, Paula V., Carla Mesquita, José Luís Andrade, and Milton S. Da Costa. 1997. "Investigation of Persistent Colonization by Pseudomona aeruginosa -like Strains in a Spring Water Bottling Plant." Applied and Environmental Microbiology 63(3): 851–56.

Nestlé Waters. 2016. "Purified Water: The 12 Steps Quality Process. [Internet]. Vevey: Nestlé S.A.; 2016. [Citado 2016 Jul 18]. Disponible En: Https://www.nestle.com/info/contactus/contactus."

Nsanze, H., Z. Babarinde, and H. Al Kohaly. 1999. "Microbiological Quality of Bottled Drinking Water in the UAE and the Effect of Storage at Different Temperatures." Environment International 25(1): 53–57.

OMS. 2006. Guías Para La Calidad Del Agua Potable [Recurso Electrónico]: Vol. 1. Tercera Edición. Organización Mundial de la Salud.

Oppezzo, Oscar J, Cristina S Costa, and Ramón A Pizarro. 2015. ". Effects of Ultraviolet A Radiation on Survival and Growth of Gram Negative Bacteria. Effects of Ultraviolet A Radiation on Survival and Growth of Gram Negative Bacteria." (JANUARY 2011).

Rello, Jordi et al. 1996. "Evaluation of Outcome for Intubated Patients with Pneumonia due to Pseudomona aeruginosa ." Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 23(5): 973–78.

Richards, J, D Stokely, and P Hipgrave. 1992. "Quality of Drinking Water." BMJ: British Medical Journal 304(6826): 571.

Rodwan, John G. 2014. Bottled Water 2014:
Rosenberg, Fred A. 2003. "The Microbiology of Bottled Water." Clinical Microbiology Newsletter 25(6): 41–44. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196439903800193.

Schmidt-Lorenz, W. 1976. "Microhiological Cbaracteristics of Natural Minerai Water ()."

Shi, Hui et al. 2012. "A Universal Primer Multiplex PCR Method for Typing of Toxinogenic Pseudomona aeruginosa ." Applied Microbiology and Biotechnology 95(6): 1579–87.

Silva V. et al. 2014. "Virulence Attributes in Brazilian Clinical Isolates of Pseudomona aeruginosa ." International Journal of Medical Microbiology 304(8): 990–1000. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.07.001.

Singh, Manish Kumar. 2015. "A Study on Implementing Food Safety Management System in Bottling Plant." Procedia - Social and Behavioral Sciences 189: 433–41.
http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877042815019928.

Stender, H et al. 2000. "Rapid Detection, Identification, and Enumeration of Pseudomona aeruginosa in Bottled Water Using Peptide Nucleic Acid Probes." Journal of microbiological methods 42(3): 245–53. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11044568.

Thibodeau, P. H., and Michael B. Butterworth. 2013. "Proteases, Cystic Fibrosis and the Epithelial Sodium Channel (ENaC)." Cell and Tissue Research 351(2): 309–23.

Trautmann, Matthias et al. 2008. "Point-of-Use Water Filtration Reduces Endemic Pseudomona aeruginosa Infections on a Surgical Intensive Care Unit." American Journal of Infection Control 36(6): 421–29.

Tsai, Guo-Jane, and Shou-Chin Yu. 1997. "Microbiological Evaluation of Bottled Uncarbonated Mineral Water in Taiwan." International Journal of Food Microbiology 37(2–3): 137–43. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160597000652.

Unión Europea. 2009. "Directiva 2009/54/CE Del Parlamento Europeo Y Del Consejo. Diario Oficial de La Unión Europea.": 45–58.

Valles, Jordi, and Dolors Mariscal. 2016. "Neumonía Por Pseudomona aeruginosa ." 23: 30–36.

Varga, L. 2011. "Bacteriological Quality of Bottled Natural Mineral Waters Commercialized in Hungary." Food Control 22(3–4): 591–95. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.009.

Vaz-Moreira, Ivone, Olga C. Nunes, and M. Manaia. 2012. "Diversity and Antibiotic Resistance in Pseudomona spp. from Drinking Water." Science of the Total Environment 426: 366–74. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.046.

Vidal, J., Consuegra, A., Gomescaseres, L., & Marrugo. 2009. "Assessment of the Microbiological Quality of Water Packed in Bags Manufactured in Sincelejo - Colombia." Rev. MVZ Córdoba 14(2): 1736–44.

Warburton, D W. 2000. "Methodology for Screening Bottled Water for the Presence of Indicator and Pathogenic Bacteria." Food Microbiology 17(1): 3–12. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002099902836.

Warburton, Donald et al. 1998. "A Further Review of the Microbiological Quality of Bottled Water Sold in Canada: 1992-1997 Survey Results." International Journal of Food Microbiology 39(3): 221–26.

Warburton, Donald, Bruce Bowen, and Anne Konkle. 1994. "The Survival and Recovery of Pseudomona aeruginosa and Its Effect upon Salmonellae in Water:methodology to Test Bottled Water in Canada." Canadian Journal of Microbiology 40(12): 987–92. http://dx.doi.org/10.1139/m94-158.

Warburton, Donald, Pearl I Peterkin, Karl F Weiss, and Murray A Johnston. 1986. "Microbiological Quality of Bottled Water Sold in Canada." Canadian Journal of Microbiology 32(11): 891–93. http://dx.doi.org/10.1139/m86-163.

Wolfe, Roy L. 1990. "Ultraviolet Disinfection of Potable Water." Environmental Science & Technology 24(6): 768–73. http://dx.doi.org/10.1021/es00076a001.

Zamberlan da Silva, Marie Eliza et al. 2008. "Comparison of the Bacteriological Quality of Tap Water and Bottled Mineral Water." International Journal of Hygiene and Environmental Health 211(5–6): 504–9.

Zenith International. 2016. "Water Vital Statistics: Industry Data [Internet]. London: British Bottled Water Producers; 2016. [Citado 2016 Jul 18]. Disponible En: Http://www.britishbottledwater.org/vital-Statistics.asp."

GOBIERNO DE COLOMBIA

MINSALUD

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

www.ins.gov.co

Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública

Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) y Plaguicidas