

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



TESIS

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PESCADO
COMERCIALIZADO EN EXPENDIOS NO FIJOS DE LA CIUDAD
DE TIJUANA

Que para obtener el título de Químico Farmacobiólogo

PRESENTA

Castro Simental Verónica

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala

CODIRECTORA DE TESIS

Dra. Bertha Landeros Sánchez

Tijuana, Baja California; Mayo del 2017

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

"2017 Año del 60 Aniversario de la Universidad Autónoma de Baja California"

FOLIO No. 012

Tijuana, B. C., a 31 de marzo, 2017

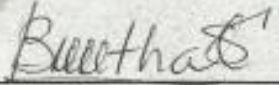
C. Veronica Castro Simental
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción Tesis

Es propuesto, por la Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala y la Dra. Bertha Landeros Sánchez, quienes serán los responsables de la calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PESCADO COMERCIALIZADO EN EXPENDIOS NO FIJOS DE LA CIUDAD DE TIJUANA" el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- ANTECEDENTES
- II.- JUSTIFICACIÓN
- III.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS
- IV.- METODOLOGÍA
- V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- VI.- CONCLUSIONES
- VII.- BIBLIOGRAFÍA


Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala
Directora de Tesis


Dra. Bertha Landeros Sánchez
Co- Directora de Tesis


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director


Dr. José Luis González Vázquez
Subdirector

RESUMEN

Antecedentes: La venta de pescado en comercios ambulantes surge de la necesidad de abastecer a la población de uno de los productos básicos en la dieta del ser humano, sin embargo, se deja de lado la evaluación de la calidad microbiológica del mismo, poniendo en duda las condiciones sanitarias de pesca transporte y almacenamiento, siendo un riesgo potencial causante de enfermedades transmitidas por alimentos.

Objetivo: Evaluar la calidad microbiológica del pescado comercializado en expendios no fijos en la ciudad de Tijuana, Baja california.

Metodología: se tomaron 3 muestras de cada una de las 9 delegaciones de la ciudad de Tijuana, las muestras se sometieron a un análisis para la búsqueda de coliformes totales, coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Vibrio spp.* de acuerdo a las Normas Oficiales Mexicanas.

Resultados: Se encontraron coliformes totales en el 85.4% de las muestras y coliformes fecales en el 74%, el 51% de las muestras rebasaron los límites establecidos para *Staphylococcus aureus*, el 11.1% resulto con presencia de *Vibrio spp.*, el 74% de las muestras presento *Salmonella spp.*

Conclusiones: El 92.6% de las muestras están por encima de los límites permisibles siendo así el pescado comercializado en expendios no fijos un riesgo de salud pública.

Palabras clave: calidad microbiológica de pescado, microbiología de alimentos, calidad microbiológica de los alimentos.

Firmas de comité de tesis.....	1
Resumen.....	2
Índice.....	3
Índice de tablas.....	5
Índice de figuras.....	6
Índice de graficas.....	7
ANTECEDENTES.....	9
Pescado como alimento.....	9
Clasificación según su contenido de grasa.....	10
Consumo mundial de pescado.....	12
Especies de pescado más consumidas en el mundo.....	12
Consumo de pescado en México.....	13
Pesca en México.....	14
Enfermedades transmitidas por alimentos.....	14
Microbiota en el pescado.....	15
Calidad microbiológica del pescado.....	17
Patógenos en el pescado.....	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
JUSTIFICACIÓN.....	23
OBJETIVOS.....	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.....	24
HIPOTESIS.....	25
Hipótesis nula.....	25
METODOLOGÍA.....	26
Desarrollo experimental.....	26
A) Tipo de estudio.....	26
B) Espacio temporal.....	26

C) Sitios de muestreo.....	26
D) Criterios de Inclusión y Exclusión.....	35
E) Variables.....	35
F) Tipo de muestra.....	35
G) Tamaño de la muestra.....	36
H) Parte estadística.....	36
I) Diagrama de flujo de análisis de muestras.....	37
PROCEDIMIENTO.....	38
Recabado de datos.....	38
Procedimiento para toma de muestras.....	39
Método para la cuenta de microorganismos de coliformes totales en placa.....	40
Método para la cuenta de microorganismos coliformes fecales en placa.....	41
Método para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos.....	42
Método para la determinación de <i>Salmonella spp.</i> en alimentos..	43
Determinación de <i>Vibrio spp.</i> en alimentos.....	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXOS.....	67
ANEXO 1: NOM-113-SSA1-1994.....	67
ANEXO 2: NOM-115-SSA1-1994.....	75
ANEXO 3: NOM-115-SSA1-1994.....	87
ANEXO 4: NOM-242-SSA1-2009 (APENDICE NORMATIVO B).....	99
ANEXO 5: Encuesta y resultados en tabla de la encuesta aplicada a la población Tijuana.....	100
ANEXO 6: MATERIALES Y EQUIPOS.....	101

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla</i>	<i>Descripción</i>	<i>Página</i>
No. 1	Aporte de energía y proteínas general de 100gr de carne de pescado fresca	9
No. 2	Tipo de pescado de acuerdo a su clasificación por contenido de grasa	11
No. 3	Diferencia entre enfermedades transmitidas por alimentos	14
No. 4	Biota normal del pescado en aguas limpias.	16
No. 5	Especificaciones de límites máximos en calidad microbiológica del pescado fresco, congelado o refrigerado en México.	17
No. 6	Normas Oficiales Mexicanas que regulan la calidad de productos pesqueros.	21
No. 7	Microorganismos presentes en el pescado	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Delegación centro con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	26
2	Delegación Cerro colorado con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	27
3	Delegación La mesa con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	28
4	Delegación La presa con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	29
5	Delegación La presa este con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	30
6	Delegación Mesa de Otay con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	31
7	Delegación Playas de Tijuana con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	32
8	Delegación San Antonio de los buenos con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	33
9	Delegación Sánchez Taboada con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.	34
10	Resultados de encuestas aplicadas en Tijuana	38
11	Comercios ambulantes de pescado en las diferentes delegaciones de la ciudad de Tijuana.	39
12	Resultado de la siembra e incubación en RBVA 24hrs a 37°C.	40
13	Coliformes fecales en RVBA	41
14	. Diferentes resultados de la siembra e incubación en SS 24hrs a 37°C.	43
15	Crecimiento en TCBS	44

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica	Descripción	Página
No. 1.	Coliformes totales	46
No. 2.	Coliformes fecales	47
No. 3.	Coliformes totales y fecales	48
No. 4.	Incidencia <i>Staphylococcus aureus</i>	49
No. 5.	Incidencia de <i>Salmonella spp.</i>	50
No. 6.	Incidencia de <i>Vibrio spp.</i>	51
No. 7.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación centro.	52
No. 8.	incidencia de microorganismos en delegación centro	52
No. 9.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación Cerro Colorado.	53
No. 10.	Incidencia de microorganismos en delegación Cerro Colorado.	53
No. 11.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación La Mesa	54
No. 12.	Incidencia de microorganismos en delegación La Mesa.	54
No. 13.	<i>Salmonella spp.</i> en la delegación La Presa	55
No. 14.	incidencia de microorganismos en La Presa	55
No. 15.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación La Presa Este	56
No. 16.	Incidencia de microorganismos en La Presa Este	56
No. 17.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación Mesa de Otay	57
No. 18.	incidencia de microorganismos en Mesa de Otay	57
No. 19.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación Playas de Tijuana.	58
No. 20.	Incidencia de microorganismos en delegación Playas de Tijuana.	58

No. 21.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación San Antonio de los Buenos	59
No. 22.	Incidencia de microorganismos en delegación San Antonio de los Buenos	59
No. 23.	<i>Salmonella spp.</i> en delegación Sánchez Taboada	60
No. 24.	Incidencia de microorganismos en delegación Sánchez Taboada	60
No. 25.	Microorganismos por tipo de pescado	61
No. 26.	Incidencia de <i>Salmonella spp.</i> en los distintos de pescados.	61

ANTECEDENTES

Pescado como alimento

El pescado a lo largo de los años ha sido parte fundamental de la dieta humana, esto debido a que suministra una buena cantidad de proteína de alto valor biológico (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1995).

La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año, el contenido de grasa, ya que existen muchas variedades de especies que son consumidas por el ser humano pero en la mayoría de las ocasiones contiene menos grasa que la carne, suministra además tiamina, riboflavina y niacina, que son escasas en los productos cárnicos.

Tabla No. 1 Aporte de energía y proteínas general de 100gr de carne de pescado fresca (*Food and Agriculture Organization , 2004*)

<i>Componente</i>	<i>Valor promedio</i>
Agua	66-81%
Proteínas	18.4 gr
Lípidos	0.8 gr
Carbohidratos	2.3 gr

Adaptado de (FAO, 2004)

Además, es fuente rica de hierro, zinc, fósforo, magnesio, selenio, y yodo (en pescados de mar), así mismo contiene vitaminas hidrosolubles como B1, B2, B3, B12 y liposolubles como A, D y en menor proporción E (Food and Agriculture Organization , 2004).

La cantidad de vitaminas y minerales en los pescados es específica de la especie y, además, puede variar con la estación del año. En general, la carne de pescado es una buena fuente de vitamina B y en el caso de las especies grasas, también de vitaminas A y D, los minerales en la carne de pescado se considera una fuente

particularmente valiosa de calcio y fósforo, así como también de hierro y cobre. Los peces de mar tienen un alto contenido de yodo (Murray, 1969).

Existen constantes variaciones en la composición química del pez, estas están estrechamente relacionadas con la alimentación, migración y cambios sexuales relacionados con el desove, ya que el pez tiene períodos de inanición por razones naturales, fisiológicas o factores externos como la escasez de alimento. Durante los períodos de intensa alimentación, el contenido de proteínas del músculo aumenta hasta una extensión que depende de la cantidad de proteína agotada; por ejemplo con relación a la migración por el desove (Sikorski, 1994).

En Norteamérica y Centroamérica el pescado aporta poco más del siete por ciento de la proteína animal, y más de nueve por ciento en Europa, en África proporciona más de 17% en Asia más de 26%, y en los países de bajos ingresos con déficit de alimentos, incluida China, representa casi el 22% (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1995).

El consumo de pescado incluso en pequeñas cantidades, puede mejorar considerablemente la calidad de las proteínas que se consumen diariamente, al aportar los aminoácidos esenciales que suelen ser pocos en la alimentación sin el mismo, además las grasas de algunos pescados proporcionan mejor que ningún otro alimento el tipo de grasa vital para el desarrollo normal del cerebro en niños en etapa gestacional y en los recién nacidos. Sin una cantidad adecuada de esos ácidos grasos, no se da un desarrollo normal del cerebro. En general, la alimentación diaria de la población de los países en desarrollo contiene más pescado que la de los habitantes del mundo desarrollado (Perea, 2008).

Clasificación según su contenido de grasa:

El contenido de grasa del pescado varía según diversos factores, como la temporada, especie, hábitat, la cantidad y calidad de alimento que tienen al alcance por lo que los límites para esta clasificación no están totalmente definidos. Las especies que llevan a cabo largas migraciones antes de alcanzar las zonas específicas de desove o ríos, degradarán -además de los lípidos- las proteínas

almacenadas para obtener energía, agotando las reservas tanto de lípidos como de proteínas, originando una reducción de la condición biológica del pez, esa es una de las principales razones de variación en la cantidad de grasa (Sikorski, 1994).

De forma general existen 3 tipos de pescado con respecto a su contenido de grasa:

Tabla No. 2 Tipo de pescado de acuerdo a su clasificación por contenido de grasa

<i>Blancos o Magros</i>	<i>Semigrasos</i>	<i>Azules o Grasos</i>
Contenido graso máximo del 2%.	Contenido graso del 2-5%	Contenido graso mayor 6%, son ricos en Omega 3.
Ej. bacalao, cabrilla, lenguado, lubina, merluza, raya, etc.	Ej. trucha, mojarra, tilapia, etc.	Ej. arenque, atún, salmón, sardina, angelito, etc.

Adaptado de (Larrañaga, 1998)

La grasa del pescado a diferencia de la grasa en carnes rojas, le brinda mayor calidad al mismo, ya que los pescados con mayor cantidad de la misma son ricos en ácidos grasos como el oleico, linoleico y omega 3, los cuales son sumamente demandados por tener la capacidad de disminuir las lipoproteínas de baja densidad, reduciendo así la formación de coágulos (Larrañaga, 1998).

Los lípidos presentes en las especies de peces óseos pueden ser divididos en dos grandes grupos: los fosfolípidos y los triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de la unidad de membranas en la célula, por lo tanto, a menudo se le denomina lípidos estructurales. Los triglicéridos son lípidos empleados para el almacenamiento de energía en depósitos de grasas, generalmente dentro de

células especiales rodeadas por una membrana fosfolipídica y una red de colágeno relativamente débil. Algunos peces contienen ceras esterificadas como parte de sus depósitos de grasa (Ackman, 1980).

Consumo mundial de pescado

El consumo de pescado en el mundo ha ido aumentando de forma constante en las últimas cinco décadas, tiene una tasa media de incremento anual del 3.2 %, superando así la tasa de crecimiento de la población mundial del 1.6 %, por lo que el aumento del consumo de pescado no solo se debe al aumento de la población sino también a el incremento del pescado en la dieta de la población ya existente (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola , 2013).

El aumento del consumo mundial es de un promedio de 9.9 kg per cápita en el decenio de 1960 a 19.2 kg en 2012, el incremento tan radical se debe a una combinación de crecimiento demográfico, aumento de los ingresos y urbanización de la industria pesquera, además existe una fuerte expansión de la producción pesquera y la mayor eficacia de los canales de distribución. El país que más ha aportado a este incremento drástico es China ya que su consumo de pescado per cápita anual aumentó 6.0 % en el período 1990-2010, es decir en el 2010 en China el consumo de pescado por persona fue de 35.1kg, mientras que en el resto del mundo, el suministro anual de pescado per cápita correspondió a unos 15.4 kg en 2010, sin embargo los países en desarrollo tienen un consumo notablemente más elevado que en los países de bajos ingresos (Food and Agriculture Organization, 2014).

Especies de pescado más consumidas en el mundo

En el mundo existen muchas especies que son consumidas por el ser humano y varía mucho el índice de consumo según cada región, pero existen 10 especies que a nivel mundial representaron aproximadamente el 24% de la producción de la pesca de captura marina en 2011, las especies principales de anchoveta del Pacífico sudoriental, la de colín de Alaska (*Theragra chalcogramma*) del Pacífico

norte y las de arenque del Atlántico (*Clupea harengus*), son las más comunes, posteriormente el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), estornino (*Scomber japonicus*), listado (*Katsuwonus pelamis*), son las especies que más son explotadas en la pesca, en están las especies de atunes como la albacora (atún blanco), patudo, atún rojo (tres especies), listado y rabil, de estas especies de atún aproximadamente el 68% de estos procedieron del Pacífico (Food and Agriculture Organization, 2014).

Consumo de pescado en México

En México hay una creciente constante del consumo de pescado, al igual que en el consumo mundial. México es el país número 18 con mayor consumo de pescado teniendo un valor de 10kg per cápita según estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (Database, 2014), pero el consumo ha ido aumentando año con año, según estadísticas de México proporcionadas por Comisión nacional de acuacultura y pesca en el periodo del 2011 - 2015 se incrementó en 2.5 kilos el consumo per cápita de pescado de 8.9 a 11.4 kilos (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2015).

En el 2016 la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) declaro que México se posiciono en el lugar #1 de consumo de pescados y mariscos en américa latina y el caribe, obteniendo 12kg per cápita (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2016).

El crecimiento del consumo del pescado se debe principalmente a la promoción de una dieta balanceada baja en carnes rojas por el sector salud, ya que lo usan como sustituto para las mimas, además de que se han fomentado las propiedades nutrimentales del mismo, sin embargo debido a los altos precios la población de bajos recursos difícilmente tiene acceso a este alimento, sin embargo en zonas pesqueras la mayoría de los habitantes tienen al alcance los productos marinos (Procuraduría Federal del Consumidor, 2011).

Pesca en México

En el país la pesca se ha estabilizado alrededor de 1.5 millones de toneladas en peso vivo, siendo notoria la creciente producción acuícola, el volumen de la pesca corresponde en 80% al litoral del Pacífico, 18% al Golfo de México y Caribe, y 2% a los cuerpos de aguas continentales (Instituto Nacional de Pesca , 2010).

Los estados con más cantidad de toneladas de pesca son Sonora con 487097 toneladas, Sinaloa con 236,687 toneladas, Baja California Sur con 114,561 y Baja California con 114,561 toneladas. Los peces más comunes son la mojarra, atún sardina, huachinango, robalo, corvina, etc. (Comision Nacional de Pesca y Acuacultura, 2012).

El ingreso económico en el 2013 debido a la pesca fue 19,913,988 pesos, según CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2013), dejando así una gran derrama económica en el país.

Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son patologías provocadas por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos, parásitos o las toxinas que estos producen. Estas enfermedades constituyen un importante problema de salud a nivel mundial ya que originan infecciones o intoxicaciones según sea el caso.

<i>Tabla No. 3</i>	<i>Diferencia entre enfermedades transmitidas por alimentos</i>	
PATOLOGIA	DEFINICION	AGENTES CAUSALES
Infección	Invasión y multiplicación de microorganismos en un órgano de un cuerpo vivo.	virus, bacterias o parásitos
Intoxicación	Conjunto de alteraciones fisiológicas originadas por la	Toxinas o venenos producidos por hongos, bacterias o animales

	exposición a una toxina o veneno.	(ej.:toxina botulínica, enterotoxina de <i>Staphylococcus</i>)
Adaptado de (Administracion Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnologia Medica, 2017)		

Las enfermedades transmitidas por alimentos se presentan en brotes, es decir cuando dos o más personas manifiestan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad. Los alimentos involucrados con más frecuencia en estas enfermedades son los de origen animal, como carne bovina, huevos, carne porcina, carne de aves, pescados, crustáceos, moluscos, o productos lácteos (Organizacion mundial de la Salud , 2017).

El pescado es uno de los alimentos que causa mayor problema, ya que la mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos se deben a pescados y productos de la pesca (Huss, Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros, 1997). En Estados Unidos entre 1973 y 1987 el 10% de las enfermedades transmitidas por alimentos reportadas fueron originadas por pescados, de las cuales el 66% fueron causadas por un agente patógeno bacteriano (Bryan, 1987).

Microbiota en el pescado

La carga microbiana de los peces es un reflejo de la flora microbiana de su entorno en el momento de su pesca, pero se modifica de acuerdo a su crecimiento o multiplicación en los subambientes que constituyen las superficies de la piel, las agallas y el tracto digestivo. El tejido muscular y los órganos internos de los peces son normalmente estériles, pero suelen encontrarse bacterias en la piel y agallas, así como en el tracto intestinal. El pescado procedente de las aguas próximas a poblaciones humanas suele tener cargas microbianas muy grandes y formadas por especies microbianas más diversas que el de zonas alejadas, la flora microbiana de los pescados varía según la especie (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 2001).

En aguas limpias no contaminadas es común que el pescado presente cierta flora bacteriana, entre las cuales podemos encontrar:

Tabla No. 4	Biota normal del pescado en aguas limpias.	
	Gram negativos <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Flavobactrium spp.</i> <i>Photobacterium spp.</i> <i>Alteromonas spp.</i> <i>Vibrio spp.</i>	Gram positivos <i>Micrococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>

Adaptado de (FAO, CAMBIOS POST-MORTEM EN EL PESCADO, 2008)

A pesar de lo anterior esta flora normal depende de la localidad donde se pesque, la especie del pescado, la temperatura del agua y la profundidad de la que se extrajo el pescado. Las bacterias que forman parte de la flora normal del pescado no deben causarle ninguna afección al mismo o al ser humano y estas se deben de encontrar suspendidas en el agua de donde fue obtenido. (Food and Agriculture Organization, 2008).

En cuanto a otros microorganismos, como hongos y levaduras, suelen encontrarse comúnmente en productos pesqueros, siendo más frecuentes en mariscos que en pescados, incluso pueden actuar como patógenos de los mismos, dependiendo del ambiente. Los hongos que se suelen encontrar e productos pesqueros son *Aspergillus*, *Labyrinthomaxa*, *Oospora*, *Penicillum*, *Scopulariopsis* y *Sporendonema*, los cuales están presentes de manera predominante en moluscos y almejas (Beltrán, 2006). Las levaduras que se encuentran de manera frecuente en productos pesqueros son *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Daberomyces*, *Hansenula*, *Pullularia*, *Rhodotorula*, *Torula*, entre otras, al igual que los hongos son más comunes en moluscos que en pescado, pero suelen adherirse al pescado estas son muy abundantes en las aguas donde habita el mismo (Beltrán, 2006).

La flora normal del pescado depende de muchos factores, sin embargo estos microorganismos solo se deben encontrar en zonas del pescado que estén directamente en contacto con el agua, ya que es de esta de donde se obtiene la carga bacteriana, por lo que las zonas donde se presentan estos microorganismos son las escamas, boca, ojos, intestinos, branquias y aletas principalmente, por lo que el tejido muscular del pescado debe de ser prácticamente estéril. (Huamán, 2012)

Calidad microbiológica del pescado:

A nivel nacional existen parámetros de calidad microbiológica establecidos por la Norma Oficial Mexicana 242-SSA1-2009 en la cual se presentan los rangos permisibles de los siguientes microorganismos:

Tabla No. 5 Especificaciones de límites máximos en calidad microbiológica del pescado fresco, congelado o refrigerado en México.

ESPECIFICACIÓN	LIMITE MAXIMO
Coliformes fecales y/o <i>E. coli</i>	400 NMP/g
<i>Vibrio cholerae</i> O:1 y no O:1	Ausente en 50 g
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25g
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000 UFC/g

Adaptado de la Norma Oficial Mexicana 242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.

Para mantener las condiciones anteriores se deben de seguir los parámetros de control de calidad, los cuales requieren que la embarcación que obtenga la muestra tenga un sitio de depósito para los pescados con refrigeración de 4°C o en contenedores flotadores en cuerpos naturales de agua o en tanques que contengan agua de mar natural o sintética y pueden estar en este recipiente como máximo 25 días para embarcaciones grandes y embarcaciones menores solo 24 horas.

Además estos pescados se deben extraer de aguas aprobadas que estén vigiladas por la autoridad sanitaria y que estén libres de marea roja. (NOM-045-SSA2-2005)

Patógenos en el pescado

La presencia de microorganismos patógenos en el pescado puede deberse a diversos factores externos, puede ser porque las aguas de donde fueron extraídos estaban contaminadas o pueden haberse contaminado en el manejo y transporte de los mismos, ya que si no se aplican las debidas medidas sanitarias y condiciones de temperatura la propia flora normal del pescado puede favorecerse llegando a afectar al consumidor.

Al momento de la muerte del pez se favorece el crecimiento de microorganismos, ya que el sistema inmunológico colapsa y las bacterias proliferan libremente (Murray J. a., 1979). Las enterobacterias son los patógenos principales, ya que se encuentran en altas cantidades en aguas contaminadas, *Escherichia coli* y *Salmonella* son los más característicos ya que ocasionan infecciones gastrointestinales fuertes, además de que se favorece su crecimiento post-mortem en el pescado (Water Science and Technology, 2004). Los coliformes suelen utilizarse como índice de contaminación en alimentos, esto debido a su frecuencia en las heces y a su fácil identificación en el laboratorio (Pascual & Calderón, 2000).

Los géneros de bacterias que comúnmente actúan como patógenos son las siguientes:

- *Salmonella*: son patógenos comunes del ser humano, son bacilos gram negativos que causan severas infecciones gastrointestinales transmitidas principalmente por alimentos.
 - *Salmonella typhi*: es el patógeno principal de este género, causa la fiebre tifoidea. Las salmonellas son ingeridas llegan al intestino delgado, desde el cual entran a la circulación sanguínea son transportadas a muchos órganos, secretan endotoxinas que causan después de 7-20 días de la ingestión fiebre, malestar, cefalea,

estreñimiento, posteriormente diarrea sanguinolenta, bradicardia y mialgia.

- *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*: estas bacterias causan una de las infecciones gastrointestinales más comunes, la enterocolitis en la cual después de 8 a 48 h de la ingestión de las salmonellas se presentan náusea, cefalea, vómito y diarrea abundante.
- *Escherichia coli*: es el microorganismo que causa más enfermedades gastrointestinales en el mundo, es un bacilo gram negativo, existen diferentes serotipos y se clasifican según las características de sus propiedades de virulencia, cada grupo causa enfermedad por diferentes mecanismos.
 - *E. coli* enteropatógena (EPEC): es una causa importante de diarrea en los lactantes, EPEC se adhiere a las células de la mucosa del intestino delgado, mediante adhesinas y lisozimas que lesionan o aplanan las microvellosidades del intestino lo que genera diarrea líquida y dolores estomacales.
 - *E. coli* enterotoxígena (ETEC): causa “diarrea del viajero”, los factores de colonización de ETEC específicos para los seres humanos, favorecen la adherencia de ETEC a las células epiteliales del intestino delgado y secretan una exotoxina termolábil que cambia la permeabilidad del intestino causando diarrea intensa.
 - *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) produce una enfermedad muy similar a la shigelosis, EIEC produce enfermedad al invadir las células epiteliales de la mucosa intestinal.
 - *E. coli* enteroagregativa (EAEC) produce una diarrea aguda y crónica de más de 14 días de duración. EAEC produce toxina que cambia la permeabilidad del intestino y una hemolisina
- Otros coliformes: las bacterias de este grupo aparte de *E. coli*, son *Klebsiella*, *Enterobacter*, y *Citrobacter* y causan infecciones gastrointestinales similares a *E. coli* ya que se adhieren a intestino y generan cambios en la

permeabilidad del mismo dando como resultado la expulsión descontrolada de agua (diarrea).

- *Vibrio*: Los vibrios son unas de las bacterias muy frecuentes en las aguas de superficie de todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos y móviles que poseen un flagelo polar, existen 2 especies patógenas
 - *Vibrio cholerae*: este *Vibrio* es el causante del cólera epidémico, pero solo los serotipos O1 y O139, los otros serotipos de esta especie no causan cólera pero si diarrea leve. El carácter patogénico de *Vibrio cholerae* recae en las enterotoxinas termolábiles que se adhieren al intestino y promueven la secreción de líquidos constantemente, se da un inicio brusco de náusea, vómito, una diarrea abundante con cólicos abdominales, las heces se asemejan a “agua de arroz”, contienen moco, células epiteliales y debido a que hay una pérdida rápida de líquidos y electrolitos se llega a deshidratación intensa, colapso circulatorio y anuria.
 - *Vibrio parahaemolyticus*: produce gastroenteritis aguda tras la ingestión de mariscos contaminados o pescado crudo. Tras un periodo de incubación de 12 a 24 horas, se presentan náusea y vómito, cólicos abdominales, fiebre y diarrea líquida sanguinolenta.
- *Staphylococcus aureus*: son cocos gram positivos que contienen polisacáridos, proteínas antigénicas, factores aglutinación, adherencia así como toxinas exfoliativas, enterotoxinas y de acción específica como la toxina de choque tóxico y la leucocidina de Panton-Valentin. Las enterotoxinas son las causantes de las intoxicaciones alimentarias por *S. aureus*, causan un cambio en la permeabilidad intestinal originando diarrea acuosa aguda. Las otras toxinas actúan mayormente en bacteriemia estafilocócica y los abscesos, los cuales no se presentan por el consumo de alimentos (Brooks, 2011).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los alimentos sumamente ricos en nutrientes como el pescado y carnes son fácilmente contaminados por microorganismos, la fuente principal de esto es la manipulación errónea de los mismos debido a la utilización de malas prácticas de higiene en la extracción, transporte y manejo de estos productos (Adams, 2008).

Los alimentos que se encuentran contaminados con microorganismos son un problema de salud ya que el consumo de los mismos trae como consecuencia infecciones gastrointestinales que pueden variar de duración e intensidad según el número, género y especie de microorganismos presentes. (Organización Panamericana de la Salud , 2015)

En nuestro país existen Normas Oficiales que rigen el manejo adecuado de los productos pesqueros, desde su obtención hasta su venta y transporte, para así poder asegurar la calidad sanitaria de los mismos y así poder evitar repercusiones sanitarias (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2012).

Tabla No. 6 Normas Oficiales Mexicanas que regulan la calidad de productos pesqueros.

<i>Norma</i>	<i>Aspectos que regula</i>
NOM-242-SSA1-2009: Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados.	Establece las especificaciones sanitarias de calidad física y microbiológica de los productos de la pesca, además de establecer las condiciones adecuadas de manejo y transporte de los mismos.
NOM-251-SSA1-2009: Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.	Establece los procesos correctos de limpieza y almacenamiento de alimentos.

Recuperado del Diario oficial de la federación (Diario Oficial de la Federacion, n.d.)

La industria pesquera es una de las florecientes a nivel nacional, en el 2015 se incrementó 2.5kg el consumo de pescado per cápita en México, sin embargo, se sabe que las prácticas de manejo en la pesca y venta informal de este producto no son las ideales y falta mucho por hacer (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2015).

El estado de Baja California es un importante productor pesquero, que surte a la ciudad de Tijuana, la cual debido a su gran población presenta una alta demanda del producto. Según estudios de la Universidad Autónoma de Baja California el consumo per cápita de pescado en la ciudad de Tijuana es de 11.92 Kg, siendo el municipio de mayor consumo en el estado (Burrola, 2015). Sin embargo, tras la realización de una búsqueda de información acerca de la calidad microbiológica del pescado en la ciudad se denotó la escasez artículos relacionados a este tema. Por lo tanto, es indispensable realizar estudios que proporcionen datos sobre la calidad microbiológica de productos pesqueros en la ciudad de Tijuana B.C., sobre todo en productos ofertados en el comercio informal, ya que la calidad y seguridad de los mismos no está regulada por lo que no se apegan a la normatividad vigente.

JUSTIFICACIÓN

El pescado forma parte fundamental de una dieta saludable del ser humano debido a su alta cantidad proteica y otros valores nutrimentales, además de ser económico, sobre todo en regiones costeras. (CONAPESCA, 2009).

El comercio del pescado es uno de los más globalizados y normalizados a su vez ya que una de las características del pescado aparte de ser sumamente rico en nutrientes es que son perecederos y por ello son susceptibles al deterioro por la acción bacteriana (Pérez, 1985).

Debido a lo anterior requieren una estricta aplicación y control durante su captura, distribución, comercialización y consumo, a fin de evitar que se incorporen o se incrementen las bacterias específicas del deterioro en general. (López Sabater et al., 1995; Taylor, 1986; Staruszkiewics et al., 2004).

En México existe una gran industria pesquera, las cuales son parte del comercio formal o informal del mismo, por ello se cuenta con normas oficiales mexicanas, que establecen los criterios sanitarios para que este pueda preservarse y venderse sin causar afecciones de salud al consumidor (Quintero, 2012).

La evaluación microbiológica en alimentos siempre ha estado a la vanguardia, sobretodo en productos de la pesca, ya que existen muchas fuentes de contaminación, siendo considerada el agua del sitio de pesca, hasta el transporte y prácticas de higiene de los comerciantes y es importante mantener un control sanitario (Franco; Landgra, 2003). Por lo tanto es importante la realización de estudios que permitan el análisis de la carga microbiana del pescado ofertado en expendios no fijos , para aportar datos del estado sanitario en que los pescados están siendo comercializados en la ciudad además de contribuir y fomentar las buenas prácticas de manejo de los mismos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica del pescado comercializado en expendios no fijos en la ciudad de Tijuana, Baja California.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer con qué frecuencia la población de la ciudad de Tijuana B.C. consume pescado y de qué tipo de comercio obtiene este producto.
2. Determinar cuáles son las delegaciones de la ciudad que presentan mala calidad microbiológica del pescado comercializado en la zona.
3. Realizar un análisis de resultados que establezca el perfil sanitario de pescados comercializados en expendios no fijos de diferentes zonas de la región de acuerdo a los valores permisibles establecidos en la NOM-242-SSA1-2009

HIPÓTESIS

El pescado comercializado en expendios no fijos la ciudad de Tijuana B.C. excede los límites sanitarios de calidad microbiológica establecidos por la NOM-242-SSA1-2009, lo cual se considera un factor potencial de riesgo que puede ocasionar una contingencia sanitaria debido a las infecciones gastrointestinales producidas por el alimento.

HIPÓTESIS NULA

El pescado comercializado en expendios no fijos de distintas zonas de la ciudad de Tijuana B.C. cumple con el control de calidad microbiológica ya que los valores obtenidos están por debajo de los límites establecidos por la NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

A) Tipo de estudio

Experimental prospectivo

B) Espacio-temporal

Septiembre 2015 - febrero 2016, en 9 delegaciones de la Ciudad de Tijuana.

C) Sitios de muestreo:

Se tomaron 3 muestras en cada una de las 9 delegaciones de la ciudad de Tijuana
B. C.



Figura 1. Delegación centro con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.

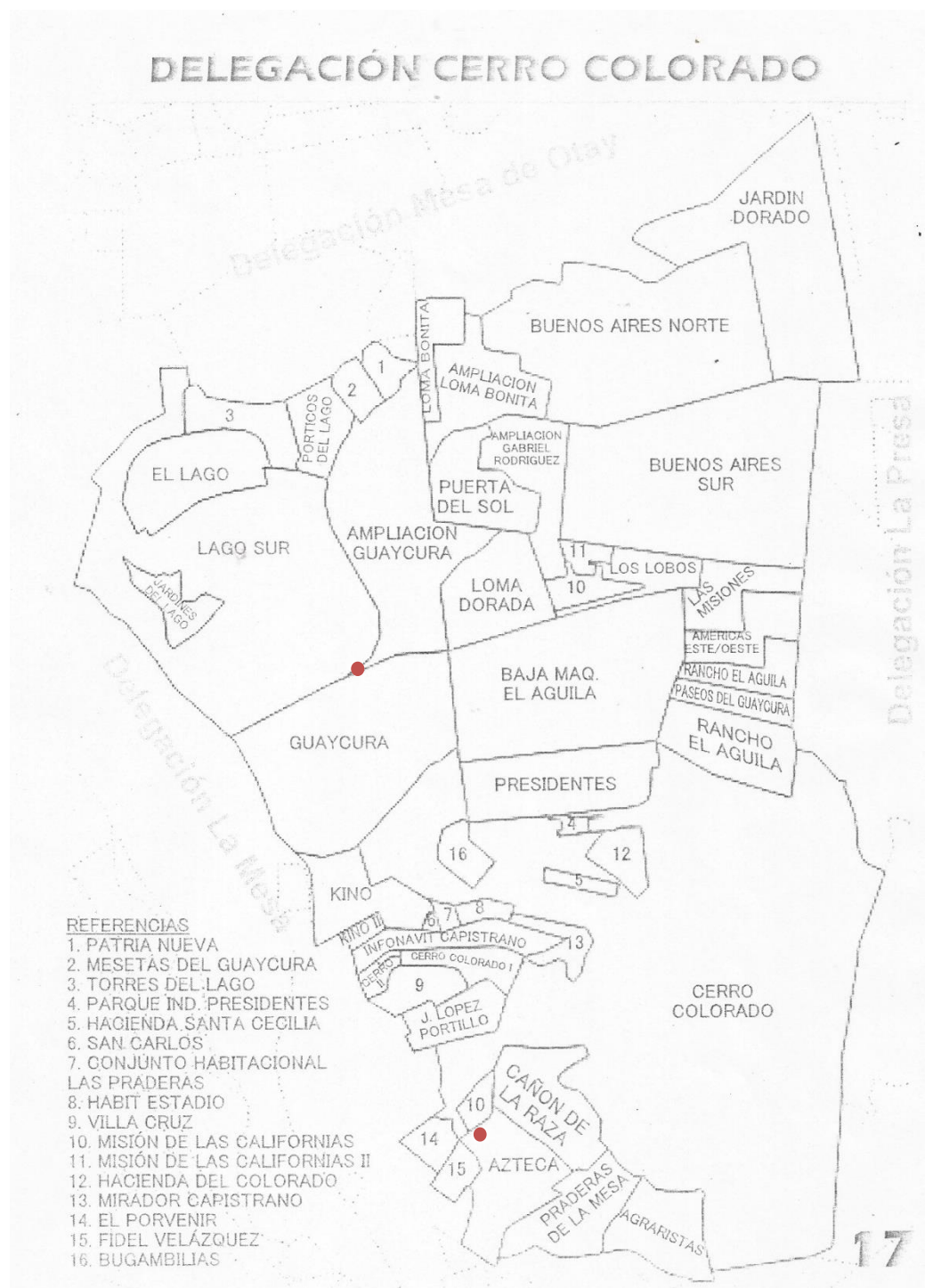


Figura 2. Delegación cerro colorado con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.

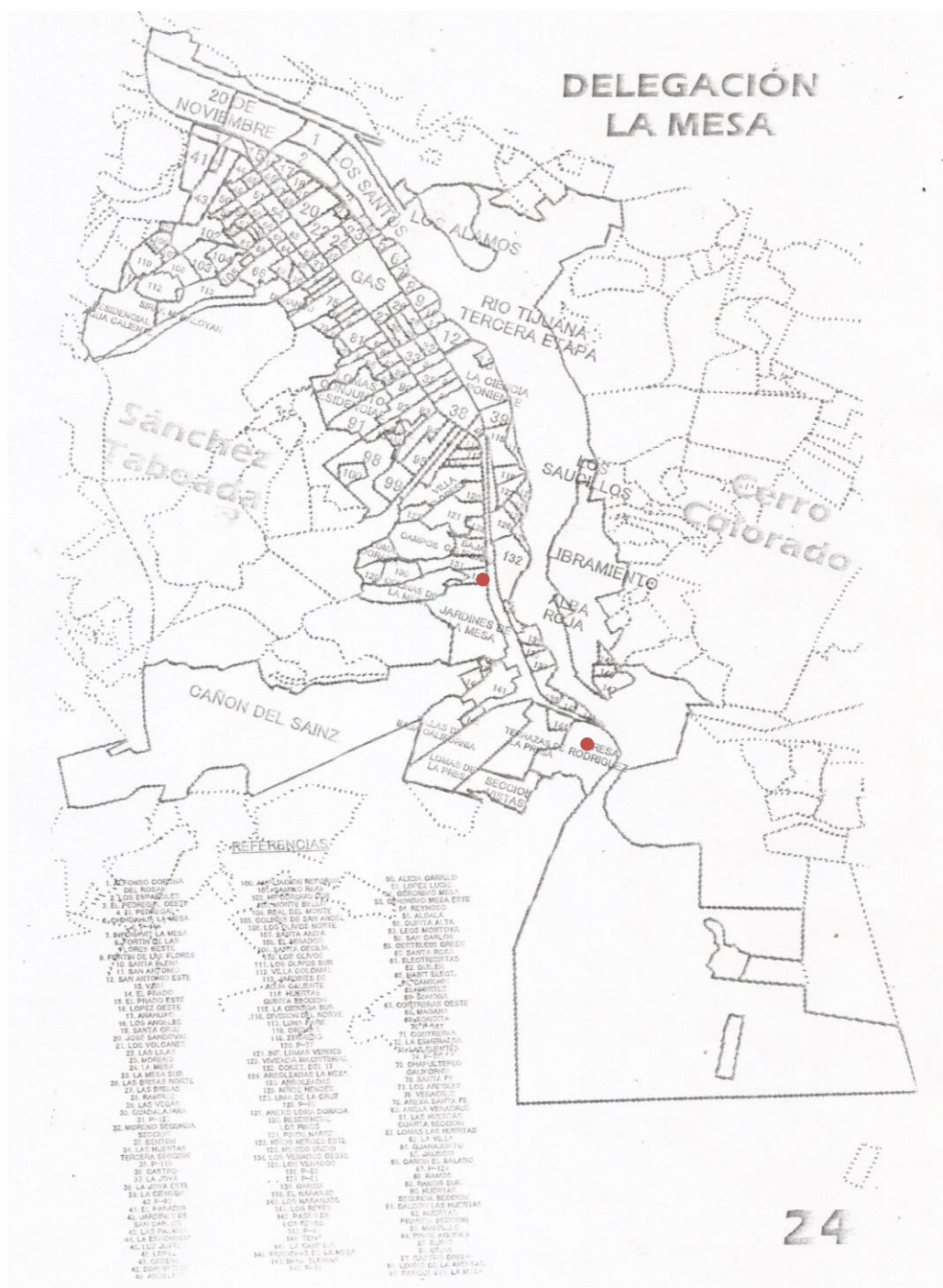


Figura 3. Delegación la mesa con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.

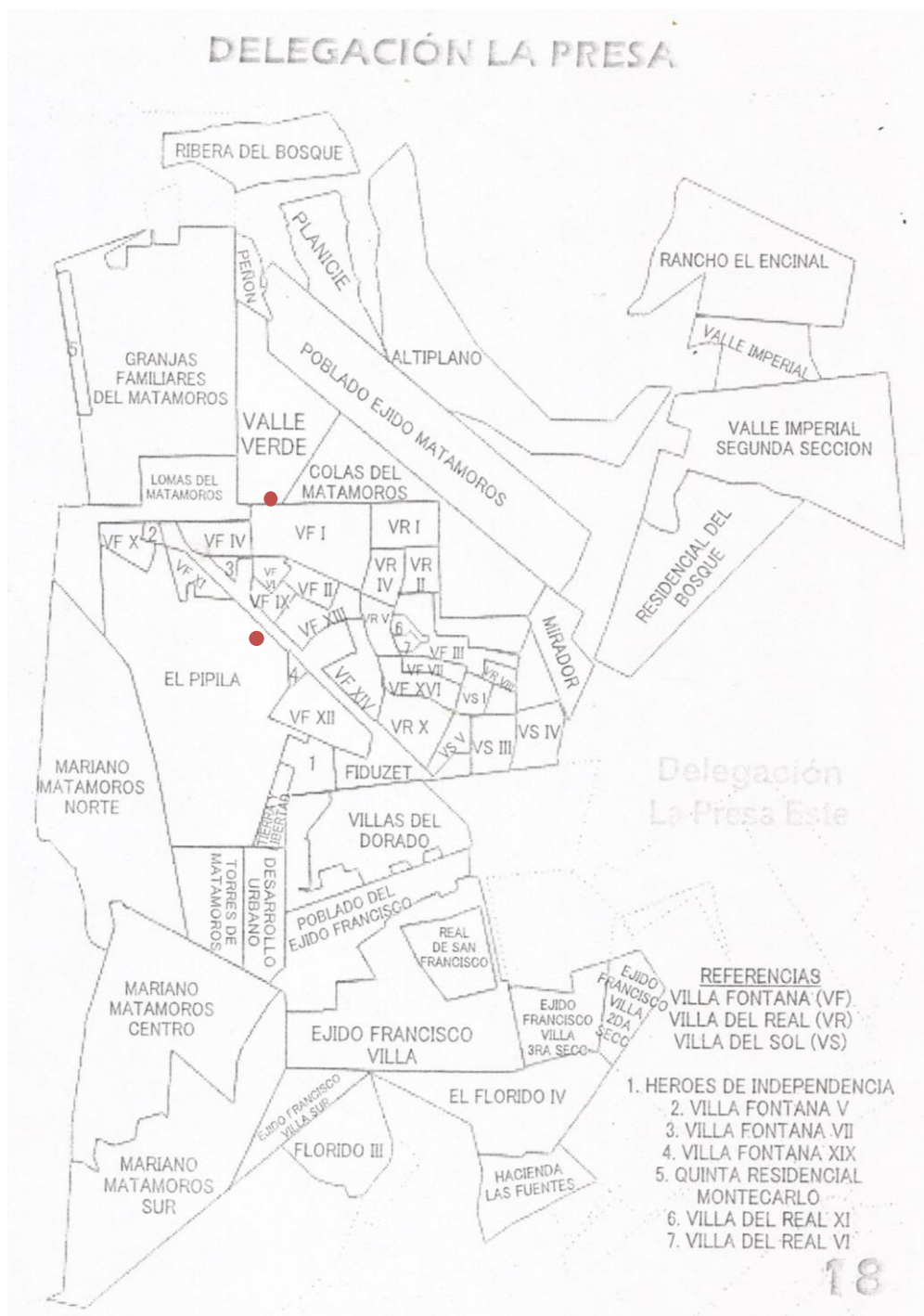


Figura 4. Delegación la presa con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.

[illegible]

30

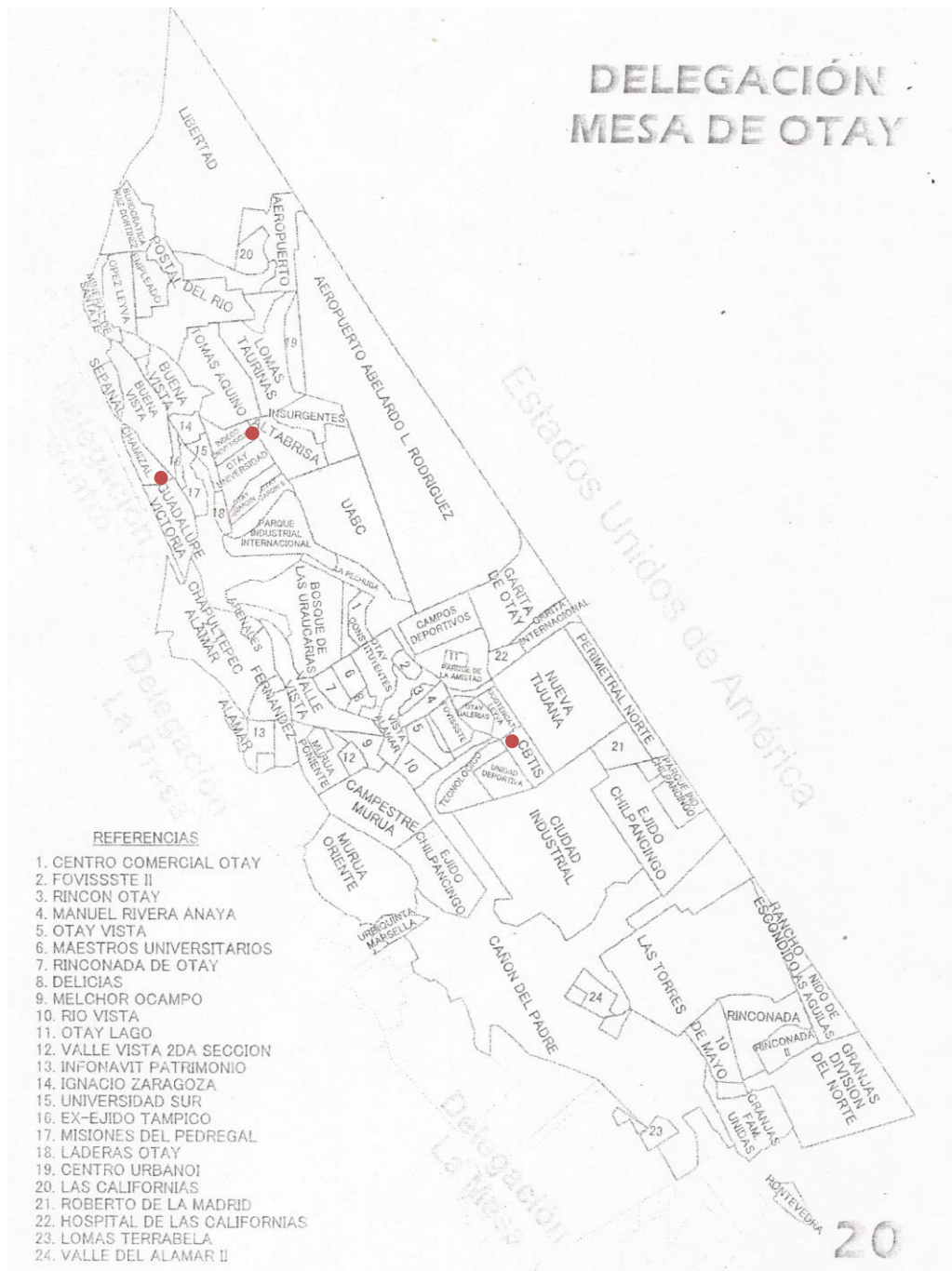


Figura 6. Delegación mesa de otay con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.



Figura 7. Playas de Tijuana con los comercios ambulantes de donde se obtuvieron muestras señalados en rojo.

D) Criterios de Inclusión y Exclusión

Criterios de inclusión:

Para determinar los criterios de inclusión se tomó en cuenta la opinión de la población respecto a:

- 1) Pescado de expendios no fijos
- 2) Tipo de pescado más adquirido
- 3) Presentación en la que se adquiere el producto (filete o entero)

Criterios de exclusión:

Se descartan los productos siguientes:

- 1) Que sean comercializados en establecimientos permanentes.
- 2) Que se encuentren empaquetados o congelados.
- 3) Otros productos de la pesca (moluscos y crustáceos)

Para determinar los criterios anteriores se realizó una encuesta (Anexo 5), en el periodo de septiembre-noviembre del 2015.

E) Variables

Variables independientes:

- 1) Temperatura de: medio de transporte, conservación, incubación de la muestra y procedencia de la muestra
- 2) pH del medio de cultivo.
- 3) Acidez de la muestra.

Variables dependientes:

- 1) Carga microbiana de la muestra

F) Tipo de población

Adultos mayores de 20 años que residen en la Ciudad de Tijuana.

G) Tamaño de la muestra

Para determinar las especies de pescado de mayor consumo se considera el cálculo del tamaño de muestra poblacional mediante el siguiente procedimiento estadístico.

El número de encuestas a realizar se determinará en base a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

Dónde

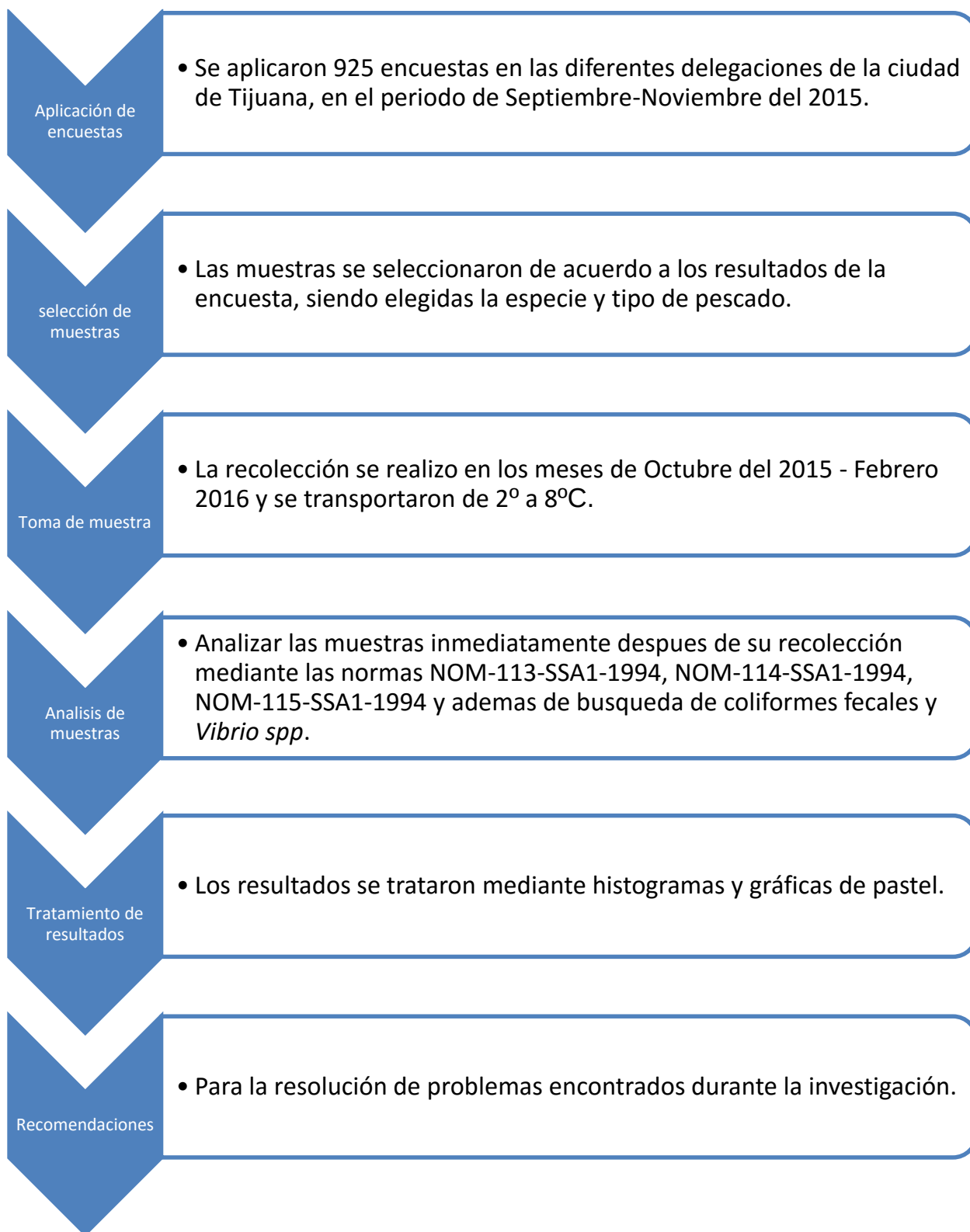
- n= tamaño de la muestra requerido
- t= nivel de confianza de 95% (valor estándar de 1.96)
- p= homogeneidad estimada de la zona del proyecto (0.5)
- m= margen de error de 5% (valor estándar de 0.05)

Considerando un 95% de confianza, homogeneidad de 0.5, margen de error de 5%, efecto del diseño e imprevistos, tomando en cuenta lo anterior el resultado es de 806 encuestas distribuidas en las 9 delegaciones de la Ciudad de Tijuana.

H) Parte Estadística

- Agrupación de datos: Los datos se agruparon por incidencias de microorganismos por cada delegación, por cada tipo de microorganismo contra las delegaciones y por microorganismos por tipo de pescado.
- Tratamiento de datos. El análisis estadístico de los datos se trató mediante el software estadístico Excel 2016 para determinar el perfil sanitario de las muestras analizadas.
- Tipo de gráficos. Los resultados se expresan mediante Histogramas y diagramas de pastel para la expresión gráfica de las prevalencias

I) Diagrama de flujo de análisis de muestras



PROCEDIMIENTO

Recabado de datos:

Se realizó mediante la aplicación de encuestas (ver Anexo 5), de las cuales los resultados se muestran en la figura 10.

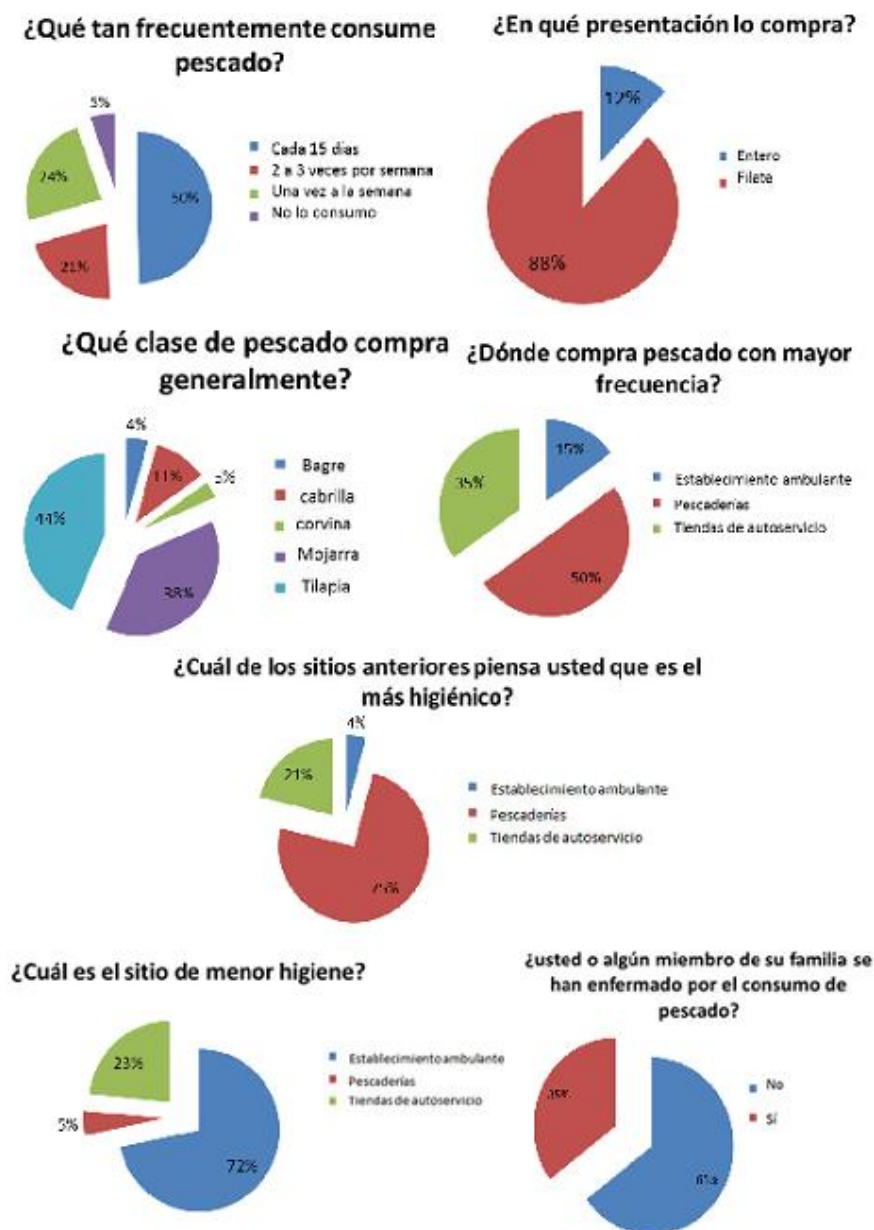


Figura 10. Resultados de encuestas aplicadas en Tijuana.

Se analizaron los resultados obtenidos en las encuestas y se seleccionaron los tipos de pescados mayormente consumidos y comercializados en expendios no fijos (Mojarra, angelito y cabrilla).

Procedimiento para toma de muestras:

1. Las muestras fueron compradas en expendios no fijos de la ciudad de Tijuana, en la figura No. 10 se observa uno de los establecimientos no fijos donde se comercializa pescado.
2. Para la toma de muestra, no se requirieron precauciones estrictamente asépticas.
3. Se abrió la bolsa estéril solo en el momento de depositar la muestra
4. Se etiqueto con fecha, lugar, hora de muestreo, nombre de establecimiento y numero de muestra.
5. Se transportaron en hieleras a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
6. Todas las muestras se analizaron frescas, inmediatamente después de su llegada al laboratorio.



Figura 11. Comercios ambulantes de pescado en las diferentes delegaciones de la ciudad de Tijuana.

- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS.
MÉTODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES
EN PLACA (ANEXO 1)

Pesar 10gr de muestra en una
bolsa estéril



Agregar 90 ml de H_2O peptonada y
homogenizar la muestra



Realizar diluciones en tubos de 9ml

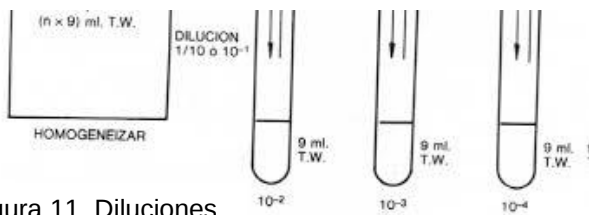


Figura 11. Diluciones.



Depositar .25 ml de cada dilución en
una sección respectivamente de una
caja cuádruple de medio RVBA



Incubar 24hrs a 37°C
para coliformes totales

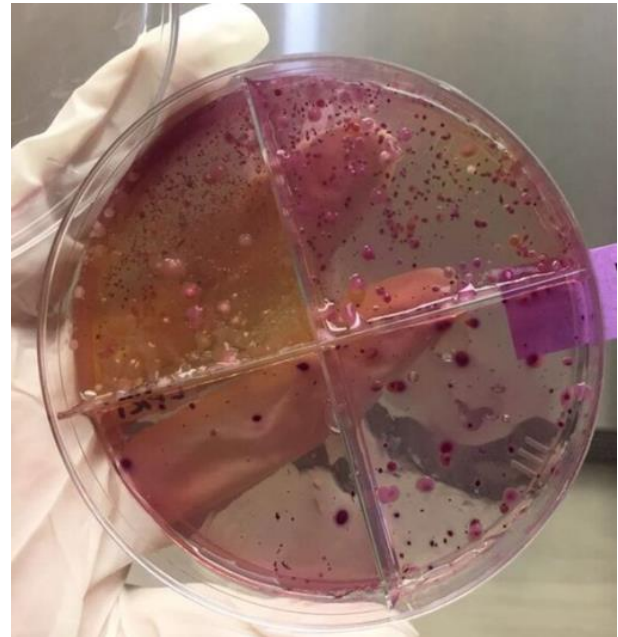


Figura 12. Resultado de la siembra e incubación
en RBVA 24hrs a 37°C .

- METODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES FECALES EN PLACA

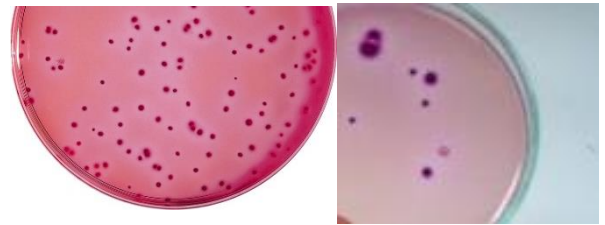
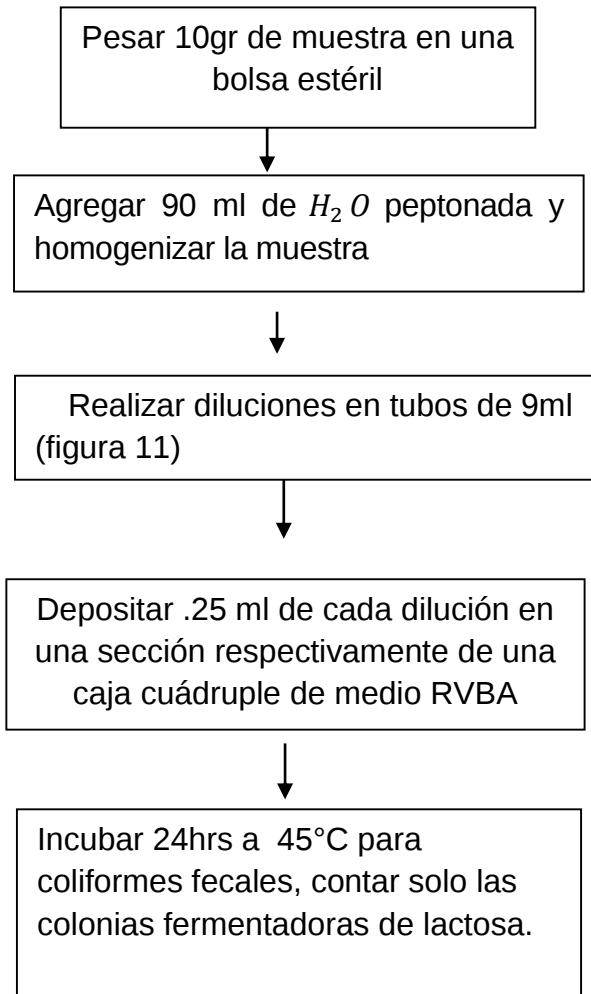
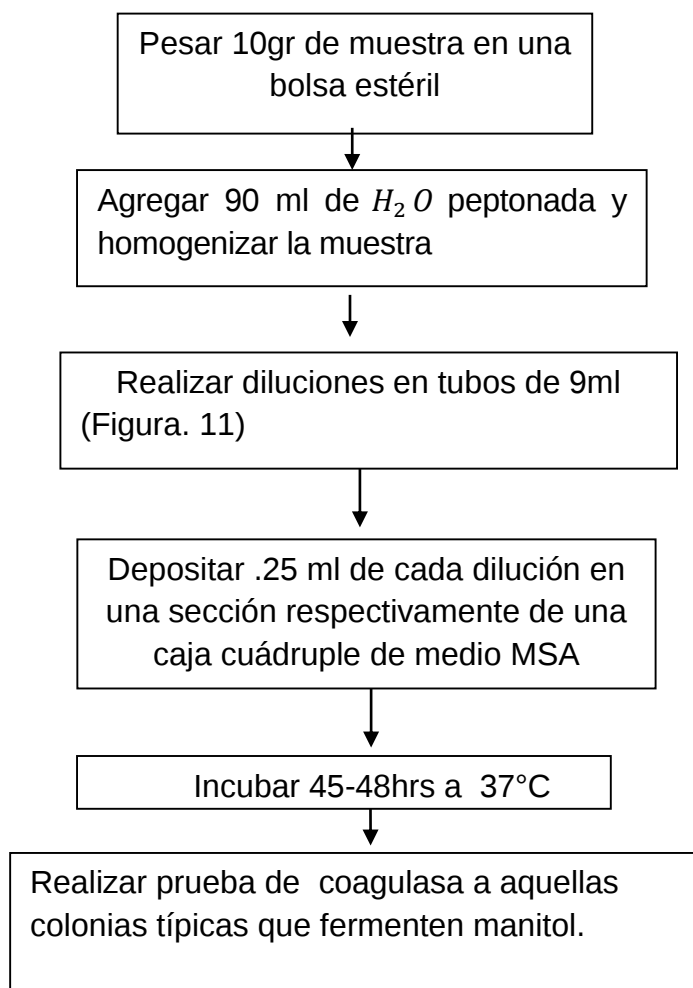


Figura 13. Coliformes fecales en RVBA.

Recuperado de (Frazier & C., 1993)

- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-115-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN ALIMENTOS (ANEXO 2)



- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-114-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE *SALMONELLA SPP.* EN ALIMENTOS. (ANEXO 3)

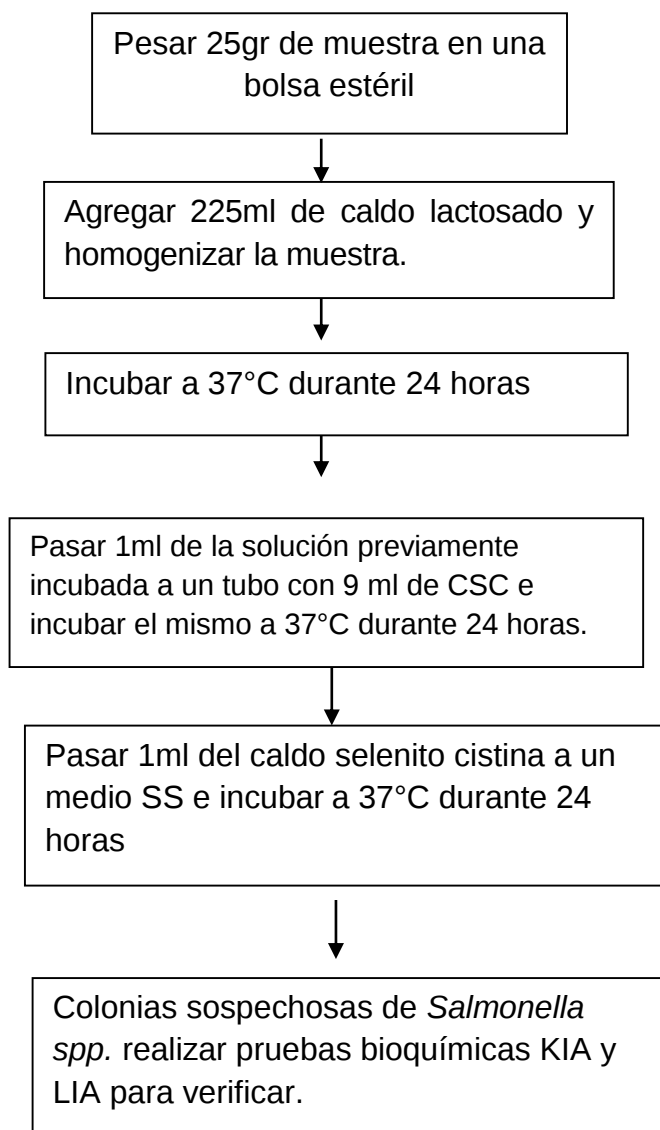


Figura 14. Diferentes resultados de la siembra e incubación en SS 24hrs a 37°C.

- DETERMINACION DE *VIBRIO SPP.* EN ALIMENTOS (ANEXO 4)

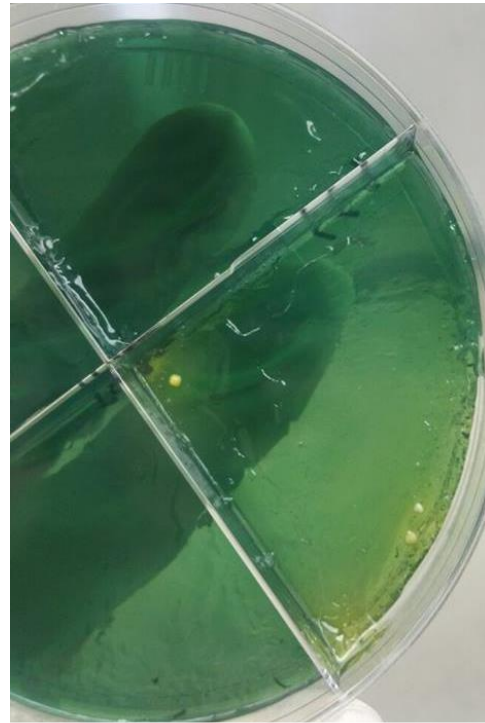
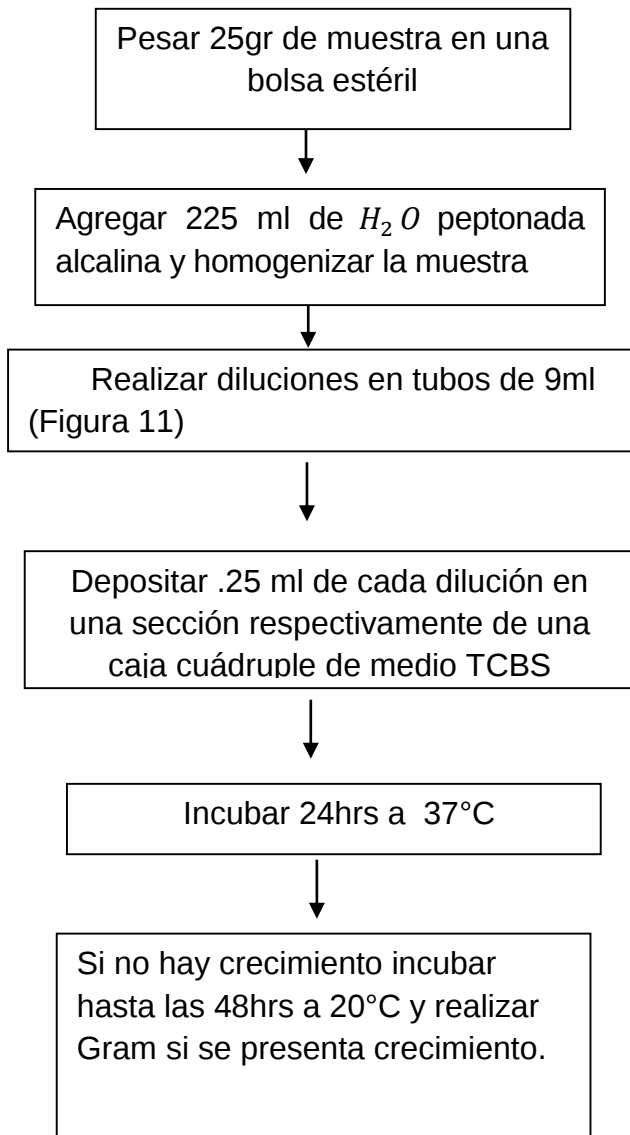


Figura 15. Crecimiento en TCBS

RESULTADOS Y DISCUSION

Cuenta total de microorganismos

En la Tabla No. 6 se muestran los resultados obtenidos en la calidad microbiana del pescado de la ciudad en las diferentes delegaciones de donde se obtuvieron las muestras, además se tiene el tipo de pescado, actualmente no existen estudios de este tipo en el estado.

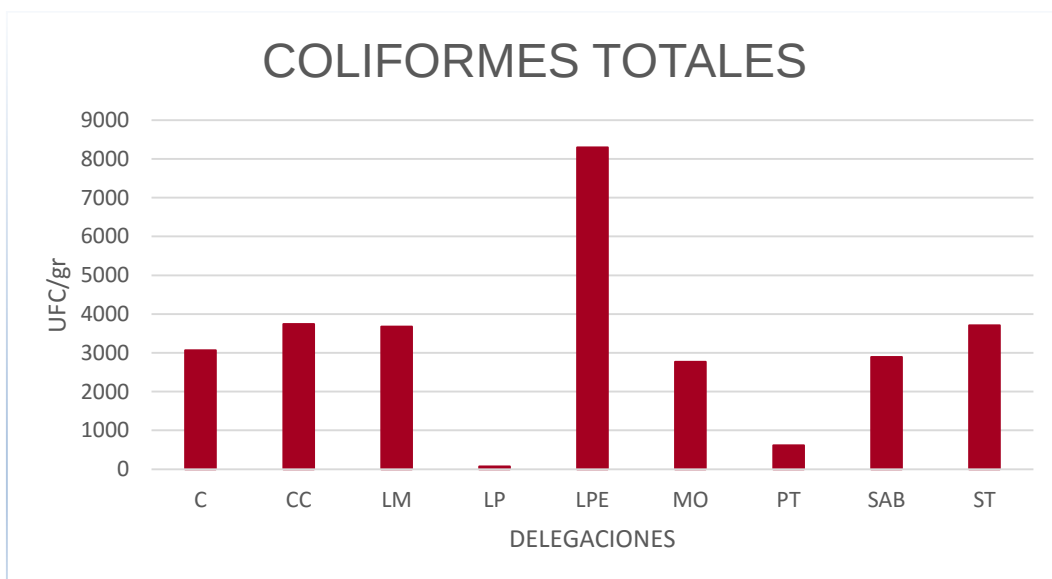
Tabla No. 7 Microorganismos presentes en el pescado

DELEGACIÓN	COLIFORMES (UFC/GR)	COLIFORMES FECALIS (UFC/GR)	STAPHYLOCOCCUS AUREUS (UFC/GR)	VIBRIO SPP. (UFC/GR)	SALMONELLASPP.	OBSERVACIONES	TIPO DE PESCAO
CENTRO	2	0	0	0	-		Mojarra fileteada
	2485	382	14020	0	-		Angelito Filete
	6720	4572	10386	0	+		Cabrilla filete
CERRO COLORAO	2820	470	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. coagulasa</i> - incontables UFC/gr	Mojarra fileteada
	incontable	incontable	0	0	-	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. coagulasa</i> - incontables UFC/gr	Angelito Filete
	120	18	0	0	-	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. Coagulasa</i> - 120 UFC/gr	Cabrilla Filete
LA MESA	5184	3435	1594	0	+		Mojarra fileteada
	758	347	incontable	0	+		Cabrilla Filete
	5079	2064	incontable	0	+		Angelito Filete
LA PRESA	205	42	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. coagulasa</i> - 325 UFC/gr	Mojarra fileteada
	0	0	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. Coagulasa</i> - 705 UFC/gr	Cabrilla filete
	0	0	2383	0	+		Angelito Filete
LA PRESA ESTE	incontable	21200	incontable	0	+		Mojarra fileteada
	27362	673	incontable	2	+		cabrilla filete
	incontable	8300	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp. coagulasa</i> - 312 UFC/gr	Angelito Filete
OTAY CENTENARIO	8	0	868	1	-		Mojarra fileteada
	3	0	1815	0	-		cabrilla fileteada
	incontable	incontable	incontable	0	+		Angelito Filete
PLAYAS DE TIJUANA	118	45	incontable	0	+		Mojarra fileteada
	1718	460	incontable	0	+		cabrilla Filete

SAN ANTONIO DE LOS BUENOS	0	0	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> spp. coagulasa - incontables UFC/gr	Angelito Filete
	incontable	incontable	0	0	-	<i>Staphylococcus</i> spp. coagulasa - incontables UFC/gr	Mojarra fileteada
	146	8	68	0	+		cabrilla Filete
	237	124	6	0	+		Angelito Filete
SANCHEZ TABOADA	2825	544	91198	224	+		Mojarra fileteada
	incontable	incontable	0	0	+	<i>Staphylococcus</i> spp. coagulasa - incontables UFC/gr	cabrilla fileteada
	0	0	incontable	0	+		Angelito Filete

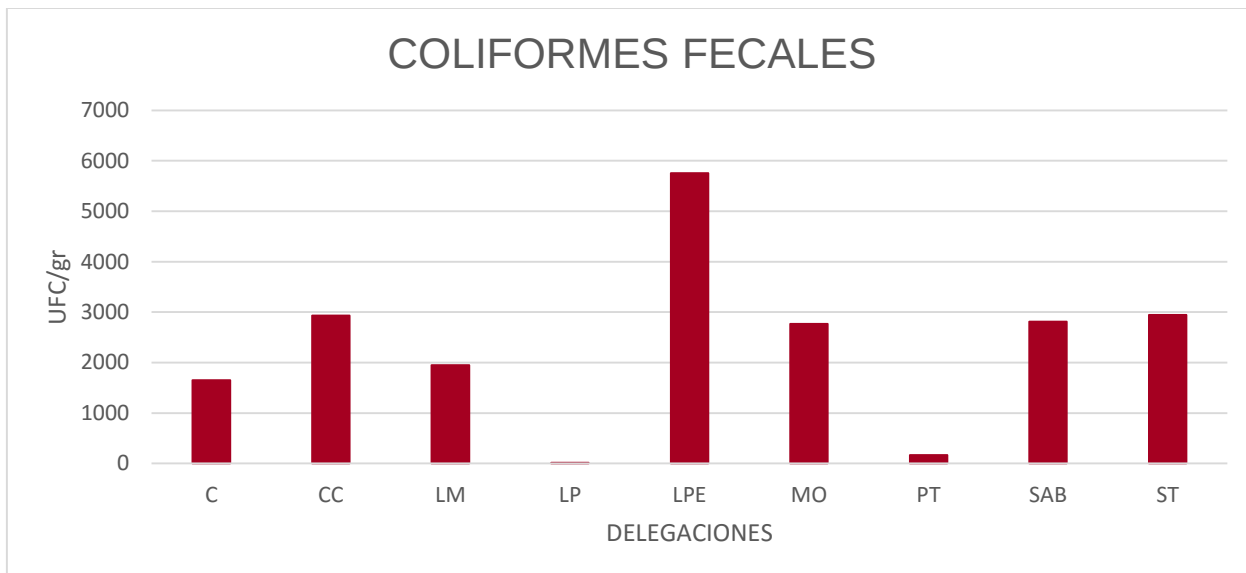
En las muestras analizadas los se presentaron 7 casos de muestras con crecimiento incontable de coliformes totales (Gráfica No.1), las cuales fueron el angelito de la delegación Cerro Colorado, las tres muestras de Presa Este, Angelito de Mesa de Otay, mojarra de San Antonio de los Buenos y cabrilla de Sánchez Taboada, por lo que la delegación con más incidencia de coliformes totales fue Presa Este.

Gráfica No.1. Coliformes totales



En la Gráfica No. 2. Se muestran los resultados de los coliformes fecales donde hubo 5 muestras que presentaron condiciones de crecimiento incontable, entre ellas estaban el angelito de la delegación Cerro Colorado, mojarra de Presa Este, angelito de Mesa de Otay, la mojarra de San Antonio de los Buenos y cabrilla de Sánchez Taboada. La delegación que presento mayor cantidad de coliformes fecales fue Presa Este y la de menor incidencia La Presa.

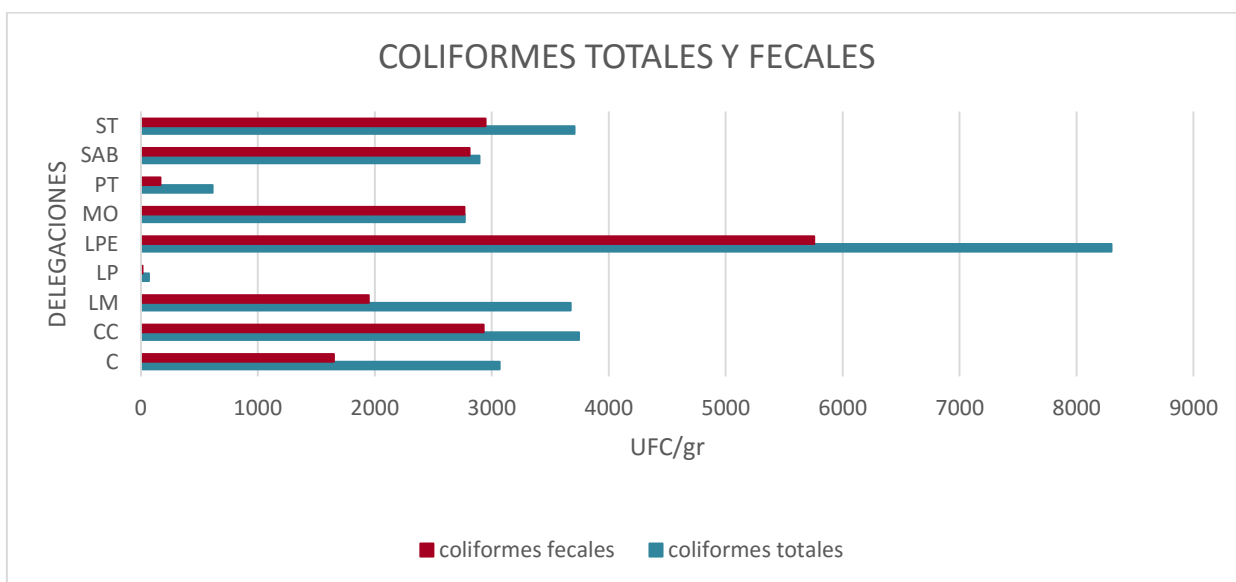
Grafica No. 2. Coliformes fecales



Debido al método de análisis se utilizó el límite establecido para coliformes totales y *Escherichia coli* emitido por la NOM-243-SSA1-2010 que es ≤ 100 UFC/gr, pasando así solo 8 de 27 muestras analizadas, lo que significa que solo el 29.6% de las muestras cumplen con los límites de calidad microbiológica establecidos en lo que respecta a coliformes y *Escherichia coli*.

En la Gráfica No.3. se muestra una comparación entre la cantidad de UFC/gr de coliformes totales y fecales, en la cual es aproximadamente un 30% mayor la cantidad de coliformes totales, sin embargo en delegaciones como Mesa de Otay y San Antonio de los buenos la diferencia es mínima.

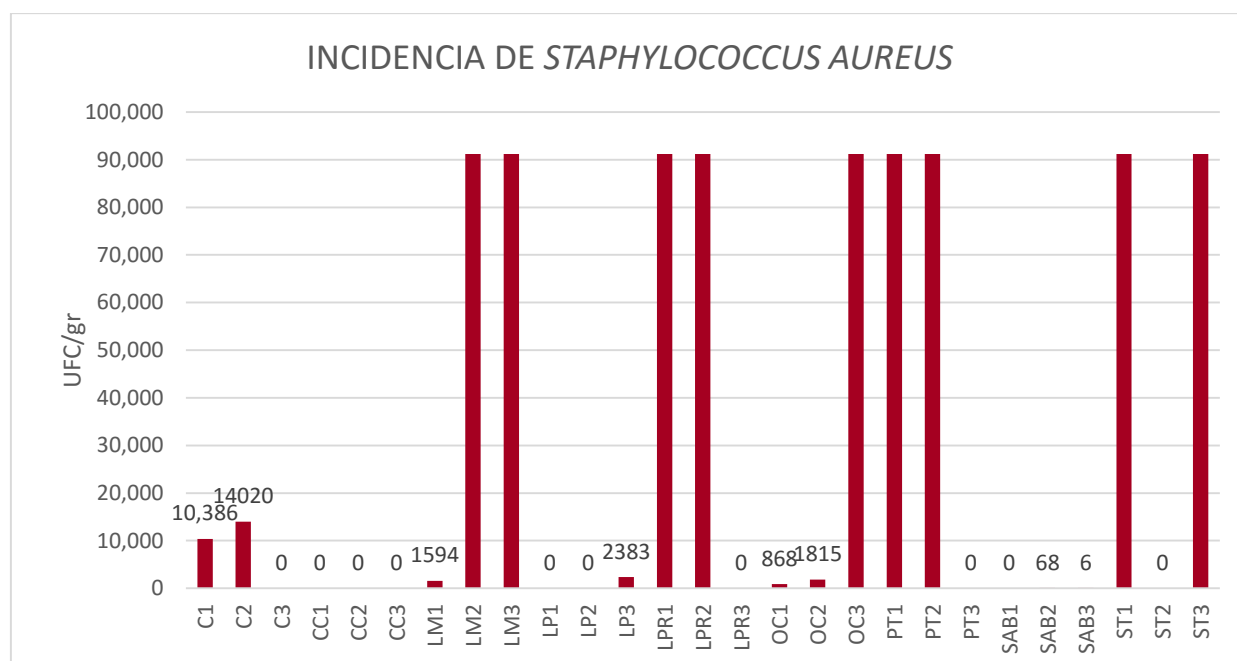
Grafica No.3. Coliformes totales y fecales



Según estudios del departamento de pescaderías en Canadá, la contaminación por coliformes fecales es principalmente *Escherichia coli* y *Enterococos spp.* y siempre es menor a la cantidad de coliformes totales que presenta la muestra, ya que muchos de los coliformes en el pescado provienen del océano mismo y no de materia fecal (ANDERSON, 1968).

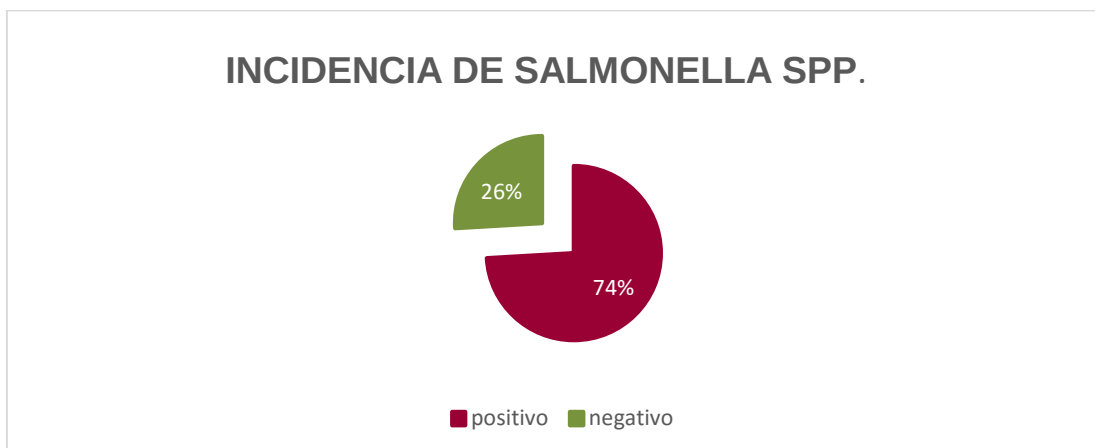
El 51% de las muestras superaron los límites de la NOM-242-SSA1-2009 para *Staphylococcus aureus* de 1000 UFC/gr, en la Gráfica No. 4 se aprecian los resultados, 8 de las muestras presentaron crecimiento incontable, a diferencia de los resultados que obtuvieron Danielle Muscolino y Filippo Giarratana en muestras de pescado para sushi en Italia, donde solo el 15.79% rebasó los límites establecidos (Muscolino & Giarratana, 2014). En otro estudio realizado por la universidad de Corea solo el 5.3% de las muestras presentaron *Staphylococcus aureus*, lo cual es notablemente menor a lo que se obtuvo (Kim, Hong, & J.I., 2016).

Gráfica No.4. Incidencia *Staphylococcus aureus*



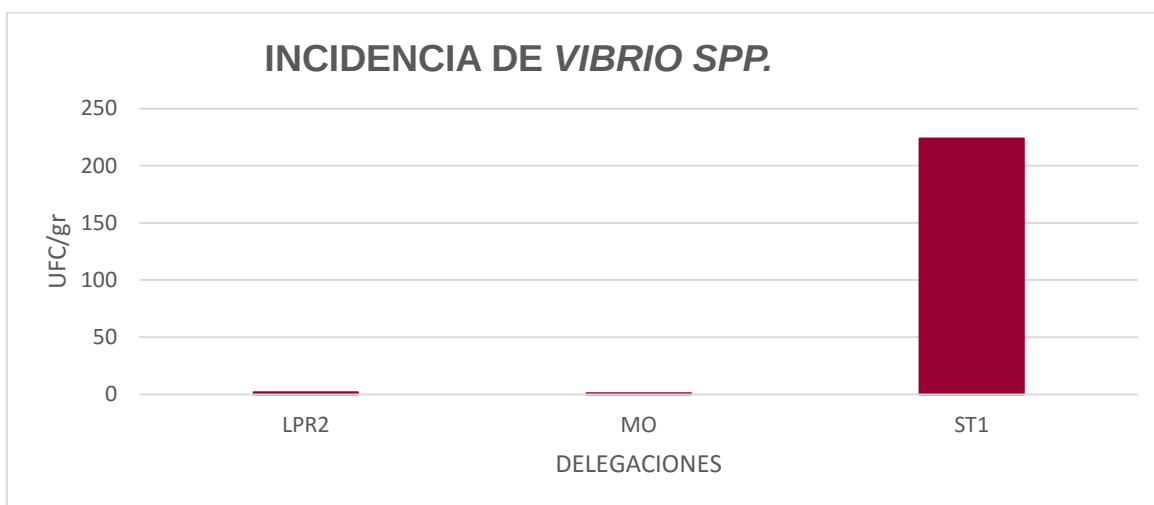
La mayoría de las muestras resultaron positivas para *Salmonella spp.*, en la Grafica No. 5 se muestran los porcentajes de muestras positivas y negativas, el 74% de las muestras analizadas resultaron positivas a éste microorganismo., a diferencia de otros autores como Danielle Muscolino, donde todas sus muestras fueron negativas a *Salmonella spp.*

Gráfica No. 5. Incidencia de *Salmonella spp.*



Ninguna de las muestras presentó *Vibrio cholerae*, lo que concuerda con resultados obtenidos en un estudio realizado por el instituto tecnológico pesquero de Perú (Carbajal & Rabelo, 2003), sin embargo 3 muestras presentaron *Vibrio* spp. en la Gráfica 6 muestran las delegaciones que tuvieron la presencia del mismo.

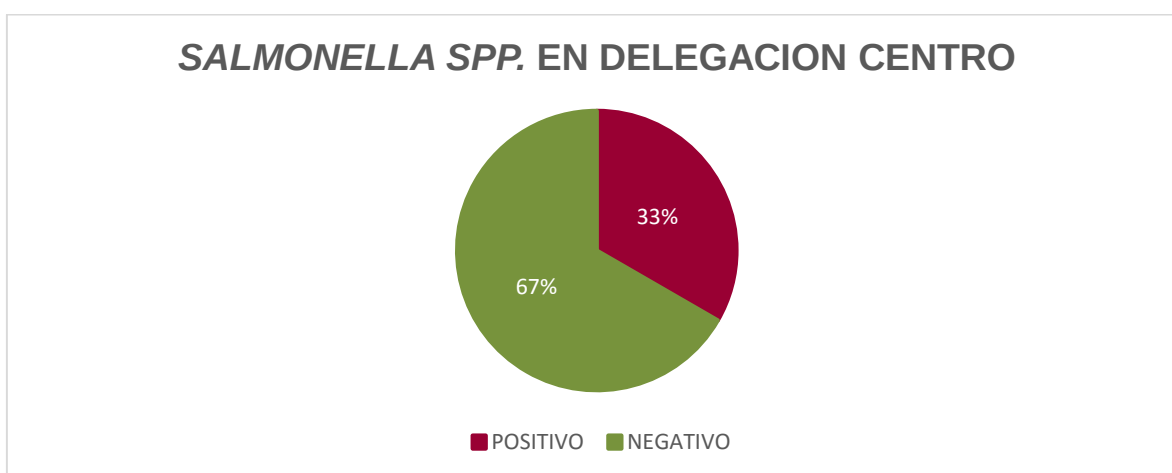
Gráfica No. 6. Incidencia de *Vibrio* spp.



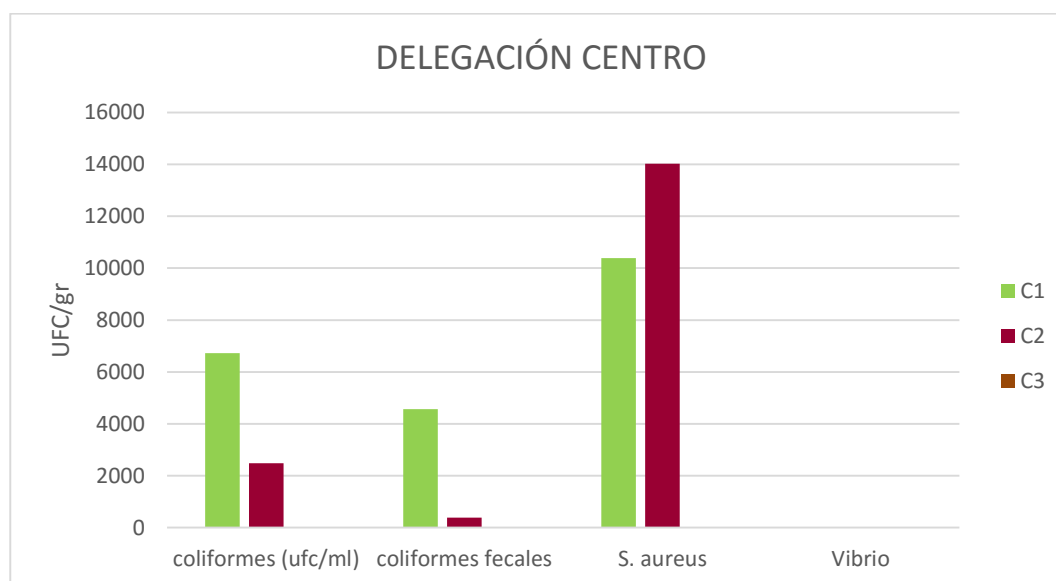
DELEGACIÓN CENTRO

En la delegación centro el 33% de las muestras analizadas resultaron positivas a *Salmonella spp.* (Gráfica No.7) no cumpliendo con la NOM-242-SSA1-2009, además 2 de las muestras analizadas excedieron los límites de esta norma para *Staphylococcus aureus*, la muestra C3 obtuvo muy poco crecimiento y no hubo presencia de *Vibrio spp.* tal como se muestra en la Gráfica No. 8.

Gráfica No. 7. *Salmonella spp.* en delegación centro.



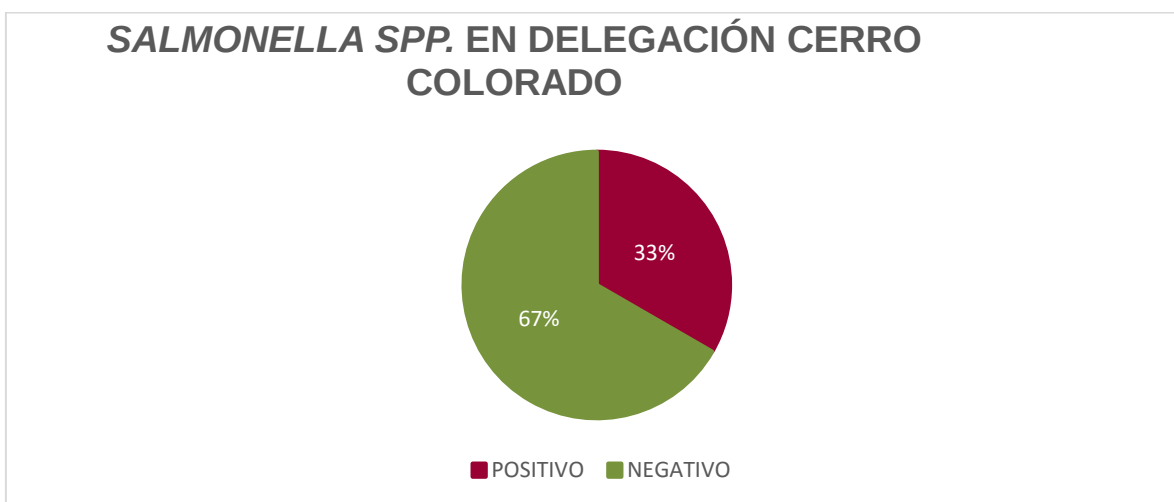
Gráfica No. 8. Incidencia de microorganismos en delegación centro



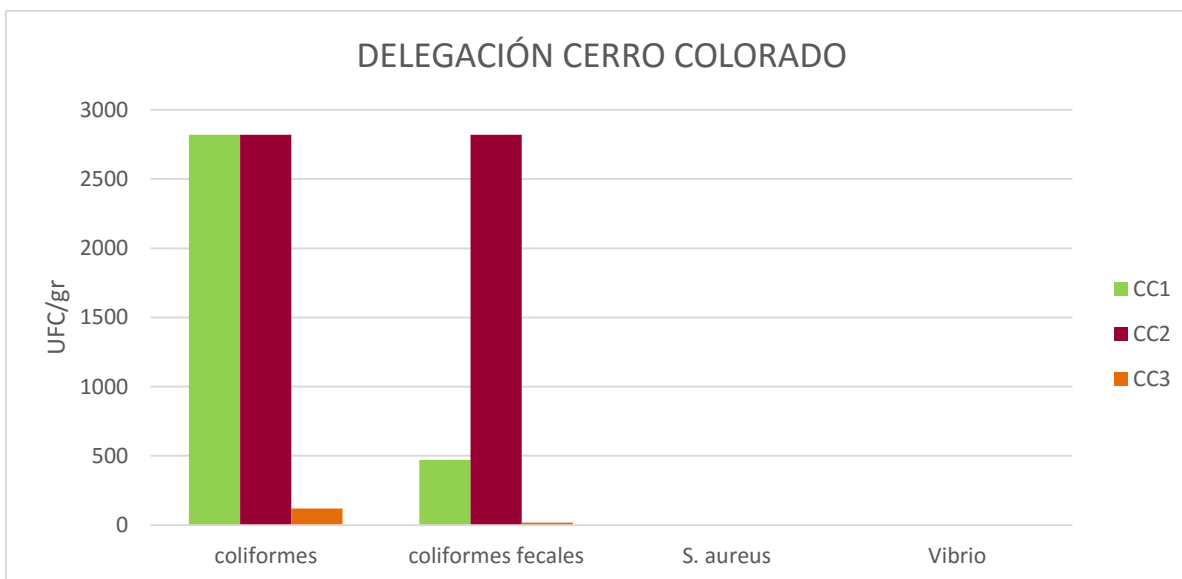
DELEGACIÓN CERRO COLORADO

El 67% de las muestras de la delegación Cerro Colorado presentaron *Salmonella spp*, siendo así la mayoría de sus muestras positivas (Gráfica No. 9). En lo que respecta a *Staphylococcus aureus* y *Vibrio spp*. no hubo desarrollo, mientras los coliformes presentaron crecimiento incontable en 2 de las 3 muestras de esta delegación (Gráfica No. 10).

Gráfica No. 9. *Salmonella spp*. en delegación Cerro Colorado.



Gráfica No. 10. Incidencia de microorganismos en delegación Cerro Colorado.



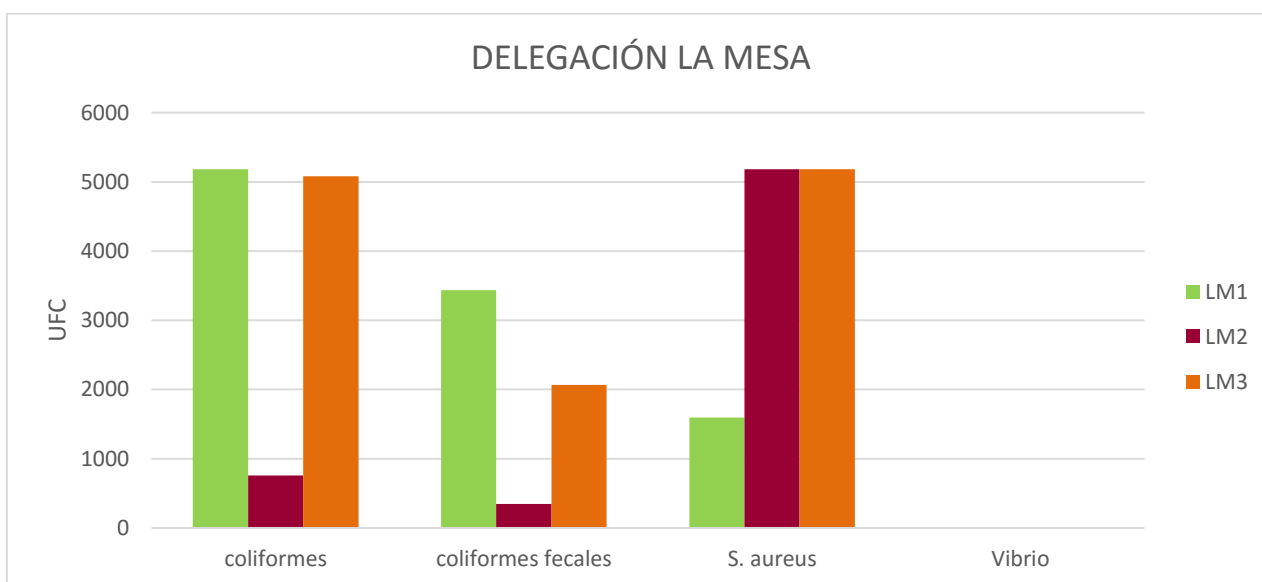
DELEGACIÓN LA MESA

En la delegación La Mesa ninguna de las muestras cumple con los parámetros de calidad de la NOM-242-SSA1-2009, ya que el 100% de las muestras resultaron positivas a *Salmonella spp.* como se muestra en la Gráfica No. 11. Además 2 de las muestras resultaron con crecimiento incontable de *Staphylococcus aureus* y la tercera muestra a pesar de no ser incontable también sobrepasa los límites establecidos, no se presentó crecimiento de *Vibrio spp.* (Gráfica No. 12).

Gráfica No. 11. *Salmonella spp.* en delegación La Mesa



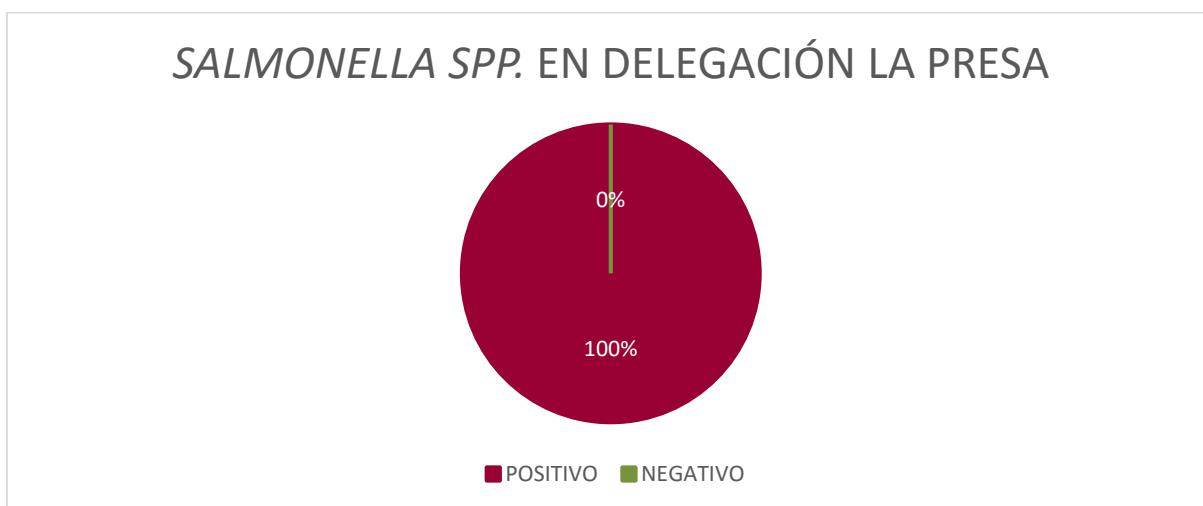
Gráfica No. 12. Incidencia de microorganismos en delegación La Mesa.



DELEGACIÓN LA PRESA

En esta delegación el 100% de las muestras presentaron *Salmonella spp.* (Gráfica No. 13) por lo que ninguna muestra cumple con los requerimientos de calidad establecidos a pesar de que como se muestra en la Gráfica No. 14 no hubo crecimiento representativo de otros microorganismos, salvo una muestra que superó el límite establecido de 1000UFC/gr para *Staphylococcus aureus*.

Gráfica No. 13. *Salmonella spp.* en la delegación La Presa



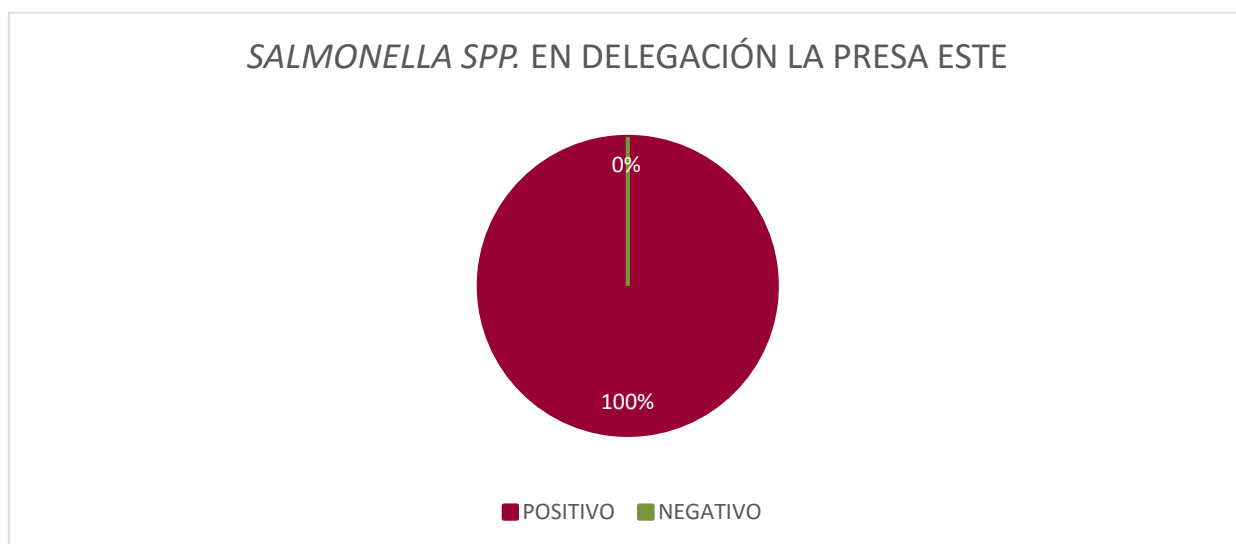
Gráfica No. 14. Incidencia de microorganismos en La Presa



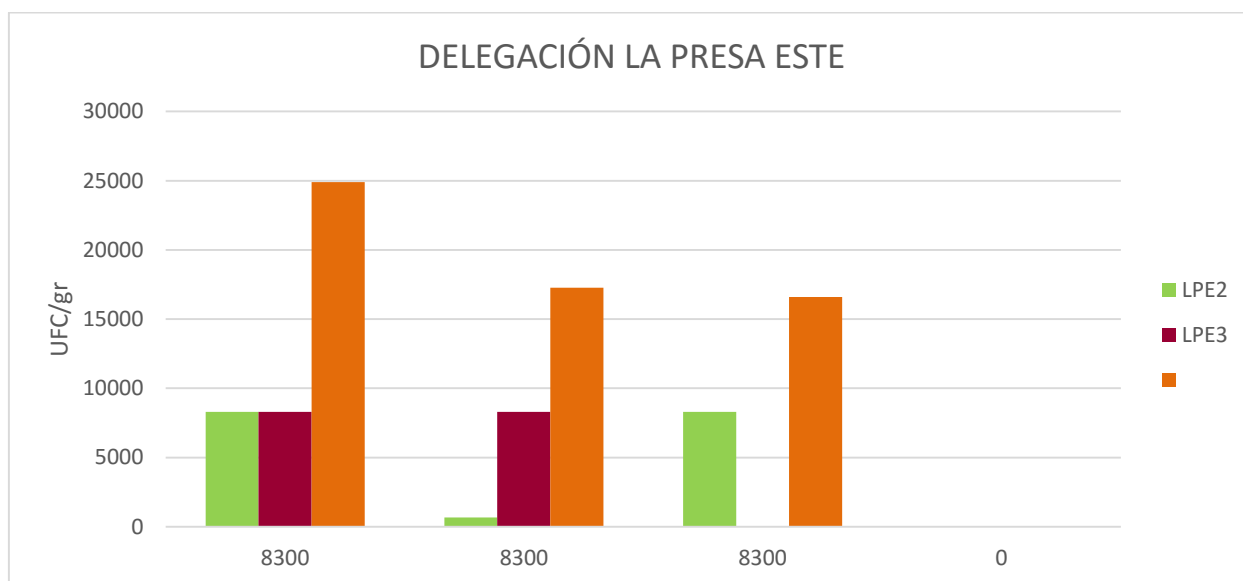
DELEGACIÓN LA PRESA ESTE

La delegación Presa Este presentó el mayor crecimiento de microorganismos en las muestras analizadas, el 100% de ellas presentaron *Salmonella spp.* y coliformes incontables como se muestra en las Gráficas No. 15 y No. 16. Además, las muestras LPE1 y LPE2 mostraron desarrollo incontable de *Staphylococcus aureus*, por lo cual las muestras no cumplen con los parámetros de calidad.

Gráfica No. 15. *Salmonella spp.* en delegación La Presa Este



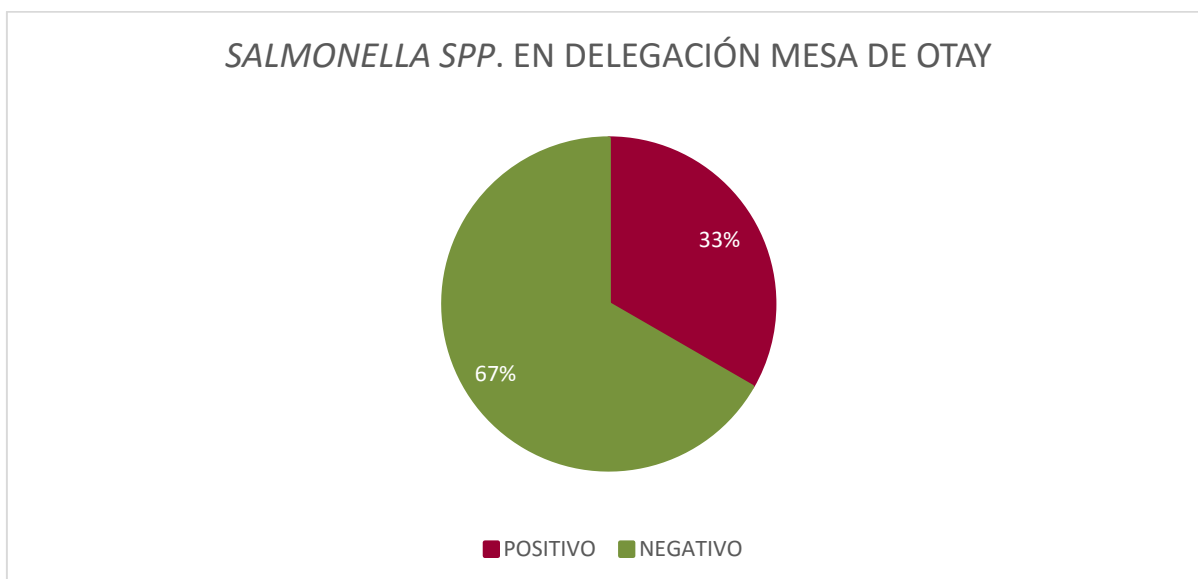
Gráfica No. 16. Incidencia de microorganismos en La Presa Este



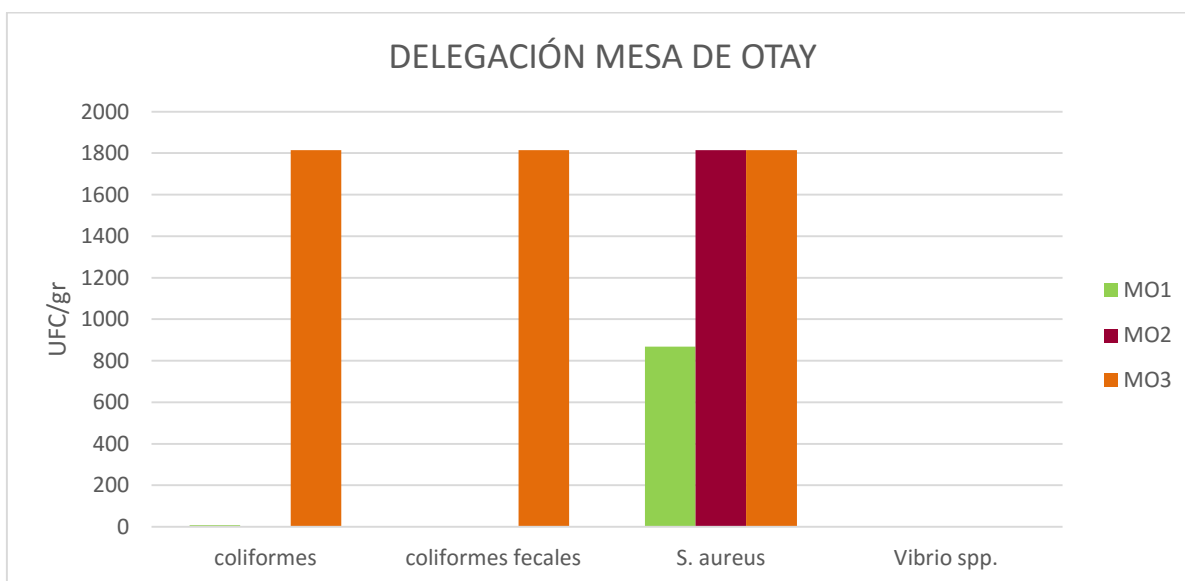
DELEGACIÓN MESA E OTAY

En la Gráfica No. 17 se aprecia que solo el 33% de las muestras resultaron positivas a *Salmonella spp.*, no cumpliendo con los parámetros de calidad establecidos, además dos de las muestras de esta delegación sobrepasaron el límite establecido para *Staphylooccus aureus*. En la Gráfica No. 18 se denota que la muestra MO3 resulto incontable en coliformes totales, fecales y *Staphylococcus aureus*.

Gráfica No. 17. *Salmonella spp.* en delegación Mesa de Otay



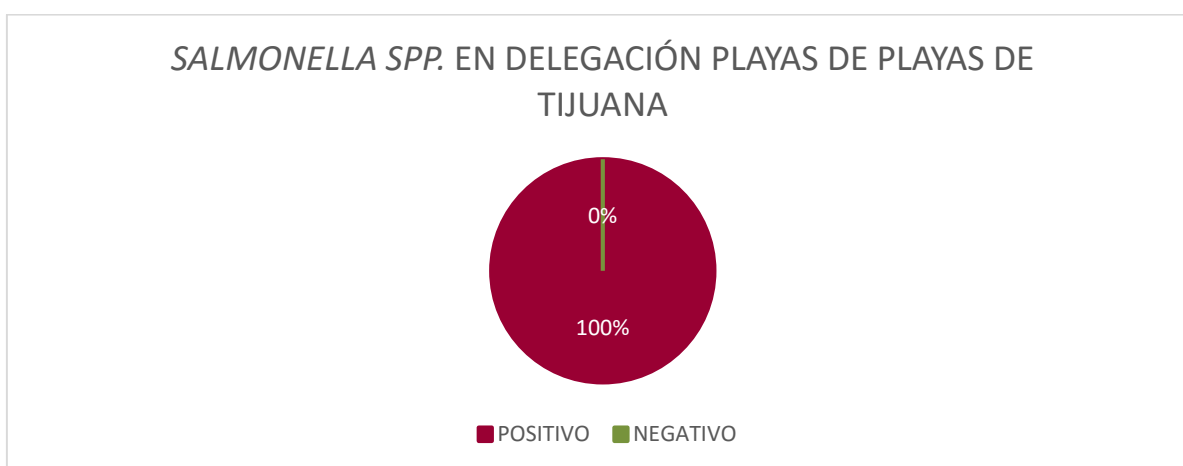
Gráfica No. 18. Incidencia de microorganismos en Mesa de Otay



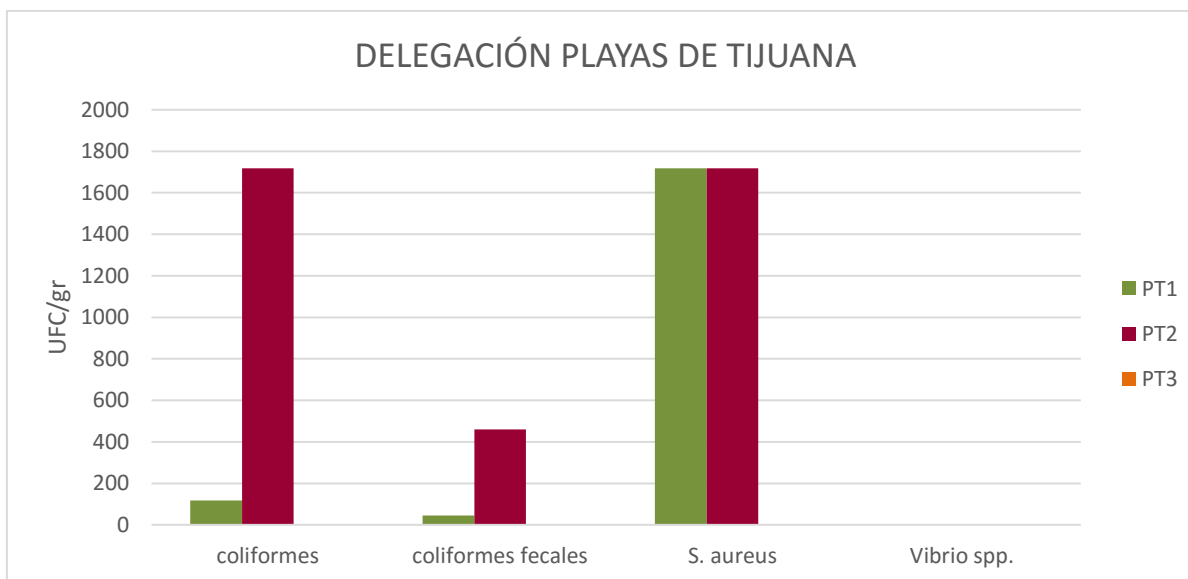
DELEGACIÓN PLAYAS DE TIJUANA

Las muestras de esta delegación resultaron en su totalidad positivas a *Salmonella spp.*, denotando así que ninguna muestra cumple con los parámetros de calidad microbiológica establecidos en la NOM-242-SSA1-2009, asimismo 2 muestras resultaron incontables para *S. aureus* y la muestra PT3 no obtuvo crecimiento de otro microorganismo, únicamente *Salmonella spp.*, como se aprecia en las Gráficas No. 19 y No. 20.

Gráfica No. 19. *Salmonella spp.* en delegación Playas de Tijuana.



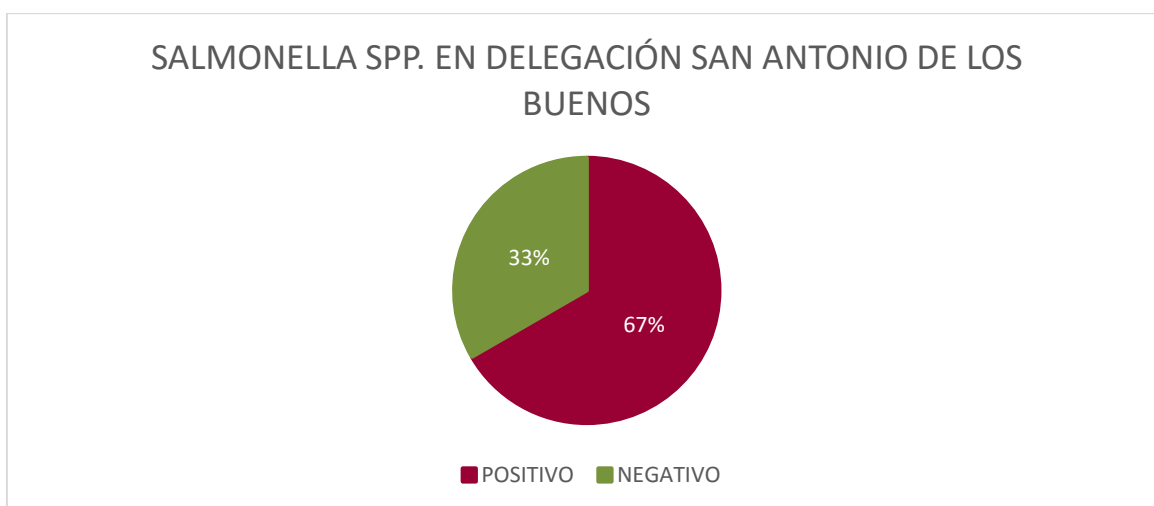
Gráfica No. 20. Incidencia de microorganismos en delegación Playas de Tijuana.



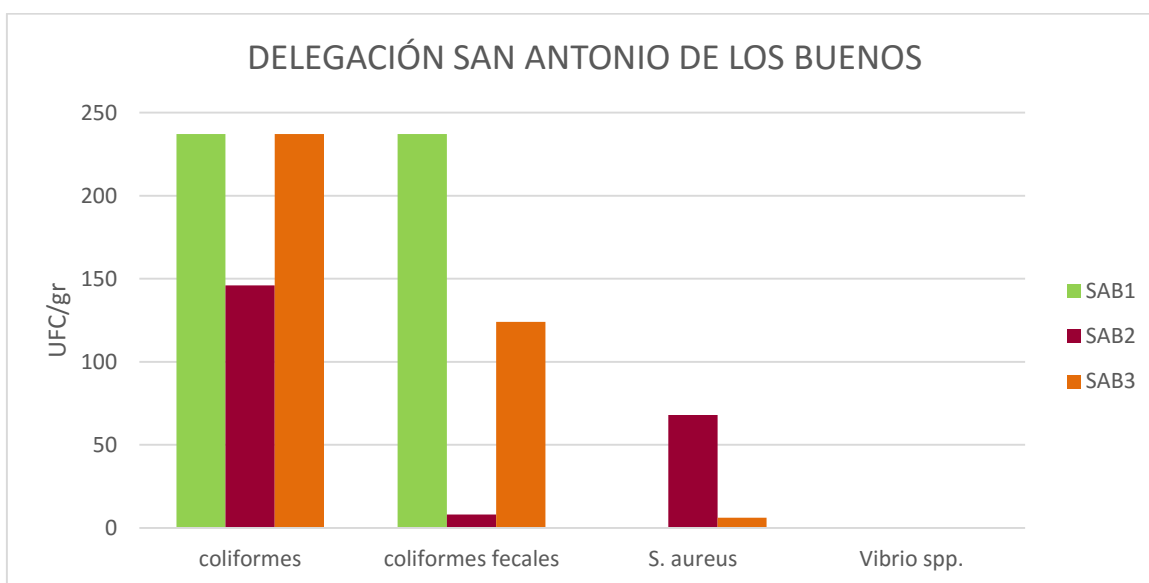
DELEGACIÓN SAN ANTONIO DE LOS BUENOS

En la Gráfica No. 21 se observa que el 67% de las muestras de la delegación San Antonio de los Buenos presentaron *Salmonella spp.*, mientras en la Gráfica No. 22 se denota que en la muestra SAB 1 hubo crecimiento incontable de coliformes totales y fecales.

Gráfica No. 21. Salmonella spp. en delegación San Antonio de los Buenos



Gráfica No. 22. Incidencia de microorganismos en delegación San Antonio de los Buenos



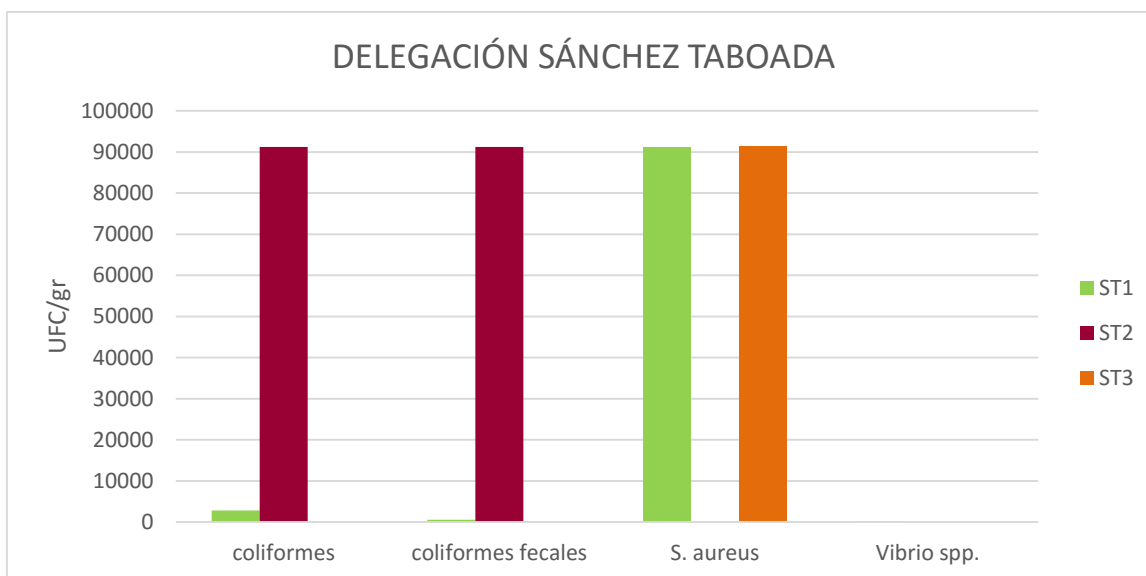
DELEGACIÓN SÁNCHEZ TABOADA

El 100% de las muestras de la delegación Sánchez Taboada presentaron *Salmonella* spp. como se aprecia en la Gráfica No. 23, además las muestras ST1 y ST3 sobrepasaron el límite de 1000 UFC/gr (Gráfica No. 24) establecidos en la norma correspondiente, mientras la muestra ST2 presentó coliformes totales y fecales incontables.

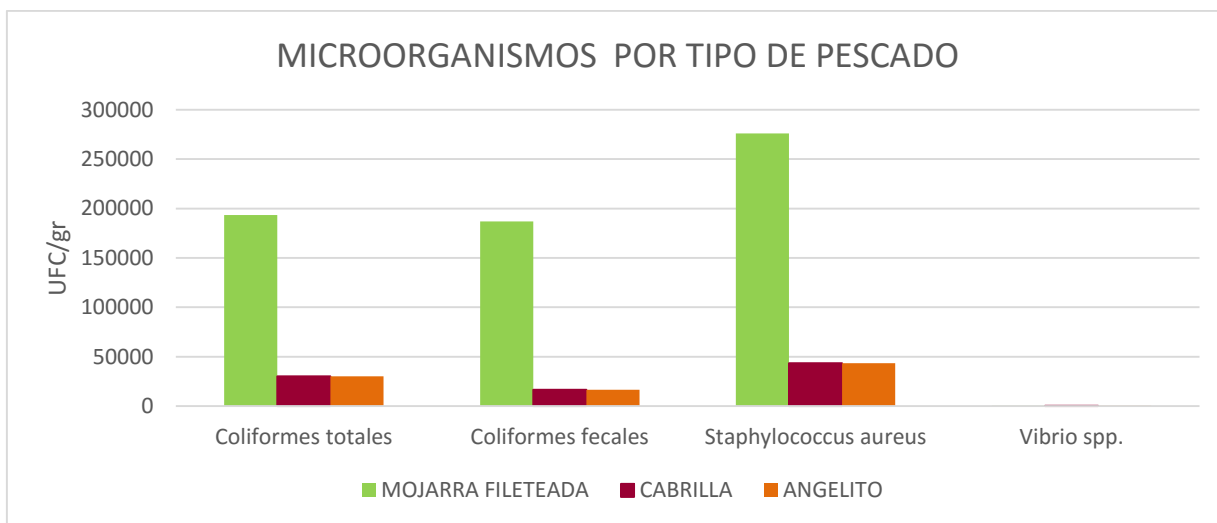
Gráfica No. 23. *Salmonella* spp. en delegación Sánchez Taboada



Gráfica No. 24. Incidencia de microorganismos en delegación Sánchez Taboada

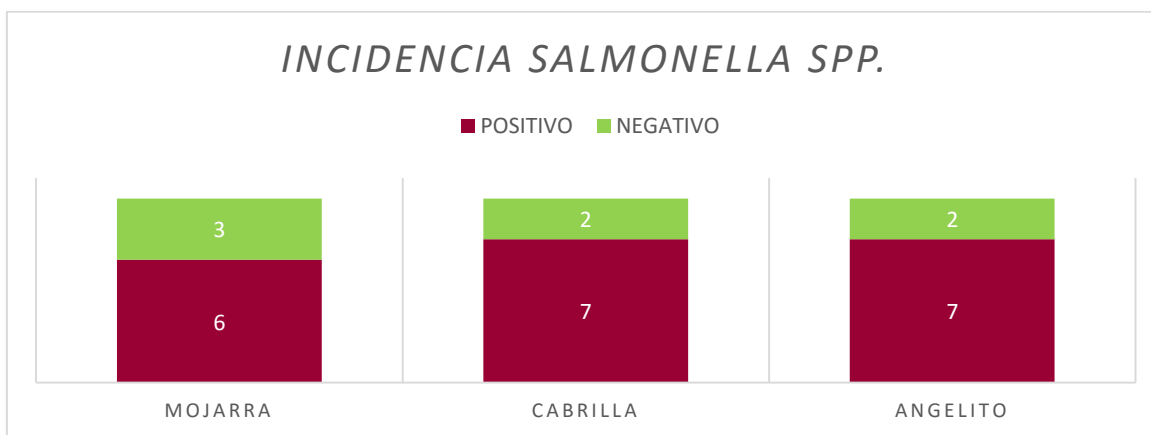


En la Gráfica No. 25 se aprecia que el pescado que presentó mayor crecimiento de microorganismos fue la Mojarra fileteada, superando considerablemente a las muestras de Cabrilla y Angelito, esto se debe a que el pescado entero contiene la mayoría de su microbiota y debido a ello existen cambios significativos en su calidad microbiológica del pescado si no se conserva adecuadamente (Huss, Quality and quality changes in fresh fish, 1995).



Los pescados con mayor incidencia de *Salmonella* spp. fueron Cabrilla y Angelito con 7 de 9 de sus muestras positivas (Gráfica No. 26). Según estudios del 2005 en Italia, está comprobado que al menos el 0.5% del total de los alimentos extraídos del mar presentan *Salmonella* spp., la incidencia de la misma ya depende de la zona de pesca (Busani L., 2005).

Gráfica No. 26. Incidencia de *Salmonella* spp. en los distintos de pescados.



CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos solo 2 de las 27 muestras analizadas en las 9 delegaciones de Tijuana aprueban todos los límites microbiológicos establecidos en las metodologías utilizadas, lo cual comprueba que el 92.6% de las muestras están por encima de los límites permisibles siendo así el pescado comercializado en expendios no fijos un riesgo de salud pública.

Se encontraron coliformes totales en el 85.4% de las muestras y coliformes fecales en el 74%, mientras el 51% de las muestras rebasaron los límites establecidos para *Staphylococcus aureus*, solo el 11.1% resulto con presencia de *Vibrio spp.* además el 74% de las muestras presento *Salmonella spp.* un patógeno causante de Enfermedades transmitidas por alimentos.

El estado de las muestras es preocupante ya que según la OMS 1 de cada 10 personas enferman cada año al ingerir alimentos contaminados y 420.000 mueren como consecuencia de estas enfermedades, por lo que el consumo de estos productos implica un riesgo potencial a la salud.

RECOMENDACIONES

Aseo adecuado de los instrumentos de pesca, transporte y venta del producto.

Mantener una temperatura adecuada (de 2 a 8°C) en el transporte y venta del pescado.

Realizar análisis de aguas costeras en el estado para determinar zonas de pesca seguras.

Evitar extraer el pescado de aguas cercanas a un desagüe o sitios de desemboque de aguas negras.

No exponer el producto al aire libre.

Es importante que las autoridades sanitarias realicen y mantengan un registro de la venta ambulante de pescado, para asegurar la calidad del mismo.

Educar a la población sobre la importancia de la higiene en alimentos y las consecuencias que podría traer la falta de ésta.

BIBLIOGRAFÍA

- Ackman, R. (1980). Fish lipids. *Advances in fish science and technology*, 86-103.
- Adams, M. M. (2008). *Food Microbiology*. Cambridge, UK.: The Royal Society of Chemistry.
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (03 de enero de 2017). ANMAT. Obtenido de ANMAT: <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>
- Anderson, S. V. (1968). Significance of Coliforms and Enterococci in Fish Products. *American Society for Microbiology*, 193-196.
- Beltrán, D. (2006). *Aprovechamiento de los productos pesqueros*. Mexicali: Universidad Autónoma de Baja California.
- Brooks, G. (2011). *Microbiología Médica*. México D. F.: Mc Graw Hill.
- Bryan, F. L. (1987). Seafood-transmitted infections and intoxications in recent years. In *Seafood Quality Determination*. Elsevier Science Publishers, 319– 337.
- Burrola, O. (2015). *El consumo de pescados y mariscos en Baja California*. Mexicali, B.C.: UABC.
- Busani L., C. A. (2005). Prevalence of Salmonella enterica and Listeria monocytogenes contamination in foods of animal origin in Italy. *Italian Journal of Food Safety*.
- Carbajal, M., & Rabelo, S. S. (2003). Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero. *Revista Cubana de salud Pública*, 121-123.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (4 de julio de 2012). CONAPESCA. Recuperado el 20 de Abril de 2016, de CONAPESCA: http://www.conapesca.gob.mx/wb/cona/nom_ssa
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2013). *Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca*. Mazatlán, Sinaloa Mexico.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2015). *Boletín Pesquero y Acuícola: Aumenta México en 2.5kg consumo per cápita*. Mexico, D.F.: CONAPESCA.
- Comisión Nacional de Pesca y Acuacultura. (2012). *Carta Nacional pesquera*. Recuperado el 07 de junio de 2016, de carta nacional pesquera: <http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2012.pdf>
- Database, F. a. (2014). FAOSTAT. Recuperado el 06 de Junio de 2016, de FAOSTAT: <http://faostat3.fao.org/download/FB/FBS/S>
- Diario Oficial de la Federación. (s.f.). *Diario oficial de la federación*. Recuperado el 15 de septiembre de 2016, de Diario oficial de la federación: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5133449&fecha=01/03/2010
- Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola . (2013). FAO. Recuperado el 05 de junio de 2016, de FAO: <http://www.fao.org/docrep/005/y7300s/y7300s08.htm>
- Food and Agriculture Organization . (2004). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura*. Recuperado el 20 de 05 de 2016, de

- Organizacion de las Naciones unidas para la Alimentación y Agricultura:
www.fao.org/3/a-y5740s/y5740s16.pdf
- Food and Agriculture Organization. (2008). *Cambios post-mortem en el pescado*. Recuperado el 06 de Junio de 2016, de Cambios post-mortem en el pescado:
<http://www.fao.org/docrep/V7180S/v7180s06.htm>
- Food and Agriculture Organization. (2014). *Examen mundial de la pesca*. Recuperado el 05 de Junio de 2016, de Examen mundial de la pesca:
<http://www.fao.org/3/a-i3720s/i3720s01.pdf>
- Franco, B. D., & Landgra, M. (2003). *MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS*. Sao Paulo: Atheneu.
- Frazier, W. C., & C., W. D. (1993). *Microbiologia de los Alimentos*. ZARAGOZA, ESPAÑA: CRIBIA, S.A.
- Huamán, D. F. (2012). *microbiología agroindustrial*. Recuperado el 06 de junio de 2016, de microbiología agroindustrial: http://www.florgarcia.com/wp-content/uploads/2012/06/microbiologia_pescado.pdf
- Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. Roma, Italia.: Food and agriculture organization of the united nations.
- Huss, H. H. (1997). *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Obtenido de ESTADISTICAS DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR PRODUCTOS PESQUEROS.:
<http://www.fao.org/docrep/003/T1768S/T1768S02.htm>
- Instituto Nacional de Pesca . (2010). *Inapesca*. Recuperado el 06 de junio de 2016, de [inapesca:
\[http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/Boletin%20de%20inapesca/4%20a%C3%B1os/BoletinNo4A_o4.pdf\]\(http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/Boletin%20de%20inapesca/4%20a%C3%B1os/BoletinNo4A_o4.pdf\)](http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/Boletin%20de%20inapesca/4%20a%C3%B1os/BoletinNo4A_o4.pdf)
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2001). *Microorganismos de los alimentos 6: ecología microbiana de los productos alimentario*. Zaragoza : Editorial ACRIBIA.
- Kim, H., Hong, Y., & J.I., J. (2016). Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available in fishery, hyper and online markets. *Letters in Applied Microbiology*, 27-34.
- Larrañaga, I. J. (1998). Control e higiene de los alimentos. En I. J. Larrañaga, *Control e higiene de los alimentos* (pág. 333). España: Mc Graw Hill.
- Murray, J. a. (1979). *The composition of fish*. Aberdeen: Tony Research Station.
- Murray, J., & R., B. J. (1969). *The Composition of Fish*.
- Muscolino, D., & Giarratana, F. (2014). Hygienic-sanitary evaluation of sushi and sashimi sold in Italy. *Italian Journal of Food Safety*.
- NOM-045-SSA2-2005. (s.f.). Norma Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica y control de las infecciones nosocomiales.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (1995). *FAO*. Recuperado el 20 de 05 de 2016, de [FAO:
<http://www.fao.org/FOCUS/S/fisheries/nutr.htm>](http://www.fao.org/FOCUS/S/fisheries/nutr.htm)
- Organizacion mundial de la Salud . (8 de Enero de 2017). *Organizacion Panamericana de la Salud*. Obtenido de Organizacion Panamericana de la salud:
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10

- 836%3A2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&catid=7678%3Ahacpp&Itemid=41432&lang=es
- Pascual, A., & Calderón, P. (2000). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Madrid: Diaz de Santos.
- Perea A., G. E. (2008). Caracterización nutricional de pescados de producción. *Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 91.
- Procuraduría Federal del Consumidor. (2011). *Brujula de compra profeco*. Recuperado el 06 de junio de 2016, de brujula de compra profeco: <http://www.profeco.gob.mx/encuesta/sondeos.asp>
- Ramírez, L. (2012). Contenido de histamina y calidad microbiológica de pescado comercializado en mazatlan . *BIOTecnia*, 1-12.
- Salud, O. P. (2015). *Los alimentos insalubres causan mas de 200 enfermedades*. Washington, D.C.: OMS.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (22 de junio de 2016). *gob.mx*. Obtenido de *gob.mx*: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/mexico-alcanza-meta-en-consumo-de-pescados-y-mariscos>
- Sikorski, Z. (1994). Sea food Proteins. En Z. Sikorski, *Sea food Proteins* (págs. 204-205). New York: CHAPMAN & HALL.
- Water Science and Technology. (2004). *Indicators for Waterborne Pathogens*. Washintong D.C.: National Academies press.

ANEXOS

ANEXO 1

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 194 fracción I de la Ley General de Salud; 2o. fracción III, 34, 37, 40 y demás aplicables del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

Comisión Nacional del Agua

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

INDUSTRIAS VINICOLAS PEDRO DOMECQ, S.A. DE C.V.

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LABORATORIO FERMI, S.A.

LABORATORIO ICCABI, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A. DE C.V. LICONSA

SIGMA ALIMENTOS, S.A. DE C.V.

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C. NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION
1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. FUNDAMENTO
3. REFERENCIAS
4. DEFINICIONES
5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
6. REACTIVOS Y MATERIALES
7. APARATOS E INSTRUMENTOS
8. PREPARACION DE LA MUESTRA
9. PROCEDIMIENTO
10. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

11. INFORME DE LA PRUEBA
12. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
13. BIBLIOGRAFIA
14. OBSERVANCIA DE LA NORMA
15. VIGENCIA

0. Introducción

El grupo de los microorganismos coliformes es el más ampliamente utilizado en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas.

El uso de los coliformes como indicador sanitario puede aplicarse para:

La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos.

La evaluación de la calidad microbiológica de un producto, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario.

Evaluación de la eficiencia de prácticas sanitarias e higiénicas del equipo.

La calidad sanitaria del agua y hielo utilizados en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos.

La demostración y la cuenta de microorganismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivos líquidos o sólidos con características selectivas o diferenciales.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el método microbiológico para determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en productos alimenticios por medio de la técnica de cuenta en placa.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Fundamento

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares.

3. Referencias

Esta Norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994 Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

NOM-110-SSA1-1994 Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

NOM-092-SSA1-1994 Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.*

4. Definiciones

Para fines de esta Norma se entiende por:

Coliformes, bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que a 35 °C fermentan la lactosa con formación de ácido, ocasionando en las colonias desarrolladas el vire del indicador rojo neutro presente en el medio y la precipitación de las sales biliares.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta Norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

h hora

g gramo

ml mililitro

l litro

mm milímetro

°C grado Celsius

% por ciento

pH potencial de hidrógeno

N normal

RVBA agar-rojo-violeta-bilis-lactosa

1/d inversa de la dilución

UFC unidades formadoras de colonias

/ por

6. Reactivos y materiales

6.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan, deben ser grado analítico y cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

6.1.1 Soluciones diluyentes

6.1.1.1 Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada)

FORMULA

INGREDIENTES CANTIDADES

Fosfato monopotásico 34,0 g

Agua 1,0 l

Preparación:

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1,0 N.

Llevar con agua a un litro.

Esterilizar a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. Conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a un litro con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar durante 15 minutos a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2 Agua peptonada

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
--------------	------------

Peptona	1,0 g
---------	-------

NaCl	8,5 g
------	-------

Agua	1,0 l
------	-------

Preparación:

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a 7,0 con hidróxido de sodio 1,0 N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml o en cualquier volumen múltiplo de nueve según se requiera.

Esterilizar durante 15 minutos a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

Después de la esterilización, los volúmenes finales de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

Si este diluyente no es usado inmediatamente, almacenar en lugar oscuro a una temperatura entre 0 a 5°C por un tiempo no mayor de un mes, en condiciones tales que no alteren su volumen o composición.

6.1.2 Medio de cultivo

Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA)

FORMULA

INGREDIENTES CANTIDADES

Peptona 7,0 g

Extracto de levadura 3,0 g

Lactosa 10,0 g

Sales biliares 1,5 g

Cloruro de sodio 5,0 g

Rojo neutro 0,03 g

Cristal violeta 0,002 g

Agar 15,0 g

Agua 1,0 l

Preparación:

Mezclar los componentes en el agua y dejar reposar durante algunos minutos.

Mezclar perfectamente y ajustar el pH a 7,4 con ácido clorhídrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N a 25°C, de forma que después del calentamiento se mantenga en este valor.

Calentar con agitación constante y hervir durante 2 minutos.

Enfriar inmediatamente el medio en un baño de agua hasta que llegue a 45°C.

Evitar el sobrecalentamiento del medio.

No debe esterilizarse en autoclave.

Usar el medio dentro de las tres primeras horas después de su preparación.

En el caso de utilizar medio de cultivo deshidratado, seguir las instrucciones del fabricante.

6.2 Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 11 y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 X 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Cajas Petri.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h a 170 - 175°C, o 1 h a 180°C; o en autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

7. Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de $0,1^\circ\text{C}$ y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Licuada de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher).

Vasos para licuadora con tapa esterilizables o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico.

Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0^\circ\text{C}$, provista con termómetro calibrado.

Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador.

Registrador mecánico o electrónico.

Microscopio óptico.

Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25°C .

8. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico".

9. Procedimiento

9.1 Colocar en cajas Petri por duplicado 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril.

9.2 Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.

9.3 Vertir de 15 a 20 ml del medio RVBA fundido y mantenido a $45 \pm 1,0^\circ\text{C}$ en baño de agua. En el caso de utilizar cajas de Petri de plástico se vierte de 10 a 15 ml del medio. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.

9.4 Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido

contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Permitir que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.

9.5 Preparar una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad.

9.6 Después de que está el medio completamente solidificado en la caja, verter aproximadamente 4 ml del medio RVBA a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en la superficie del medio inoculado. Dejar que solidifique.

9.7 Invertir las placas y colocarlas en la incubadora a 35°C , durante 24 ± 2 horas.

9.8 Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias con el contador de colonias.

9.9 Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.

10. Expresión de los resultados

10.1 Cálculo del método

10.1.1 Placas que contienen entre 15 y 150 colonias características.

Separar las placas que contienen el número antes mencionado de colonias características en dos diluciones consecutivas. Contar las colonias presentes. Calcular el número de coliformes por mililitro o por gramo de producto, multiplicando el número de colonias por el inverso de la dilución correspondiente, tomando los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.

10.1.2 Placas que contienen menos de 15 colonias características.

Si cada una de las placas tiene menos de 15 colonias características, reportar el número obtenido seguido de la dilución correspondiente.

10.1.3 Placas con colonias no características.

Si en las placas no hay colonias características, reportar el resultado como: menos de un coliforme por 1/d por gramo, en donde d es el factor de dilución.

11. Informe de la prueba

Informar: UFC/g o ml en placa de agar rojo violeta bilis, incubados a 35°C durante 24 ± 2 h.

En caso de emplear diluciones y no observar crecimiento, informar utilizando como referencia la dilución más baja utilizada, por ejemplo dilución 10-1.

En caso de no observar crecimiento en la muestra sin diluir se informa: "no desarrollo de coliformes por ml".

12. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma no tiene concordancia con normas internacionales.

13. Bibliografía

13.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

13.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

13.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

13.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-008-SCFI-1993. Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida. México, D.F.

13.5 International Organization for Standardization. 1991: "Norma ISO 4832-1991. Microbiology-General Guidance for the Enumeration of Coliforms- Colony Count Technique".

13.6 Food and Drugs Administration. 1984: "Bacteriological Analytical Manual". Bureau of Foods. Division of Microbiology. 6a Ed. Washington D.C.

13.7 Secretaría de Salud. Laboratorio Nacional de Salud Pública: "Manuales para la determinación de organismos coliformes totales". México, D.F.

13.8 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1981. NORMA-Z-013/02: "Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas". México, D.F.

14. Observancia de la Norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente Norma corresponde a la Secretaría de Salud.

15. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatorio a los 30 días siguientes a partir de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.

ANEXO 2

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-115-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN ALIMENTOS.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 194 fracción I de la Ley General de Salud; 2o. fracción III, 34, 37, 40 y los demás aplicables del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

Comisión Nacional del Agua

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LABORATORIO FERMI, S.A.

LABORATORIO ICCABI, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A DE C.V. LICONSA

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.

NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION
1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. FUNDAMENTO
3. REFERENCIAS
4. DEFINICIONES
5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
6. REACTIVOS Y MATERIALES
7. APARATOS
8. PREPARACION DE LA MUESTRA
9. PROCEDIMIENTO
10. CALCULO Y EXPRESION DE RESULTADOS
11. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
12. BIBLIOGRAFIA
13. OBSERVANCIA DE LA NORMA
14. VIGENCIA

0. Introducción

El crecimiento de *Staphylococcus aureus* en alimentos tiene gran importancia por tratarse de un microorganismo capaz de producir una poderosa enterotoxina que al ingerirse causa intoxicaciones alimentarias.

Entre las razones para determinar el *Staphylococcus aureus* en alimentos están:

Confirmar la presencia de este microorganismo como agente causal de una enfermedad de origen alimentario.

Determinar si un alimento o ingrediente es fuente potencial de este microorganismo enterotoxigénico.

Demostrar la contaminación postproceso la cual es usualmente debida a contacto humano o con superficies inadecuadamente sanitizadas.

Los alimentos sujetos a contaminación postproceso con tipos enterotoxigénicos de *Staphylococcus aureus* representan un riesgo por la ausencia de flora competitiva que normalmente restringe el crecimiento del *Staphylococcus aureus* y la producción de enterotoxinas.

Este tipo de alimentos se vuelven más peligrosos, si además son sujetos a un inadecuado manejo o son mantenidos a temperaturas de conservación inapropiadas.

Los alimentos perecederos tales como: carnes crudas y procesadas, ensaladas, productos de pastelería y productos de leche, son los más comúnmente asociados con intoxicación estafilocócica.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el método microbiológico para determinar la cuenta de *Staphylococcus aureus* presente en alimentos nacionales o de importación.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en alimentos, para fines oficiales.

2. Fundamento

Este método permite hacer una estimación del contenido de *Staphylococcus aureus* en alimentos, se efectúa directamente en placas de medio de cultivo selectivo y diferencial, con la confirmación mediante las pruebas de coagulasa y termonucleasa.

Este método es adecuado para el análisis de alimentos en los cuales se esperen más de 100 células de *Staphylococcus aureus* por g.

3. Referencias

Esta norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994 Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

NOM-110-SSA1-1994 Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

4. Definiciones

Para fines de esta norma se entiende por:

Staphylococcus aureus, microorganismo que se desarrolla en medios de cultivo selectivo y diferencial, que es capaz de dar positiva la prueba de coagulasa y termonucleasa.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

kg	kilogramo
cm ²	centímetro cuadrado
g	gramo
l	litro
ml	mililitro
cm	centímetro
mm	milímetro
h	hora
min	minuto
seg	segundo
°C	grados Celsius
N	normal
M	molar
PM	peso molecular
pH	potencial de hidrógeno
±	más o menos
%	por ciento
/	por
µm	micrómetro
UFC	unidades formadoras de colonias

6. Reactivos y materiales

En caso de disponerse de fórmulas comerciales deshidratadas, para su preparación se deben seguir las instrucciones impresas en la etiqueta respectiva.

Cuando se mencione agua debe entenderse que se trata de "agua destilada".

Los reactivos a emplear en el método objeto de esta norma deben ser grado analítico.

6.1 Reactivos

6.1.1 Soluciones diluyentes

6.1.1.1 Solución reguladora de fosfatos (Solución concentrada)

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Fosfato monopotásico	34,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1 N, aforar con agua a 1 l.

Esterilizar durante 15 min a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$, conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a 1 l con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 min.

Después de la esterilización, los volúmenes finales y el pH de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2 Agua peptonada

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Peptona	1,0 g
Cloruro de sodio	8,5 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a 7,0 con solución de hidróxido de sodio 1N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 min.

Después de la esterilización los volúmenes finales y el pH de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.2 Medios de cultivo

6.1.2.1 Medio de Baird-Parker

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Medio base (6.1.2.1.1)	95,0 ml
Solución de telurito de potasio (6.1.2.1.2)	1,0 ml
Emulsión de yema de huevo (6.1.2.1.3)	5,0 ml

Preparación

Cuando el medio base esté a 45°C, agregar los demás ingredientes y mezclar.

Colocar de 15 a 20 ml del medio completo, enfriar y dejar solidificar.

Las placas pueden almacenarse por 48 h a temperatura de 0 a 5°C.

6.1.2.1.1 Medio base de Baird-Parker

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Tryptona	10,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Extracto de carne	5,0 g
Glicina	12,0 g
Cloruro de litio	5,0 g
Piruvato de sodio	10,0 g
Agar	20,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los ingredientes o el agar base en agua y calentar con agitación constante y hervir durante 1 min. Esterilizar a 121°C $\pm$ 1 durante 15 min.

Enfriar y mantener el medio a 45°C.

6.1.2.1.2 Solución de telurito

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Telurito de potasio	1,0 g
Agua	100,0 ml

Preparación

Disolver el telurito de potasio en agua y esterilizar.

La solución puede ser almacenada por varios meses a temperatura de 0 a 5°C.

6.1.2.1.3 Emulsión de yema de huevo

Preparación

Lavar con agua y jabón los huevos frescos que sean necesarios y limpiarlos con una solución de tintura de yodo (solución alcohólica al 2%) o sumergirlos en solución de cloruro mercúrico (1:1000). Enjuagar con agua estéril y secar con gasa estéril.

En campana de flujo laminar o en condiciones asépticas, abrir los huevos y vaciarlos en un separador de claras estéril. Transferir las yemas a una probeta hasta un volumen de 60 ml y completar a 90 ml con solución salina isotónica.

Verter la emulsión a un matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio estéril y agitar fuertemente para formar la emulsión.

Filtrar a través de gasa.

Las placas deben utilizarse dentro de las 48 h siguientes a su preparación.

6.1.2.1.4 Solución salina isotónica

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Cloruro de sodio	0,85 g
Agua	100,0 ml

Preparación

Disolver el ingrediente en agua y esterilizar a 121°C ±1 durante 15 min.

6.1.2.2 Caldo de infusión cerebro-corazón (BHI)

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Infusión de cerebro de ternera	200,0 ml
Infusión de corazón de res	250,0 ml
Peptona de gelatina	10,0 g

Cloruro de sodio	5,0 g
Fosfato disódico dodecahidratado	2,5 g
Glucosa	2,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los ingredientes en agua y calentar ligeramente si es necesario.

Distribuir y esterilizar durante 15 min a 121°C ±1.

6.1.2.3 Acido desoxirribonucleico helicoidal de timo de ternera.

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Acido desoxirribonucleico helicoidal de timo de ternera o equivalente	0,03 g
Agar	1,00 g
Cloruro de calcio anhidro (Solución 0,01 M) (6.1.2.3.1)	0,10 ml
Cloruro de sodio	1,00 g
Azul de toluidina (Solución 0,1 M) (6.1.2.3.2)	0,30 ml
Tris-(hidroximetil-aminometano) (Tris solución 0,05 M, pH 9) (6.1.2.3.3)	100,00 ml

Preparación

Disolver los ingredientes, excepto el azul de toluidina agitando hasta completar la disolución del ácido desoxirribonucleico y calentar a ebullición.

Agregar el azul de toluidina. Distribuir en frascos pequeños con tapón de hule. No es necesario esterilizar.

Este medio es estable a temperatura ambiente hasta 4 meses y funciona perfectamente aun después de fundirlo varias veces.

Tomar un porta objetos limpio y agregar 3 ml del medio fundido esparciéndolo por la superficie.

Cuando el agar solidifique, hacer orificios con la punta de una pipeta Pasteur.

Conservar en refrigeración para evitar la deshidratación.

6.1.2.3.1 Solución de cloruro de calcio anhidro 0,01 M

Cloruro de calcio PM = 110,99

Disolver 0,1199 g de cloruro de calcio en 100 ml de agua.

6.1.2.3.2 Solución de azul de toluidina 0,1 M

Disolver 3,05 g de azul de toluidina en 100 ml de agua.

6.1.2.3.3 Solución amortiguadora 0,05 M Tris-(hidroximetilaminometano)

(Tris pH 9) PM = 121,1

Disolver 6,055 g de Tris en 100 ml de agua.

6.1.3 Reactivo biológico:

Plasma de conejo

Emplear plasma de conejo deshidratado o rehidratado siguiendo las instrucciones del fabricante y agregar ácido etilendiaminotetracético (EDTA) en solución al 0,1% en plasma rehidratado. Si se utiliza plasma deshidratado diluir con agua estéril en proporción de 1:3.

Puede emplearse plasma de conejo liofilizado adicionado de EDTA. No debe emplearse sangre citratada.

6.2 Materiales

Todos los instrumentos que se utilicen para trabajar la muestra deben esterilizarse mediante horno, durante 2 h de 170-175°C o como alternativa en autoclave durante 15 min como mínimo a 121°C $\pm$ 1.

Cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas y separador de huevo.

Tubos de cultivo de 16 mm x 150 mm o frascos de 125 a 250 ml de capacidad.

Tubos de cultivo de 10 mm x 75 mm.

Cajas Petri de 90 a 100 mm de diámetro.

Pipetas bacteriológicas de 1 ml y 10 ml de capacidad graduadas en 0,1 ml y 1 ml respectivamente y diámetro de 2 a 3 mm.

Pipetas Pasteur.

Probetas.

Varillas de vidrio de 3,5 mm de diámetro aproximadamente y 20 cm de largo dobladas en ángulo recto.

Matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio

Cámara húmeda: consiste en una caja Petri en la cual se coloca una varilla de vidrio en forma de "V" rodeada de algodón humedecido con agua.

7. Aparatos

Horno para esterilizar que alcance 180°C.

Autoclave con termómetro.

Baño de agua con regulador de temperatura de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Baño de agua con regulador de temperatura de $45 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Balanza con capacidad no mayor de 2,500 g y sensibilidad de 0,1 g.

Incubadora a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

8. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se debe realizar de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico".

9. Procedimiento

9.1 Utilizando diferentes pipetas de 1 ml para cada dilución, depositar 0,1 ml sobre la superficie de las placas de agar Baird-Parker.

9.2 Distribuir el inóculo sobre la superficie del agar con varillas estériles de vidrio en ángulo recto, utilizando una para cada dilución.

9.3 Mantener las placas en su posición hasta que el inóculo sea absorbido por el agar.

9.4 Invertir las placas e incubar de 45 a 48 h a 35°C.

9.5 Seleccionar las placas que tengan entre 15 y 150 colonias típicas de *Staphylococcus aureus*; si no es posible, seleccionar las placas de las diluciones más altas no obstante tengan más de 150 colonias.

9.6 Cuando las placas tengan menos de 15 colonias típicas también pueden ser utilizadas y al informe se debe agregar la nota de "valor estimado".

9.7 Las colonias típicas son negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2 mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia.

9.8 Seleccionar las colonias de acuerdo con el siguiente cuadro para realizar las pruebas de coagulasa y termonucleasa:

CUADRO

NUMERO DE COLONIAS	NUMERO DE COLONIAS
SOSPECHOSAS EN PLACA	POR PROBAR
Menos de 50	3

51 a 100 5

101 a 150 o más 7

9.9 Seleccionar el número de colonias y sembrar cada una en tubos con 0,5 ml de caldo de infusión cerebro-corazón.

9.10 Incubar a 35°C durante 24 h.

9.11 Inocular en la misma forma cepas conocidas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* como testigos positivo y negativo.

9.12 Después del periodo de incubación pasar con una pipeta de 1 ml, 0,3 ml de cada cultivo a otro tubo de 10 mm x 75 mm y conservarlo para la prueba de termonucleasa. El resto del cultivo se usa para la prueba de coagulasa.

9.13 Prueba de coagulasa

9.13.1 Agregar a los 0,2 ml del cultivo anterior, 0,2 ml de plasma de conejo diluido volumen a volumen con solución salina estéril.

9.13.2 Incubar en baño de agua de 35 a 37°C y observar durante 6 h a intervalos de 1 h; si no hay formación de coágulo, observar a las 24 h. Considerar positiva la prueba si hay formación de coágulo.

Para comprobar la coagulabilidad del plasma de conejo se añade una gota de cloruro de calcio al 5% a 0,5 ml de plasma reconstituido empleado, formándose un coágulo en 10-15 seg.

9.14 Prueba de termonucleasa

9.14.1 Calentar durante 15 min, 0,3 ml de cultivo en caldo de infusión cerebro-corazón en baño de agua hirviendo.

9.14.2 Pasar una gota de cada cultivo por medio de una pipeta Pasteur a un orificio del medio, incluye testigo.

9.14.3 Incubar a 35°C en cámara húmeda de 4 a 24 h.

9.14.4 La aparición de un halo color rosa extendido de por lo menos 1 mm alrededor de la perforación se califica como positiva.

10. Cálculo y expresión de resultados

10.1 Cálculo

Hacer el cálculo del contenido de microorganismos en el producto tomando en cuenta el número de colonias totales, el número de colonias confirmadas, la dilución y el volumen inoculado (0,1 ml).

Ejemplo 1:

Si la caja tiene 80 colonias en la dilución 1:1000

Se toman 5 colonias para la prueba, de éstas dan 4 positivas, el cálculo es:

$$80 \times 4 = 64 \times 1000 \times 10 = 640\,000$$

5

Ejemplo 2:

Si la caja tiene 14 colonias en la dilución 1:10

Se toman 3 colonias para la prueba, de éstas dan 2 positivas, el cálculo es:

$$14 \times 2 = 9,3 \times 10 \times 10 = 930$$

3

10.2 Expresión de los resultados:

Según ejemplo 1:

Informar como *Staphylococcus aureus* 640 000 UFC/g

Según ejemplo 2:

Informar como *Staphylococcus aureus* 930 UFC/g valor estimado

Si las pruebas confirmativas resultan negativas en todas las colonias probadas, informar como:

0 UFC/g en muestras directas

-10 UFC/g en muestras de dilución 1:10

-100 UFC/g en muestras de dilución 1:100

En la práctica los resultados pueden variar, esto dependerá del técnico que trabaje el método y el grado de confiabilidad del mismo, que en el 95% de los casos es de $\pm 16\%$ a $\pm 52\%$.

11. Concordancia con normas internacionales

Esta norma no tiene concordancia con normas internacionales.

12. Bibliografía

12.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.2 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.3 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1993. NOM-008-SCFI-1993 Sistema General de Unidades de Medida. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.4 Food and Drug Administration. 1978. Bacteriological Analytical Manual. 6th ed. Cap. XI p.p 4-5.

12.5 Koneman E./Stephen D. Diagnóstico Microbiológico. 3ra. ed. Editorial Médica Panamericana Uruguay. p.p. 295

12.6 Secretaría de Salud. Manual para la determinación de Staphylococcus aureus. Laboratorio Nacional de Salud Pública. México, D.F. p.p. 12-14 y 26-28.

12.7 NORMA ISO. 6888. 1983. General Guidance for the Enumeration of Staphylococcus aureus-Colony Count Technique. International Organization for Standardization

12.8 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1981

NORMA-Z-013/02. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas. México, D.F.

12.9 Poelman L.P./Silleker H.J. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Staphylococcus aureus. 2nd ed. Ed. American Public Health Association. Washington, D.C.

13. Observancia de la Norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente norma corresponde a la Secretaría de Salud.

14. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatoria a partir de los treinta días siguientes a su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.

ANEXO 3

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-115-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN ALIMENTOS.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 194 fracción I de la Ley General de Salud; 2o. fracción III, 34, 37, 40 y los demás aplicables del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA Y DESARROLLO RURAL

Comisión Nacional del Agua

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LABORATORIO FERMI, S.A.

LABORATORIO ICCABI, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A DE C.V. LICONSA

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.

NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION
1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. FUNDAMENTO
3. REFERENCIAS
4. DEFINICIONES
5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
6. REACTIVOS Y MATERIALES
7. APARATOS
8. PREPARACION DE LA MUESTRA
9. PROCEDIMIENTO
10. CALCULO Y EXPRESION DE RESULTADOS
11. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
12. BIBLIOGRAFIA
13. OBSERVANCIA DE LA NORMA
14. VIGENCIA

0. Introducción

El crecimiento de *Staphylococcus aureus* en alimentos tiene gran importancia por tratarse de un microorganismo capaz de producir una poderosa enterotoxina que al ingerirse causa intoxicaciones alimentarias.

Entre las razones para determinar el *Staphylococcus aureus* en alimentos están:

Confirmar la presencia de este microorganismo como agente causal de una enfermedad de origen alimentario.

Determinar si un alimento o ingrediente es fuente potencial de este microorganismo enterotoxigénico.

Demostrar la contaminación postproceso la cual es usualmente debida a contacto humano o con superficies inadecuadamente sanitizadas.

Los alimentos sujetos a contaminación postproceso con tipos enterotoxigénicos de *Staphylococcus aureus* representan un riesgo por la ausencia de flora competitiva que normalmente restringe el crecimiento del *Staphylococcus aureus* y la producción de enterotoxinas.

Este tipo de alimentos se vuelven más peligrosos, si además son sujetos a un inadecuado manejo o son mantenidos a temperaturas de conservación inapropiadas.

Los alimentos perecederos tales como: carnes crudas y procesadas, ensaladas, productos de pastelería y productos de leche, son los más comúnmente asociados con intoxicación estafilocócica.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el método microbiológico para determinar la cuenta de *Staphylococcus aureus* presente en alimentos nacionales o de importación.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en alimentos, para fines oficiales.

2. Fundamento

Este método permite hacer una estimación del contenido de *Staphylococcus aureus* en alimentos, se efectúa directamente en placas de medio de cultivo selectivo y diferencial, con la confirmación mediante las pruebas de coagulasa y termonucleasa.

Este método es adecuado para el análisis de alimentos en los cuales se esperen más de 100 células de *Staphylococcus aureus* por g.

3. Referencias

Esta norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994 Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

NOM-110-SSA1-1994 Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

4. Definiciones

Para fines de esta norma se entiende por:

Staphylococcus aureus, microorganismo que se desarrolla en medios de cultivo selectivo y diferencial, que es capaz de dar positiva la prueba de coagulasa y termonucleasa.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

kg	kilogramo
cm ²	centímetro cuadrado
g	gramo
l	litro
ml	mililitro
cm	centímetro
mm	milímetro
h	hora
min	minuto
seg	segundo
°C	grados Celsius
N	normal
M	molar
PM	peso molecular
pH	potencial de hidrógeno
±	más o menos
%	por ciento
/	por
µm	micrómetro
UFC	unidades formadoras de colonias

6. Reactivos y materiales

En caso de disponerse de fórmulas comerciales deshidratadas, para su preparación se deben seguir las instrucciones impresas en la etiqueta respectiva.

Cuando se mencione agua debe entenderse que se trata de "agua destilada".

Los reactivos a emplear en el método objeto de esta norma deben ser grado analítico.

6.1 Reactivos

6.1.1 Soluciones diluyentes

6.1.1.1 Solución reguladora de fosfatos (Solución concentrada)

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Fosfato monopotásico	34,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1 N, aforar con agua a 1 l.

Esterilizar durante 15 min a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$, conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a 1 l con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 min.

Después de la esterilización, los volúmenes finales y el pH de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2 Agua peptonada

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Peptona	1,0 g
Cloruro de sodio	8,5 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a 7,0 con solución de hidróxido de sodio 1N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 min.

Después de la esterilización los volúmenes finales y el pH de la solución de trabajo deben ser iguales a los iniciales.

6.1.2 Medios de cultivo

6.1.2.1 Medio de Baird-Parker

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Medio base (6.1.2.1.1)	95,0 ml
Solución de telurito de potasio (6.1.2.1.2)	1,0 ml
Emulsión de yema de huevo (6.1.2.1.3)	5,0 ml

Preparación

Cuando el medio base esté a 45°C, agregar los demás ingredientes y mezclar.

Colocar de 15 a 20 ml del medio completo, enfriar y dejar solidificar.

Las placas pueden almacenarse por 48 h a temperatura de 0 a 5°C.

6.1.2.1.1 Medio base de Baird-Parker

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Tryptona	10,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Extracto de carne	5,0 g
Glicina	12,0 g
Cloruro de litio	5,0 g
Piruvato de sodio	10,0 g
Agar	20,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los ingredientes o el agar base en agua y calentar con agitación constante y hervir durante 1 min. Esterilizar a 121°C ±1 durante 15 min.

Enfriar y mantener el medio a 45°C.

6.1.2.1.2 Solución de telurito

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Telurito de potasio	1,0 g
Agua	100,0 ml

Preparación

Disolver el telurito de potasio en agua y esterilizar.

La solución puede ser almacenada por varios meses a temperatura de 0 a 5°C.

6.1.2.1.3 Emulsión de yema de huevo

Preparación

Lavar con agua y jabón los huevos frescos que sean necesarios y limpiarlos con una solución de tintura de yodo (solución alcohólica al 2%) o sumergirlos en solución de cloruro mercúrico (1:1000). Enjuagar con agua estéril y secar con gasa estéril.

En campana de flujo laminar o en condiciones asépticas, abrir los huevos y vaciarlos en un separador de claras estéril. Transferir las yemas a una probeta hasta un volumen de 60 ml y completar a 90 ml con solución salina isotónica.

Verter la emulsión a un matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio estéril y agitar fuertemente para formar la emulsión.

Filtrar a través de gasa.

Las placas deben utilizarse dentro de las 48 h siguientes a su preparación.

6.1.2.1.4 Solución salina isotónica

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Cloruro de sodio	0,85 g
Agua	100,0 ml

Preparación

Disolver el ingrediente en agua y esterilizar a 121°C ±1 durante 15 min.

6.1.2.2 Caldo de infusión cerebro-corazón (BHI)

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Infusión de cerebro de ternera	200,0 ml
Infusión de corazón de res	250,0 ml
Peptona de gelatina	10,0 g

Cloruro de sodio	5,0 g
Fosfato disódico dodecahidratado	2,5 g
Glucosa	2,0 g
Agua	1,0 l

Preparación

Disolver los ingredientes en agua y calentar ligeramente si es necesario.

Distribuir y esterilizar durante 15 min a 121°C ±1.

6.1.2.3 Acido desoxirribonucleico helicoidal de timo de ternera.

FORMULA

Ingredientes	Cantidad
Acido desoxirribonucleico helicoidal de timo de ternera o equivalente	0,03 g
Agar	1,00 g
Cloruro de calcio anhidro (Solución 0,01 M) (6.1.2.3.1)	0,10 ml
Cloruro de sodio	1,00 g
Azul de toluidina (Solución 0,1 M) (6.1.2.3.2)	0,30 ml
Tris-(hidroximetil-aminometano) (Tris solución 0,05 M, pH 9) (6.1.2.3.3)	100,00 ml

Preparación

Disolver los ingredientes, excepto el azul de toluidina agitando hasta completar la disolución del ácido desoxirribonucleico y calentar a ebullición.

Agregar el azul de toluidina. Distribuir en frascos pequeños con tapón de hule. No es necesario esterilizar.

Este medio es estable a temperatura ambiente hasta 4 meses y funciona perfectamente aun después de fundirlo varias veces.

Tomar un porta objetos limpio y agregar 3 ml del medio fundido esparciéndolo por la superficie.

Cuando el agar solidifique, hacer orificios con la punta de una pipeta Pasteur.

Conservar en refrigeración para evitar la deshidratación.

6.1.2.3.1 Solución de cloruro de calcio anhidro 0,01 M

Cloruro de calcio PM = 110,99

Disolver 0,1199 g de cloruro de calcio en 100 ml de agua.

6.1.2.3.2 Solución de azul de toluidina 0,1 M

Disolver 3,05 g de azul de toluidina en 100 ml de agua.

6.1.2.3.3 Solución amortiguadora 0,05 M Tris-(hidroximetilaminometano)

(Tris pH 9) PM = 121,1

Disolver 6,055 g de Tris en 100 ml de agua.

6.1.3 Reactivo biológico:

Plasma de conejo

Emplear plasma de conejo deshidratado o rehidratado siguiendo las instrucciones del fabricante y agregar ácido etilendiaminotetracético (EDTA) en solución al 0,1% en plasma rehidratado. Si se utiliza plasma deshidratado diluir con agua estéril en proporción de 1:3.

Puede emplearse plasma de conejo liofilizado adicionado de EDTA. No debe emplearse sangre citratada.

6.2 Materiales

Todos los instrumentos que se utilicen para trabajar la muestra deben esterilizarse mediante horno, durante 2 h de 170-175°C o como alternativa en autoclave durante 15 min como mínimo a 121°C $\pm$ 1.

Cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas y separador de huevo.

Tubos de cultivo de 16 mm x 150 mm o frascos de 125 a 250 ml de capacidad.

Tubos de cultivo de 10 mm x 75 mm.

Cajas Petri de 90 a 100 mm de diámetro.

Pipetas bacteriológicas de 1 ml y 10 ml de capacidad graduadas en 0,1 ml y 1 ml respectivamente y diámetro de 2 a 3 mm.

Pipetas Pasteur.

Probetas.

Varillas de vidrio de 3,5 mm de diámetro aproximadamente y 20 cm de largo dobladas en ángulo recto.

Matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio

Cámara húmeda: consiste en una caja Petri en la cual se coloca una varilla de vidrio en forma de "V" rodeada de algodón humedecido con agua.

7. Aparatos

Horno para esterilizar que alcance 180°C.

Autoclave con termómetro.

Baño de agua con regulador de temperatura de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Baño de agua con regulador de temperatura de $45 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Balanza con capacidad no mayor de 2,500 g y sensibilidad de 0,1 g.

Incubadora a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

8. Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se debe realizar de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico".

9. Procedimiento

9.1 Utilizando diferentes pipetas de 1 ml para cada dilución, depositar 0,1 ml sobre la superficie de las placas de agar Baird-Parker.

9.2 Distribuir el inóculo sobre la superficie del agar con varillas estériles de vidrio en ángulo recto, utilizando una para cada dilución.

9.3 Mantener las placas en su posición hasta que el inóculo sea absorbido por el agar.

9.4 Invertir las placas e incubar de 45 a 48 h a 35°C .

9.5 Seleccionar las placas que tengan entre 15 y 150 colonias típicas de *Staphylococcus aureus*; si no es posible, seleccionar las placas de las diluciones más altas no obstante tengan más de 150 colonias.

9.6 Cuando las placas tengan menos de 15 colonias típicas también pueden ser utilizadas y al informe se debe agregar la nota de "valor estimado".

9.7 Las colonias típicas son negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2 mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia.

9.8 Seleccionar las colonias de acuerdo con el siguiente cuadro para realizar las pruebas de coagulasa y termonucleasa:

CUADRO

NUMERO DE COLONIAS	NUMERO DE COLONIAS
SOSPECHOSAS EN PLACA	POR PROBAR
Menos de 50	3

51 a 100 5

101 a 150 o más 7

9.9 Seleccionar el número de colonias y sembrar cada una en tubos con 0,5 ml de caldo de infusión cerebro-corazón.

9.10 Incubar a 35°C durante 24 h.

9.11 Inocular en la misma forma cepas conocidas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* como testigos positivo y negativo.

9.12 Después del periodo de incubación pasar con una pipeta de 1 ml, 0,3 ml de cada cultivo a otro tubo de 10 mm x 75 mm y conservarlo para la prueba de termonucleasa. El resto del cultivo se usa para la prueba de coagulasa.

9.13 Prueba de coagulasa

9.13.1 Agregar a los 0,2 ml del cultivo anterior, 0,2 ml de plasma de conejo diluido volumen a volumen con solución salina estéril.

9.13.2 Incubar en baño de agua de 35 a 37°C y observar durante 6 h a intervalos de 1 h; si no hay formación de coágulo, observar a las 24 h. Considerar positiva la prueba si hay formación de coágulo.

Para comprobar la coagulabilidad del plasma de conejo se añade una gota de cloruro de calcio al 5% a 0,5 ml de plasma reconstituido empleado, formándose un coágulo en 10-15 seg.

9.14 Prueba de termonucleasa

9.14.1 Calentar durante 15 min, 0,3 ml de cultivo en caldo de infusión cerebro-corazón en baño de agua hirviendo.

9.14.2 Pasar una gota de cada cultivo por medio de una pipeta Pasteur a un orificio del medio, incluye testigo.

9.14.3 Incubar a 35°C en cámara húmeda de 4 a 24 h.

9.14.4 La aparición de un halo color rosa extendido de por lo menos 1 mm alrededor de la perforación se califica como positiva.

10. Cálculo y expresión de resultados

10.1 Cálculo

Hacer el cálculo del contenido de microorganismos en el producto tomando en cuenta el número de colonias totales, el número de colonias confirmadas, la dilución y el volumen inoculado (0,1 ml).

Ejemplo 1:

Si la caja tiene 80 colonias en la dilución 1:1000

Se toman 5 colonias para la prueba, de éstas dan 4 positivas, el cálculo es:

$$80 \times 4 = 64 \times 1000 \times 10 = 640\,000$$

5

Ejemplo 2:

Si la caja tiene 14 colonias en la dilución 1:10

Se toman 3 colonias para la prueba, de éstas dan 2 positivas, el cálculo es:

$$14 \times 2 = 9,3 \times 10 \times 10 = 930$$

3

10.2 Expresión de los resultados:

Según ejemplo 1:

Informar como *Staphylococcus aureus* 640 000 UFC/g

Según ejemplo 2:

Informar como *Staphylococcus aureus* 930 UFC/g valor estimado

Si las pruebas confirmativas resultan negativas en todas las colonias probadas, informar como:

0 UFC/g en muestras directas

-10 UFC/g en muestras de dilución 1:10

-100 UFC/g en muestras de dilución 1:100

En la práctica los resultados pueden variar, esto dependerá del técnico que trabaje el método y el grado de confiabilidad del mismo, que en el 95% de los casos es de $\pm 16\%$ a $\pm 52\%$.

11. Concordancia con normas internacionales

Esta norma no tiene concordancia con normas internacionales.

12. Bibliografía

12.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.2 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.3 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1993. NOM-008-SCFI-1993 Sistema General de Unidades de Medida. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

12.4 Food and Drug Administration. 1978. Bacteriological Analytical Manual. 6th ed. Cap. XI p.p 4-5.

12.5 Koneman E./Stephen D. Diagnóstico Microbiológico. 3ra. ed. Editorial Médica Panamericana Uruguay. p.p. 295

12.6 Secretaría de Salud. Manual para la determinación de Staphylococcus aureus. Laboratorio Nacional de Salud Pública. México, D.F. p.p. 12-14 y 26-28.

12.7 NORMA ISO. 6888. 1983. General Guidance for the Enumeration of Staphylococcus aureus-Colony Count Technique. International Organization for Standardization

12.8 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1981

NORMA-Z-013/02. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas. México, D.F.

12.9 Poelman L.P./Silleker H.J. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Staphylococcus aureus. 2nd ed. Ed. American Public Health Association. Washington, D.C.

13. Observancia de la Norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente norma corresponde a la Secretaría de Salud.

14. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatoria a partir de los treinta días siguientes a su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.

ANEXO 4

NORMA Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. (APENDICE NORMATIVO B)

B.18. PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA DETERMINACION DE *VIBRIO CHOLERAE*.

Las submuestras de pescado ahumado en filete deben analizarse individualmente.

B.18.1 Incubación de las muestras a 35-37°C.

De cada submuestra tomar 25 g, cortar en piezas pequeñas e introducirlas en un vaso de licuadora de 500 ml de capacidad que contenga 225 ml de agua peptonada alcalina (APW) y homogeneizar por 2 min a la máxima velocidad. Esta es la dilución 1:10. De esta dilución preparar la dilución 1:100 y 1:1000, en 9 o 90 ml de agua peptonada alcalina.

Incubar las tres diluciones de 35 a 37°C.

B.18.2 Incubación de las muestras de 35-37°C y 42°C.

Si se van a incubar los enriquecimientos a dos temperaturas para una muestra, homogeneizar una porción de 50 g de cada submuestra en 450 ml de agua peptonada alcalina (APW). Esto hace la dilución 1:10. Verter 250 ml (g) de la dilución 1:10 a un segundo recipiente estéril. Prepare dos series de diluciones de 1:100 y 1:1000. Por lo tanto tenemos dos series de 3 diluciones. Incubar una serie de 35 a 37°C y la otra a 42°C. Proseguir con el paso de resiembra marcado en la NOM-031-SSA1-1993. Productos de la pesca. Moluscos bivalvos frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.

ANEXO 5

Encuesta y resultados en tabla de la encuesta aplicada a la población Tijuana, B.C.

Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de ciencias químicas e ingeniería
Verónica Castro Simental



- ¿Qué tan frecuentemente consume pescado?
☐ Una vez a la semana ☐ 2 a 3 veces por semana ☐ Cada 15 días ☐ No lo consumo
- ¿Qué clase de pescado compra generalmente?
☐ Cabrilla ☐ Bagre ☐ Corvina ☐ Mojarra ☐ Tilapia Otro: _____
- ¿En qué presentación lo compra?
☐ Filete ☐ Entero
- ¿Dónde compra pescado con mayor frecuencia?
☐ Pescaderías ☐ tiendas de autoservicio ☐ Establecimiento ambulante (sobrerruedas, swap meet, tianguis)
- ¿Cuál de los sitios anteriores piensa usted que sea más higiénico?
☐ Pescaderías ☐ tiendas de autoservicio ☐ Establecimiento ambulante (sobrerruedas, swap meet, tianguis)
- ¿Y cuál de ellos el de menor higiene?
☐ Pescaderías ☐ tiendas de autoservicio ☐ Establecimiento ambulante (sobrerruedas, swap meet, tianguis)
- ¿Usted o algún miembro de su familia se han enfermado por el consumo de pescado en mal estado?
☐ Sí ☐ No

¿Cada cuánto consume pescado?		¿Qué clase de pescado consume?		¿En qué presentación lo compra?		¿Dónde lo compra?		Establecimiento más limpio	Establecimiento más sucio	¿Algún miembro de su familia se ha enfermado por consumo de pescado?	
cada 15 días	554	Bagre	40	entero	110	Establecimientos ambulantes	138	38	663	no	599
2 a 3 veces	107	cabrilla	100	filete	815	pescaderías	464	691	45	si	326
una vez	234	corvina	31			Tiendas de autoservicio	323	196	217		
no lo consumo	30	mojarra	351								
		tilapia	403								

ANEXO 6

MATERIALES Y EQUIPOS

1. EQUIPO DE TRANSPORTE DE MUESTRA

<i>EQUIPO</i>	<i>MARCA</i>
Hielera	Igloo

a) Equipo para procesamiento de muestra:

<i>EQUIPO</i>	<i>MARCA</i>
Refrigerador	Sci-cool
Incubadora	Quincy lab
Balanza analítica	Mettler Toledo
Balanza granataria	Ohaus
Campana de flujo laminar	Envirco

2. MATERIALES y REACTIVOS

<i>MATERIAL</i>	<i>MARCA</i>
Bolsas estériles 100ml	Whirl-pak
Bolsas esteriles 250ml	Whirl-pak
Pipetas de 1ml	VWR
Cajas Petri 15x100mm	VWR
Medios de cultivo:	BD

Rojo violeta bilis agar	
Agar salmonella- shigella	
Manitol Salt Agar	
Tiosulfato citrato bilis agar	
Caldo selenito cistina	
gradillas	Scienceware
Matraz Erlenmeyer 1L	pyrex
Matraz Erlenmeyer 500ml	pyrex
Termometro	Fro-Temper HB instruments
Tubos de ensayo de 13x100	vwr
Botellas de vidrio de 250ml	Pyrex