

EL presente trabajo de investigación se desarrollo en el Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Investigación y Estudios de postgrado (DIEP) del Instituto Tecnológico de Sonora y forma parte del proyecto “Evaluación Fisicoquímica y Microbiológica en agua y alimento”; siendo asesorado por el M.I. Anacleto Félix Fuentes.

DEDICATORIAS

A DIOS:

Que me dio la oportunidad de vivir, de ser su hijo y de estar siempre conmigo.

A MIS PADRES:

Roberto Sandoval E y Delfina Peral F. Por ser los mejores, por apoyarme en todo momento y por ser mis guías y conducirme por el camino apropiado, gracias padres por ser mis mejores amigos, que gracias a ustedes estoy a punto de lograr una de mis metas mas grandes. Mil gracias por darme tanto amor, de ser su hijo y de ser como son los quiero mucho y no cambien nunca por favor.

A MIS TÍAS:

t Guadalupe Valenzuela O. que por desgracia del destino no esta conmigo pero estará siempre en mi corazón te quiero mucho mamá y Lucero Flores C. Por ser mis segundas madres, gracias por todo el cariño y amor que me han brindado y por estar siempre conmigo las quiero mucho.

A MIS HERMANOS:

Que tanto quiero Diana Araceli (Chapa) y Roberto Carlos (Tiky) porque aparte de ser mis hermanos han sido siempre mis amigos y han estado en las buenas y en las malas y por todos

los momentos que hemos pasado juntos y por apoyarme en todos los momentos difíciles de mi vida. Los quiero mucho.

A MI NOVIA (LILIAN ROSAS):

Gracias corazón por todo ese amor, comprensión, cariño que me has brindado, amor también por todo el apoyo para lograr esta meta tan importante en mi vida y mil gracias por formar parte de mi vida. Te amo.

A MIS ABUELOS:

Guadalupe Esparza (mamá Lupe), Rodolfo Sandoval (papá yoyo), t Hortencia Félix y Servando Peral por estar siempre conmigo, por sus consejos y por quererme tanto. Los quiero mucho.

A MIS TIOS:

Rodolfo (Rodo), Lidia, Pancho, Mimi, Monchi, Nelva, Ary, Negro, Edna Cecilia, por todo el apoyo incondicional que me han brindado, los quiero.

A MIS SUEGROS:

Abelardo Rosas y Sylvia Montoya, por su apoyo incondicional y por hacerme sentir como su hijo muchas gracias, los quiere su yerno.

A MIS CUÑADOS:

Sylvia Ma. Rosas y Rubén Lomelí por ser mis amigos y casi mis hermanos los quiero.

A MIS PRIMOS:

Abel, Javier, Carmen (morusa), Gustavo (guti), Claudia, Elsa, Rodolfito, Lupita, Lizeth, Adrianita, Denisse, Luis Alonso por esos momentos felices que hemos pasado juntos y por quererme tanto, los quiero.

A MIS SOBRINOS:

Fermanda (Fer), Mauricio(Mau) y José Ángel por ser unos angelitos en mi vida, los quiero.

A MIS AMIGOS:

Raúl, German (Macario), Richi, Jorge, Memo, Chino, Enrique (huevo), José Luis, Mariana, Elías, Siulam, Sugey, Nadia, Gerardo, Roberto, y a todos mis compañeros, gracias por todos esos momentos que hemos pasado juntos y por estar ahí siempre que los necesito y demostrarme que son mis verdaderos amigos.

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR:

M.I. Anacleto Félix Fuentes, por todo su apoyo y amistad que me brindó durante mi carrera y mi formación estudiantil, y muchas gracias por todos los consejos y conocimientos brindados que me ayudaron a culminar esta gran meta. ¡Muchas gracias Ingeniero!.

A LA MAESTRA OLGA NIDIA CAMPAS BAIPOLI

Por brindarme su amistad y su apoyo incondicional, para llevar acabo la revisión de esta investigación.

AL PERSONAL DE LOS COMEDORES Y DE LAS CAFETERIAS DEL ITSON

Por su apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABLAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	vii
OBJETIVO GENERAL	ix
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	x
HIPÓTESIS	xi
I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Género <i>Staphylococcus</i>	1
1.1.1. Intoxicación estafilocócica	2
1.2. Género <i>shigella</i>	5
1.3. Género <i>Salmonella</i>	8
1.3.1. Salmonelosis	9
1.3.2. Causas de Salmonelosis	10
1.3.3. Condiciones necesarias para la presentación de un brote.	11
1.3.4. Manera de evitar un brote de Salmonelosis	11

1.3.5. Fuentes de <i>Salmonella</i>	15
II. MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1. Sitios de muestreo	16
2.2. Tipos de muestras	17
2.3. Período de muestreo	17
2.4. Toma y transporte de la muestra	19
2.5. Análisis Microbiológicos	19
2.5.1. Enriquecimiento y aislamiento de <i>Salmonella</i>	19
2.5.2. Enriquecimiento y aislamiento de <i>Shigella</i>	19
2.5.3. Enriquecimiento y aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.5.3.1. Prueba de coagulasa	20
2.6. Identificación por pruebas bioquímicas	21
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1. Resultados obtenidos en la determinación de <i>Salmonella</i> sp en alimentos	25
3.2. Resultados obtenidos en la determinación de <i>Shigella</i> sp en alimentos	26
3.3. Resultados obtenidos en la determinación de <i>Staphylococcus</i>	

<i>aureus</i> en alimentos	26
CONCLUSIONES	31
RECOMENDACIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	34

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Fechas de muestreo	18
2	Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Nainari durante el período de Septiembre-Noviembre del año 2000	27
3	Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes de la cafetería de la unidad Centro durante el período Septiembre Diciembre del año 2000	28
4	Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Nainari durante el período Febrero-Septiembre del año 2000	29
5	Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Centro durante el período Febrero-Junio del año 2000	30

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Dirección de Investigación de Estudios de Posgrado (DIEP) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), durante el período comprendido en los semestres Agosto-Diciembre de 2000 y Enero-Mayo de 2001.

Cuyo objetivo fue realizar análisis de microorganismos patógenos para determinar su calidad sanitaria y verificar que son aptos para consumo humano.

Se realizaron 22 muestreos quincenalmente en la cafetería y comedor estudiantil de Instituto Tecnológico de Sonora, en unidad Nainari y unidad Obregón, analizando un total de 88 muestras algunas de estas fueron hamburguesas, frijoles, chilaquiles, cochinita, sopas ensaladas entre otras.

Los análisis que se llevaron a cabo fueron aislamiento en medios de enriquecimiento y selectivos e identificación por pruebas bioquímicas de *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, y *Staphylococcus aureus*.

Para la determinación de *Salmonella sp.* se pesaron 25g. de muestra la cual se homogeniza y se agregó a un matraz con 225ml de caldo lactosado incubándose a 37 °C durante un período de 18-24 h. Posteriormente se sembró 1 ml en 10 ml de caldo tetrionato base y selenito-cistina para incubarse a 37 °C por un período de 18-24 h, posteriormente se sembró en agar XLD ó agar Mac Conckey para incubarse a 37 °C por 18-24 h una vez transcurrido dicho

tiempo se observaron las placas para ver si crecían colonias típicas de *Salmonella sp* y se realizaron las pruebas bioquímicas para su confirmación.

Para *Shigella sp* se pesaron 25 g de muestra y se homogenizaron colocándose en un matraz con 225 ml con caldo GN para posteriormente incubarse a una temperatura de 37 °C durante 18-24 h, para después se sembraron en agar Mac Conckey y en agar XLD e incubarse a 37 °C por 18-24 h, a las colonias típicas se les realizaron pruebas bioquímicas para su confirmación.

Para *Staphylococcus aureus* se pesaron 10 g y se colocaron en un frasco con 90 ml de solución diluyente después se realizaron las diluciones hasta 10^{-4} para posteriormente de cada dilución transferir 0.1 ml de solución a placas con agar Baird Parker las cuales se incubaron por 24-48 h a una temperatura de $35 \pm$ °C, en caso de encontrar colonias típicas, las cuales son negras y brillantes rodeadas por una zona blanca se cuentan y se realiza una tinción Gram y se resiembra en caldo BHI para la prueba de la coagulasa.

Los resultados obtenidos para *Salmonella sp.*, *Shigella sp* y *Staphylococcus aureus*, fueron negativos ya que dichos microorganismos, no se encontraron presentes en el total de las muestras, con esto se demostró la buena calidad de los alimentos expendidos en estos lugares debido a las adecuadas practicas de higiene y limpieza, así como su preparación y manipulación, lo cual nos indica que son aptos para consumo humano, ya que cumplen con las Normas Oficiales Mexicanas.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos juegan un papel muy importante en la vida diaria y por tal motivo es adecuado consumir alimentos con buena calidad sanitaria ya que en la mayor parte de los casos, los microorganismos utilizan estos alimentos como fuente de elementos nutritivos para su multiplicación, esto puede dar lugar a la alteración de los alimentos. El deterioro de dichos alimentos no sólo obedece al incremento de microorganismos y a la utilización de sustancias nutritivas, sino también a la producción de cambios enzimáticos que originan modificaciones del sabor por degradación o por la síntesis de nuevos compuestos; además estos alimentos sirven como vehículos portadores de enfermedades que en ocasiones pueden ser de consideración ya que son causadas por microorganismos patógenos (Frazier, 1993).

Algunas veces las interacciones entre microorganismos y alimentos son beneficiosas, como ocurre con aquellos productos fermentados, que como producto de la fermentación de los alimentos cambian su sabor característico (Jay, 1992).

Una condición importante que se debe de tomar en cuenta en el crecimiento de los diferentes microorganismos es que cada microorganismo tiene un pH óptimo, mínimo y máximo. El pH de los alimentos es variable, aunque en la mayor parte son neutros o ácidos . Los alimentos con pH bajo (inferior a 4.5) no son con gran facilidad alterados por bacterias, siendo por el contrario más sensibles a las acciones de levaduras y mohos. Los alimentos con pH bajo suelen ser microbiológicamente más estables que los neutros (Burdo, 1982).

Como ya se mencionó anteriormente, los alimentos juegan un papel bastante importante hoy en día debido a las enfermedades ocasionadas por microorganismos los cuales utilizan éstos alimentos como vehículos para infestar y crear serios problemas en la salud de los consumidores de éstos alimentos, debido a esto en el presente trabajo se realizaron análisis microbiológicos de alimentos para consumo humano, para evaluar su calidad sanitaria y determinar si son aptos para su consumo, en base a las normas oficiales mexicanas establecidas.

OBJETIVO GENERAL

Realizar análisis microbiológicos de alimentos procedentes de la cafetería y comedor del ITSON para determinar su calidad sanitaria y definir si son aptos para consumo humano en base a las Normas Oficiales Mexicanas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 📖 Aislar e identificar por pruebas bioquímicas a *Salmonella sp.*
- 📖 Aislar e identificar por pruebas bioquímicas a *Shigella sp.*
- 📖 Aislar e identificar por pruebas bioquímicas a *Staphylococcus aureus.*
- 📖 Comparar los resultados obtenidos con las Normas Oficiales Mexicanas.

HIPÓTESIS

Los alimentos expendidos en el comedor de la Unidad Nainari y cafetería de la Unidad Obregón cumplen con los parámetros establecidos por las normas oficiales mexicanas y por lo tanto son aptos para su consumo.

I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Género *Staphylococcus*

Los *Staphylococcus* Gram-positivos, crecen aislados, en parejas, en tetradas o en masas irregularmente agrupadas como racimos de uva. La especie más importante “*Staphylococcus aureus*”, generalmente crece dando color amarillo o naranja, aunque en ocasiones puede ser blanco. Necesita una fuente nitrogenada orgánica y en sus necesidades de oxígeno es facultativo. Muchas de las cepas beta –hemolíticas coagulasa-positivas son patógenas y algunas producen una enterotoxina que causa intoxicaciones alimentarias (Pelczar, 1982).

El crecimiento de *Staphylococcus aureus* es acompañado por la producción de compuestos extracelulares tales como hemolisinas, nucleasas, coagulasa, lipasas y enterotoxinas. Estas enterotoxinas pueden causar intoxicaciones alimentarias y son producidas por casi una tercera parte de las cepas de *S. aureus* coagulasa positiva (Pelczar, 1982).

Las enterotoxinas son un grupo heterogéneo de proteínas globulares termoestables, solubles en agua, de cadena sencilla que tienen un peso molecular entre 28,000 y 35,000 daltones, son siete enterotoxinas distintas serológicamente A, B, C₁, C₂, C₃, D Y E; y todas se han asociado con brotes de intoxicación alimentaria (BIA) (I.C.M.S.F., 1991).

La producción de enterotoxinas por cepas de *S. aureus* es afectada por la calidad nutritiva y el pH del sustrato, temperatura, atmósfera, cloruro de sodio en consecuencia la actividad de agua, otras sustancias químicas y la flora competitiva (I.C.M.S.F., 1991).

1.1.1. Intoxicación estafilocócica.

La intoxicación estafilocócica se caracteriza por náuseas, vómitos, fuertes calambres abdominales y diarrea que ocurren de 2 a 6 horas después de la ingestión de los alimentos que contienen las enterotoxinas estafilocócicas (I.C.M.S.F., 1991).

Entre los brotes de intoxicación estafilocócica los alimentos más frecuentes asociados son las carnes rojas procesadas, productos de aves, salsa, productos lácteos especialmente quesos, y flanes o productos de pastelería rellenos de crema. El jamón y productos semejantes frecuentemente son involucrados en más del 30% de los brotes de intoxicación estafilocócica (I.C.M.S.F., 1991).

Sin embargo, en estudios realizados en nuestro país, se ha encontrado que los productos lácteos (quesos y leche en polvo) más frecuentemente se han involucrado en brotes de intoxicación alimentaria que los productos cárnicos. La mayoría de los brotes resultan de la contaminación con *S. aureus* del alimento frecuentemente manipulado en condiciones no higiénicas y la conservación del mismo a temperaturas inadecuadas que permiten el crecimiento de microorganismos y la síntesis de la enterotoxina. Es importante señalar que los alimentos que contienen enterotoxina estafilocócica tienen apariencia, olor y sabor normal (Frazier, 1993).

Las células de *Staphylococcus aureus* son Gram positivas, no móviles, esféricas y generalmente dispuestas en racimos irregulares de *S. aureus*, es catalasa positivo, anaerobio facultativo y forma colonias pequeñas, circulares y convexas sobre placas de agar. Estas bacterias generalmente producen la enzima coagulasa, fermentan el manitol y varios azúcares formando ácido pero no gas. Crece en un intervalo amplio de temperatura que va de 6.5 a 50 °C, con un óptimo entre 30 y 40 °C, dependiendo de las condiciones de crecimiento. Igualmente *S. aureus* puede crecer en un intervalo amplio de pH, que va de 4.2 a 9.3 con un crecimiento óptimo entre pH, de 7.0 a 7.5. Puede crecer en presencia de 10% de cloruro de

sodio, siendo relativamente resistente a la desecación y al calor. Una característica útil para la identificación de *S. aureus* es la producción de una nucleasa termorresistente. Esta enzima es característica de *S. aureus* y se ha encontrado que tiene más relación con la capacidad de las cepas de producir enterotoxina (Fernández, 1983).

Actualmente a nivel mundial se presenta la tendencia de utilizar la prueba de termonucleasa tanto como criterio de identificación del microorganismo así como de la demostración del riesgo potencial de la cepa de producir enterotoxina, dadas las ventajas que presenta la demostración de esta enzima en comparación con la prueba de la coagulasa (Fernández, 1983).

En nuestro país el control sanitario de los alimentos en relación con *S. aureus* se realiza determinando el contenido de *Staphylococcus* presentes en el alimento, ya que un número elevado del microorganismo nos indica el riesgo potencial del alimento de contener enterotoxina, sin embargo, hay dos situaciones en que se justifica hacer la búsqueda de las enterotoxinas estafilococicas (SE) en los alimentos:

1. Cuando se presenta un BIA se requiere confirmar cual fue el alimento responsable,
2. En alimentos sospechosos de contener SE que vayan a ser exportados o en alimentos que son importados a nuestro país.

Desafortunadamente las técnicas para hacerlo son laboriosas y costosas se realizan por métodos inmunológicos. Es importante destacar que las toxinas y antitoxinas actualmente se han empezado a obtener en nuestro país.

Sin embargo el recuento de estafilococos en los alimentos se utiliza para calificar la calidad sanitaria de los mismos ya que un número elevado de estos:

1. Pone de manifiesto deficiencias en el manejo de algunos alimentos.
2. Constituye un riesgo potencial para la salud de la población que consume dichos alimentos.

3. Refuerza el diagnóstico clínico y epidemiológico de un brote en ausencia del ensayo inmunológico (Fernández, 1983).

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos se reconoce en general como índice de un manejo sanitario deficiente. El microorganismo causa procesos infecciosos en el hombre y en los animales y se aísla en individuos asintomáticos a partir de la faringe y de la mucosa nasal, aunque ésta es con mucho la fuente de contaminación más frecuente de *S. aureus* a los alimentos, es posible también una contaminación indirecta a través del equipo y desde luego, alimentos de origen animal provenientes de animales con la infección. Como el microorganismo llega a instalarse con cierta facilidad en la persona, es de esperarse un hallazgo más o menos común en los alimentos. Sin embargo en aquellos que están sujetos a un tratamiento antibacteriano, dada la susceptibilidad del microorganismo a los agentes físicos y químicos, deberán encontrarse libres de células viables de estafilococo (Fernández, 1981).

Aún en casos en los que difícilmente puede evitarse la contaminación con el microorganismo, una refrigeración adecuada oportuna constituye la medida más indicada para evitar la proliferación del microorganismo y el eventual riesgo de producción de enterotoxina.

El recuento de estafilococos en alimentos tales como los quesos frescos y las carnes procesadas, pueden poner de manifiesto una deficiente preservación del producto. Suele utilizarse como límite, hasta 1,000 Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de alimento (Fernández, 1983).

Por estas razones, pueden encontrarse en la literatura numerosos informes sobre el diseño y evaluación de medios de cultivo a los que se han incorporado una variedad de agentes selectivos, la mayoría de ellos recurren al empleo de telurito de potasio o a la incorporación de cloruro de sodio hasta 7.5 y 10%. Los medios de 110 y de Chapman tan utilizados en la Bacteriología Médica, tienen escaso valor en los alimentos debido principalmente a la abundante y variada flora competitiva que suele encontrarse en éstos últimos.

Todos los medios propuestos y corrientemente en uso como selectivos para el *Staphylococcus aureus* de alguna manera interfieren también con el crecimiento del microorganismo y este efecto se resiente aún más en células desvitalizadas que resultan de la variedad de tratamientos a los que son sometidos los alimentos durante su procesado. La inhibición a su vez, puede ser revertida si se incorporan al medio algunas substancias o se aumenta su concentración como ocurre con la yema del huevo, el manitol y el extracto de levadura (Merck, 1982).

1.2. Género *Shigella*

Al igual que *Salmonella* el género *Shigella* se ve involucrado en enfermedades transmitidas por alimentos, la enfermedad producida por *Shigella* es llamada shigelosis y es de tipo infeccioso. Esta bacteria afecta principalmente a niños, sobre todo a aquellos que viven en condiciones higiénicas reprobables, que no cuentan con las facilidades para llevar a cabo las medidas de higiene personal más elementales (Fernández, 1981).

El género *Shigella* está formado por bacterias Gram negativas, aerobias no esporuladas, no móviles y está constituido por cuatro especies que son: *Sh. dysenteriae*, *Sh. flexneri*, *Sh. boydii* y *Sh. sonnei* (Fernández, 1981).

Se ha descrito que el género *Shigella* es inhibido frecuentemente por la presencia de otros microorganismos (principalmente los microorganismos coliformes) que pudieran encontrarse en los alimentos en número elevado. El microorganismo es muy sensible a pH ácido, sensible a la presencia de conservadores (benzoato de sodio), así como a la congelación; por lo que es recomendable que los alimentos sospechosos (ensaladas de frutas y verduras, puré de papa y productos crudos) de la presencia de *Shigella* se analicen lo más rápidamente posible (Burdo, 1982).

Los métodos utilizados para el aislamiento de *Shigella* en los alimentos no son tan sensibles para el diagnóstico como en el caso de *Salmonella*, lo que constituye un verdadero reto para los microbiólogos encargados del control de calidad de los productos alimentarios. Sin embargo, también se han estado probando técnicas nuevas para el diagnóstico de *Shigella*, siendo la de inmunofluorescencia directa una de ellas (Fernández, 1981).

Para el diagnóstico de *Shigella* por la técnica de cultivo a partir de los alimentos, se recomienda sembrar el alimento en un caldo de enriquecimiento como el caldo GN (caldo Gram Negativo), y una siembra directa en medios de aislamiento de agar selectivo (Merck, 1982).

Tres tipos de agar selectivo se han recomendado para el aislamiento de *Shigella*: uno de baja selectividad como el agar Mac Conckey, uno de mediana selectividad como el agar entérico de Hecktoen o agar XLD y otro de alta selectividad como el SS (Amador, 1993).

El hallazgo de *Shigella* indica una contaminación fecal reciente, probablemente proveniente de las manos de los manipuladores de alimentos, calificándose, el alimento, como inadecuado para el consumo humano (Amador, 1993).

Ciertas especies de *Shigella* productoras de disenterías bacilares pueden ser transportadas por alimentos. Sobre éste género se dispone de información escasa sobre el destino de *Shigella* en los alimentos. Su temperatura óptima de desarrollo es de 37 ° C , con límites comprendidos entre 10 y 40 ° C . Este microorganismo resiste concentraciones salinas del 5 ó 6% y es relativamente termosensible. La patogenicidad está basada en la liberación de una endotoxina de naturaleza lipopolisacárida que afecta a la mucosa intestinal . El período de incubación está entre 1 y 7 días, generalmente menos de 4, los síntomas son extremadamente variables y se manifiestan de graves a moderados : dolores abdominales, fiebre, escalofrío, diarrea, deposiciones acuosas (conteniendo frecuentemente sangre, moco o pus), postración, náuseas y deshidratación . Los alimentos implicados son aquellos con elevada tasa de humedad, como por ejemplo: leche, patatas, atún, pavo y salsas para “macarroni”, sidra, etc. (Amador, 1993).

Una de las medidas de control más importantes es la higiene personal y la higiene a la hora de preparar los alimentos. El género *Shigella* está constituido por bacterias bacilares Gram negativas, aeróbicas y anaerobias facultativas, no esporuladas, inmóviles, pertenecientes a la familia de *Enterobacteriaceae*, su temperatura óptima es de 37 °C, con límites entre 10 y 40 °C. La patogenicidad está basada en la liberación de una endotoxina de naturaleza lipopolisacarida que afecta la mucosa intestinal (Frazier, 1993).

Las *Shigellas* no se encuentran inicialmente en los alimentos, no obstante determinan brotes de shigelosis y se transmiten a través de los alimentos o del agua contaminada por excretos humanos (ICMSF, 1991). La propagación de la enfermedad se debe a la transferencia más o menos directa del bacilo específico desde productos intestinales procedentes del individuo infectado al tracto digestivo de otro individuo, la *Shigella* aparece también en forma de grandes epidemias que suelen transmitirse por el agua como resultado de la contaminación fecal del suministro de agua, o bien por los alimentos, estos se pueden atribuir a la contaminación por los operarios infectados, las comidas implicadas son generalmente ensaladas u otros alimentos no cocinados susceptibles a la contaminación. Entre las circunstancias de la contaminación suele incluirse la falta de higiene por los portadores afectados. La distribución inadecuada de los desperdicios humanos suele ser muy frecuente, lo cual favorece la diseminación por las moscas en la clásica cadena de heces-mosca-alimento (Fremman, 1989).

- **Enfermedad en el hombre (*Shigelosis*)**

Se ha descubierto que la dosis infectiva de *Shigella* suele ser muy pequeña: 10 bacterias solamente, el período de incubación es de alrededor de 48 h y la enfermedad se caracteriza por la presencia brusca de dolor abdominal, fiebre, las heces diarreicas están constituidas principalmente por sangre y moco, lesiones inflamatorias del intestino, nauseas y deshidratación (Fremman, 1989).

1.3. Género *Salmonella*

Estos microorganismos son bacilos cortos gram negativos, no esporulados, que fermentan la glucosa casi siempre con producción de gas, pero no la lactosa ni la sacarosa, son capaces de crecer en un amplio rango de temperaturas, pH, Actividad de agua (A_w), la temperatura máxima es de 45.6°C , crece bien a temperatura ambiente, pero la temperatura óptima es de unos 37°C , se desarrolla a pH comprendidos entre 4.1 y 9.0 aunque crece mejor en alimentos poco ácidos, la A_w mínima para su crecimiento varía con el alimento pero es aproximadamente 0.93 – 0.95 (Fremman, 1989).

El género *Salmonella* es quizá el microorganismo más estudiado entre los patógenos que pueden ser aislados de los alimentos. Ello obedece sin duda a la elevada incidencia de padecimiento que da lugar. En algunos años ha causado la infección bacteriana de origen alimentario más frecuente e incluso en determinadas épocas, la enfermedad bacteriana transmitida por alimentos de mayor incidencia (Frazier, 1993). El hecho de aislar *Salmonellas* de productos alimenticios revela una pobreza sanitaria dentro de las plantas lo que propicia la contaminación del equipo de trabajo. Entre los bacilos gram negativos que producen gastroenteritis de origen alimentario, los más importantes son los representantes del género *Salmonella*. La intoxicación alimentaria por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen un elevado número de microorganismos pertenecientes a cepas apropiadas de *Salmonella* (Fernández, 1983).

Estos microorganismos patógenos entéricos pueden proliferar en los alimentos y dar lugar a infecciones alimentarias. El origen de la contaminación de los alimentos con *Salmonella*, ya sea directa o indirectamente, radica en los animales y en el hombre. Los microorganismos pueden proceder de los enfermos o de portadores. Los gérmenes pueden proceder también de gatos, perros, cerdos y ganado vacuno, aunque las fuentes animales más frecuentes son las aves, sus huevos y roedores. En la actualidad, la cáscara de los huevos y los huevos líquidos, congelados o en polvo se consideran una fuente importante de *Salmonellas* (Fremman, 1989).

Los brotes de infección salmonelósica se pueden producir como consecuencia de la ingestión de una gran variedad de alimentos. Las diferentes clases de carnes, aves y productos derivados, especialmente si se han mantenido sin refrigeración durante bastante tiempo, son los alimentos implicados más frecuentemente (Fremman, 1989).

El período de incubación es más largo que el de las intoxicaciones estafilocócicas de 12 a 36 horas para la salmonelosis y de aproximadamente de 2 a 4 horas para la enfermedad causada por estafilococos. En algunas infecciones por *salmonellas* los períodos de incubación pueden ser más cortos (unas 5 horas) o más largos (por encima de 72 horas) (Fremman, 1989).

Los síntomas principales de una infección gastrointestinal por *Salmonella* son náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea, que suelen ser de aparición repentina. A veces éstos síntomas van precedidos de cefaleas y escalofríos. Las heces son líquidas, verdosas y maloliente, aparece postración, debilidad muscular, abatimiento, fiebre casi siempre moderada, inquietud, contracciones nerviosas y somnolencia. La gravedad de la enfermedad no solo varía con la cantidad de alimento ingerido y, por tanto, con el número de *salmonellas*, sino también con la sensibilidad individual. La intensidad oscila entre ligero malestar y diarrea hasta la muerte al cabo de 2 a 6 días. En general, los síntomas persisten durante 2 o 3 días, presentándose a continuación una recuperación sin complicaciones, aunque a veces los trastornos duran semanas e incluso meses. Aproximadamente entre el 0.2 al 5% de los pacientes pueden terminar por ser portadores de *salmonella* (Frazier, 1993).

1.3.1. Salmonelosis.

La salmonelosis constituye un problema de salud, no solo en México sino en todos los países del mundo. Este síndrome es causado por la ingestión de alimentos que contienen en número importante de especies del género *Salmonella*. A partir del momento de la ingestión del alimento, los síntomas suelen tardar en aparecer de 12 – 36 h aunque se han señalado períodos más cortos (5 horas) o más largos (por encima de 72 horas), los síntomas consisten en náuseas,

vomito, dolor abdominal, escalofríos, diarrea, estos síntomas suelen ir acompañados de abatimiento, debilidad muscular, fiebre, somnolencia, estos síntomas pueden durar de 2 a 3 días (Jay, 1992).

En nuestro país las enteritis y otras enfermedades diarréicas ocupan el segundo lugar en causas de mortalidad, siendo el grupo más afectado el comprendido entre los cero y cuatro años de edad. Se requiere que la vigilancia y el control epidemiológico de estas enfermedades transmisibles sea muy eficaz, lo cual demanda de un conocimiento exacto de la naturaleza del agente causal (Jay, 1992).

En el caso especial de la salmonelosis el problema adquiere una complejidad especial debido a que algunos de sus serovares son específicos para huésped, en tanto que otros pueden infectar lo mismo a animales que al hombre. Los alimentos más frecuentemente involucrados son: productos cárnicos, lácteos, pescados y verduras (Jay, 1992).

1.3.2. Causas de Salmonelosis.

- El incremento de la elaboración de alimentos en grandes cantidades, que favorece la diseminación de *Salmonella*.
- Los procedimientos inadecuados de almacenar los alimentos.
- La costumbre cada vez más frecuente de consumir los alimentos crudos o insuficientemente calentados (Jay, 1992).

La susceptibilidad individual frente a las *Salmonellas* es muy variable, aunque en cualquier caso la **morbilidad** sea alta, la susceptibilidad del hombre varía de acuerdo con lo siguiente:

- ❖ Resistencia del consumidor.
- ❖ La patogenicidad de la cepa de *Salmonella*.

- ❖ El número de microorganismos ingeridos.
- ❖ Las *Salmonellas* menos patógenas como (*S. pollorum*) deben encontrarse en centenares o millares para que cause infección.
- ❖ Las *Salmonellas* pueden presentarse en números extraordinarios sin alterar apreciablemente el olor o el gusto de los alimentos.
- ❖ Tanto mayor sea el número de microorganismos participantes, mayor serán las probabilidades de que se sufra una infección (Frazier,1993).

1.3.3. Condiciones necesarias para la presentación de un brote.

- Que el alimento contenga *Salmonellas* o que haya sido contaminado con ellas.
- Que el número de bacterias sea elevado, por una fuente de contaminación ó porque se hayan multiplicado en el alimento.
- Que se hayan ingerido microorganismos viables (Frazier,1993).

1.3.4. Manera de evitar un brote de Salmonelosis.

- Evitar la contaminación de los alimentos con *Salmonellas* procedentes de personas contaminadas.
- Destrucción de los gérmenes, mediante el calor u otro procedimiento.
- Impedir el desarrollo de los gérmenes en los alimentos mediante la refrigeración u otro método (Frazier, 1993).

Las técnicas para el aislamiento de *Salmonella* a partir de los alimentos constituyen un ejemplo muy ilustrativo de la flexibilidad fisiológica de las bacterias, de la influencia que sobre ésta tienen los diferentes tratamientos con los que la industria procesa los alimentos y la variedad de diseños que el microbiólogo puede llevar a efecto en las técnicas de laboratorio

para poner de manifiesto contaminaciones aún mínimas por microorganismos (a veces una bacteria en 500 g de producto) y que con frecuencia se han visto seriamente lesionados en su viabilidad (Frazier,1993).

Diversas variables han sido señaladas como factores que influyen en las técnicas de análisis, ellas son:

1. El tratamiento del inóculo en la muestra.
2. El tipo de medio de pre-enriquecimiento y de enriquecimiento.
3. La composición química del alimento.
4. Tipo de densidad de la flora bacteriana asociada a *Salmonella*.
5. La temperatura y tiempo de incubación de los medios de enriquecimiento.
6. El número de Salmonelas presentes en el alimento y aún mejor en la alícuota examinada.
7. Los serotipos de *Salmonella* involucrados.
8. El estado y condiciones fisiológicas de las Salmonellas (Frazier,1993).

En general las técnicas son laboriosas, costosas, y se requiere de tiempo y personal bien adiestrado. Pero la importancia que para la salud pública constituyen estos microorganismos da lugar a que se continúen ensayando nuevas técnicas con el objetivo de hacerlas más sensibles, específicas, económicas y rápidas. Por ejemplo: la técnica de anticuerpos fluorescentes directa (IFD) reúne estos requisitos para su aplicación no solo en el diagnóstico de *Salmonella* sino de otros géneros importantes en los alimentos. La técnica de anticuerpos fluorescentes directa tiene de un 95 a 98 % de confiabilidad comparada con la de cultivo, presenta 0% de falsos negativos y con un costo bajo por muestra en un tiempo aproximado de 56 horas para emitir el resultado (Fremman,1985).

Aunque para aplicar esta técnica al principio se requiere de una inversión elevada, sobre todo en la adquisición del microscopio de fluorescencia, también se requiere de un analista especializado y de la confirmación de los positivos por la técnica de cultivo (Fremman,1985).

En la técnica de cultivo la metodología general incluye una serie de etapas que son:

- a) Pre-enriquecimiento o enriquecimiento no selectivo.
- b) Enriquecimiento en medios selectivos.
- c) Aislamiento en medios diferenciales.
- d) Identificación presuntiva por pruebas bioquímicas.
- e) Identificación serológica (Fremman,1985).

En los laboratorios muy especializados se completa el estudio con la tipificación fágica para identificar la cepa aislada de *Salmonella*. El propósito del pre-enriquecimiento consiste en facilitar a las salmonelas presentes una recuperación del estado en el que se encuentren como resultado de la exposición a condiciones traumatizantes durante la elaboración de algunos alimentos (como leche en polvo, harina de pescado, jamón, etc.). Los medios de cultivo que se utilizan para el pre-enriquecimiento no contienen en general sustancias inhibitorias, por lo que la flora asociada no se ve impedida para proliferar. De ahí que el pre-enriquecimiento debe manejarse cautelosamente para obtener sus beneficios en la recuperación de las salmonelas y evitar un sobre-desarrollo de la flora competitiva que enmascararía su aislamiento. En los alimentos crudos y en los suavemente procesados (carne cruda, chorizos, etc.) el empleo del pre-enriquecimiento no es recomendable. Es necesario tomar en consideración que las salmonelas en los productos procesados pueden encontrarse no solo mermadas en su vitalidad, sino generalmente en escaso número. Entre los medios de pre-enriquecimiento recomendados están el agua peptonada (jamón cocido), el caldo lactosado (huevo en polvo) y el agua destilada (leche descremada) (Merck,1982).

Dos grupos de medios de enriquecimiento selectivo han sido utilizados con mayor profusión:

1. El grupo del tetracionato (caldo tetracionato-bilis-verde brillante o medio de Kauffmann, caldo tetracionato verde brillante, caldo tetracionato-sulfatiazol-bilis-verde brillante y caldo tetracionato novobiocina).
2. y el grupo del selenito (caldo selenito F, caldo-selenito-cistina, caldo selenito-verde brillante y caldo selenito-sulfa-verde brillante) (Merck,1982).

Los medios del grupo tetracionato, contienen una fuente de nitrógeno orgánico a base de peptona, triptona, extracto de carne o extracto de levadura, adicionado, según el caso, de sales biliares o novobiocina para inhibir a bacterias Gram positivas; el verde brillante puede inhibir además de estas bacterias a los coliformes, el carbonato de calcio es para regular el pH neutralizando el ácido que se va generando y el tiosulfato de sodio que parcialmente pasa a tetracionato de sodio (cuando se adiciona el yodo al inocular la muestra) tienen un efecto tóxico cuando actúan en combinación, según se cree por reacción con los grupos sulfhidrilo de las enzimas involucradas en la síntesis de la membrana y pared celular de las bacterias sensibles (Merck,1982).

Los medios del grupo selenito, contienen una fuente de nitrógeno a base de triptona y peptona debiéndose el efecto tóxico del selenito a dos posibles mecanismos: reacción con el grupo sulfhidrilo enzimático o formación de aminoácidos análogos en los que el selenito ha tomado el lugar del azufre, contiene también lactosa y fosfatos los cuales tienen un efecto regulador del pH. La cistina favorece el desarrollo de las salmonelas en presencia del alimento involucrado. Otros caldos de enriquecimiento que también se utilizan con cierta preferencia son el medio de Rappaport en el cual los coliformes son inhibidos por el verde de malaquita cuyo efecto nocivo sobre las salmonelas se contrarresta por la adición de cloruro de magnesio; el caldo GN de Hajna, con citrato y desoxicolato de sodio como inhibidores de coliformes y bacterias Gram positivas y la incorporación de manitol para favorecer el desarrollo de *Salmonella* sobre *Proteus*. En la práctica, la recomendación general consiste en el empleo de dos medios de enriquecimiento para cada muestra de alimento (Merck, 1982).

Como consecuencia del empleo de los medios de enriquecimiento se obtiene, después de la incubación, una flora mixta en los caldos y a partir de ello se procede al aislamiento de las salmonelas, lo cual se realiza en medios sólidos los que mantienen un efecto inhibitorio sobre la flora asociada, estimulando la formación de colonias de *Salmonella* y finalmente comunican a éstas, características diferenciales respecto a las colonias de otros microorganismos. En atención a su fuerza selectiva, se pueden constituir tres grupos:

1. ligeramente selectivos (Agar Eosina Azul de Metileno y el agar Mac Conckey).
2. Moderadamente selectivos (Agar Entérico de Hecktoen, Agar XLD o sea Agar Xilosa Lisina Desoxicolato)
3. Y fuertemente selectivos (Agar verde brillante y Agar sulfito de bismuto) (Merck,1982).

1.3.5. Fuentes de *Salmonella*.

El origen de la contaminación de los alimentos con *Salmonella*, ya sea directa o indirectamente radica en los alimentos y el hombre. El principal hábitat de las especies de *Salmonella* es de tracto intestinal de animales tales como gatos, perros, cerdos, ganado vacuno, aunque las fuentes de animales más frecuentes son las aves, sus huevos, y los roedores, los huevos y la carne de ave en venta se pueden contaminar al entrar en contacto con las materias fecales, las moscas juegan un papel importante en la diseminación, especialmente contaminando los alimentos con materias fecales, también es probable que las cucarachas contribuyan a extender la enfermedad (Fernández, 1983).

La manipulación de los alimentos en gran escala, como se tiene que realizar en muchos establecimientos, tiende a aumentar las posibilidades de diseminación. Los alimentos para los animales de compañía pueden transmitir *Salmonellas* y a partir de ellos infectar a los niños en casa (Frazier, 1993).

Los organismos intestinales pueden ser excretados por las heces desde las que pueden ser transmitidas a los alimentos, también se pueden encontrar en aguas contaminadas, cuando los alimentos y el agua son consumidos por las personas estos son nuevamente excretados por las heces cerrándose su ciclo en la naturaleza (Fernández, 1983).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Dirección de Investigación y Estudios de Postgrado del Instituto Tecnológica de Sonora (ITSON). Tanto en la cafetería de la unidad Obregón como en el comedor de la unidad Nainari se recolectaron un total de 88 muestras de los alimentos expendidos en estos sitio, con el fin de conocer su calidad sanitaria. El período de muestreo comprendido en el presente trabajo fue durante los semestres Agosto-Diciembre de 2000 y Enero- Mayo de 2001.

2.1. Sitios de muestreo

Para llevar a cabo la presente investigación, se seleccionaron dos sitios de muestreo, siendo los siguientes :

Sitio 1 : comedor estudiantil de la unidad nainari.

Sitio 2 : cafetería localizada en la unidad Centro.

2.2. Tipos de muestras

Las diferentes muestras recolectadas durante el período de estudio fueron las siguientes:

- ✓ Arroz
- ✓ Cabeza
- ✓ Caldo de pollo
- ✓ Carne con brócoli
- ✓ Carne desebrada con papas
- ✓ Carne de puerco con chile
- ✓ Chiles rellenos
- ✓ Chilaquiles
- ✓ Cochinita
- ✓ Calabazas con queso
- ✓ Croquetas de papa
- ✓ Ensalada de verduras
- ✓ Frijoles
- ✓ Hamburguesas
- ✓ Molletes
- ✓ Pastel de tamales con queso
- ✓ Pescado a la mexicana
- ✓ Picadillo
- ✓ Pollo en salsa verde
- ✓ Quesadillas
- ✓ Sándwich
- ✓ Sopa de fideo
- ✓ Sopa fría
- ✓ Tallarines

2.3. Período de muestreo

El período de muestreo que se realizó en este trabajo comprende desde agosto del 2000 hasta mayo del 2001, realizándose semanalmente muestreos para los análisis microbiológicos ya mencionados, fueron un total de 22 muestreos recolectándose 88 muestras.

Tabla 1. Fechas de muestreo

Número de muestreo	Fecha de Muestreo	Sitio de Muestreo
1	4 de Septiembre de 2000	Unidad Nainari
2	11 de Septiembre de 2000	Unidad Centro
3	18 de Septiembre de 2000	Unidad Nainari
4	2 de Octubre de 2000	Unidad Centro
5	9 de Octubre de 2000	Unidad Nainari
6	16 de Octubre de 2000	Unidad Centro
7	23 de Octubre de 2000	Unidad Nainari
8	6 de Noviembre de 2000	Unidad Centro
9	13 de Noviembre de 2000	Unidad Nainari
10	21 de Noviembre de 2000	Unidad Centro
11	4 de Diciembre de 2000	Unidad Centro
12	19 de Febrero de 2000	Unidad Centro
13	28 de Febrero de 2000	Unidad Nainari
14	13 de Marzo de 2001	Unidad Centro
15	27 de Marzo de 2001	Unidad Nainari
16	10 de Abril de 2001	Unidad Nainari
17	24 de Abril de 2001	Unidad Centro
18	7 de Mayo de 2001	Unidad Centro
19	16 de Mayo de 2001	Unidad Nainari
20	5 de Junio de 2001	Unidad Centro
21	12 de Junio de 2001	Unidad Nainari
22	4 de Septiembre de 2001	Unidad Nainari

2.4. Toma y transporte de la muestra

Para la recolección de las muestras se utilizaron recipientes estériles en los cuales se depositó aproximadamente de 100 a 150 g de muestra aproximadamente. Una vez tomada la muestra se transportó al laboratorio de Microbiología de la Dirección de Investigación y Estudios de Postgrado (DIEP) en donde se llevaron a cabo los análisis para la identificación de *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, y *Staphylococcus aureus*.

2.5. Análisis Microbiológicos

2.5.1. Enriquecimiento y aislamiento de *Salmonella*.

A partir de la muestra homogenizada, se tomaron 25 g y se inocularon en 225 ml de caldo lactosado, posteriormente se incubaron a 37° C o 44 ° C por 24 h . Luego se sembró por estrías por agotamiento en agar Mac Conkey, enseguida se incubaron a 35 – 37 ° C por 24 h . Se seleccionaron las colonias típicas para su identificación mediante pruebas bioquímicas.

2.5.2. Enriquecimiento y aislamiento de *Shigella*.

Una vez homogenizada la muestra se tomaron 25 g y se colocaron en un matraz con 225 ml de caldo GN, enseguida se incubaron de 24 a 48 h a una temperatura de 35 a 37 ° C . Una vez pasado este tiempo se sembró por estrías por agotamiento en agar Mac Conkey o agar XLD de ahí se seleccionaron las colonias típicas para realizar pruebas bioquímicas.

2.5.3. Enriquecimiento y aislamiento de *Staphylococcus aureus*.

Una vez homogenizada la muestra se tomaron 10 g y se diluyeron con 90 ml de la solución diluyente, esta puede ser agua peptonada ó solución buffer de fosfatos, posteriormente se agitó y se obtuvo la dilución primaria de 10^{-1} , de la dilución primaria se tomaron 1ml y se transfirió a un tubo con 9 ml de la solución diluyente formándose así la dilución 10^{-2} , de esta solución se tomó 1 ml y se transfirió a un tubo con 9 ml de solución diluyente para formar así la dilución 10^{-3} y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-5} y utilizando diferentes pipetas de 1 ml para cada dilución, depositar 0.1 ml sobre la superficie de las placas de agar Baird Parker, enseguida se distribuye el inóculo sobre la superficie del agar con varillas de vidrio estériles en ángulo recto, utilizando una para cada dilución y dejar que el agar absorba el inóculo, y enseguida se invirtieron las placas y se incubaron por 45 a 48 hrs. a una temperatura de 35 a 37 °C. Una vez pasado dicho tiempo se seleccionaron colonias sospechosas de acuerdo con el número de las que crecieron en las placas; en menos de 50 colonias se tomaron 3, de 51 a 100 se tomaron 5 y de 1001 a 150 o más se tomaron 7 y se les realizó la prueba de la coagulasa.

Las colonias típicas son negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2 mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia. Una vez seleccionadas las colonias se sembraron en tubos con 0.5 ml de caldo infusión cerebro corazón y se incubaron a 35 °C durante 24 h. Después de este período de incubación se realizó la prueba de la coagulasa.

2.5.3.1 Prueba de coagulasa

Se agregaron 0.2 ml del cultivo, y 0.2 ml de plasma de conejo diluido volumen a volumen con solución salina estéril, se incubaron en baño de agua de 35 a 37°C y se observó durante 6 h en intervalos de 1 h, si no hay formación de coagulo, observar a las 24 h. Considerar positiva la

prueba si hay formación de coágulo. Para comprobar la coagulabilidad del plasma de conejo se añadió una gota de cloruro de calcio al 5 % a 0.5 ml de plasma de reconstituido empleado, formándose un coágulo en 10 a 15 seg.

2.6. Identificación por pruebas bioquímicas

Agar TSI.- Es un medio diferencial muy usado en la diferenciación de Enterobacterias patógenas, ya que determinan la capacidad de un organismo de atacar un carbono incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la producción de ácido sulfhídrico, esto permite el reconocimiento y exclusión de *Proteus*, *Hafnia* y *Providencia* no fermentan la lactosa o lo hacen muy lentamente y si en cambio fermentan la sacarosa con bastante rapidez, lo cual permite excluir a este grupo de bacterias como *Salmonella* y *Shigella* (León, 1997).

Caldo urea.- Este medio se utiliza para la identificación de bacterias, particularmente para diferenciar los miembros del género *Proteus* de la *Salmonella* y *Shigella*, se fundamenta en la capacidad que tiene el primer género de producir ureasas que le permitan utilizar el nitrógeno de la urea. El medio se siembra por asada simple a partir de la colonia en estudio, el color del medio es rosa pálido y la reacción positiva se observa por viraje a rojo-violeta (McFADDIN, 1984).

Caldo RM-VP.- (1) .- Prueba rojo de metilo.- Esta prueba se realiza con la finalidad de comprobar la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad amortiguadora del sistema. El medio se siembra por asada simple, la reacción es positiva cuando el cultivo es lo suficientemente ácido como para permitir que el rojo de metilo mantenga un definido color rojo en la superficie del medio y negativo cuando tienen un color amarillo en la superficie del tubo, será reacción retardada cuando se presente un color naranja en la superficie. Para hacer la lectura de esta reacción es necesario tener de 3 a 5 días de incubación de los tubos.

(2).- Prueba de Voges-Proskauer.- Con esta prueba se trata de determinar la capacidad de algunos microorganismos de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoina), a partir de la fermentación de la glucosa. La reacción es positiva cuando aparece un color rojo en la superficie del tubo, después que ha sido adicionado con 0.6 ml de naftol y 0.4 ml de KOH al 40% y negativa cuando tiene un color amarillo o cobrizo en la superficie (McFADDIN, 1984).

Agar de Hierro y Lisina.- Este medio se utiliza para determinar la descarboxilación y desaminación de la lisina. La primera reacción se lleva a cabo en anaerobiosis y la segunda en aerobiosis, el medio se inocula por picadura y por estría en la superficie del mismo. La interpretación de los resultados es la siguiente: Descarboxilación positiva: fondo color púrpura; descarboxilación negativa: fondo color amarillo; Desaminación positiva: superficie del tubo color roja; desaminación negativa: superficie del tubo color púrpura sin cambio (McFADDIN, 1984).

Agar Citrato de Simmons.- Este medio se utiliza para determinar la capacidad de una cepa de aprovechar el citrato como única fuente de carbono, provocando alcalinidad. Esta prueba ayuda a la diferenciación de algunas Enterobacterias como *Edwardsiella* que es negativa y *Serratia* y *Klebsiella* que son positivas. Este medio es inoculado por picadura en el fondo y por estría en la superficie, la reacción positiva se puede observar por un cambio de color en el medio de verde a azul intenso; la prueba será negativa cuando el medio permanezca sin cambio en el color (McFADDIN, 1984).

Medio MIO.- La utilización de este medio es con el fin de observar movilidad, producción de indol y descarboxilación de la ornitina; para lo cual se siembra por picadura y se incuba durante 24 horas a 37⁰C . Los criterios se deben de seguir para determinar la interpretación de los resultados son los siguientes: **Movilidad.** Esta prueba será positiva cuando se observa turbidez en el fondo del medio y negativa cuando solo se observa crecimiento en la picadura. **Descarboxilación de la Ornitina.** Esta reacción sólo se lleva a cabo en anaerobiosis, por lo que la prueba sólo se lee en el fondo del tubo. La prueba será positiva cuando se observe un

cambio de color en el medio de violeta a púrpura y negativa cuando se presente un cambio de color amarillo. **Indol.** Este compuesto es el producto final de la degradación del triptofano y se pone de manifiesto al agregar 5 gotas del reactivo de Kovacs al medio que fue inoculado e incubado por 24 horas. La reacción es positiva cuando se forma un anillo rojo y negativa cuando se forma un anillo amarillo (McFADDIN, 1984)

Medio basal OF.- Es uno de los medios más importantes para el estudio de bacilos no fermentadores de carbohidratos, permite conocer si el germen en cuestión oxida, fermenta o ataca al carbohidrato agregado al mismo (en este caso se emplea glucosa). Para esto se inoculan dos tubos por picadura profunda, se agrega a uno de ellos una capa fina de aceite mineral (1 ml) se incuban ambos a 37⁰ C durante 48 horas, se puede observar la producción de ácido por el cambio al color amarillo del medio. La aparición del color amarillo a ambos tubos: carbohidrato fermentado. Degradación fermentativa. Cambio únicamente en el tubo que no contiene aceite. Degradación oxidativa. Sin cambio en ninguno de los tubos: microorganismos inertes, el carbohidrato no ha sido fermentado ni oxidado (McFADDIN, 1984).

Gelatina Nutritiva.- Se usa principalmente para la identificación de cultivos puros de bacterias que no son especialmente delicadas en cuanto a sus requerimientos nutritivos. La licuefacción de la gelatina es una prueba esencial para la identificación de bacilos entéricos. Ayuda en la identificación de enterobacterias. La prueba consiste en enfriar durante 20 minutos los tubos que fueron inoculados anteriormente, si la gelatina permanece sólida, la reacción es negativa y si se licua entonces es positiva, la inoculación se realiza mediante una asada (Merck, 1982).

Medio SIM.- Es útil para la identificación de bacilos entéricos. La reacción de sulfuros se indica por el ennegrecimiento del medio a lo largo de la línea de inoculación. Su alto contenido de triptófano en la peptona trypticase lo hace ideal para la producción de indol. La movilidad se manifiesta por la presencia de turbidez alrededor de la picadura o en todo el tubo y la no movilidad cuando hay crecimiento solamente en la picadura. Para la determinación del

indol se agregan cinco gotas de reactivo de Kovacs, la prueba se considera positiva si aparece un anillo color púrpura en la superficie (McFADDIN, 1984).

Caldo malonato modificado.- Los microorganismos como los miembros del género *Aerobacter* y *Klebsiella* y la mayor parte de las cepas de *Arizona* que son capaces de utilizar el malonato del medio sintético como una fuente de energía producen una reacción alcalina durante su desarrollo y cambian de color del medio a azul. Después de la inoculación los bacilos de los géneros *Escherichia*, *Salmonella* y *Serratia* son incapaces de utilizar el malonato por lo que el medio no cambia de color. El caldo se inocula con la cepa por medio de una asada, y se incuba a 37⁰ C durante 48 horas (León, 1997).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó durante los semestres comprendidos entre Agosto-Diciembre de 2000 y Enero-Mayo 2001. Analizándose 44 muestras en la cafetería de la unidad Obregón y 44 muestras en la unidad Nainari. Obteniéndose los siguientes resultados.

3.1. Resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella sp* en alimentos

Los resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella sp* el 100% de las muestras fueron negativas , lo que quiere decir que las prácticas de higiene, limpieza y sanitización fueron buenas, lo cual nos indica que dichos alimentos son aptos para el consumo de la comunidad ITSON.

Debido a estas buenas prácticas de higiene se evitó que hubiera incidencia de *Salmonella sp* y por consiguiente se evitó que se presentarán enfermedades diarreicas causadas por esta bacteria y presentar síntomas como lo son: diarrea, vomito, náuseas, escalofríos, fiebre, etc.

3.2. Resultados obtenidos en la determinación de *Shigella sp* en alimentos

Los resultados que se obtuvieron en la determinación de *Shigella sp* en alimentos fue excelente ya que en el 100 % de las muestras resulto negativo la presencia de este microorganismo, lo cual indica una buena higiene en el procesamiento de dichos alimentos y por consiguiente se consideran aptos para el consumo de la comunidad ITSON.

3.3. Resultados obtenidos en la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos

En lo que respecta a *Staphylococcus aureus* el 100% de las muestras analizadas dieron negativo la incidencia de este microorganismo, de esta manera los alimentos expendidos tanto en la cafetería de la unidad Obregón y comedor de la unidad Nainari se consideran aptos para su consumo.

Tabla 2. Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Nainari, durante el período Septiembre-Noviembre del año 2000.

AÑO 2000	MUESTRAS	<i>Salmonella sp.</i> en 25 g	<i>Shigella sp.</i> en 25 g	<i>Staphylococcus Aureus.</i> (UFC/g)
4 Septiembre	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	4. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
18 Septiembre	1. Hamburguesa	Ausencia	Ausencia	0
	2. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	3. Carne con papas	Ausencia	Ausencia	0
	4. Picadillo	Ausencia	Ausencia	0
9 Octubre	1. Sopa de fideo	Ausencia	Ausencia	0
	2. Caldo de pollo	Ausencia	Ausencia	0
	3. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
	4. Chiles rellenos	Ausencia	Ausencia	0
23 Octubre	1. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	2. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	3. Carne de res con brócoli	Ausencia	Ausencia	0
	4. Hamburguesa	Ausencia	Ausencia	0
13 Noviembre	1. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	3. Sopa fría	Ausencia	Ausencia	0
	4. Cochinita	Ausencia	Ausencia	0

Tabla 3. Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes de la cafetería de la unidad Centro, durante el período Septiembre-Diciembre del año 2000.

AÑO 2000	MUESTRAS	<i>Salmonella sp.</i> en 25 g	<i>Shigella sp.</i> en 25 g	<i>Staphylococcus aureus.</i> (UFC/g)
11 septiembre	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	4. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
2 Octubre	1. Sandwich	Ausencia	Ausencia	0
	2. Carne con chile	Ausencia	Ausencia	0
	3. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	4. Sopa de coditos	Ausencia	Ausencia	0
16 Octubre	1. Picadillo	Ausencia	Ausencia	0
	2. Carne con brócoli	Ausencia	Ausencia	0
	3. Arroz blanco	Ausencia	Ausencia	0
	4. Hamburguesa	Ausencia	Ausencia	0
6 Noviembre	1. Sopa de arroz	Ausencia	Ausencia	0
	2. Pollo en salsa verde	Ausencia	Ausencia	0
	3. Molletes	Ausencia	Ausencia	0
	4. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
21 Noviembre	1. Hamburguesa	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sopa fría	Ausencia	Ausencia	0
	3. Chilaquiles	Ausencia	Ausencia	0
	4. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
4 diciembre	1. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cochinita	Ausencia	Ausencia	0
	3. Carne con brócoli	Ausencia	Ausencia	0
	4. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0

Tabla 4. Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Nainari, durante el período Febrero-Septiembre del año 2001.

AÑO 2001	MUESTRAS	<i>Salmonella sp.</i> en 25 g	<i>Shigella sp.</i> en 25 g	<i>Staphylococcus aureus.</i> (UFC/g)
28 Febrero	1. Pescado a la Mexicana	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sopa de arroz	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cochinita Pibil	Ausencia	Ausencia	0
	4. Croquetas de papa	Ausencia	Ausencia	0
27 Marzo	1. Cochinita Pibil	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	3. Pastel de elote con queso	Ausencia	Ausencia	0
	4. Ensalada de verduras	Ausencia	Ausencia	0
10 Abril	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Carne de puerco con chile	Ausencia	Ausencia	0
	3. Sopa fría	Ausencia	Ausencia	0
	4. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
16 Mayo	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sopa de arroz	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	4. Colache	Ausencia	Ausencia	0
12 Junio	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	3. Sopa de arroz	Ausencia	Ausencia	0
	4. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
4 Septiembre	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Cabeza	Ausencia	Ausencia	0
	3. Tallarines	Ausencia	Ausencia	0
	4. Picadillo con champiñones	Ausencia	Ausencia	0

Tabla 5. Resultados del análisis bacteriológico en alimentos procedentes del comedor estudiantil de la unidad Centro, durante el período Febrero-Junio del año 2001.

AÑO 2001	MUESTRAS	<i>Salmonella sp.</i> en 25 g	<i>Shigella sp.</i> en 25 g	<i>Staphylococcus aureus.</i> (UFC/g)
19 Febrero	1. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	2. Pollo en salsa verde	Ausencia	Ausencia	0
	3. Sopa fría en salsa verde	Ausencia	Ausencia	0
	4. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
13 Marzo	1. Carne con brócoli	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sandwich	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	4. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
24 Abril	1. Carne de puerco c/nopales	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sopa de fideo	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	4. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
7 Mayo	1. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0
	2. Hamburguesa	Ausencia	Ausencia	0
	3. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	4. Sopa fría	Ausencia	Ausencia	0
5 Junio	1. Frijoles	Ausencia	Ausencia	0
	2. Sopa de verdura	Ausencia	Ausencia	0
	3. Cochinita pibil	Ausencia	Ausencia	0
	4. Quesadillas	Ausencia	Ausencia	0

CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en la determinación de *Salmonella sp* fueron satisfactorios ya que el 100% de las muestras analizadas dieron negativa la presencia de este microorganismo.
- En cuanto a la determinación de *Shigella sp* en alimentos el 100% de las muestras resultaron negativas.
- Los resultados que se obtuvieron en la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos arrojó que el 100% de las muestras analizadas no hubo incidencia de este microorganismo.
- La calidad sanitaria de los alimentos expendidos tanto en comedor estudiantil y cafetería del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), es excelente ya que cumple con las Normas Oficiales Mexicanas y por lo tanto son aptos para su consumo.

RECOMENDACIONES

- Continuar con buenas prácticas de higiene y sanitización del equipo de trabajo así como el buen manejo de los alimentos.
- Brindar una capacitación al personal encargado de la manipulación de los alimentos para continuar con buenos resultados como hasta ahora.
- Seguir realizando investigaciones similares para que de esta manera se asegure que la calidad de los alimentos expendidos en estos sitios sea satisfactoria.
- Continuar con monitoreos cada 15 o 30 días.

BIBLIOGRAFIA

Amador López Raúl. (1993). Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria. Segunda Edición, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.

Burdo, K. (1982). Microbiología. Editorial Publicaciones Culturales. México.

Carpenter L. Philip (1969). Microbiología. 2da. Edición Editorial Interamericana S.A. México.

Fernández, E. Eduardo. (1981). Microbiología Sanitaria: Agua y Alimentos. Vol. 1 Universidad de Guadalajara.

Fernández E.E (1983). Microbiología sanitaria. Vol. I. 1ra edición. Universidad de Guadalajara. México, D.F.

Frazier, W.C. (1978). Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Tercera Edición. Zaragoza. España.

Frazier W.C. (1993). Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. 4ta edición. Zaragoza España.

Fremman Bob (1985). Microbiología de Burrows. 22 edición. Editorial may Hispanoamericana.

I.C.M.S.F. (1991). Microorganismos de los alimentos. Vol. 1. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Jay M. J. (1992). Microbiología de los Alimentos. 3^{ra} Edición, Editorial Acribia S.A. P 651-660.

León, S., Aguirre, E., Castañeda, R. (1997). Diplomado en bacteriología clínica. Cd. Obregón Sonora. México.

MaFADDIN. (1984). Pruebas Bioquímicas para identificación de Bacterias de importancia clínica. Editorial Panamericana. México, D.F.

Merck. (1982). Manual de medio de cultivo. Editorial Merck. Darmstadt, Alemania.

Pelczar, M., Ried, R., Chan, E. C. S. (1982). Microbiología. Editorial Mac Graw-Hill.

<http://www.mercanet.cnp.go.cr/riesgos.htm>

<http://www.seim.org/protocolos/cap7.htm#salmo>

<http://www.solomujeres.com/Articles/Salmonella.html>

http://www.mejorprevenir.com/salud_alimentaria/riesgos/salmonelosis.htm

http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_1_98/alio3198.htm

<http://www.mercanet.cnp.go.cr/riesgos.htm>

<http://agrodigital.com/Ganaderia/AVICULT...Osalmonella.htm>

<http://www.cof.es/pam226/revisionsalmonella.htm>

ANEXOS

NORMAS OFICIALES MEXICANAS

NOM-114-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la determinación de *Salmonella sp.* en alimentos.

NOM-109-SSA1-1994. Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimento para su análisis microbiológico.

NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

