



ITSON

Educar para
Trascender

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE SUPERFICIES,
AMBIENTE, AGUA Y ALIMENTOS PREPARADOS Y
SERVIDOS EN EL COMEDOR KIAWA Y ESTUDIANTIL
DEL ITSON**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

IRIS EGLAHE RODRÍGUEZ AYALA

CD. OBREGÓN, SONORA

JULIO DE 2010

El presente trabajo se desarrollo en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Servicios de Recursos Naturales (CSRN) y se muestreo en los comedores de campus Nainari del Instituto Tecnológico de Sonora, en el período comprendido de Julio de 2009 a Abril de 2010; siendo asesorado por el M.I. Anacleto Félix Fuentes.

DEDICATORIAS

A cada persona con la cuál compartí un momento,
una risa, una preocupación ó un enojo,
una victoria y una derrota;
por las cuales no desistieron en el camino y
aquellas que les arrebataron este camino
con las cuales me hubiese gustado compartir
físicamente esté momento y
de las cuales siempre tendré un gran recuerdo.
Gracias por permanecer en mis pensamientos.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mis abuelos Joaquín Rodríguez R. (†) y a mi abuela Manuela Alicia Robles Ayala (†) que yo sé que en el lugar que estén se han de sentir orgullosos de mí porque puse en práctica lo que ellos me enseñaron esa humildad y lucha ante todo de igual manera le doy gracias a mi abuela Aurora y mi abuelo Enrique que se muy bien que están aquí conmigo aunque por motivos de enfermedad no lo estén físicamente.

A mi madre por enseñarme que jamás se debe de dar por vencido aunque las cosas estén lo más difíciles siempre se encuentra una solución, por tú lucha, respeto, humildad y perseverancia las cuales me transmitiste te doy las gracias.

A mi padre para el cuál siempre seré su “iris eae” o su pequeña “lili” porque fue participe a que eligiera esta carrera, por introducirme al sistema alimentario, por esas visitas al empaque las cuales aún recuerdo. Te agradezco enormemente tus consejos, regaños, dudas, reconocimientos, muchas gracias.

A mi hermano Joaquín Enrique por todas esas batallas que tuvimos, todos y cada uno de los raspones que nos provocamos, por las fracturas, heridas y llantos que pasamos juntos, te agradezco el solo hecho de ser mi hermano mayor y de siempre querer protegernos.

A mis hermanas Brenda, Karen Alicia y Yulitza (con Te y Zeta) por siempre tener una ocurrencia, una preocupación, un festival, una maqueta que realizar un domingo por la tarde por cada momento y tristeza vivida, porque les hago saber que nunca las dejare a la deriva.

Al resto de mi familia por siempre preguntar sobre lo que había aprendido cada semestre, el porque o que contenía un nuevo producto si era bueno o malo... Gracias por mostrar un interés.

A la futura Doctora Ana Lilia Sánchez Machado por estar en esos momentos de debilidad por apoyarme en cada ocurrencia o soportar mis desplantes cuando ya no encontraba un descanso, por haber tolerado mi malo o exagerado humor este último año de tesis y de carrera, te doy gracias por tu cariño y por también seguir mis ideales, échale ganas! Ocupare consulta de hoy en adelante ya sabes que no le tengo mucha confianza a los desconocidos. Muchas gracias.

Les doy enteramente las gracias a mis compañeros que poco a poco nos hicimos amigos, por ser humildes y perseverantes porque nos apoyamos aun en cansancio, hambre y desveladas por pasar tantas horas en biblioteca que al final era la sede para irnos a comer, muchas gracias a todos.

Y agradezco totalmente a mi asesor en este proyecto el M.I. Anacleto Félix Fuentes, mis revisores Maestro Andrés Chávez Amanza, M. Ernesto Cantú y a cada tesista ó practicante con los cuales llegue a compartir este proyecto, aún nos quedan más vivencias, sustos, y proyectos por realizar, agradezco el apoyo y las amistades que logre con ellos este tiempo vivido. Muchas gracias!

ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	4
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
1.4 HIPÓTESIS.....	7
II. MARCO TEÓRICO	
2.1 Definición del agua.....	8
2.1.1 Calidad del agua.....	8
2.1.2 Transmisión de microorganismos en agua.....	9
2.1.3 Aspectos sanitarios de la microbiología del agua.....	9
2.1.4 Enfermedades microbianas transmitidas por el agua.....	10
2.2 Contaminación de los alimentos.....	11
2.3 Alimentos y Sanidad.....	12
2.4 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).....	13
2.5 Microorganismos indicadores de la calidad sanitaria.....	13
2.5.1. Recuento de bacterias mesófilas aerobias.....	14
2.5.2. Recuento de mohos y levaduras.....	16
2.5.3. Recuento de organismos coliformes.....	16
2.5.3.1 <i>Escherichia coli</i>	17
2.5.3.2 Fuentes de contaminación de <i>Escherichia coli</i>	18
2.5.3.3 Infección por <i>Escherichia coli</i>	18
2.5.3.4 Infección enterotoxigenicas.....	18
2.5.3.5 Infección enteroinvasiva.....	18
2.6 Bacterias del género <i>Salmonella</i>	19
2.6.1. Características.....	19
2.6.2. Fuentes de contaminación.....	20
2.6.3. Salmonelosis.....	20
2.6.4. Condiciones necesarias para la presentación de un brote	21
2.6.5. Prevención de los brotes.....	21
2.7 Medidas de control.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Zona de estudio.....	22
3.2 Periodo de muestreo.....	22
3.3 Toma de muestras.....	23
3.3.1. Alimento.....	23
3.3.2. Superficies vivas.....	23
3.3.3 Superficies inertes.....	23
3.3.4 Ambiente.....	24
3.4 Transporte de las muestras.....	24
3.5 Análisis microbiológicos para superficies vivas e inertes.....	25
3.5.1 Cuenta total viable de mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa.....	25
3.5.2 Cuenta total viable de organismos coliformes totales en	

placa.....	25
3.6 Análisis microbiológico de alimentos.....	26
3.6.1. Preparación de diluciones.....	25
3.6.2. Cuenta total viable de mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa.....	27
3.6.3. Recuento de hongos y levaduras por la técnica de vaciado en placa.....	28
3.6.4 Recuento de hongos por la técnica de vaciado en placa...	28
3.6.5. Determinación de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple del Número Más Probable (NMP)	28
3.6.5.1 Prueba presuntiva.....	29
3.6.5.2 Prueba confirmativa.....	29
3.6.5.3 Obtención del resultado del NMP de coliformes totales.....	29
3.7 Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas de <i>Salmonella spp.</i>	30
3.8 Análisis microbiológico para muestra de agua potable.....	31
3.8.1. Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.....	31
3.8.1.1. Prueba presuntiva.....	31
3.8.1.2. Prueba confirmativa.....	32
3.8.2 Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple.....	32
3.8.3 Determinación de la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios.....	33
3.8.4 Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas para <i>Salmonella spp.</i>	34
3.9 Identificación por pruebas bioquímicas.....	34
3.9.1 Oxidasa y catalasa.....	34
3.9.2 Prueba de Movilidad, Producción de Indol y Ácido Sulfhídrico.....	35
3.9.3 Prueba de movilidad, producción de Indol y Ornitina.....	36
3.9.4 Aprovechamiento de la Lisina.....	36
3.9.5 Utilización del Carbono de Glucosa y Lactosa, Producción de gas y Ácido Sulfhídrico.....	37
3.9.6 Utilización de Malonato.....	38
3.9.7 Prueba de Fermentación de Carbohidratos.....	39
3.9.8 Prueba de Hidrólisis de la Gelatina.....	39
3.9.9 Aprovechamiento del Nitrógeno de la Urea.....	40
4.0.0 Prueba de Rojo de Metilo y Vogues – Proskauer.....	40
4.1.0 Utilización del Carbono de Citrato de Sodio.....	41

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes.....	43
4.2 Cuenta total viable de organismos coliformes totales en	

superficies vivas e inertes.....	44
4.3 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente.....	46
4.4 Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.....	48
4.5 Cuenta total viable de organismos coliformes totales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.....	49
4.6 Cuenta total viable de organismos coliformes fecales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.....	49
4.7 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en alimento...	50
4.8 Recuento de hongos y levaduras en alimentos.....	52
4.9 Recuento de hongos en alimentos.....	53
4.10 Número más probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de fermentación de tubos múltiples en alimentos.....	55
4.11 Número más probable (NMP) de coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples en alimentos.....	56
4.12 Identificación de <i>Salmonella</i>	57
V. CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	61
BIBLIOGRAFÍA	62

LISTA DE TABLAS

No.	Nombre de la tabla	Página
1	Fechas de muestreos.....	22
2	Sitios de muestreo en superficies vivas e inertes.....	24
3	Sitios de muestreo en ambiente.....	24
4	Número Más Probable de microorganismos y límite de confianza para diferente combinación de tubos positivos cuando se inoculan tres tubos con 1 mL de la disolución 1:10 (10^{-1}), tres con 1 mL de la disolución 1:100 (10^{-2}) y tres de la disolución 1:1000 (10^{-3}) de la muestra.....	30
5	Número más probable de microorganismos y límites de confianza para diferentes combinaciones de tubos positivos cuando se inoculan cinco tubos con 10 mL, uno con 1 mL y uno con 0.1 mL de la muestra.....	33
6	Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes del comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.	43
7	Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes del comedor Kiawa del ITSON, unidad Nainari.	40
8	Cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes en el comedor kiawa del ITSON, unidad Nainari.	45
9	Cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes en el comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.	46
10	Cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el comedor kiawa del ITSON, unidad Nainari.....	47
11	Cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.	47
12	Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari....	48
13	Número más probable (NMP) de coliformes totales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.....	49
14	Número más probable (NMP) de coliformes fecales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.	46
15	Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en	

	alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.....	51
16	Cuenta total viable de hongos y levaduras en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.....	53
17	Cuenta total viable de hongos en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.....	54
18	Número más probable de coliformes totales (NMP/g) en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.	55
19	Número más probable de coliformes fecales (NMP/g) en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.	56

LISTA DE FIGURAS

No.	Nombre de la figura	Página
1	Posible contaminación de los alimentos por las personas.....	12

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología en el Instituto Tecnológico de Sonora, unidad centro. El objetivo fue evaluar la calidad microbiológica en superficies, ambiente, agua y alimentos preparados y servidos en el comedor kiawa y estudiantil del ITSON con el fin de evaluar la calidad sanitaria de los alimentos y comprobar si son aptos para el consumo humano en base a los criterios establecidos en la NOM – 093 – SSA1- 1994.

Se realizaron 10 muestreos durante el período de Julio 2009 a Abril de 2010, recolectándose en total 320 muestras, de las cuales se recolectaron 160 de superficies vivas e inertes, 100 muestras de ambiente, 20 muestras de agua potable y 40 muestras de alimentos. Los análisis microbiológicos realizados a las muestras de alimentos fueron: Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias (NOM-092-SSA1-1994), cuenta de hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994), determinación de organismos coliformes totales y fecales (NOM-112-SSA1-1994) y aislamiento e identificación de *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994); en cuanto a las muestras de superficies se realizó cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios (NOM-092-SSA1-1994) y la determinación de coliformes totales por la técnica de vaciado en placa (NOM- 113-SSA1- 1994); para medio ambiente se realizó la cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios de acuerdo a Castro, 2001 en el manual de procedimientos de laboratorio de la DIEP. En el caso de las muestras de agua potable fueron comparadas con la NOM-127-SSA1-1994 modificada. Los resultados obtenidos se compararon con lo establecido en la NOM-093-SSA1-1994.

Con respecto a los resultados obtenidos para alimentos en la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios se encontró que un 97.5% están dentro de los límites permisibles por la NOM-093-SSA1-1994, el 5% de los alimentos presentan hongos y levaduras en un rango de 0 a 237,000 UFC/g, el 97.5% está libre de hongos. En cuanto a presencia de coliformes totales y fecales se obtuvo un 5% en ambos análisis. No se identificó la presencia de *Salmonella spp.* en ningún alimento. En las superficies vivas e inertes analizadas un 97.5% están dentro de los límites permisibles. Respecto a coliformes totales se obtuvo un 97.5% dentro de los límites permisibles establecidos en la NOM-093-SSA1-1994. Para mesófilos aerobios en medio ambiente se encontraron conteos mínimos, lo que hace un lugar apto para preparar y consumir alimentos. Para agua potable se encontró que el 100% de las muestras se encuentra dentro del límite de la cuenta total viable de mesófilos aerobios 100UFC/mL en la NOM-093-SSA1-1994, respecto a coliformes totales y fecales un 100% cumple con los parámetros de la NOM-127-SSA1-1994 modificada.

Por lo antes mencionado los alimentos que se preparan y sirven en los comedores estudiantiles del Instituto Tecnológico de Sonora unidad Nainari son aptos para consumo humano, de acuerdo a los indicadores de calidad que utiliza la NOM-093-SSA1-1994.

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los factores que en gran medida afectan a la salud pública es la higiene de los alimentos, la cual es la base de la aplicación de buenas prácticas de manufactura. La higiene de las superficies, equipos y utensilios, es uno de los pilares donde se asientan estas prácticas y se considera que entre el 6% y el 15% de los alimentos producidos poseen algún tipo de contaminación a causa de éstos factores, la respuesta a estos grados de contaminación son varias, pero una de ellas se basa en la comprobación de que existen microorganismos capaces de resistir los tratamientos habituales de limpieza (Forte *et al.*, 2000).

Las interacciones mutuas entre los microorganismos por una parte y las plantas y los animales por otra, son naturales y constantes. En la naturaleza, está perfectamente comprobado el papel ecológico de los microorganismos y su importancia en todos los ciclos geoquímicos. Como los alimentos que consume el hombre proceden básicamente de las plantas y los animales o de productos derivados de los mismos, resulta comprensible que dichos alimentos puedan contener microorganismos que interaccionen con ellos.

Cuando se trata de microorganismos patógenos, su asociación con nuestros alimentos es peligrosa desde el punto de vista de la salud pública. Algunos de los alimentos tolerarán la multiplicación de los microorganismos patógenos o, por lo menos, actuarán como vectores de los mismos. Por lo que se intenta evitar que penetren y se multipliquen en los alimentos o destruirlos mediante algún tipo de tratamiento (Frazier, 2003). El número creciente y la gravedad de los brotes de toxiinfecciones alimentarias a nivel mundial han determinado que la preocupación pública por la seguridad alimentaria haya aumentado considerablemente (Forsythe, 2003).

Las enfermedades transmitidas por alimentos contaminados, son enfermedades que se presentan en personas que han ingerido algunos microorganismos como bacterias, parásitos, virus o contaminantes químicos nocivos que se encuentran en algunos alimentos o en el agua potable (FDA, 2009)

El agua es la fuente de las enfermedades infecciosas más importantes, por tanto, la potabilización del agua es la medida de salud pública más importante. Los microorganismos transmitidos por el agua generalmente se multiplican en el intestino y se eliminan en el cuerpo a través de las heces. Esto puede determinar la aparición de una contaminación fecal de las fuentes de suministros de agua (Madigan, 2004).

Los alimentos pueden transferir una amplia gama de enfermedades al ser humano. En las infecciones alimentarias, los alimentos actúan de vehículo transmisor del patógeno al consumidor, el cual el microorganismo se multiplica y puede provocar posteriormente la enfermedad. En las intoxicaciones alimentarias, el patógeno se multiplica en los alimentos y produce toxinas que pueden afectar al consumidor (Prescott, *et. al.*, 2004).

Los microorganismos son la causa de que se estropee la comida, por degradación de color y sabor, y de que se produzcan enfermedades de origen alimentario, cuando se ingiere comida que contiene los microorganismos que afectan a la salud pública. Las prácticas sanitarias son necesarias para

combatir la proliferación y actividad de los microorganismos responsables del deterioro de los alimentos y del envenenamiento por ingestión de alimentos. (Marriott, 2003).

Considerando lo antes mencionado en el presente estudio se consideró realizar una investigación donde se evaluó la calidad microbiológica de las superficies vivas e inertes, agua, ambiente, así como de alimentos que se preparan en el comedor kiawa y estudiantil del ITSON, y así poder observar las condiciones sanitarias del establecimiento, su personal y los utensilios con los cuales manipulan el alimento comparando los resultados obtenidos con las normas establecidas por la Secretaría de Salud.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica en superficies, ambiente, agua y alimentos preparados y servidos en el comedor kiawa y estudiantil del ITSON mediante análisis microbiológicos con el fin de evaluar la calidad sanitaria de los alimentos y comprobar si son aptos para el consumo humano en base a la NOM – 093 – SSA1- 1994.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Localizar estratégicamente los sitios de muestreo dentro del comedor kiawa y estudiantil, campus Nainari.
- Determinar la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios (NOM- 092- SSA1-1994) y coliformes totales por la técnica de vaciado en placa (NOM- 113-SSA1- 1994) en superficies vivas e inertes.
- Determinar la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios (NOM- 092- SSA1-1994), hongos y levaduras por la técnica de vaciado en placa (NOM- 111- SSA1-1994), número más probable (NMP) de coliformes totales y fecales (NOM- 112-SSA1-1994) y la presencia de *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994) en alimentos.
- Realizar un diagnostico de las condiciones sanitarias con que se elaboran los alimentos, comparando los resultados con las especificaciones microbiológicas de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994, apéndice informativo B.

1.4 HIPÓTESIS

Las condiciones sanitarias del comedor kiawa y el comedor estudiantil del ITSON de Cd. Obregón y los alimentos que ahí son expedidos cumplen con las especificaciones de la norma NOM-093-SSA1-1994.

1.1 JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de conocer si la comunidad estudiantil y personal que consume los alimentos servidos en los comedores está expuesta a la presencia de microorganismos patógenos que pueden ocasionar un daño a su salud, beneficiándolos al asegurar que los alimentos que consumen en este lugar son inocuos o en caso de presentar problemas de contaminación microbiológica dar las recomendaciones convenientes a los manipuladores de alimentos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Definición de agua

La definición concedida a el agua para uso y consumo humano es aquella que no contiene contaminantes objetables, ya sean químicos o agentes y que no causa efectos nocivos al ser humano (NOM-127-SSA1-1994).

2.1.1 Calidad del agua

Las pautas para la calidad del agua potable proporcionan una base para juzgar la aceptabilidad de los sistemas públicos de abastecimientos de agua. Sin embargo, todo juicio basado en la aplicación de pautas bacteriológicas debe tener en cuenta la precisión, validez y conveniencia de los procedimientos de muestreo. También es necesario considerar las especies de gérmenes patógenos presentes en el agua, las probables relaciones entre las cantidades de gérmenes y los de diversos indicadores y las posibilidades y limitaciones de los métodos de tratamiento de agua. La calidad microbiológica de aguas naturales y tratadas es variable. Idealmente, el agua potable no debe contener ningún microorganismo patógeno, ni tampoco bacterias indicadoras de la contaminación fecal. Para garantizar que un sistema de abastecimiento se ajusta a estas pautas de calidad bacteriológica, es imprescindible examinar muestras con regularidad para detectar indicadores de contaminación fecal. El indicador bacteriano fundamental para este propósito es el grupo de

microorganismos coliformes en general. Si bien no todos son de origen fecal exclusivamente, están siempre presentes en grandes cantidades en las heces del hombre y de otros animales de sangre caliente, y es posible detectarlos después de una dilución considerable. La detección de bacterias coliformes fecales termorresistentes, en particular de *Escherichia coli*, constituye una prueba definitiva de contaminación fecal (Organización Panamericana de la Salud, 1985).

Los componentes del agua pueden afectar su apariencia, olor y sabor, y el consumidor evalúa la calidad y aceptabilidad del agua basándose esencialmente en esos criterios. Se considerara así peligrosa y se rechazará el agua que se muy turbia, tenga un color acentuado o un sabor desagradable. No obstante, ya no se puede confiar por completo en nuestros sentidos cuando se trata de juzgar la calidad del agua potable, y la ausencia de efectos sensoriales negativos no garantiza la inocuidad de ese elemento (Organización Panamericana de la Salud, 1985).

2.1.2 Transmisión de microorganismos en agua

Existen principalmente tres tipos de microorganismos diferentes que se pueden transmitir a través del agua: bacterias, virus, protozoos. La transmisión de todos ellos se realiza por la vía fecal-oral y se producen principalmente por contaminación, tanto directa o indirecta de los recursos de agua, por las aguas residuales o en ocasiones de desechos de animales (Gray, 1994).

2.1.3 Aspectos sanitarios de la microbiología del agua

El agua como agente portador de microorganismos patógenos, puede poner en peligro la salud y la vida. Los microorganismos patógenos más frecuentemente transmitidos por el agua producen infecciones del aparato digestivo, fiebre tifoidea, paratifoidea, disentería bacilar y amebiana y cólera. Los agentes etiológicos de éstas se encuentran en las materias fecales y la orina de los infectados y cuando son eliminadas pueden llegar a un depósito que desemboque en una fuente de agua para beber (Pelczar, 1992).

El control y la detección de microorganismos indicadores y patógenos constituyen una parte importante de la microbiología sanitaria. Las bacterias del tracto intestinal no suelen sobrevivir en el medio acuático, están sometidas a un estrés fisiológico y pierden gradualmente la capacidad para formar colonias en medios diferenciales y selectivos. Su velocidad de mortalidad depende de la temperatura del agua, los efectos de la luz solar, las poblaciones de otras bacterias presentes y la composición química del agua (Lansing *et al.*, 2004).

2.1.4 Enfermedades microbianas transmitidas por el agua

La contaminación microbiana de los materiales utilizados por muchos individuos es una fuente muy común de enfermedades infecciosas. Las enfermedades transmitidas por el agua son una importante fuente de morbilidad y mortalidad, especialmente en los países en vías de desarrollo. Una gran variedad de bacterias, virus y protozoos causan las enfermedades infecciosas transmitidas por el agua. Las enfermedades transmitidas por el agua comienzan como infecciones. El agua puede producir infecciones incluso si solo presenta una pequeña cantidad de microorganismos; el número exacto de patógenos necesarios para producir una infección está en función de la virulencia del patógeno y la habilidad del hospedador para resistir la infección (Madigan *et al.*, 2004).

Las enfermedades transmitidas por alimentos de origen microbiano y parasitario, son las causadas por el consumo de agua o comida contaminada por microorganismos patógenos, parásitos o sus toxinas. La contaminación de los alimentos puede ser endógena, o bien ocurrir en algún punto de su transformación. Por tanto, el agente etiológico debe existir en los animales, vegetales o medio ambiente donde se almacena, maneja o procesa alimento (Frazier *et. al.*, 2003)

2.2 Contaminación de los alimentos

En la superficie de las plantas en crecimiento existe una flora microbiana típica que se puede contaminar por el aporte de microorganismos de procedencia extraña. De igual forma, los animales poseen una flora microbiana superficial típica más una flora intestinal, eliminan microorganismos en sus excreciones y secreciones, contaminándose también por microorganismos de procedencia extraña. Sin duda, tanto las plantas como los animales que padecen enfermedades parasitarias albergan el patógeno que produce la enfermedad. No obstante, se ha señalado que los tejidos internos sanos de las plantas y de los animales contienen pocos microorganismos vivos o estériles.

La contaminación de los alimentos por el aire puede tener importancia tanto por razones higiénicas como por razones económicas. Los microorganismos patógenos, en especial los que producen infecciones respiratorias, pueden ser transmitidos a los empleados por el aire, o bien pueden contaminar los alimentos. Los microorganismos que alteran los alimentos pueden tener su origen en el aire, lo mismo que aquellos que perjudican a las fermentaciones (Frazier *et. al.*, 2003).

Para que pueda producirse una enfermedad alimentaria, se debe dar la transmisión de la afección, la cual sucede con una serie de factores o situaciones relacionadas entre sí, que deben existir o materializarse y actuar conjuntamente para que se produzca el contagio (*Figura 1*).

Los factores eficientes necesarios para la transmisión de una enfermedad alimentaria bacteriana son:

- a) Transmisión del agente causal desde el ambiente en que se produce, procesa o prepara el alimento al propio alimento.
- b) Una fuente y un reservorio de transmisión para cada agente.
- c) Transmisión del agente infeccioso desde la fuente al alimento.
- d) Apoyo del crecimiento del microorganismo por el alimento u hospedador que fueron contaminados.

Para que el germen contaminante pueda sobrevivir y multiplicarse, deben existir unas condiciones adecuadas de nutrientes, humedad, pH, potencial de óxido reducción, ausencia de microorganismos competidores y falta de inhibidores (Marriott, 2003).

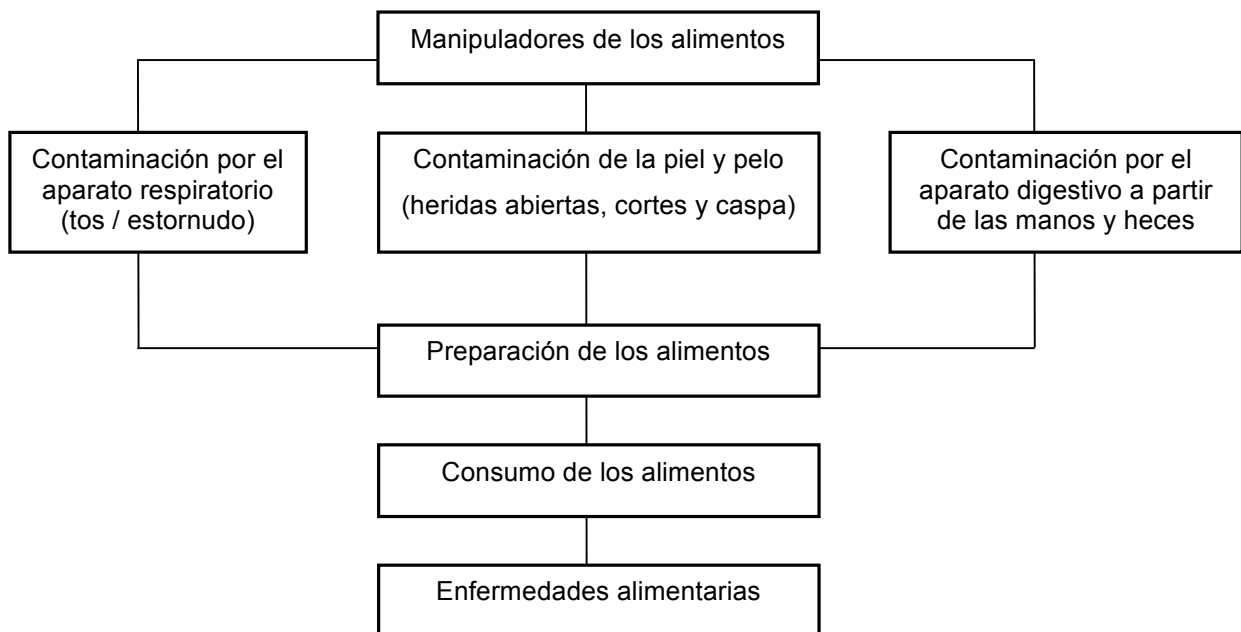


Figura 1. Posible contaminación de los alimentos por las personas (Marriot, 2003)

2.3 Alimentos y Sanidad

Saneamiento es el control de los factores en el ambiente que afectan la salud pública, originalmente las prácticas de saneamiento de los alimentos se orientaban a la casa y sus alrededores, pero actualmente, debido al fenómeno de urbanización e industrialización, la magnitud de la producción, proceso y consumo de alimentos, se hace necesario que los principios básicos del saneamiento sean comprendidos por muchas personas, dada la compleja red que involucra la producción y el proceso de alimentos en la sociedad mexicana actual, se requiere hacer un gran esfuerzo multidisciplinar para cubrir el mayor número de productores y manejadores de alimentos, médicos, laboratoristas, etcétera, no tan solo informándolos sino también formándolos en los principios sanitarios (Torres, 1999).

2.4 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

Se consideran enfermedades de origen alimentario las ocasionadas al ingerir alimentos o bebidas contaminadas. Muchos microorganismos diferentes pueden contaminar los alimentos, por lo que existen distintas enfermedades ocasionadas por ellos. Estas enfermedades pueden dar origen a brotes, que se producen cuando un grupo de personas consume un alimento contaminado y dos o más de ellas contraen la misma enfermedad. Con frecuencia, en un brote ocurren una serie de circunstancias relacionadas con la manipulación y conservación del alimento involucrado. (Pascual, 2005).

2.5 Microorganismos indicadores de la calidad sanitaria

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos, la mayor parte de los alimentos se convierten potencialmente peligrosos para el consumidor solo después de que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección (Jay, 2002).

Los microorganismos en los alimentos pueden estar involucrados con la deterioración, algún parámetro de calidad o el riesgo de transmisión de enfermedades, por eso se utilizan una variedad de microorganismos que se encuentran frecuentemente en los alimentos y son relativamente fáciles de cultivar. Tales microorganismos sirven para indicar la presencia de otros y se les denomina “microorganismos indicadores”.

Son utilizados ampliamente para detectar contaminación humana, contaminación fecal, supervivencia de patógenos, actividad de microorganismos involucrados en la deterioración y contaminación post-proceso. Se pueden dividir en aquellos que sirven para indicar cambios en calidad y los que sirven para relevar presencia de organismos patógenos.

La idea del uso de indicadores microbianos de calidad es obtener información simple y rápida acerca del proceso, el manejo posterior, las posibles

contaminaciones exteriores, el posible abuso de temperatura y los niveles de higiene del proceso (Torres *et al.*, 2006).

Los factores que deben de tomarse en cuenta para llegar a seleccionar el indicador de calidad más apropiado son los siguientes:

- a) Debe encontrarse y detectarse en todos los alimentos en los que la calidad se va a verificar.
- b) Su presencia indica el potencial de deterioración o fallas en el proceso.
- c) Fácilmente detectable y cuantificable.
- d) Fácil de distinguir de otros organismos presentes en el mismo alimento.
- e) Su cuantificación debe lograrse relativamente rápido, en no más de un día.
- f) Su crecimiento no debe de ser inhibido por componentes del alimento.
- g) Su capacidad de sobrevivir es similar al organismo responsable de la deterioración.
- h) Su velocidad de crecimiento es igual o más rápida que el microorganismo que afecta la calidad directamente.
- i) Sus características son estables.
- j) Los resultados se pueden aplicar al control de procesos.
- k) Existe una correlación entre los resultados cuantitativos del indicador microbiano y los del microorganismo objeto de control.

Los indicadores microbianos de calidad pueden dividirse en tres categorías principales: grupos microbianos, microorganismos específicos y compuestos metabólicos (Torres, 2006).

Los microorganismos que generalmente se cuantifican para determinar la calidad sanitaria de alimentos son mesofílicas aerobios, mohos, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, entre otros (Félix *et al.*, 2005)

2.5.1 Recuento de bacterias mesófilas aerobias

El recuento de colonias de bacterias mesofílicas aeróbicas es ampliamente utilizado con diversos propósitos en el análisis de alimentos, perecederos o no,

agua, equipo y utensilios y otros productos. Se pretende contar con el máximo número de microorganismos, y cuando la incubación se ha realizado entre los 20°C y 30°C, se le designa como cuenta de bacterias mesofílicas aeróbicas, refiriéndose al mismo grupo se utilizan calificativos de cuenta total viable, cuenta estándar en placa, cuanta viable general, cuenta total aeróbica, cuenta en placa aeróbica. Dentro de la flora mesofílicas aerobia tenemos bacilos, cocos, gram positivos y gram negativos, aislado o agrupados en todas las variedades. Desde el punto de vista fisiológico y de su patogenicidad encontramos; cromógenos, proteolíticos, lipolíticos, sacarolíticos, patógenos, etcétera (Amador, 1993).

La cuenta aeróbica de placa se usa como indicador de las poblaciones microbianas aeróbicas y mesofílicas de un alimento capaces de crecer en un medio sólido complejo. Es posible uno de los indicadores más amplios ya que puede incluir todo tipo de bacterias que sean capaces de formar colonias en 24 horas (Torres, 2006).

Se utiliza cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes.

La variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente y la misma refleja si el manejo sanitario del producto ha sido el adecuado. Para obtener resultados reproducibles y por lo tanto significativos, es de suma importancia seguir fielmente y controlar cuidadosamente las condiciones.

Esta técnica puede aplicarse para la estimación de microorganismos viables en una amplia variedad de alimentos. (NOM-092-SSA1-1994).

2.5.2 Recuento de mohos y levaduras

Para el aislamiento e identificación de los diferentes géneros de hongos productores de micotoxinas, tanto en materias primas como en alimentos balanceados, se lleva a cabo la técnica de vaciado en placa, la cuál utiliza un medio de cultivo con alto contenido de nutrientes como el agar papa dextrosa.

Los mohos tienen influencia directa sobre el bienestar del hombre; algunos son altamente benéficos y el hombre los utiliza directamente como en la producción de antibióticos. Otros juegan un papel importante de la naturaleza como degradadores de materia orgánica, por otra parte, los mohos son la principal causa de enfermedades de los cultivos agrícolas (Torres *et al.*, 2006).

Los hongos y levaduras son abundantes en el suelo, de manera que por contacto directo con la tierra a través del polvo llegan fácilmente a los alimentos. Durante el procesamiento y conservación de los alimentos, la contaminación por la tierra se traduce en contaminación por hongos y levaduras, las plantas y los animales son también fuentes comunes de contaminación de estos microorganismos (Fernández, 1981).

Los hongos y levaduras prosperan en el equipo y utensilios mal saneados de manera que constituyen otra fuente importante de contaminación dentro de las plantas de alimentos. Las batidoras de crema, en particular las de madera, son un ejemplo muy ilustrativo de lo anterior.

Los envases de papel y de cartón o plástico a menos que se encuentren especialmente tratados deben también considerarse dentro de la lista de estas fuentes. La piel del hombre sano es reservorio de una variedad de hongos (Mc Bride *et. al.*, 1977).

2.5.3 Recuento de organismos coliformes

Los coliformes son bacilos cortos que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las

principales especies de bacterias coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*; no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose entre las mismas especies otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* e incluso especies *Aeromonas*. El grupo de coliformes fecales capaces de crecer a temperatura elevada que va de 44,5 a 45°C (Frazier *et al.*, 1993).

La determinación de coliformes es muy útil para obtener una evaluación general de la calidad de un alimento y sirve como índice de las condiciones higiénicas del procesamiento de los alimentos.

Entre los microorganismos indicadores, los coliformes son probablemente uno de los grupos más utilizados que no sólo sirven como indicador de calidad, sino también como indicador de la presencia de patógenos. El grupo coliformes incluye a aquellas bacterias que poseen las siguientes características: anaeróbicos facultativos, Gram negativos, no forman esporas, y fermentan lactosa produciendo ácido y gas en un periodo de 48 horas a 35° C. (Torres, 2006).

El número de organismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias o el uso de la técnica del número más probable. Esta última, también llamada técnica de dilución en tubo, proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado. (NOM-112-SSA1-1994).

2.5.3.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli se considera, en general, que forma parte de la flora intestinal normal del hombre y animales de sangre caliente. Estos bacilos Gram negativos, no esporulados, la mayoría poseen flagelos, son generalmente fimbriados, son anaerobios facultativos, crecen abundantemente en medios nutritivos ordinarios, su temperatura de crecimiento oscila entre 10 y 46°C, siendo el nivel óptimo de 37°C. El pH óptimo es de 7 a 7.5 con un mínimo de 4 y

un máximo de 8.5. Fermentan rápidamente diversos azúcares como la lactosa, produciendo ácido y gas, la mayor parte de las cepas se destruyen a 60°C por 30 minutos, pudiéndose destruir fácilmente a temperaturas de pasteurización y al cocinarse perfectamente (Fremman, 1983).

2.5.3.2 Fuentes de contaminación por *Escherichia coli*

E. coli esta ampliamente difundida, encontrándose de manera universal en el tracto intestinal del hombre y de animales de sangre caliente. Por esta razón, estos microorganismos suelen emplearse como indicadores de contaminación fecal en los suministros de agua como en los alimentos. Los brotes de infección por *E. coli* han sido responsables una serie diversa de alimentos como los son: café, carne cocida, carne asada de oveja, salsas, carne de cerdo, de pollo, quesos, jamón y empanadas (Fremman, 1983).

2.5.3.3 Infección por *Escherichia coli*

En la década de los 40 se comprobó que *E. coli* era responsable de graves epidemias y producía una infección diarreica, los síntomas responsables como consecuencia de la ingestión de *E. coli* se dividen en dos grupos.

2.5.3.4 Infección enterotoxigenicas

Las formas enterotoxigenicas de *E. coli* producen enterotoxina, estas inducen la secreción neta de líquidos hacia el lumen intestinal delgado, dando lugar a la aparición de la diarrea, la adherencia y la colonización de la mucosa intestinal es una necesidad para producción de la toxina. Los síntomas de esta infección son de 8 y 44 horas con un promedio de 2 h, presentándose diarrea, vómitos, deshidratación y shock (Fremman, 1983).

2.5.3.5 Infección enteroinvasiva

Este grupo comprende la *E. coli* que se distingue por la invasión de la mucosa intestinal, estas cepas no producen enterotoxinas, crecen en el colon, penetran

e invaden las células epiteliales, para que se presente esta forma de infección es necesario una fuerte dosis infectiva, los síntomas aparecen entre 8 y 24 h con un promedio entre 11 horas, se manifiesta con escalofríos, cefalea, espasmos abdominales, diarrea acuosa (Fremman, 1983).

2.6 Bacterias del género *Salmonella*

El género *Salmonella* corresponde a enterobacterias móviles con flagelación peritrica no pertenecientes al grupo de los coliformes, ya que no fermentan la lactosa, no producen desaminasas y tienen un carácter mas o menos patógeno según especies (Granados, 2002).

En la actualidad la salmonelosis es la principal causa de enfermedad transmitida por alimentos en la mayoría de los países desarrollados y en los subdesarrollados una de las más importantes causas de muerte. (Torres, 1999).

2.6.1 Características

Son bacilos Gram negativos, facultativamente anaerobios que pertenecen a la familia de las *Enterobacteriaceae*. Si bien los representantes de este género son móviles por medio de flagelos peritricos, existen variantes aflageladas, como *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum*, y cepas inmóviles que resultan de flagelos disfuncionales.

Las Salmonelas poseen una capacidad para metabolizar nutrientes por las vías metabólicas respiratoria y fermentativa. Crecen óptimamente a 37° C y catabolizan la D-glucosa y otros carbohidratos con producción de ácido y gas (Doyle *et al.*, 2001).

Son microorganismos resistentes que se adaptan fácilmente a las condiciones extremas del medio. Crecen activamente en un intervalo amplio de temperaturas comprendidas entre 2 y 4° C. Además, el acondicionamiento previo de las células a temperaturas bajas puede aumentar notablemente el

crecimiento y la supervivencia de las salmonelas en los productos alimenticios refrigerados.

Son oxidasa negativa y catalasa positiva, crecen en citrato como única fuente de carbono, generalmente producen Sulfuro de Hidrógeno, descarboxilan la lisina y la ornitina, y no hidrolizan la urea (Doyle, 2001).

2.6.2 Fuentes de contaminación

El origen de la contaminación de alimentos con *Salmonella*, ya sea directa o indirectamente radica en los animales 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, es probable que las cucarachas contribuyen a extender la enfermedad.

La manipulación de los alimentos en gran escala, como se tiene que realizar en muchos establecimientos tiene que aumentar las posibilidades de diseminación.

Los alimentos para los animales de compañía pueden transmitir *Salmonellas* a partir de ellos infectar los niños (Frazier, 1993).

2.6.3 Salmonelosis

Este síndrome es causado por la ingestión de alimentos que contienen un número importante de especies del género *Salmonella*. A partir del momento de la ingestión del alimento, los síntomas suelen tardar en aparecer de 12 a 36 horas aunque se han señalado periodos más cortos o más largos, que rebasan las 72 horas, los síntomas suelen ir acompañados de abatimientos, debilidad muscular, fiebre, somnolencia, estos síntomas pueden durar de 2 a 3 días (Jay, 2002).

2.6.4 Condiciones necesarias para la presentación de un brote

- El alimento debe contener, o se debe contaminar con, bacterias del género *Salmonella*.
- Que estas bacterias se deben encontrar en el alimento en número elevado, bien como consecuencia de que el alimento está muy contaminado, porque se han multiplicado en él.
- Que se hayan ingerido microorganismos viables.

2.6.5 Prevención de los brotes

- Evitar la contaminación de alimentos con Salmonelas procedentes tanto de personas como de animales contaminados.
- Destrucción de los microorganismos mediante el calor u otro procedimiento.
- Impedir la multiplicación de los microorganismos en los alimentos mediante una refrigeración adecuada u otros procedimientos (Frazier, 1993).

2.7 Medidas de control

Algunas son: practicar la higiene personal, enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades, preparar los alimentos de forma higiénica, cocer los alimentos totalmente, proteger y tratar el agua, eliminar las aguas residuales de forma higiénica y lucha contra las moscas (Frazier *et. al.*, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Zona de estudio

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Servicio de Recursos Naturales (CSRN) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON) Unidad Obregón, las muestras fueron recolectadas en el comedor Kiawa y estudiantil del Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Nainari.

3.2 Periodo de muestreo

La presente investigación comprendió los meses de Julio de 2009 a Abril de 2010. Siendo 10 muestreos realizados en las fechas que se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Fechas de Muestreo

Muestreo	Fecha
1	08-Julio-2009
2	12 -Agosto-2009
3	15-Septiembre-2009
4	28-Octubre-2009
5	30-Noviembre-2009
6	08 -Diciembre-2009
7	12-Enero-2010
8	16-Febrero-2010
9	23-Marzo-2010
10	20-Abril-2010

3.3 Toma de muestras

3.3.1. Alimento

Las muestras de alimentos fueron proporcionadas por el personal de cada cocina de acuerdo al menú preparado el día del muestreo. Las muestras recolectadas se obtuvieron con un peso aproximado a los 200 g, evitando una contaminación externa, tanto ambiental como humana, las muestras se transportaron al laboratorio.

3.3.2. Superficies vivas

Para la toma de muestra para este análisis se requirió tubos de ensayo con rosca con 10 mL de solución buffer de fosfatos, hisopos previamente estériles. La toma de muestra de superficies vivas se realizó en manos del personal que presenta contacto directo con el alimento. El procedimiento consistió, en tomar el hisopo, sumergirlo en la solución buffer de fosfatos quitándole el exceso exprimiéndolo en las paredes del tubo de ensayo, después se frotó con el hisopo la mano interna y externamente del cocinero de igual forma la parte interna de los dedos y las uñas, y por último se colocó el hisopo dentro del tubo, cerrar y etiquetar con los datos que diferencien cada muestra.

3.3.3. Superficies inertes

Para la toma de muestra para superficies inertes, se utilizaron tubos de ensayo con rosca con 10 mL de solución buffer de fosfatos, hisopos, plantillas de 25 cm² y pinzas previamente estériles, el procedimiento consistió en tomar el hisopo y sumergirlo en la solución buffer de fosfatos, quitando el exceso en las paredes del tubo, después colocó una plantilla de 25 cm² para la recolección de muestras de mesa preparación, cuchillo, tabla para picar, piso, mesa de consumo, por consiguiente frotar con el hisopo la parte interna en la plantilla, y por último se coloca el hisopo dentro del tubo, cerrar y etiquetar con los datos que diferencien cada muestra (Tabla 2).

Tabla 2. Sitios de muestreo en superficies vivas e inertes

Nº de Muestra	Sitio de Origen
1	Mesa de preparación
2	Cuchillo
3	Tabla de picar
4	Piso
5	Mesa de consumo
6	Manos de cocinera
7	Manos de cajera

3.3.4. Ambiente

Para la toma de muestra de ambiente, preparar cajas con 15 a 20 mL de Agar estándar métodos, incubarlas durante 24 a 48 horas para la prueba de esterilidad. El procedimiento consiste en colocar las placas en puntos estratégicos para el análisis (Tabla 3).

Abriendo la caja, cuidando no tocar la periferia de la base que contiene el medio de cultivo, por consiguiente mantener la caja abierta por un periodo de 15 minutos, posteriormente se cierra cuidando no contaminar la misma, etiquetando con los datos que diferencien cada muestra y por último se incuba cada placa a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

Tabla 3. Sitios de muestreo en ambiente

Nº de Muestra	Sitio de Origen
1	Mostrador
2	Lavabo
3	Refrigerador/Interior
4	Mesa de preparación
5	Mesa de consumo

3.4 Transporte de las muestras

Las muestras son recolectadas y transportadas en una hielera a temperatura aproximada a los 4°C al laboratorio de microbiología posteriormente se realizaron los análisis.

3.5 Análisis microbiológico de superficies vivas e inertes

A continuación se describen los análisis realizados para las muestras de superficies vivas e inertes.

3.5.1 Cuenta total viable de mesófilos aerobios

Una vez tomada la muestra se realizarán diluciones seriadas de 10^{-1} y 10^{-2} , se utiliza la técnica de vaciado de placa; la cual consiste en colocar 1 mL de la muestra directa y de las diluciones en una placa estéril y rotulada, para después adicionar de 15 a 20 mL de agar estándar métodos estéril, este debe estar a temperatura aproximada a 45°C soportable, después homogenizar con movimientos de derecha a izquierda sobre una superficie lisa. Dejar solidificar e incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 horas. Una vez concluido el periodo de incubación continuar con el conteo de colonias en las placas seleccionando la caja petri que contenga entre 25 a 250 colonias y reportar como Unidades Formadoras de Colonias por centímetro cuadrado de superficie (UFC/cm² de superficie) (NOM- 092- SSA1- 1994).

3.5.2 Cuenta total viable de coliformes totales

Una vez tomada la muestra se realizan diluciones seriadas 10^{-1} y 10^{-2} , y se utiliza el método de vaciado en placa: el cual consiste en colocar 1 mL de la muestra directa y de las diluciones en una placa estéril y rotulada, para después adicionar de 15 a 20 mL de agar bilis rojo violeta, después homogenizar con movimientos de izquierda a derecha sobre una superficie lisa. Dejar solidificar y una vez así incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Una vez cumplido el periodo de incubación llevar a cabo el conteo de colonias típicas color rosa y seleccionar aquella placa que contenga entre 25 a 250 colonias y reportar como UFC/cm² de superficie (NOM-113-SSA1-1994).

3.6 Análisis microbiológico de alimentos

A las muestras de alimentos recolectadas se les realizaron los siguientes análisis microbiológicos.

- Determinación de la cuenta total viable de mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa (NOM-092-SSA1-1994).
- Recuento de Hongos y Levaduras por la técnica de vaciado en placa (NOM-111-SSA1-1994).
- Determinación del Número Más Probable de coliformes totales y fecales por la técnica de tubos de fermentación múltiple (NOM-112-SSA1-1994).
- Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas de bacterias del género *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994).

3.6.1. Preparación de diluciones

El procedimiento que se siguió es el contenido en la NOM-110-SSA1-1994, el cuál establece lo siguiente:

Preparación de dilución primaria (10^{-1}) de muestras sólidas o semisólidas.

- Esterilizar un vaso de licuadora en autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Operar la licuadora de 1 a 2 minutos para homogenizar la muestra.
- Pesar 10 g de muestra en un recipiente estéril y adicionar a un frasco con 90 mL de solución buffer de fosfatos previamente estéril.
- Agitar manualmente con 25 movimientos de arriba hacia abajo en un arco de 30 cm en un tiempo de 7 segundos.
- Permitir que las partículas más grandes se sedimenten, y transferir la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión.

Preparación de las diluciones decimales adicionales.

- Transferir 1 mL de la dilución anterior (10^{-1}) en un tubo con 9 mL de solución buffer de fosfatos previamente estéril, se transfiere 1 mL de la dilución para obtener la dilución (10^{-2}).
- Mezclar cuidadosamente cada tubo, siempre de la misma manera, como se describe en la dilución anterior.
- El número de diluciones a preparar dependen del número esperado de microorganismos en la muestra.

3.6.2 Cuenta total viable de mesófilos aerobios por la técnica de vaciado en placa

Se empleó el método establecido por la NOM-092-SSA1-1994 realizándolo de la siguiente forma:

- Se inoculan las cajas Petri estériles con 1 mL de la dilución correspondiente.
- Repetir el procedimiento para cada dilución, con una pipeta estéril diferente.
- Agregar de 15 a 20 mL de agar estándar métodos.
- Homogenizar mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante para lograr una completa incorporación del inóculo en el medio, cuidando que no se moje la cubierta de las cajas.
- Incubar en posición invertida a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ $48 \pm 2 \text{ h}$.
- Seleccionar aquellas cajas donde aparezcan de 25 a 250 UFC.
- Realizar cálculo del resultado y reportar en UFC/g de alimento.

3.6.3. Recuento de hongos y levaduras por la técnica de vaciado en placa

Se empleó la siguiente metodología de acuerdo a la NOM-111-SSA1-1994 la cuál consiste en:

- Inocular las cajas Petri estériles con 1 mL de la dilución correspondiente.
- Repetir el procedimiento para cada dilución, con una pipeta estéril diferente en cada dilución.
- Preparar una caja con aproximadamente 20 mL de medio para verificar la esterilidad.
- Agregar de 15 a 20 mL de agar dextrosa de papa.
- Homogenizar mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante para lograr una completa incorporación del inóculo en el medio, cuidando que no se moje la cubierta de las cajas.
- Incubar las cajas en posición invertida a $25 \pm 1^\circ \text{C}$.
- Contar las colonias de cada placa después de 24 y 48 horas, seleccionar aquellas cajas donde aparezcan entre 10 a 150 colonias.
- Realizar cálculo del resultado y reportar en UFC/g de alimento.

3.6.4. Recuento de hongos por la técnica de vaciado en placa

Se sigue la misma metodología del punto pasado (3.6.3.), con la diferencia de que el medio agar dextrosa de papa se acidifica con una solución de ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1.4 mL de ácido tartárico por 100 mL de medio), esto de acuerdo a la NOM-111-SSA1-1994.

3.6.5. Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple

El procedimiento seguido para este análisis que será el establecido en la NOM-112-SSA1-1994, consiste en lo siguiente:

3.6.5.1 Prueba presuntiva

- Tomar 3 tubos con medio caldo lauril sulfato triptosa estéril con campana de Durham y transferir 1 mL a cada uno de la dilución primaria (10^{-1}) continuando hasta 10^{-3} , usando una pipeta diferente para cada dilución.
- Incubar a $35 \pm 2^{\circ} \text{C}$ por 24 ± 2 horas y observar si hay formación de gas, en caso contrario prolongar la incubación hasta 48 ± 2 horas.
- La presencia de gas y turbidez, dentro del tiempo de incubación hace positiva la prueba.

3.6.5.2 Prueba confirmativa

- Coliformes Fecales. De cada tubo positivo, tomar dos asadas y sembrar en un número igual de tubos con 10 mL de caldo EC con campana Durham e Incubar a $44.5 \pm 0.5^{\circ} \text{C}$ por 18 a 24 ± 2 horas.
- Coliformes Totales. De cada tubo positivo, tomar dos asadas y sembrar en un número igual de tubos con 10 mL de caldo bilis verde brillante con campana Durham e incubar $35 \pm 2^{\circ} \text{C}$ por 24 ± 2 horas, si la formación de gas no se observa en este tiempo, prolongar la incubación por 48 ± 2 horas.

3.6.5.3 Obtención del resultado del NMP de coliformes totales

Tomar la serie de tubos de la prueba confirmativa que dé formación de gas después del periodo de incubación requerido y buscar el NMP en los cuadros correspondientes (Ver Tabla 4).

Tabla 4. Número Más Probable de microorganismos y límite de confianza para diferente combinación de tubos positivos cuando se inoculan tres tubos con 1 mL de la disolución 1:10 (10^{-1}), tres con 1 mL de la disolución 1:100 (10^{-2}) y tres de la disolución 1:1000 (10^{-3}) de la muestra.

Combinación de tubos positivos			NMP/ g o mL de muestra	Límites de confianza al 99%		Límites de confianza al 95%	
1:10	1:100	1:1000		Inferior	Superior	Inferior	Superior
0	1	0	3.0	<1.0	23.0	<1.0	17.0
1	0	0	4.0	<1.0	28.0	<1.0	21.0
1	0	1	7.0	1.0	35.0	2.0	27.0
1	1	0	7.0	1.0	36.0	2.0	28.0
1	2	0	11.0	2.0	44.0	4.0	35.0
2	0	0	9.0	1.0	50.0	2.0	38.0
2	0	1	14.0	3.0	62.0	5.0	48.0
2	1	0	15.0	3.0	65.0	5.0	50.0
2	1	1	20.0	5.0	77.0	8.0	61.0
2	2	0	21.0	5.0	80.0	8.0	63.0
3	0	0	23.0	6.0	177.0	7.0	129.0
3	0	1	40.0	4.0	230.0	10.0	180.0
3	1	0	40.0	10.0	290.0	20.0	210.0
3	1	1	70.0	10.0	370.0	20.0	280.0
3	2	0	90.0	20.0	520.0	30.0	390.0
3	2	1	150.0	20.0	660.0	50.0	510.0
3	2	2	210.0	30.0	820.0	80.0	640.0
3	3	0	200.0	50.0	1,900.0	100.0	1,400.0
3	3	1	500.0	100.0	3,200.0	200.0	2,400.0
3	3	2	1,100.0	200.0	6,400.0	300.0	4,800.0

Fuente: Fernández, 1981

3.7 Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas de *Salmonella* spp.

El procedimiento seguido para este análisis que será el establecido en la NOM-114-SSA1-1994, que consiste en lo siguiente:

- Homogenizar la muestra en un vaso de licuadora estéril, operando de 1 a 2 minutos.

- Pesar 25 g de la muestra en un recipiente estéril.
- Adicionar a 225 mL del medio de pre-enriquecimiento caldo lactosado estéril.
- Incubar a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ 24 ± 2 hrs.
- Transferir 1 mL a 10 mL de caldo selenito y cistina estéril como medio de enriquecimiento.
- Incubar de 18 a 24 hrs a $35 \pm 2^\circ \text{C}$.
- Estriar en Agar SS como medio selectivo.
- Incubar $35 \pm 1^\circ \text{C}$ 24 ± 2 hrs.
- Observar si hay colonias típicas (algunas colonias presentan un centro negro, las colonias fermentadoras de lactosa son rojas).
- Realizar pruebas bioquímicas.
- Incubar las pruebas bioquímicas según la temperatura y tiempo indicado para cada una de ellas.
- Observar resultados y reportar ausencia o presencia de *Salmonella* en 25 g de muestra.

3.8 Análisis microbiológico para muestra de agua potable

En esta sección se describe los análisis microbiológicos realizados a cada muestra de agua potable.

3.8.1. Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple

A continuación se describen las pruebas utilizadas para la determinación de coliformes totales.

3.8.1.1. Prueba presuntiva

Para la determinación del número más probable de coliformes totales y fecales por la técnica mencionada, Fernández (1981) señala el siguiente procedimiento:

- Se agita la muestra con la finalidad de homogenizar.
- Con una pipeta estéril se inocularon 5 tubos con 10 mL de caldo lactosado a doble concentración y 2 tubos de concentración simple con

1 mL y 0.1 mL respectivamente con campana Durham cada uno de los tubos.

- Incubar a 35 ± 2 ° C por 24 ± 2 a 48°C horas
- Los tubos que presentaron turbidez y gas en la campana Durham se consideraron positivos.

3.8.1.2. Prueba confirmativa

Coliformes totales

- Partiendo de los tubos positivos de la prueba presuntiva, se inocularon por dos asadas en tubos con 10 mL de caldo bilis verde brillante 2% con campana Durham.
- Se incubaron a 35 ± 2 ° C por 24 ± 2 a 48°C horas.
- Los tubos que presentaron turbidez y gas indicaron positiva la prueba, posteriormente se consultó la tabla 5 para dar un resultado final.

Coliformes fecales

- Partiendo de los tubos positivos de la prueba presuntiva se inocularon por dos asadas en tubos con Caldo EC con campana Durham.
- Se incubaron a 44.5 °C durante 24 hrs.
- Los tubos que presentaron turbidez y gas indicaron positiva la prueba, posteriormente se consultó la tabla 5 para dar un resultado final.

3.8.2. Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de tubos de fermentación múltiple

Se tomará la serie de tubos de la prueba confirmativa que dé formación de gas después del periodo de incubación requerido y se buscará el NMP en la tabla número 5 (Fernández, 1981) los cuadros correspondientes.

Tabla 5. Número más probable de microorganismos y límites de confianza para diferentes combinaciones de tubos positivos cuando se inoculan cinco tubos con 10 mL, uno con 1 mL y uno con 0.1 mL de la muestra.

Combinación de tubos positivos			NMP/100 g o mL de muestra	Límites de Confianza al 99%		Límites de Confianza al 95%	
10 mL	1 mL	0.1 mL		Inferior	Superior	Inferior	Superior
0	1	0	2	<1.0	15.0	<1	11.0
1	0	0	2	<1.0	17.0	<1	12.0
1	1	0	4	1.0	21.0	1	16.0
2	0	0	5	1.0	24.0	1	19.0
2	1	0	8	1.0	30.0	2	23.0
3	0	0	9	2.0	35.0	3	28.0
3	1	1	12	3.0	43.0	5	34.0
3	1	0	12	3.0	44.0	5	35.0
4	0	0	15	4.0	64.0	6	49.0
4	0	1	20	6.0	77.0	8	60.0
4	1	0	21	6.0	80.0	9	62.0
5	0	0	40	10.0	500.0	20	360.0
5	0	1	100	20.0	720.0	30	540.0
5	1	0	200	>100.0	5,400.0	100	3,800.0
5	1	1	>200				

Fuente: Fernández, 1981

3.8.3 Determinación de la cuenta total viable de organismos mesófilos aerobios

Para llevar a cabo este análisis se utilizó la técnica de diluciones por vaciado en placa. Primeramente se agita la muestra con 25 movimientos en un tiempo no mayor de 7 seg. Se hace una preparación de dilución primaria 10^{-1} se realiza tomando 10 mL de la muestra y diluirla en 90 mL de agua estéril y se realizan diluciones secundarias transfiriendo 1 mL de la 10^{-1} a 9 mL de la solución diluyente para formar la dilución 10^{-2} , luego se toma 1 mL de la muestra directa, de la dilución 10^{-1} y de la dilución 10^{-2} y se depositan en cajas petri estériles y respectivamente rotuladas el tiempo de preparación de las diluciones a inocular en las cajas no debe ser mayor a 20 min. Se adiciona de 15 a 20 mL de agar estándar métodos fundido y se mezcla, mediante 6 movimientos de izquierda a derecha, incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 – 48 horas. Hacer un conteo en placas reportando el resultado en unidades formadoras de

colonias (UFC/mL). Para determinar las (UFC/mL) se multiplica el número de colonias por la inversa de la dilución correspondiente.

3.8.4 Aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas para *Salmonella* spp.

El procedimiento seguido para este análisis será el establecido en la NOM-114-SSA1-1994, que consiste en lo siguiente:

- Se toma 15 mL con una pipeta estéril y se adicionan asépticamente a un matraz que contenga 125 mL de caldo selenito y cistina.
- Incubar a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 ± 2 hrs.
- Estriar en Agar SS como medio selectivo.
- Incubar $35 \pm 1^\circ \text{C}$ 24 ± 2 hrs.
- Observar si hay colonias típicas (algunas colonias dan centro negro, las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas).
- Realizar pruebas bioquímicas.
- Incubar las pruebas bioquímicas según la temperatura y tiempo indicado para cada una de ellas.
- Observar resultados y reportar ausencia o presencia de *Salmonella* en 15 mL de muestra.

3.9 Identificación por pruebas bioquímicas

A continuación se describen las pruebas bioquímicas realizadas a las colonias sospechosas del microorganismo de interés.

3.9.1 Oxidasa y catalasa

◆ Prueba de Oxidasa:

Es una prueba empleada para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La prueba consiste en separar el microorganismo con un asa de platino y extenderlo sobre la superficie de una tira que contenga dehidrocloruro de tetrametil-p-fenilendiamina.

Prueba positiva: Color púrpura-violeta.

Prueba negativa: No se presenta cambio de color.

◆ **Prueba de la catalasa**

Esta prueba se realiza en un porta objetos colocando una muestra de la colonia a identificar y se le adiciona una gota de Peróxido de Hidrógeno al 3% (H_2O_2), la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Formación inmediata de burbujas bien visibles.

Prueba negativa: No hay formación de burbujas.

3.9.2 Prueba de Movilidad, Producción de Indol y Ácido Sulfhídrico

Este medio se utiliza básicamente para la identificación de enterobacterias que tengan la capacidad de formar sulfuro, producir indol y que tienen movilidad.

Determina si se ha liberado ácido sulfhídrico (SH_2) por acción enzimática, de los aminoácidos que contiene azufre produciendo una reacción visible, se determina con la producción de un color negro en el medio.

En esta prueba es utilizado el medio SIM el cual se siembra por picadura con un asa recta, se incuba 24 horas a $35 \pm 2^\circ C$, la interpretación de la prueba es:

◆ **Movilidad**

Prueba positiva: Crecimiento a lo largo de la punción y en el seno del medio de cultivo.

Prueba negativa: Crecimiento a lo largo de la punción exclusivamente.

◆ **Producción de Ácido Sulfhídrico:**

Prueba positiva: Desarrollo de un color negro a lo largo de la punción que puede extenderse a todo el medio.

Prueba negativa: Ausencia de color negro.

◆ **Producción de Indol:**

Adicionar al cultivo en medio SIM que presente crecimiento, 5 gotas de Éter etílico, para extraer el Indol y 5 gotas de reactivo Kovac, la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Desarrollo de un anillo color rojo.

Prueba Negativa: Sin cambio de color (Mac Faddin, 1984).

3.9.3 Prueba de movilidad, producción de Indol y Ornitina

Esta prueba determina si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos, los cuales se encuentran principalmente entre los bacilos, sin embargo algunos de forma de cocos son móviles.

También determina la capacidad de un organismo de desdoblar el indol de la molécula de triptófano (Mac Faddin, 1984).

La reacción de descarboxilación de la ornitina se lleva a cabo en anaerobiosis por lo que la prueba se lee en el fondo del tubo. Para la prueba de indol se agregan 5 gotas de reactivo de Kovac al medio inoculado (Mac Faddin, 1984).

El medio utilizado para esta prueba es MIO, el cual se siembra por picadura en el centro del tubo, perpendicular a la base, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 ± 2 horas, la interpretación de la prueba es:

◆ Movilidad

Prueba positiva: Crecimiento a lo largo de la punción y en el seno del medio de cultivo.

Prueba Negativa: Crecimiento solo en picadura.

◆ Descarboxilación de la Ornitina

Prueba positiva: Cambio de color en el medio violeta a púrpura.

Prueba negativa: Presencia de color amarillo en el medio.

◆ Producción de Indol

Adicionar al tubo con medio MIO que presente crecimiento 5 gotas de Éter para extraer el Indol y 5 gotas de Reactivo Kovac.

Prueba positiva: Desarrollo de un anillo de color rojo.

Prueba negativa: Sin cambio de color.

3.9.4 Aprovechamiento de la Lisina

Este medio mide la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad.

Las pruebas de la descarboxilasa se emplean fundamentalmente para determinar grupos bacterianos entre las *Enterobacteriaceae*. Los aminoácidos descarboxilados son la Lisina, Ornitina y Arginina. La descarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas que son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH), dando una amina o una diamina y anhídrido carbónico (Mac Faddin, 1984).

Para el aprovechamiento de Lisina se utiliza el medio Agar de Hierro y Lisina (LIA), es un medio vaciado en forma inclinada en el tubo, se inocula por picadura en el fondo y estrías en la superficie, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 ± 2 horas, la interpretación de la prueba es:

- Descarboxilación positiva: Fondo de color púrpura.
- Descarboxilación negativa: Fondo color amarillo.
- Desaminación positiva: Superficie del tubo de color rojo.
- Desaminación negativa: Superficie púrpura o sin cambio de color.

3.9.5 Utilización del Carbono de Glucosa y Lactosa, Producción de gas y Ácido Sulfhídrico

Este medio determina la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico (SH_2) (Mac Faddin, 1984).

Se utiliza Agar Hierro Triple Azúcar (TSI), se siembra por picadura en el fondo y por estrías en la superficie, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 24 ± 2 horas, la interpretación de la prueba es:

- **Fermentación de la glucosa solamente:**

Pico de flauta: Reacción alcalina (color rojo).

Capa profunda: Reacción ácida (color amarillo).

Si también se produce gas SH_2 el precipitado negro puede ocultar la acidez.

Existe acidez en la capa profunda que se registra como tal.

- **Fermentación de la glucosa como de la lactosa:**

Pico de flauta: Reacción ácida (color amarillo).

Capa profunda: Reacción alcalina (color rojo).

- **No fermentación de la glucosa o lactosa (no entéricos):**

Pico de flauta: Reacción alcalina (color rojo).

Capa profunda: Reacción ácida (color amarillo).

- **Producción de gas:**

Producción de gases: CO₂ y H₂, se manifiesta por:

Burbujas en el medio.

Desdoblamiento del medio.

Desplazamiento completo del medio del fondo del tubo, dejando un área clara (Mac Faddin, 1984).

- **Producción de Ácido Sulphídrico (H₂S):**

Prueba positiva: La presencia de un precipitado color negro.

Prueba negativa: No se observa precipitado de color negro (Castro, 2001).

3.9.6 Utilización de Malonato

Determina la capacidad de un organismo de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente alcalinidad, también ayuda a la diferenciación entre los géneros: *Alcaligenes faecalis* (+) de *Acinetobacter* (-), *Arizona* (+) de *Salmonella* por lo general (-), grupos de *Klebsiella-Enterobacter* por lo general (+) de *E. coli* (-) (Mac Faddin, 1984).

En esta prueba es utilizado Caldo de Malonato de Edwing, se inocula con la cepa a investigar por medio de asada simple, se incuba a 35 ± 2° C durante 48 horas. La interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Desarrollo de color azul.

Prueba negativa: Sin cambio de color.

3.9.7 Prueba de Fermentación de Carbohidratos

Este medio determina el metabolismo oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono. Se utiliza para diferencia géneros intestinales no entérico. Gram negativos de las *Enterobacteriaceae*, también ayuda a la diferenciación entre los géneros de las *Micrococcaceae* (Mac Faddin, 1984).

Para esta prueba se utiliza el medio OF, se inoculan dos tubos por picadura profunda, a un tubo se le agrega aproximadamente 1 mL de aceite mineral estéril, se incuban a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 48 ± 2 horas, se puede observar la producción de ácido por el cambio de color amarillo del medio, la interpretación de la prueba es:

Oxidación (corresponde al tubo no cubierto de aceite)

Prueba positiva: Cambio de color del medio a amarillo, producción de ácido.

Prueba negativa: No hay cambio de color.

Fermentación (corresponde al tubo cubierto de aceite)

Prueba positiva: Cambio del color del medio a amarillo, producción de ácido.

Prueba negativa: No hay cambio de color.

3.9.8 Prueba de Hidrólisis de la Gelatina

Determina La capacidad de un organismo de producir enzimas de tipo proteolítico (gelatinazas) que licuan la gelatina. Este medio se utiliza para investigar la presencia de bacterias proteolíticas en los análisis, ayuda principalmente para la identificación de Enterobacterias como *Serratia* que es (+) (Mac Faddin, 1984).

Para esta prueba se utiliza el medio de gelatina nutritiva el cual es sembrado por picadura, se incuba a $24 \pm 2^\circ \text{C}$ por 48 ± 2 horas, se refrigera durante 20 minutos, después de la incubación, la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Si existe licuefacción.

Prueba negativa: La gelatina permanece sólida.

3.9.9 Aprovechamiento del nitrógeno de la Urea

Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco.

Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positivos de otros miembros de las *Enterobacteriaceae* (Mac Faddin, 1984).

Esta prueba se realiza en caldo Urea el cual es inoculado por asada simple, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 48 ± 2 horas, la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: color violeta intenso.

Prueba negativa: color rosa pálido (color inicial).

4.0.0 Prueba de Rojo de Metilo y Vogues – Proskauer

Medio de ensayo para la realización del rojo de metilo y del ensayo de Vogues-Proskauer para la diferenciación bioquímica, especialmente dentro del grupo *Coli-Aerogenes*.

Se utiliza el caldo RM-VP el cual es inoculado por medio de una asada simple, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 48 ± 2 horas, la interpretación de la prueba es:

- **Prueba Rojo de Metilo (RM)**

Algunas bacterias utilizan glucosa con gran formación de ácido, de forma que el valor de pH del medio desciende a menos de 4,4, otras bacterias producen menos ácido, reduciendo en menor medida el pH del medio. Esta distinción puede hacerse visible a través del rojo de metilo, que presenta color amarillo por encima de un pH de 5.1, y solo presenta un color rojo cuando el pH desciende a 4,4 (Merck, 1984).

La realización de la prueba se efectúa de la siguiente manera, se adiciona al medio de cultivo de 96 horas de incubación 2 a 3 gotas de solución de Rojo de Metilo, la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Desarrollo de color rojo.

Prueba negativa: Desarrollo de color amarillo.

- **Prueba Vogues Proskauer (VP)**

Esta reacción se basa en la detección del acetilmetilcarbinol (acetoína), un producto final neutro derivado del metabolismo de la glucosa. Esta es metabolizada en ácido pirúvico, intermediario clave en la glucólisis. A partir del ácido pirúvico una bacteria puede seguir muchas vías. La producción de acetoína es uno de los ciclos para la degradación de la glucosa en las bacterias (Mac Faddin, 1984). Esta reacción se usa para separar a la *E.coli* de los grupos *Klebsiella-Enterobacter*, aun cuando otros miembros de las *Enterobacteriaceae* son capaces de producir una reacción de VP positiva.

En esta prueba se determina 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, así como también es una prueba cualitativa de la producción de ácido.

La realización de esta prueba se efectúa de la siguiente manera, se adiciona 0.6 mL de solución Alfa naftol, después se adiciona 0.2 mL de solución de Hidróxido de Potasio 40%, se incuba por 2 horas a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ ó 4 horas a temperatura ambiente, la interpretación es:

Prueba positiva: Desarrollo de color rojo ladrillo.

Prueba negativa: No hay cambio de color.

4.1.0 Utilización del Carbono de Citrato de Sodio

Determina si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, provocando alcalinidad. Ayuda a la diferenciación entre los géneros: *Edwardsiella* (-) de *Salmonella* por lo general (+), *Serratia liquefaciens* (+) de *Yersenia pseudotuberculosis* por lo general (-) (Mac Faddin, 1984).

Para llevar a cabo esta prueba se utiliza el medio de cultivo Agar Citrato de Simmons, el cual se inocula por picadura en el fondo y por estrías en la superficie, se incuba a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ por 96 horas, la interpretación de la prueba es:

Prueba positiva: Cambio de color en el medio a azul intenso.

Prueba negativa: Cambio de color en el medio a verde.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados a 160 muestras de superficies vivas e inertes, además de 100 muestras de medio ambiente, 20 muestras de agua potable y 40 muestras de distintos alimentos elaborados y servidos en los comedores del ITSON unidad Nainari, obteniéndose los siguientes resultados.

4.1 Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes.

En la Tabla 6 y 7 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes. Para este indicador microbiológico se encontró que el 100% de las muestras del comedor kiawa están dentro de los límites permisibles mientras que el comedor estudiantil presentó 98.7% de muestras dentro de los límites permisibles, a excepción de la muestra de manos de cajera en el muestreo 6, lo cual presentó 12,400 UFC/ mano lo cual indica un alto contenido de microorganismos ya que dan por arriba del límite permisible de <3000 UFC/ superficie.

Tabla 6. Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes del comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Superficies vivas e inertes	Muestreos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesa de preparación (UFC/cm ²)	3	5	0	0	1	1	0	0	3	0
Cuchillo (UFC/cm ²)	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Tabla de picar (UFC/cm ²)	3	1	0	0	0	0	0	0	4	0
Piso (UFC/cm ²)	0	1	1	0	1	0	0	0	2	1
Pared (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesa de consumo (UFC/cm ²)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manos de cocinera (UFC/mano)	99	63	258	9	199	29	0	4	2	16
Manos de cajera (UFC/mano)	48	8	182	0	122	12,400*	6	3	3	21

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

*Fuera de norma

- Superficies inertes < 400 UFC/ cm²
- Superficies vivas <3000 UFC/ superficie

Tabla 7. Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en superficies vivas e inertes del comedor kiawa del ITSON, unidad Nainari.

Superficies vivas e inertes	Muestreos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesa de preparación (UFC/cm ²)	0	0	0	0	3	0	0	0	2	0
Cuchillo (UFC/cm ²)	1	0	0	0	10	1	0	0	2	0
Tabla de picar (UFC/cm ²)	9	1	3	0	0	0	0	0	0	0
Piso (UFC/cm ²)	3	0	9	0	3	0	17	0	3	0
Pared (UFC/cm ²)	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesa de consumo (UFC/cm ²)	0	0	0	0	11	0	1	0	0	0
Manos de cocinera (UFC/mano)	149	42	35	0	202	46	0	6	3	28
Manos de cajera (UFC/mano)	16	28	620	0	121	11	0	4	4	34

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

*Fuera de norma

- Superficies inertes < 400 UFC/ cm²
- Superficies vivas <3000 UFC/ superficie

4.2 Cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes.

En la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos de la cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes. Para este indicador se puede observar que el 97.5% de las muestras cumplen con las especificaciones de la Secretaría de Salud (SSA), la cual establece para coliformes totales en superficies vivas <10 UFC/cm² de superficie y para superficies inertes <200 UFC/cm² de superficie (NOM- 093- SSA1- 1994), cabe mencionar que las muestras que no cumplen estos requerimientos tuvieron un seguimiento en los cuales los resultados se presentaron en los límites permisibles el obtener las cifras anteriores se puede deducir que no tuvieron una buena higiene el día del muestreo .

Tabla 8. Cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes en el comedor kiawa del ITSON, unidad Nainari.

Superficies vivas e inertes	Muestreos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesa de preparación (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cuchillo (UFC/cm ²)	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Tabla de picar (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piso (UFC/cm ²)	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
Pared (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mesa de consumo (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manos de cocinera (UFC/superficie)	0	0	21*	0	7	0	0	0	0	0
Manos de cajera (UFC/superficie)	0	0	91*	0	1	0	0	0	0	0

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

*Fuera de norma

- Superficies inertes < 200 UFC/ cm²
- Superficies vivas <10 UFC/ superficie

En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes, se puede observar que el 100% de las muestras cumplen con las especificaciones de la Secretaría de Salud (SSA), la cual establece para coliformes totales en superficies vivas < 10 UFC/cm² de superficie y para superficies inertes <200 UFC/cm² de superficie. (NOM- 093- SSA1- 1994). Cabe destacar que esto es el resultado de las buenas prácticas de higiene que se llevan a cabo el comedor estudiantil del ITSON.

Tabla 9. Cuenta total viable de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes en el comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Superficies vivas e inertes	Muestreos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesa de preparación (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cuchillo (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tabla de picar (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piso (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pared (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mesa de consumo (UFC/cm ²)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manos de cocinera (UFC/mano)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Manos de cajera (UFC/mano)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

- Superficies inertes < 200 UFC/ cm ²
- Superficies vivas <10 UFC/ superficie

4.3 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente.

Se puede observar en la tabla 10 la presencia de organismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el rango de 0 a 1,040 UFC/placa/15min. en los sitios estudiados, los cuales nos indica una conteos bajos en la mayoría, cabe mencionar que estos resultados se deben principalmente a que hay corrientes de aire dentro del establecimiento las cuales puedan afectar el medio ambiente interno del mismo. Existen áreas que son un poco más difíciles de controlar como es el caso del lavabo, ya que fue uno de los sitios donde se presentó el conteo más alto, debido a que es un lugar donde hay una mayor fuente de contaminación, por el lavado de utensilios de trabajo con residuos de materia prima aun con esto se considera un ambiente limpio.

Tabla 10. Cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el comedor kiawa del ITSON, unidad Nainari.

Sitio de origen	Muestras									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mostrador (UFC/placa/15min.)	8	0	27*	12	15	3	30*	1	1	2
Lavabo (UFC/placa/15min.)	1,040*	9	96*	6	155*	30*	20*	2	1	3
Refrigerador/Interior (UFC/placa/15min.)	2	1	1	2	2	1	3	1	0	1
Mesa de preparación (UFC/placa/15min.)	7	2	5	1	3	1	0	0	0	0
Mesa de consumo (UFC/placa/15min.)	1	4	11	0	8	1	0	0	0	0

Se puede observar en la tabla 11 la presencia de organismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el rango de 0 a 59 UFC/placa/15min. en los sitios estudiados, cabe mencionar que existen áreas que son un poco más difíciles de controlar como es el caso del mostrador, lavabo, mesa de consumo, ya que fueron los sitios donde se presentaron los conteos más altos, debido a que en estos lugares hay una mayor fuente de contaminación, por las corrientes de aire, la higiene de utensilios de trabajo con residuos de materia prima y la contaminación externa que pueda traer el mismo consumidor, a un así se considera un ambiente limpio.

Tabla 11. Cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente en el comedor estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Sitio de origen	Muestras									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mostrador (UFC/placa/15min.)	17*	4	59*	7	26*	3	3	1	1	1
Lavabo (UFC/placa/15min.)	11	0	37*	8	29*	0	0	3	4	3
Refrigerador/Interior (UFC/placa/15min.)	0	9	21*	3	9	2	0	1	0	2
Mesa de preparación (UFC/placa/15min.)	6	4	15	1	13	1	8	0	0	0
Mesa de consumo (UFC/placa/15min.)	14	27*	17*	0	0	2	5	0	0	0

*Sobrepasa el criterio microbiológico.

4.4 Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en agua potable de los comedores del ITSON. Para este indicador microbiológico se encontró que el 100% de las muestras están dentro del límite permisible de <100 UFC/mL.

Tabla 12. Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Agua potable UFC/100 mL	
	Comedor Kiawa	Comedor Estudiantil
1	0	0
2	42	48
3	21	23
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

- Agua y Hielo potable < 100 UFC/ mL

4.5 Cuenta total viable de organismos coliformes totales en agua potable de los comedores del ITSON.

En la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable de organismos coliformes totales en agua potable de los comedores del ITSON. Para este indicador microbiológico se encontró que el 100% de las muestras están dentro de los límites permisibles, lo cual nos demuestra que existe una buena calidad microbiológica.

Tabla 13. Número más probable (NMP) de coliformes totales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Agua potable NMP/100 mL coliformes totales	
	Comedor Kiawa	Comedor Estudiantil
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

4.6 Cuenta total viable de organismos coliformes fecales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.

En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable de organismos coliformes fecales en agua potable de los comedores del ITSON. Para este indicador microbiológico se encontró que el 100% de las muestras están dentro de los límites permisibles, lo cual indica una buena calidad microbiológica en las muestras.

Tabla 14. Número más probable (NMP) de coliformes fecales en agua potable de los comedores del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Agua potable NMP/100 mL coliformes fecales	
	Comedor Kiawa	Comedor Estudiantil
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

4.7 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en alimentos.

La producción de alimentos seguros exige la colaboración de todo el personal, desde los operarios de limpieza de la planta hasta la gerencia (Forsythe, 2000). En la Tabla 15 se encuentra los resultados de los organismos mesófilos aerobios en alimentos los cuales están entre las 0 y 400,000 UFC/g. Se encontró que el 97.5 % de las muestras están dentro de la norma, la cual especifica que para alimentos cocidos y ensaladas es de 150, 000 UFC/g.

El alimento que sobrepasó el límite permitido fue el frijol y se obtuvieron 400,000 UFC/g, aunque cabe destacar que en otras ocasiones se muestreó frijol y el resultado fue nulo o un limite permisible; estos resultados elevados pueden deberse a que no proporcionaban las condiciones óptimas de almacenamiento o posiblemente tenía un mayor tiempo almacenado y esto alteró la calidad microbiológica del alimento.

Tabla 15. Cuenta total viable de microorganismos mesófilos aerobios en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari

Muestreo	Alimentos UFC/ g			
	Comedor Kiawa		Comedor Estudiantil	
1	Frijol	960	Frijol	1820
	Lechuga	124 000	Lechuga	1980
2	Sopa con brócoli	960	Cochinita	0
	Lechuga	780	Lechuga	1450
3	Frijol	340	Cochinita	0
	Lechuga	740	Lechuga	1450
4	Sopa de verdura	115	Cochinita	0
	Lechuga	64	Lechuga	98
5	Frijol	400 000*	Cochinita	90
	Lechuga	1270	Lechuga	23600
6	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	2100
7	Arroz	0	Frijol	1850
	Lechuga	0	Lechuga	0
8	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	2200	Lechuga	1300
9	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	1100	Lechuga	90
10	Frijol	320	Frijol	110
	Lechuga	1220	Lechuga	470

Especificaciones NOM-093-SSA1-1994:

*Fuera de norma

- Alimentos cocidos y ensaladas verdes crudas 150, 000 UFC/ g

4.8 Recuento de hongos y levaduras en alimentos.

Al desarrollarse en los alimentos dan lugar a cambios indeseables en su aspecto, consistencia, color, etc. En la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable para mohos y levaduras en alimentos. Se observa que los valores están entre las 0 y 237 000 UFC/g. los alimentos analizados no cuentan con un límite permisible máximo establecido en la NOM-093-SSA1-1994, por lo que los resultados obtenidos sirven para tener un indicador de la calidad de los alimentos y de la vida de anaquel de los mismos.

Se encontró que el 95 % de las muestras están en un rango menor o nulo, a excepción de una muestra de frijol en el quinto muestreo la cual presenta un número de 237 000 UFC/ g y una muestra de lechuga en esté mismo muestreo, presentando un número de 209 000 UFC/ g aún no teniendo una norma de referencia se puede comparar con muestreos anteriores los resultados de cada alimento, la incidencia alta de cada alimento posiblemente se deba a una mala higiene personal, utensilios de trabajo y el no haber realizado una buena manipulación de las muestras existiendo la posibilidad de una contaminación cruzada.

Tabla 16. Cuenta total viable de hongos y levaduras en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Alimentos UFC/g			
	Comedor Kiawa		Comedor Estudiantil	
1	Frijol	150	Frijol	320
	Lechuga	37 400	Lechuga	1110
2	Sopa con brócoli	560	Cochinita	0
	Lechuga	640	Lechuga	480
3	Frijol	230	Cochinita	0
	Lechuga	320	Lechuga	480
4	Sopa de verdura	0	Cochinita	0
	Lechuga	22	Lechuga	21
5	Frijol	237 000	Cochinita	0
	Lechuga	209 000	Lechuga	20 800
6	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
7	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
8	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	30	Lechuga	50
9	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	60	Lechuga	50
10	Frijol	110	Frijol	50
	Lechuga	370	Lechuga	310

4.9 Recuento de hongos en alimentos.

En la tabla 17 se muestran los resultados obtenidos de la cuenta total viable para mohos en alimentos. Se observa que los valores están entre las 0 y 237 000 UFC/g los alimentos analizados no cuentan con un límite máximo permisible establecido en la NOM-093-SSA1-1994, por lo que los resultados obtenidos sirven para tener un indicador de la calidad de los alimentos.

Se encontró que el 97.5 % de las muestras están en un rango menor o nulo, a excepción de una muestra de frijol en el quinto muestreo la cual presenta un número de 209 000 UFC/ g aún no teniendo una norma de referencia se puede comparar con muestreos anteriores los resultados de este alimento, la incidencia alta de esté posiblemente se deba a no haber realizado una buena manipulación de las muestras existiendo la posibilidad de una contaminación cruzada, una mala higiene personal, utensilios de trabajo.

Tabla 17. Cuenta total viable de hongos en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Alimentos UFC/ g			
	Comedor Kiawa		Comedor Estudiantil	
1	Frijol	0	Frijol	220
	Lechuga	6250	Lechuga	460
2	Sopa con brócoli	180	Cochinita	0
	Lechuga	560	Lechuga	150
3	Frijol	110	Cochinita	0
	Lechuga	170	Lechuga	150
4	Sopa de verdura	0	Cochinita	0
	Lechuga	80	Lechuga	0
5	Frijol	209 000	Cochinita	0
	Lechuga	80	Lechuga	0
6	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	230
7	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
8	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
9	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
10	Frijol	30	Frijol	20
	Lechuga	80	Lechuga	40

4.10 Número más probable (NMP) de coliformes totales por la técnica de fermentación de tubos múltiples en alimentos

En la tabla 18 se muestran los resultados obtenidos del recuento de organismos coliformes totales en alimentos. Se observó que el 95% de las muestras analizadas cumplen con las especificaciones de la NOM-093-SSA1-1994. La norma establece un límite menor de 10 UFC/g para alimentos cocidos como carnes de mamíferos, aves, pescados, mariscos, crustáceos, moluscos vivaldos, etc. Algunos alimentos analizados no cuenta con especificaciones para este grupo de microorganismos. Se encontró que 2 muestras de lechuga obtenidos en el primer muestreo no cumplen con lo establecido por la norma de < 100 UFC/ g en ensaladas verdes o crudas, lo cual sugiere que el método de limpieza y desinfección del alimento no es el adecuado.

Tabla 18. Número más probable de coliformes totales (NMP/g) en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Alimentos NMP/ g			
	Kiawa		Estudiantil	
1	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	$\geq 1\ 100^*$	Lechuga	$\geq 1\ 100^*$
2	Sopa con brócoli	23	Cochinita	0
	Lechuga	4	Lechuga	23
3	Frijol	0	Cochinita	0
	Lechuga	0	Lechuga	23
4	Sopa de verdura	3	Cochinita	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
5	Frijol	21	Cochinita	7
	Lechuga	90	Lechuga	40
6	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	23
7	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
8	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	23	Lechuga	23
9	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
10	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	23

4.11 Número más probable (NMP) de coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples en alimentos

En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos del recuento de organismos coliformes totales en alimentos.

Se observó que el 95% de las muestras analizadas cumplen con las especificaciones de la NOM-093-SSA1-1994.

La norma establece un límite máximo de 100 UFC/ g para ensaladas verdes crudas o frutas y para el resto de los alimentos no hay un límite, los resultados presentan que 2 muestras de lechuga en el primer muestreo no cumplen con lo establecido al presentar resultados de $\geq 1,100$ NMP/g, lo cual sugiere serias deficiencia en el método de desinfección.

Tabla 19. Número más probable de coliformes fecales (NMP/g) en alimentos del comedor kiawa y estudiantil del ITSON, unidad Nainari.

Muestreo	Alimentos NMP/ g			
	Kiawa		Estudiantil	
1	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	$\geq 1\ 100^*$	Lechuga	$\geq 1\ 100^*$
2	Sopa con brócoli	23	Cochinita	0
	Lechuga	4	Lechuga	4
3	Frijol	0	Cochinita	0
	Lechuga	0	Lechuga	23
4	Sopa de verdura	3	Cochinita	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
5	Frijol	0	Cochinita	0
	Lechuga	90	Lechuga	40
6	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	23
7	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
8	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	23	Lechuga	23
9	Arroz	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	0
10	Frijol	0	Frijol	0
	Lechuga	0	Lechuga	23

*Fuera de norma

4.12 Identificación de *Salmonella*

En la identificación de *Salmonella* en alimentos y agua potable los resultados fueron negativos ya que no hubo detección de colonias típicas de este microorganismo patógeno, por lo que se concluye que no hay presencia de este patógeno en las 40 muestras de alimentos y en las 20 muestras de agua potable analizadas en esta evaluación.

V. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos durante el período de análisis se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- ◆ En la cuenta total viable de mesófilos aerobios en superficies inertes se encontró que el 100% de las muestras del comedor kiawa cumplen con las especificaciones de la NOM-093-SSA1-1994. Además se encontró que el 98.7% de las muestras de superficies vivas e inertes del comedor estudiantil están en los límites permisibles.
- ◆ En los resultados obtenidos de organismos coliformes totales en superficies vivas e inertes se encontró que el 97.5% de las muestras no sobrepasa las especificaciones de la norma NOM-093-SSA1-1994.
- ◆ En el recuento de microorganismos mesófilos aerobios en medio ambiente se puede decir que cumple con las especificaciones necesarias para la elaboración del producto.
- ◆ En los resultados obtenidos en la cuenta total viable de mesófilos aerobios para agua potable se encontró que el 100% de las muestras se encuentran en los límites permisibles de la norma.

- ◆ En el recuento de organismos mesófilos aerobios en alimentos se obtuvo que el 97.5% de las muestras cumplen con las especificaciones sanitarias, mientras que el 2.5% sobrepasa los límites permitidos.
- ◆ Para el recuento de hongos y levaduras, a pesar de que la norma no especifique límites permisibles en ciertos alimentos, se encontraron recuentos bajos en el 95% de las muestras.
- ◆ Para el recuento de hongos en los alimentos analizados en la presente evaluación el 97.5% de las muestras se encontraron en los límites permitidos por la NOM-093-SSA1-1994.
- ◆ En el recuento de organismos coliformes totales el 95% de estas se encontraron dentro de los límites, en el 5% restante las muestras presentaron valores muy por encima de lo permitido, con resultados de $\geq 1\ 100$ NMP / g, lo cual puede deberse a la naturaleza de las muestras, ya que al ser lechuga la que presentaba mayor incidencia de este grupo de microorganismos y sugiere un mal proceso de desinfección.
- ◆ En el recuento de organismos coliformes fecales, el 95% de las muestras presentó valores dentro de lo señalado por la norma, también en algunas muestra de lechuga presentaron valores altos como $\geq 1\ 100$ NMP/ g, al igual que con los coliformes totales lo cual sugiere un mal proceso de desinfección.
- ◆ No se logró el aislamiento de bacterias del género *Salmonella* debido a que no se obtuvieron colonias típicas de este patógeno, por lo que el 100% de las muestras presentan ausencia.
- ◆ El ambiente, superficies, agua y alimentos de los comedores son aptos para las actividades que en ellas se desempeña.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados que se han obtenido en la presente evaluación, se enlistan las siguientes recomendaciones obtenidas de la FAO:

- ◆ Los alimentos de origen vegetal se deben lavar con agua, jabón estropajo o cepillo según el caso; se deben sumergir en agua con cloro (4 gotas por litro) durante 20 minutos.
- ◆ Debe evitarse la contaminación cruzada al no juntar alimentos crudos con cocidos, transferencia indirecta de contaminantes de manos, mesas o utensilios.
- ◆ Mantener limpias las superficies de la cocina.
- ◆ El personal del área de preparación de alimento debe utilizar bata, delantal, red, cofia; sin manchas o suciedad visible y en buen estado.
- ◆ Cocinar o recalentar los alimentos a temperaturas altas.

BIBLIOGRAFÍA

Amador, L. (1993). Manual de laboratorio de Microbiología Sanitaria. Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

Castro M, (2001). Manual de Procedimientos del Laboratorio de Microbiología de la DIEP (ITSON).

Diario Oficial de la Federación. 1994. NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Practicas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

Diario Oficial de la Federación. 1994. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Diario Oficial de la Federación. 1994. NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de hongos y levaduras.

Diario Oficial de la Federación. 1994. NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Diario Oficial de la Federación. 1994. NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Diario Oficial de la Federación. 1994. Modificación NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que se debe someter el agua para su potabilización

Doyle, M. *et al.* (2001). Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. Editorial ACRIBIA. España. pp. 134.

Félix F. Anacleto, Campas B. Olga (2005). Calidad Sanitaria de alimentos disponibles al público de Cd. Obregón, Sonora, México. RESPYN. Volumen 6 N° 3.

Fernández, E. (1981). Microbiología sanitaria: Agua y alimentos. Vol. 1. Universidad de Guadalajara.

Food and Drug Administration. (2009). Durante el embarazo - ¿Qué es una enfermedad transmitida por los alimentos?. (Ver: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/HealthEducators/ucm083468.htm>)

Forsythe, S. (2003). Alimentos seguros: Microbiología. Editorial ACRIBIA. España. pp. 1.

Forte, L. M. y Rebagliati, J. E. (2000). Control bacteriológico en plantas frigoríficas y conocimiento del fenómeno biopelícula. Boletín alimentario. Edit. Aldo Marzochi. No. 13. Buenos Aires, Argentina. pp. 17

Frazier, W. C. (1993). Microbiología de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Acribia S. A. España.

Frazier, W. y Westhoff, D. (2003). Microbiología de los alimentos. Editorial ACRIBIA. España. pp. 3-4.

Freeman (1983). Tratado de Microbiología de Burrows. Cuarta Edición. Editorial Interamericana S.A. de C.V. México.

Granados R. y Villaverde C. (2002) Microbiología tomo I, Editorial Paraninfo S.A. Madrid. España

Gray, N.F. (1994). Calidad del agua potable; problemas y soluciones, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Jay James M. (2002). Microbiología Moderna de los Alimentos. Cuarta Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

Lansing M. P.; Harley J.; Klein D. (2004). Microbiología. 5ta Edición. Editorial McGraw Hill. Madrid España.

Mac Faddin, J. (1984). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana. México, D.F.

Madigan M.; Martinko J.; Parker J. (2004). Brock. Biología de los Microorganismos. 10ma Edición, Editorial Pearson Educación S.A. Madrid España.

Merck, Manual de medios de cultivo. (1994). Darmstadt, Alemania.

Mc Bride, M.E., Duncan, W.C., Knox, J.M. (1977). The Enviroment and the microbial ecology of human skin. Appl. Envir. Microb.

Marriott, N. (2003). Principios de higiene alimentaria. Editorial ACRIBIA. España. pp. 24.

Organización Panamericana de la Salud (1985). Guías para la calidad del agua potable Vol. I Recomendaciones. Organización Mundial de la Salud. Washington, D.C., E.U.A.

Pascual, M. (2005). Enfermedades de origen alimentario: Su prevención. Editorial DIAZ DE SANTOS. España. pp. 5-6.

Pelczar M.; Reid R.; Chan. (1992). Microbiología. 4ta Edición, Editorial McGraw Hill. México D.F.

Potter, N., y Hotchkiss, J. (1999). Ciencia de los alimentos. Editorial ACRIBIA. España. pp. 29-55.

Prescott, Harley y Klein, (2004). Microbiología. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill-Interamericana. España.

Torres, M. (1999). Agentes patógenos transmitidos por alimentos. Volumen I. Universidad de Guadalajara. México. pp. 65.

Torres, M., y Castillo, A. (2006). Microbiología de los alimentos. Universidad de Guadalajara. México. pp. 21.