



ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE DE CERDO QUE SE VENDE EN SUPERMERCADOS DEL DISTRITO FEDERAL

I.A. Reyna Gutiérrez Cruz

Asesores:

Dra. Ma. de Lourdes Pérez Chabela. Universidad Autónoma Metropolitana.
Dr. Diego Braña Varela. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ajuchitán, Querétaro.

Lector:

Dr. Alfonso Totosaus Sánchez. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec

Diciembre del 2013

Se agradece la beca otorgada por el Macroproyecto “Indicadores de calidad en la cadena de producción de carne fresca en México”. SAGARPA-CONACYT-COFUPRO para la realización de este trabajo.

Agradecimientos

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Principalmente dedico este trabajo a mi abuelita Porfiria, por ser una mujer excepcional, que ayudó en mi crianza y en mis primeras letras, Por enseñarme el compromiso absoluto con lo que uno hace, que sin su cuidado y consejos no hubiese llegado hasta aquí, allá a donde quiera que este le dedico este pequeño logro.

Quiero agradecer a mi mama Ma. Luisa y a mi papa Cirilo puesto que me brindaron apoyo y fortaleza en el desarrollo y transcurso de este, ayudándome a concluir satisfactoriamente mi proyecto, con todos sus consejos y esperanzas puestas en mi. No puedo dejar pasar esta oportunidad sin decirles que les amo y que gracias a ustedes estoy donde estoy.

Agradezco a la Dra. Ma. de Lourdes Pérez Chabela por haber confiado en mi persona, que con todo su conocimiento me encamino de una manera inolvidable en este largo y sinuoso camino, por la paciencia y por la dirección de este trabajo, que sin su infinito apoyo no hubiese logrado esto. Al Dr. Diego Braña que nos brindó el apoyo para que el proyecto se llevara a cabo, por sus buenos comentarios y atinadas correcciones. Y por último pero no menos importante, al Dr. Alfonso Totosaus por los consejos, el apoyo y el ánimo que me brindó.

Quiero agradecer a mi amado compañero de vida, Eduardo, mil gracias por acompañarme en este proceso, por sobre todo, tu amor, tu comprensión, paciencia y fortaleza que permitieron que pudiese, no sólo trabajar, sino también llegar a buen puerto. Como en todo lo que escribo, estás presente en mi mente y en el alma de estas líneas. Contigo aprendo constantemente. Te amo vida mía, porque eres mi amor, mi cómplice y todo, y en la calle codo a codo, somos mucho más que dos.

A mi hermana Gloria que sin su enorme sacrificio y apoyo no podría haber llegado tan lejos, a mi hermana Angie que me acompañó en esta aventura que significó la especialidad y que, de forma incondicional, entendió mis ausencias, mis malos momentos, que desde un principio hasta el día hoy sigues dándome ánimo para terminar este proceso, a mi sobrina Renata que con sus pequeñas sonrisas que iluminaban mis días oscuros hacían más llevadera la vida.

Quiero encarnar dicho agradecimiento en la persona de mis amigos y compañeros de mil y una batallas Fernanda y Cristina, con quienes he estado en buenos y malos momentos, con quienes he disfrutado de las cosas simples de la vida, como el conversar. Gracias, por ser más que mis amigas: ustedes son mis hermanas. Gracias por estar siempre ahí.

En fin, mil y un gracias a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo incondicional y del que hoy pueden ver los frutos reflejados en este trabajo.

GRACIAS

0.- RESUMEN

La carne fresca es uno de los alimentos más perecederos, debido a que constituye un medio ideal para el desarrollo de casi todo tipo de microorganismos. El cerdo (*Sus scrofa domesticus*) es una de las especies más consumida en México por el sabor de su carne y grasa. El manejo post-mortem del cerdo tiene una gran influencia sobre su calidad microbiológica, ya que a pesar de que el músculo es prácticamente estéril, la contaminación cruzada es muy común en carne fresca. El objetivo de este estudio fue determinar la calidad microbiológica de la carne de cerdo fresca que se vende en supermercados de la Ciudad de México. Se eligieron las 6 delegaciones del Distrito Federal que tienen más de 500,000 habitantes. Se muestrearon 6 diferentes supermercados, adquiriendo muestras de lomo de cerdo empacadas con PVC en charolas de poliestireno exhibidas en refrigeración a aprox. 4°C. Las muestras fueron transportadas al laboratorio para su análisis. Los microorganismos analizados fueron Mesófilos, Coliformes, Mohos y levaduras, *Staphylococcus spp.*, *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* (Identificación con API 20E) para toda la metodología se utilizaron las Normas Oficiales Mexicanas, todos los análisis se hicieron por duplicado y los resultados se compararon con las normas (NOM-092-SSA1-1994 y NOM-034-SSA1-1993), que son para bovino ya que México no cuenta con una normatividad específica para carne de cerdo cruda.

Los resultados mostraron que el supermercado A y D de la delegación Álvaro Obregón sobrepasan los límites permitidos en norma para mesófilos aerobios, los otros supermercados correspondientes a sus delegaciones tienen una cuenta por debajo de lo que establece la norma 5 000 000 ufc/g. Del análisis realizado para mohos y levaduras, en donde podemos observar que, el supermercado A y D cuenta con una mayor cuenta microbiana, aunque en ninguna de las Normas consultadas se contemplan a estos microorganismos. Para coliformes, el supermercado A de la delegación Álvaro Obregón y los supermercados B y F de la delegación Coyoacán son los que tienen una mayor cuenta microbiana, aunque ninguna de la Normas consultadas contempla tampoco a estos microorganismos.

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

La prevalencia que se tiene de *Listeria sp.* es del 16.66% de las 72 muestras analizadas. Para *Staphylococcus*, los conteos no sobrepasaron 10^2 ufc/g, pero las pruebas bioquímicas demostraron que presumiblemente el 20% de las cepas detectadas son de *Staphylococcus aureus*, el cual es un riesgo para la salud por la producción de enterotoxinas. *Salmonella sp.* tiene una prevalencia baja comparada con algunos trabajos reportados, solo del 2.77% del total de las muestras analizadas. También llama la atención la presencia de *E.coli* que arrojo este análisis ya que la presencia fue de 6.94%, mayor incluso a la de *Salmonella*, es importante considerar esta cuenta ya que *E. coli* es una de las principales enfermedades que son transmitidas por alimentos.

Debido a la presencia de microorganismos patógenos, es necesario que exista la Normatividad para la carne de cerdo que estipule valores de microorganismos permisibles, ya que los conteos detectados fueron altos y esto está asociado a enfermedades para el ser humano.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
0.- RESUMEN	iv
1.- INTRODUCCION	1
2.- ANTECEDENTES.....	2
2.1 Definición de carne.....	2
2.2 Características de la carne	2
2.3 Composición de la carne.....	2
2.4 Alteraciones de la carne	4
2.5 Fuentes de contaminación de la carne.....	4
2.6 Microorganismos de la carne.....	7
2.7 Microorganismos indicadores.....	8
2.7.1 Mesófilos aerobios	9
2.7.2 Hongos filamentosos y levaduras.....	9
2.7.3 Coliformes	11
2.8 Microorganismos patógenos	11
2.8.1 <i>Salmonella sp.</i>	13
2.8.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.8.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	17
2.9 Estándares bacteriológicos para carnes	17
3.- JUSTIFICACIÓN.....	18
4.- OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo general.....	19
4.1.1 Objetivos particulares.....	19
5.- METODOLOGÍA	20
5.1 Material de Estudio	20
5.2 NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.....	20
5.3 NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.....	21
5.4 NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa	21

5.5 NOM-115-SSA1-1994. Método para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos.....	22
5.5.1 Prueba de coagulasa.....	23
5.5.2 Prueba de termonucleasa.....	23
5.5.3 Prueba de la catalasa (opcional, no lo exige la Norma Oficial Mexicana).	24
5.6 NOM-143-SSA1-1995. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	24
5.6.1 Enriquecimiento.....	24
5.6.2 Aislamiento.	24
5.6.3 Prueba de catalasa.....	24
5.6.4 Tinción de Gram.	24
5.6.5 Prueba de hemólisis.....	25
5.7 NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de <i>Salmonella</i> en alimentos.....	25
5.7.1 Aislamiento.	25
5.7.2 Confirmación Bioquímica.....	25
5.7.3 Identificación de <i>Salmonella spp.</i> Mediante sistema API 20e.	26
5.8 Análisis Estadístico	28
6.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	29
6.1 Microorganismos indicadores.....	29
6.2 Microorganismos patógenos	35
6.2.1 <i>Listeria sp.</i>	35
6.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	36
6.2.3 <i>Salmonella sp.</i>	38
7.- CONCLUSIONES.....	41
8.- BIBLIOGRAFIA	42
9.- ANEXO 1.- Medios de cultivo.....	47

Índice de Tablas

Tabla 1. Composición química del músculo de mamíferos adultos después del <i>rigor mortis</i> pero antes de los cambios degenerativos <i>postmortem</i> (porcentaje del peso húmedo). (Lawrie, 1985; Jay, 2000).....	3
Tabla 2. Número de colonias a evaluar para las pruebas bioquímicas.	23
Tabla 3. Interpretación de resultados para la prueba API 20e	27
Tabla 4. Resultados de mesófilos aerobios en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.....	31
Tabla 5. Resultados de mohos y levaduras en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.....	32
Tabla 6. Resultados de coliformes en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.....	34
Tabla 7. Resultados de presencia de <i>Listeria sp.</i> en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.	36
Tabla 8. Resultados de prevalencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal	38

1.- INTRODUCCION

Todos los alimentos contienen un cierto número y tipo de microorganismos, los cuales obtuvo del medio ambiente, de las condiciones sanitarias bajo las cuales se manipuló, procesó y almacenó. Por esto, los alimentos que se elaboran y almacenan bajo buenas prácticas de manufactura, tendrán un perfil microbiológico diferente a aquellas que se almacenan bajo condiciones insalubres.

La carne es un ingrediente de gran importancia en la alimentación humana. Su gran riqueza nutritiva se debe fundamentalmente a su elevado contenido en proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerales, pero también, es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido en agua, pH alto condiciones que favorecen la alteración y contaminación microbiana, pudiendo constituir un riesgo para la salud.

Las alteraciones de la carne son debidas a su propia composición y a su interacción con factores físicos o químicos como la luz, la temperatura o el aire. Las más frecuentes son: enranciamiento, enmohecimiento, putrefacción y coloraciones anormales. Algunas de estas pueden ser causa de enfermedades, también puede contaminarse con agentes físicos, químicos o biológicos en cualquier punto de la cadena alimentaria, por lo que deben establecerse controles a lo largo de toda ella y fomentar las buenas prácticas de manipulación de todos los individuos implicados en su camino.

El número y tipo de microorganismos presentes en un producto pueden ser utilizados para juzgar o determinar la seguridad microbiológica y la calidad del producto. La seguridad se determina por la presencia o ausencia de microorganismos patógenos o su toxina, el número de patógenos, el control esperado y destrucción de ellos.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Definición de carne

Carne se define como el tejido muscular que después de una serie de procesos bioquímicos se convierte en carne, la cual es utilizada como alimento. En la práctica esta definición se limita a unas pocas docenas de las 3000 especies de mamíferos. La mayor parte de la carne que se consume en el Reino Unido se deriva de ovejas, ganado vacuno y cerdos: conejos y liebres, son generalmente, considerados por separado, junto con las aves de corral (Lawrie, 1985).

El Codex Alimentarius (2005) la define como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”.

2.2 Características de la carne

De todos los alimentos, la carne es el más perecedero, debido a que constituye un medio ideal para el desarrollo de todos los microorganismos ya que proporciona condiciones y nutrientes favorables para ello y su pH es apropiado para que en ella se multipliquen la mayoría de los microorganismos (Lawrie, 1985).

Las carnes son fácilmente alterables, sobre todo si están procesadas, pues tienen un pH entre 5,1 y 5,6, Aw de 0.99, que son adecuadas para el desarrollo de la mayoría de los microorganismos, y un potencial de reducción que permite el crecimiento de los anaerobios en profundidad y los aerobios en la superficie.

2.3 Composición de la carne

La composición de la carne varía según la especie y las distintas partes de donde procede la carne. En la tabla 1 se muestra la composición general de la carne:

Tabla 1. Composición química del músculo de mamíferos adultos después del rigor mortis pero antes de los cambios degenerativos *postmortem* (porcentaje del peso húmedo). (Lawrie, 1985; Jay, 2000).

Composición	Porcentaje (%)
Agua	75.5
Proteína	18
De las miofibrillas	
Miosina, Tropomiosina, Proteína X	7.5
Actina	2.5
Del sarcoplasma	
Miógeno, Globulinas	5.6
Mioglobina	0.36
Hemoglobina	0.04
De las mitocondrias-citocromo C	Aprox. 0.002
Retículo sarcoplásmico, colágeno, elastina “reticulina”, enzimas insolubles, tejido conjuntivo	2.0
Grasa	3.0
Sustancias no proteicas solubles	3.5
Nitrogenadas	
Creatina	0.55
Monofosfato de inosina	0.33
di- y tri- fosfopiridin nucleótidos	0.07
Aminoácidos	0.35
Carnosina, arsenina	0.30
Carbohidratos	
Ácido láctico	0.90
Glucosa-6-fosfato	0.17
Glucógeno	0.10
Glucosa	0.01
Inorgánicas	
Fósforo total soluble	0.20
Potasio	0.35
Sodio	0.05
Magnesio	0.02
Calcio	0.007
Zinc	0.005
Vestigios de intermediarios de la glucólisis, metales vestigiales, vitaminas, etc.	Aprox. 0.10

2.4 Alteraciones de la carne

Los microorganismos pueden causar las siguientes características de alteración en la carne: Mucosidad en la superficie: la temperatura y la humedad disponible influyen en el tipo de microorganismos que la produce, cambios en los pigmentos del color de la carne: el color rojo puede cambiar a manchas verdes, marrón o gris como resultado de los compuestos oxidados, cambios en las grasas: oxidación de grasas no saturadas en la carne toma lugar químicamente en el aire, y las bacterias también pueden causar rompimiento o acelerar la oxidación de las grasas, fosforescencia: es poco común y es causada por bacterias fosforescentes o luminosas, sabores y olores desagradables: es el resultados del crecimiento de microorganismos sobre la superficie y a la producción de compuestos volátiles, causando olores y sabores desagradables, una superficie viscosa y pegajosa, y la decoloración de la carne (Gracey, 1989).

2.5 Fuentes de contaminación de la carne

El origen de los microbios puede ser el propio animal, o bien éste puede contaminarse a través de otros animales, del hombre, de los pastos, de los piensos, del medio ambiente o de vectores como moscas y roedores. El transporte hasta el matadero y la estabulación hasta el momento del sacrificio han de hacerse en las condiciones más higiénicas y humanitarias posibles, esto evitará situaciones de estrés intenso para el animal, ya que el sistema inmunitario del animal se debilita y algunos de los microorganismos intestinales pueden traspasar la barrera intestinal y alcanzar los tejidos o las vísceras. Algunos de ellos poseen una elevada capacidad de producir toxinas o causar una infección en las personas (Jay, 2000).

El primer punto de contaminación de la carne es el escaldado, ya que la piel del animal suele presentarse sucia. Es muy importante que los cuchillos sean de uso exclusivo para esta etapa. En el eviscerado hay que tener cuidado de ligar bien el esófago y los intestinos para evitar que el contenido intestinal contamine la canal. Debe de haber siempre una inspección veterinaria oficial, que es la que debe

controlar en todo momento las condiciones de trabajo, así como revisar todas las canales de los animales y sus vísceras. Todos los tejidos o canales que entrañen riesgos, o presenten alguna lesión, parásitos o cualquier tipo de anormalidad, se retirarán de la línea y se impedirá su comercialización (Gracey, 1989).

En la piel y cubierta pilosa animal hay un gran número de microorganismos entre los que se encuentra *Salmonella sp.* y *Listeria monocytogenes* procedentes del ambiente (suelos, pastos, heces). Durante el transporte *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli* O157:H7 contaminan los vehículos que las transportan. La cantidad y naturaleza de la contaminación de la canal refleja la condición microbiana del animal al momento del sacrificio, el cuidado y las normas higiénico-sanitarias aplicadas. Ninguno de los procesos utilizados para convertir el ganado en carne puede garantizar la ausencia de patógenos humanos en este alimento, ya que la fuente principal de contaminantes son los microorganismos que existían entre los animales vivos, se necesita controlarlos durante el crecimiento, transporte y sacrificio de los animales y durante la refrigeración, almacenamiento y transporte de las canales y despojos (Zamudio y col., 2006).

La finalidad de las plantas procesadoras de ganado para el abasto, es producir carne de manera higiénica, mediante el manejo adecuado al tipo de animales , así como el empleo de técnicas avanzadas para el sacrificio y la preparación de las canales, por medio de una división estricta de operaciones dentro del rastro, tomando como referencia que el objetivo del sacrificio humanitario de los animales para el abasto, es el de asegurar que la carne sea obtenida en condiciones de inocuidad, observando para ello prácticas aprobadas en materia de bienestar de los animales y de la reducción de riesgos innecesarios en el proceso operativo (Ríos y Acosta, 2008).

Los animales que son manejados antes del sacrificio de manera inadecuada generan un estado fisiológico de estrés, este produce cambios hormonales muy intensos que afectan la composición química de la sangre y del tejido muscular en

el animal en vivo; además de afectar las características fisicoquímicas y microbiológicas de la carne después del sacrificio (Kline y Bechtel, 1990).

Uno de los riesgos asociados al desangrado de los animales productores de carne, es el que al realizarse mediante la sección de las arterias carótidas y vena yugular en la base del cuello, el cuchillo utilizado para el desangrado pudiera estar contaminado y favorecer con ello, el ingreso de bacterias en el sistema venoso y diseminarse por los músculos de la canal que son relativamente estériles (Lawrie, 1985). La eliminación del mayor volumen de sangre además de provocar una muerte rápida del animal, reviste gran importancia en la presentación comercial de la carne, en su higiene, ya que la sangre favorece el crecimiento microbiano y en la prolongación de conservación (Rosmini, 2006). La carne se haya expuesta a la contaminación microbiana desde el momento en que se desangra el animal hasta el momento del consumo (Lawrie, 1985). Por lo que la alteración de la carne se inicia pronto, después del desangrado como resultado de acciones microbianas, químicas y físicas; esta alteración es consecuencia de la penetración de microorganismos en el sistema vascular por utilizar para la degollación cuchillos contaminados (Forrest y col., 1975). Para evitar la entrada de microorganismos, el corte practicado en la yugular o la penetración del cuchillo debe ser mínima (Lawrie, 1985).

La susceptibilidad del músculo a la alteración microbiana es directamente proporcional al tiempo transcurrido desde el sacrificio y a la temperatura que se mantiene *post-mortem*, sin embargo, cuando las operaciones de sacrificio se realizan en condiciones higiénicas, la carne se conserva en buen estado durante algunos días a temperatura ligeramente superior a su punto de congelación (-1.5°C). Los procesos usados en la conservación de la carne pueden evitar la contaminación microbiana sin afectar la calidad organoléptica (Lawrie, 1985). Cuando el animal cae en estrés antes de la matanza, se agota el glucógeno muscular, por lo tanto, el pH final de la carne es alto (superior a 6.0) y en consecuencia, las proteínas se encuentran fuera de su punto isoeléctrico. Como resultado de esto último, absorben grandes cantidades de agua lo que da una

aparición superficial seca; adicionalmente, el alto valor del pH favorece el crecimiento microbiano y la vida de anaquel de la carne se ve reducida (Rosmini, 2006).

La carne almacenada en condiciones aerobias es rápidamente contaminada por bacterias que son responsables de la decoloración y malos olores, causando el rechazo de la misma (Labadie, 1999). La cuanta bacteriana inicial de la carne es de aproximadamente $10^2 - 10^3$ UFC/g consistiendo de una gran variedad de especies. Solo el 10% de las bacterias presentes inicialmente son capaces de crecer a temperaturas de refrigeración y la fracción causante de descomposición es aún más pequeña (Borch y col., 1996). La vida de anaquel de la carne depende de la cantidad de bacterias al inicio del almacenamiento. La inocuidad de la carne se mantiene hasta que esta es manipulada, debido a las malas prácticas de manufactura en el lugar de proceso de la carne, lo cual genera contaminación por la microflora alterante y patógena (McDonald y Sun, 1999). La flora de la carne son predominantemente bacterias Gram negativas, entre las Gram positivas los Enterococos son los más encontrados seguidos de los Lactobacilos, en general la biota es el reflejo del sacrificio y el medio ambiente durante el proceso (Jay, 2000). La temperatura es uno de los factores que más influye en la viabilidad y desarrollo microbiano, debido a que interviene favorablemente en el crecimiento de los microorganismos. El uso de temperaturas inferiores a 10°C y preferiblemente a 5°C o menos, es recomendable para disminuir la formación de estos microorganismos (Izquierdo y col., 2004).

El método de conservación más usado en carne es la congelación, porque entre más baja sea la temperatura, es más lento el crecimiento microbiano.

2.6 Microorganismos de la carne

Para la carne se distinguen 4 grupos de microorganismos que se clasifican de acuerdo a las funciones que realizan:

Microorganismos indeseables patógenos. Son microorganismos indeseables que afectan la salud del hombre, la de los animales o ambos.

Microorganismos indeseables de descomposición. Son aquellos microorganismos indeseables que no tienen propiedades patógenas, pero su metabolismo altera la estética y vida de anaquel (Sinell, 1994).

Microorganismos tolerables. Son aquellos que no participan en la descomposición de la carne, ni representan un riesgo para la salud. Solo desarrollan una actividad metabólica muy baja y no se multiplican por las condiciones a las que se almacena la carne.

Microorganismos benéficos. Ellos debido a su metabolismo contribuyen a mejorar o asegurar la calidad, repercutiendo así en las características organolépticas, la seguridad del proceso de fabricación, la estabilidad de los productos, en ocasiones mejoran condiciones higiénicas asegurando la calidad sanitaria (Zamudio y col., 2006).

2.7 Microorganismos indicadores

Los productos cárnicos de origen animal se pueden contaminar en cualquiera de las etapas de procesamiento, ya que son un reservorio natural de microbiota intestinal y patógenos para el ser humano, por lo que sus heces son fuente significativa de microorganismos. Así la carne fresca puede resultar contaminada en el ambiente del rastro al momento del sacrificio, por lo que los agentes patógenos pueden permanecer en la superficie de la carne o penetrar con algún utensilio en el tejido muscular (Gallegos y col., 2009).

Para conocer las condiciones higiénicas de los alimentos se han usado organismos indicadores para estimar tres factores: seguridad microbiológica, condiciones de saneamiento durante el procesamiento y la calidad del producto. Los indicadores, más usuales son: Mesófilos aerobios, Coliformes, *Salmonella Sp.* *Staphylococcus aureus*, Enterococcus, Mohos y levaduras, *Clostridium perfringens* y *Pseudomonas*, entre otros (Bello-Pérez y col., 1990).

2.7.1 Mesófilos aerobios

En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30°C. El nivel de microorganismos refleja la calidad microbiológica o integridad de un producto alimenticio, así como la afectividad de las medidas para el control y destrucción de tal microorganismo (Zamudio y col., 2006). Se debe tener en cuenta que el tiempo y la temperatura de almacenamiento, son determinantes en el aumento del crecimiento de mesófilos aerobios, a medida que aumenta el tiempo y la temperatura de almacenamiento, aumenta el crecimiento de la población bacteriana, una cuenta baja de mesófilos no asegura que el alimento esté exento de la presencia de microflora patógena (Frazier y Westhoff, 2000). El conteo de mesófilos aerobios refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima, por lo que un recuento elevado puede significar excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración y la posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.

De los principales mesófilos que puede contener la carne se encuentran: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia*, *Shewanella*, *Vibrio*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Brochothrix*, estreptococos, *Pantoea*, *Pediococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexnerii*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Moraxella*, *Klebsiella* (Gracey, 1989 y Zamudio y col., 2006).

2.7.2 Hongos filamentosos y levaduras

Las levaduras y los hongos filamentosos crecen con más lentitud que las bacterias en los alimentos no ácidos que conservan humedad, y por ello pocas veces determinan problemas en carne. Sin embargo, en los alimentos ácidos y en los de baja actividad acuosa, crecen con mayor rapidez que las bacterias. La carne es uno de los alimentos más perecederos, debido a que contiene una cantidad

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

abundante de todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias, levaduras y mohos. Las carnes frescas que se mantienen en refrigeración con una elevada humedad son alteradas invariablemente por bacterias más que por mohos, la principal alteración es la aparición de mucosa superficial (Jay, 2000). Cuando el tipo de almacenamiento ha provocado que la superficie se desequen pueden aparecer colonias de micrococcos, levaduras y mohos. El crecimiento de la microflora en las canales es irregular debido principalmente a la variación de A_w superficial. Los mohos tienden a predominar en la alteración de carne cuando la superficie está excesivamente seca para que puedan crecer las bacterias o cuando han sido tratadas con antibióticos. En teoría en las carnes frescas nunca crecen mohos, cuando se permite que en las mismas crezcan libremente las bacterias. Al parecer, la causa radica en que las bacterias crecen con mayor rapidez que los mohos, consumiendo de este modo el oxígeno de la superficie que los mohos también necesitan para desarrollar su actividad (Brown y Baird-Parker, 1982).

En alimentos proteicos como la carne, el pH es entre 5.3 - 5.8 para carne de cerdo donde los hongos son generalmente acidófilos, por lo que su presencia puede no representar ningún problema. El significado de la contaminación fúngica elevada de los alimentos determina su capacidad para deteriorar los alimentos, produciendo modificaciones químicas, alterando el valor nutricional, variando sus características organolépticas y dificultando su conservación. El problema real de los mohos y las levaduras es que pueden sintetizar metabolitos tóxicos (Cano-Rueda, 2006).

Algunos mohos presentes en carne son *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium* (manchas negras), *Fusarium*, *Geotrichum*, *Thamnidium* (barbas), *Sporotrichum* (manchas blancas), *Mucor* (barbas), *Monascus*, *Monilia*, *Penicillium* (mohos verdes azulados), *Rhizopus* y *Alternaria* (Gracey, 1989); aparentemente, los mohos no crecen en las carnes si la temperatura de conservación es inferior a -5°C (Zamudio y col., 2006). Entre los géneros de levaduras aisladas en canal están *Candida*, *Rhodotourola*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus* y *Trichosporon*, siendo

Candida lipolitica y *C. zelanooides* las dos especies más abundantes que se han encontrado (Jay, 2000 y Zamudio y col., 2006).

2.7.3 Coliformes

Los coliformes son bacilos gram negativos asporógenos que fermentan la lactosa en 48 hrs a 35°C, produce colonias negras con brillo metálico en agar de tipo Endo. Los coliformes son representados por 4 géneros de la familia *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella* (Jay, 2000). El hábitat reconocido de estos organismos es el intestino del hombre y de los animales, pero la presencia en la carne no siempre significará contaminación fecal. Los números detectados en los alimentos pueden ser influenciados por otros factores de contaminación, como la multiplicación o la adhesión de los microorganismos a las superficies de los alimentos durante la manipulación (Brown y Baird-Parker, 1982).

Cuando intentaban aislar el agente etiológico del cólera en 1885, Escherich aisló y estudio el microorganismo que en la actualidad es *E. coli*. En un principio fue denominado *Bacterium coli commune* porque estaba presente en las heces de todos los enfermos que examinó. Schardinger fue el primero que propuso el uso de este microorganismo como índice de contaminación fecal porque se pudo aislar con mayor facilidad que cualquiera de todos los microorganismos patógenos transmitidos por el agua. En 1895, Smith propuso una prueba de este microorganismos como índice para determinar la potabilidad del agua para beber (Jay, 2000).

La clasificación de los coliformes depende de su origen, donde algunos son denominadas totales o fecales, sin embargo, en la calidad de los alimentos no se consideran indicadores de contaminación fecal, solo indicadores de calidad (Cakir y col., 2001).

2.8 Microorganismos patógenos

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) constituyen uno de los principales problemas de salud pública en el mundo. La incidencia de éstas se

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

relaciona con deficiencias higiénico-sanitarias de los alimentos durante su procesamiento, o por el uso de materia prima contaminada. Las enfermedades causadas por alimentos contaminados son uno de los problemas de salud más extendidos en el mundo contemporáneo, y que desgraciadamente tiende a aumentar (Gracey, 1989). La contaminación de alimentos por microorganismos es un problema con el que se ha tenido que luchar en todos los tiempos. Desde luego mejorar las condiciones sanitarias de los países, ha logrado que este problema disminuya considerablemente, sin embargo difícilmente desaparecerá aun en los lugares más desarrollados (Bello-Pérez y col., 1990).

Los microorganismos patógenos implicados en las enfermedades transmitidas por los alimentos conforman un grupo muy diversificado y sus mecanismos de patogenicidad son muy variados, la dosis mínima infectante no es universal, varía incluso entre individuos aparentemente sanos, según el estado nutricional, estado físico, defensas, acidez del jugo gástrico, carácter de la flora intestinal, tipo de vehículo del agente patógeno, entre otros. Algunos de los microorganismos causantes de toxoinfecciones alimentarias más importantes en la actualidad y que pueden ser transmitidas por la carne a sus consumidores son: *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* enterohemorrágico, algunos serovares de *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* (Zamudio y col., 2006).

2.8.1 *Salmonella* sp.

Los representantes de esta familia se caracterizan como bacterias Gram-negativas, anaerobias facultativas, asporógenas, no encapsuladas de forma bacilar, su tamaño oscila de 0.3 a 1 μm x 1.0 a 6.0 μm . Las formas móviles poseen flagelos peritricos (excepto *Salmonella gallinarum* y *Salmonella pullorum*). Producen ácido y a veces gas de la glucosa excepto *Salmonella typhi* (Arcos-Ávila y Mora, 2011), suelen ser catalasa-positivas y oxidasa-negativas y reducen los nitratos a nitritos. No fermentan lactosa, aunque *Salmonella arizonae* fermenta este azúcar. Se han reportado Salmonelas fermentadoras de lactosa de animales como cepas de *Salmonella typhimurium*. La capacidad de supervivencia del género en medio húmedo, sus escasas exigencias en lo referente al sustrato y su capacidad de multiplicarse fuera de los organismos vivos han hecho fracasar todos los intentos de erradicar la salmonelosis de los efectivos animales (Sinell, 1994). El género *Salmonella* puede producir diferentes tipos de desarreglos gastrointestinales, infecciones e intoxicaciones, al igual que otras bacterias y virus, por lo que su presencia en alimentos y forrajes continua siendo un problema mundial, la carne y otros alimentos contaminados son especialmente peligrosos cuando se han mantenido bajo circunstancias que favorecen la multiplicación de *Salmonella* y especialmente durante la época de calor. La mayor parte de intoxicaciones por alimentos son causadas por contaminación con *Salmonella*. En Canadá, *Salmonella* continúa siendo el principal productor de enfermedades por alimentos contaminados. En 1979, este patógeno fue responsable de 62 de los 130 incidentes reportados de etiología microbiológica conocida, la incidencia de este patógeno en carne de cerdo disminuyó en un 16.2%, con respecto a otro estudio realizado 10 años atrás (Bello-Pérez y col., 1990).

2.8.1.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de la *Salmonella* es similar a la de otras Enterobacterias, con dos clases de antígenos principales presentes: Antígenos O somáticos y Antígenos H flagelares. En algunas cepas se halla un tercer antígeno que se

relaciona con la virulencia, este antígeno se denomina Antígeno Vi (Serovar *typhi*, *dublin* y *paratyphi C*) (Zúñiga, 2006).

ANTIGENO O. Nombrado del alemán *ohne hauch*, que significa sin movimiento (Zúñiga, 2006), están compuestos por complejos de fosfolípidos y polisacáridos. Son los antígenos de la pared bacteriana. Son termoestables y alcohol-resistente (Arcos-Avila y Mora, 2011).

ANTIGENO H. Su nombre deriva del alemán *hauch*, por el halo producido en un medio de cultivo a raíz del movimiento; según éste, las Salmonelas pueden ser monofásicas, cuando contienen siempre el mismo antígeno flagelar, generalmente específico (*S. typhi*, *S. paratyphi*), o difásicas (Zuñiga, 2006), en éstos, el antígeno flagelar puede aparecer de forma alternativa en Fase I, llamada también específica y que es característica de cada serotipo o en fase 2, que es menos específica. Una cepa de Salmonella solo expresa un tipo de antígeno flagelar en un determinado momento, el cual está constituido por una proteína termolábil, la flagelina, cuya composición de aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado (Arcos-Avila y Mora, 2011).

El sistema funciona de forma que una recombinasa, codificada por el gen *hin*, cataliza la inversión de un fragmento de 993 pb que contiene el promotor del operón *fljBA*. En un sentido el promotor dirige la transcripción de los genes *fljA* y *fljB*, que codifican para la flagelina de segunda clase y para un represor del gen *fliC* (que 24 codifica la flagelina de primera clase). En este caso se expresará la flagelina de segunda clase. Cuando el fragmento se invierte, los genes *fljA* y *fljB* no se expresan, la expresión *fliC* no se reprime y la bacteria produce el antígeno flagelar de primera fase. Esto le ofrece ventajas a las bacterias. Los organismos de una determinada población que consigan cambiar de fase durante el proceso de infección podrán sobrevivir a la respuesta inmune del hospedador ya que, si este se encuentra produciendo anticuerpos frente a la flagelina H1, aquellas bacterias que cambien de fase y produzcan flagelina H2 podrán escapar a la acción de los anticuerpos específicos frente a la primera (Álvarez, 2007).

ANTIGENO VI. Llamado así por ser el que determina la virulencia de la bacteria, ya que confiere resistencia contra la respuesta inmune celular y humoral del huésped (Zúñiga, 2006) La expresión de este factor depende de al menos dos genes (*ViA* + *ViB*), deben existir ambos en la bacteria para que dicha expresión tenga lugar (Arcos-Ávila y Mora, 2011).

Por lo menos 2500 diferentes serovares de *Salmonella spp* son conocidos y pueden ser integrados en 2 especies. *S. entérica* y *S. bongori*. *S. enterica* es dividida en 6 subespecies: *entérica (I)*, *salamae (II)*, *arizonae (IIIa)*, *diarizonae (IIIb)*, *houtenae (IV)* *indica (VI)*.

Salmonella bongori. Subespecie V: No constituye un patógeno para los humanos pero si ha sido implicada en ciertas patologías animales (Arcos-Ávila y Mora, 2011).

También puede hacerse una clasificación de las salmonelas desde el punto de vista epidemiológico en tres grupos:

- 1) Sin ninguna afinidad por hospedador, que infecta al hombre y a los animales, este grupo está formado por la mayoría de las demás serovariedades de salmonella. estas son los principales agentes de la salmonelosis que ocurre hoy en día.
- 2) Afectan únicamente al ser humano y se propaga en forma directa o indirecta (por los alimentos y el agua), por ejemplo, los grupos de *Salmonella typhi* y *paratyphi A* y *C*.
- 3) Adaptadas a un hospedador animal únicamente; *S. gallinarum* en aves, *S. dublin* en ganado vacuno, *S. abortus equi* en los caballos, *S. abortus ovis* en las ovejas y *S. choleraesuis* y *S. typhisuis* en los cerdos (OMS, 1988).

2.8.2 *Staphylococcus aureus*

La intoxicación alimentaria estafilocócica o síndrome de la intoxicación alimentaria fue estudiada por primera vez por Denys en 1894 y posteriormente por Barber, quien reprodujo en sí mismo los signos y síntomas de la enfermedad ingiriendo

leche que había sido contaminada con un cultivo de *Staphylococcus aureus*. La capacidad de algunas cepas de *S. aureus* para causar envenenamientos por consumo fue demostrada definitivamente por Dack y col. 1930, quienes demostraron que se podían reproducir los síntomas por ingestión de filtrados de cultivo de *S. aureus* (Jay, 2000). En las personas, el principal reservorio es la cavidad nasal, la piel, las heridas, ojos, garganta y tracto intestinal. Desde estas localizaciones, el microorganismo pasa al aire y al polvo, a los vestidos, y a otros lugares en los que puede contaminar los alimentos. Los estafilococos se diferencian de otras Gram positivas porque para su nutrición necesitan determinados compuestos orgánicos. Necesitan aminoácidos como fuente de nitrógeno y entre las vitaminas del grupo B, necesitan tiamina y ácido nicotínico. Esta especie crece dentro de la escala de temperaturas comprendida entre 7 y 47.8°C mientras las enterotoxinas son producidas entre 10 y 46°C estando su temperatura óptima, para dicha producción, comprendida entre 40 y 45°C, crece bien en medios de cultivo NaCl, es capaz de crecer en concentraciones de sal comprendidas entre el 7 y el 10% con un pH de crecimiento entre 6 y 7.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos indica errores en la elaboración por parte de los operarios o de la conservación y manejo de los distribuidores de los productos (Amador y col., 1986). El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies y son parásitos humanos, miembros de la flora normal de la piel humana y del aparato respiratorio (Jay, 2000). Se calcula que alrededor de 185,000 casos de enfermedades transmitidas por los alimentos ocurren por esta bacteria, una de las razones por las que debe analizarse en carne fresca es porque la contaminación por esta especie surge porque es encontrada en garganta y nariz, en lesiones y heridas que pudiesen tener las personas que manipulan la carne desde la matanza del animal y proceso posterior, así al momento de la manipulación que sufre la carne por parte de los operarios puede hacer que la carne incremente un número de microorganismos nativos. *Staphylococcus aureus* ha sido reportado como el responsable del 46%

de los brotes de infecciones gastrointestinales durante 1969-1979 en Estados Unidos (Bello-Pérez y col., 1990).

2.8.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es un bacilo no formador de esporas, Gram positivo que se puede encontrar de forma individual, en parejas o en cadenas cortas de 3 a 5 microorganismos con una V o forma de Y. Carece de una cápsula y se moviliza por medio de flagelos peritrícos con una temperatura de movilización óptima entre 20 y 25°C, con poca o ninguna movilidad a 37°C, aunque aún puede crecer a 4°C (Sinell, 1994). Como un microorganismo zoonótico y emergente en la industria alimentaria, *L. monocytogenes* causa listeriosis en los seres humanos y los animales. Esta bacteria ubicua puede contaminar el agua, los concentrados y especialmente silos agrícolas, lo que resulta en la diseminación de *L. monocytogenes* durante la crianza animal, los cerdos excretan las bacterias a través de sus heces, actuando así como reservorios (Gamboa-Marín y col., 2012). *L. monocytogenes* ha causado varios brotes alimentarios, especialmente a través de un grupo de productos listos para el consumo de alimentos, donde la carne y los productos lácteos son los más afectados (Kostenko y col., 1999).

2.9 Estándares bacteriológicos para carnes

Diversas autoridades sanitarias han intentado establecer criterios de aceptación para diferentes tipos de carnes. En un estudio, llevado a cabo en Holanda, sobre el estado bacteriológico de la carne fresca de buena calidad se aplican estándares que se refieren a *Salmonella*, *E. coli*, la familia *Enterobacteriaceae*, *S. aureus* y a cifras totales de aerobios, para carnes al por mayor (canales y carne sin hueso congeladas), tajos de consumo al por menor y carne picada, relacionados con la mayoría de los brotes salmonelósicos. La internacional Commission on Microbiological specifications for food of the international Association of Microbiological Societies (ICMSF) recomendó que el recuento admitido a 35°C (o a 20°C en el caso de carne refrigerada) sea inferior a 10⁷/UFC g y que no se detecten salmonelas en 25 g de carne (Gracey, 1989).

3.- JUSTIFICACIÓN

Tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo, las enfermedades causadas por alimentos contaminados son unos de los principales problemas de salud, y México no es la excepción.

En el 2005, la Dirección General de Epidemiología reportó que las infecciones intestinales ocuparon el segundo lugar dentro de las enfermedades que aquejan a la República Mexicana.

En México, la carne más consumida es la de pollo, debido a su precio más bajo seguida de cerdo y por último res. Es por esto, que decidimos estudiar la calidad microbiológica de una de las carnes más consumidas, que es cerdo.

En México no existe una Norma que regule la calidad de la carne de cerdo que se vende en supermercados, con esto, la carne puede llegar a ser una fuente potencial de enfermedades para los consumidores, afectando el desempeño de los integrantes de la comunidad y repercutiendo en la vida cotidiana.

4.- OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Conocer la calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados en el Distrito Federal.

4.1.1 Objetivos particulares

- ✚ Evaluar la cantidad de microorganismos indicadores que contenga la carne de cerdo de supermercados (mesófilos, coliformes, hongos y levaduras).
- ✚ Conocer que microorganismos patógenos están presentes en carne de cerdo vendida en supermercados (*Salmonella sp.*, *Staphylococcus spp* y *Listeria sp.*).

5.- METODOLOGÍA

5.1 Material de Estudio

El Distrito Federal está constituido por 16 Delegaciones, de las cuales para este estudio se eligieron las seis que tienen más de 500 000 habitantes: Iztapalapa, Gustavo A. Madero, Coyoacán, Álvaro Obregón, Cuauhtémoc y Tlalpan; de estas delegaciones se tomaron muestras de 6 cadenas de supermercados (A, B, C, D, E y F). La parte de la carne que se muestreo fue el lomo de cerdo, el cual estaba almacenado a 4°C y empacado al vacío en algunos casos. Los microorganismos analizados fueron Mesófilos, Coliformes, Mohos y Levaduras, *Salmonella spp*, *Staphylococcus sp.* y *Listeria sp.*, todos los análisis se hicieron por duplicado, dando un total de 72 muestras.

5.2 NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Se pesaron 10.0 g de muestra en una caja Petri estéril, agregándolos a un frasco para dilución que contenga 90.0ml. de una solución salina al 0.85%. Posteriormente en un vaso de licuadora estéril se homogeneizó durante 10.0 seg. a velocidad mínima, de esta suspensión, se tomaron 1.0 mL y transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 9.0 mL de solución salina al 0.85%, esta dilución constituyó la 10^2 , eta operación se repitió hasta la dilución 10^{-5} , usando una pipeta estéril para cada dilución. Se marcaron las bases de las cajas con los datos pertinentes antes de inocular. Se inocularon por duplicado, 0.1 mL de la dilución correspondiente en cada caja con agar triptona extracto de levadura, mediante pipeta estéril. Para distribuir de manera homogénea, se extendió el inóculo utilizando una varilla de vidrio estéril (en forma de escuadra o “L”) haciendo movimientos giratorios de manera perpendicular al medio de cultivo, hasta lograr la completa incorporación del inóculo en el medio; cuidando que todo el inóculo se absorbiera antes de incubar (esperando aproximadamente 10 minutos). Todo este proceso se hizo en menos de 20 minutos. Se incubaron las cajas en posición invertida durante 35°C durante 24 hrs. Después de la incubación, se contaron

todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas que tenían de 25 – 250 ufc, usando el registrador para contar las colonias.

5.3 NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Se pesaron 10.0 g de muestra en una caja Petri estéril, agregándolos a un frasco para dilución que contenga 90.0 mL de una solución salina al 0.85%. Posteriormente en un vaso de licuadora estéril se homogeneizó durante 10.0 seg. a velocidad mínima, de esta suspensión, se tomaron 1.0 mL y transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 9.0 mL de solución salina al 0.85%, agitando y repitiendo esta operación hasta 10^{-5} , usando una pipeta estéril para cada dilución. Se marcaron las bases de las cajas con los datos pertinentes antes de inocular. Se inocularon por duplicado, 0.1 mL de la dilución correspondiente en cada caja con agar papa dextrosa, mediante pipeta estéril. Para distribuir de manera homogénea, se extendió el inóculo utilizando una varilla de vidrio estéril (en forma de escuadra o “L”) haciendo movimientos giratorios de manera perpendicular al medio de cultivo, hasta lograr la completa incorporación del inóculo en el medio; cuidando que todo el inóculo se absorbiera antes de incubar (esperando aproximado de 10 minutos). Todo este proceso se hizo en menos de 20 minutos. Se incubaron las cajas en posición invertida durante 25°C durante 24 hrs. Después de la incubación, se contaron todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas que tenían de 10- 150 ufc, usando el registrador para contar las colonias.

5.4 NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Se pesaron 10.0 g de muestra en una caja Petri estéril, agregándolos a un frasco para dilución que contenga 90.0 mL de una solución salina al 0.85%. Posteriormente en un vaso de licuadora estéril se homogeneizó durante 10.0 seg. a velocidad mínima, de esta suspensión, se tomaron 1.0 mL y transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 9.0 mL de solución salina al 0.85%, agitando y

repetiendo esta operación hasta 10^{-5} , usando una pipeta estéril para cada dilución. Se marcaron las bases de las cajas con los datos pertinentes antes de inocular. Se inocularon por duplicado, 0.1 mL de la dilución correspondiente en cada caja con agar bilis rojo violeta, mediante pipeta estéril. Para distribuir de manera homogénea, se extendió el inóculo utilizando una varilla de vidrio estéril (en forma de escuadra o “L”) haciendo movimientos giratorios de manera perpendicular al medio de cultivo, hasta lograr la completa incorporación del inóculo en el medio; cuidando que todo el inóculo se absorbiera antes de incubar (esperando aproximado de 10 minutos). Todo este proceso se hizo en menos de 20 minutos. Se incubaron las cajas en posición invertida durante 35°C durante 24 hrs. Después de la incubación, se contaron todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas que tenían de 15 – 150 ufc, usando el registrador para contar colonias.

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

Se pesaron 10.0 g de muestra en una caja Petri estéril, agregándolos a un frasco para dilución que contenga 90.0 mL de una solución salina al 0.85%. Posteriormente en un vaso de licuadora estéril se homogeneizó durante 10.0 seg. a velocidad mínima, de esta suspensión usando diferentes pipetas de 1ml para cada dilución hasta llegar a 10^{-5} , se inocularon por duplicado 0.1ml sobre la superficie de las placas de agar Baird-Parker, se distribuyó el inóculo sobre la superficie del agar con varillas estériles de vidrio en ángulo recto. Se mantuvieron las placas en su posición hasta que el inóculo fue absorbido. Se incubaron las placas invertidas de 45 a 48h a 35°C . Se tomaron las placas que contenían un rango de 15 – 150 colonias típicas.

En la Tabla 2 se muestra el número de colonias a evaluar para las pruebas bioquímicas.

Tabla 2. Número de colonias a evaluar para las pruebas bioquímicas.

NUMERO DE COLONIAS SOSPECHOSAS EN PLACA	NUMERO DE COLONIAS POR PROBAR
Menos de 50	3
51 a 100	5
101 a 150 o más	7

Se seleccionaron el número de colonias y sembraron cada una en tubos con 0,5 ml de caldo de infusión cerebro-corazón, incubando a 35°C durante 24 h.

5.5.1 Prueba de coagulasa

Se agregaron a 0,2 ml del cultivo anterior, 0,2 ml de plasma de conejo diluido volumen a volumen con solución salina estéril. En baño de agua se incubaron de 35 a 37°C y observaron durante 6 h a intervalos de 1 h; en caso de que no haya formación de coágulo, se dejó incubar y se observaron a las 24 h. Considerando positiva la prueba si hay formación de coágulo. Para comprobar la coagulabilidad del plasma de conejo se añadió una gota de cloruro de calcio al 5% a 0,5 ml de plasma reconstituido empleado, formándose un coágulo en 10-15 seg.

5.5.2 Prueba de termonucleasa

Se calentaron durante 15 min, 0,3 ml de cultivo en caldo de infusión cerebro-corazón en baño de agua hirviendo. Pasando una gota de cada cultivo por medio de una pipeta Pasteur a un orificio del medio ADN. Se incubaron a 35°C en cámara húmeda de 4 a 24 h. La aparición de un halo color rosa extendido de por lo menos 1 mm alrededor de la perforación se calificó como positiva.

5.5.3 Prueba de la catalasa (opcional, no lo exige la Norma Oficial Mexicana).

Con asa bacteriológica, se tomó un inóculo del caldo infusión cerebro corazón después de su incubación, se colocó sobre un portaobjetos, adicionando una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 30%, mezclando perfectamente bien. Si se presenta formación de burbujas, se considera positiva la prueba, esto es que sí contiene la enzima catalasa. En caso de no formarse burbujas la prueba se interpretará como ausencia de esta enzima.

5.6 NOM-143-SSA1-1995. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.**5.6.1 Preenriquecimiento.**

Se agregaron 25 g de lomo de cerdo en un recipiente que contenía 225 ml de medio de enriquecimiento (EB), se homogeneizó e incubo por 48 h a 30°C.

5.6.2 Aislamiento.

Después de 24 y 48 h de incubación en el medio EB, se sembraron en el medio OXA (agar Oxford), incubando por 24 a 48 h a 35°C. Las colonias de *Listeria* son negras, con halo negro. Algunas colonias pueden aparecer con un tono café oscuro que se define mejor a los siete días de incubación.

5.6.3 Prueba de catalasa.

Se emulsificó un cultivo puro, con una gota de solución de peróxido al 3%. La formación inmediata de burbujas indica que la prueba es positiva. Las especies de *Listeria* son catalasa positiva. La emulsión se realizó con un asa de plástico o palillo de madera estéril.

5.6.4 Tinción de Gram.

Se hizo una tinción de Gram de cultivos de 16 a 24 h. Todas las especies de *Listeria* son bacilos cortos Gram positivos; sin embargo en cultivos viejos pueden presentarse como formas cocoides.

5.6.5 Prueba de hemólisis.

Se dibujó una cuadrícula de 20 a 25 espacios en el fondo de la placa de agar sangre de carnero al 5%. Inoculando por picadura un cuadro por cada cultivo. Se incubó por 48 h a 35°C, se observó la reacción hemolítica en las placas. *L. monocytogenes* produce una zona ligeramente clara alrededor del punto de picadura que es un centro negro.

5.7 NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de Salmonella en alimentos.

5.7.1 Aislamiento.

A las 24 horas se tomaron 1 mL de Caldo Lactosado y se transfirieron a un tubo conteniendo 10 mL de caldo selenito cistina (SC). Se incubó el Caldo SC a 35 ± 2.0°C (En baño de agua termostáticamente controlado y con recirculación), por 24 horas. Luego de 24 h de incubación, con un asa estéril se tomaron 10µL de Caldo SC el cual se inoculó sobre los medios diferenciales: XLD y Hektoen Entérico. Se incubaron las placas por 24 h a 35°C. En el Agar XLD las colonias sospechosas se observan colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.

Para el Agar VB son colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de lactosa dan colonias amarillas.

5.7.2 Confirmación Bioquímica.

Se inoculó utilizando un asa en punta, colonias en estrías sobre la superficie del agar triple azúcar hierro (TSI) y agar lisina descarboxilasa (LIA). Se incubaron los tubos inoculados durante 24 h. a 35°C ± 2. En el fondo del tubo con agar TSI se observa vire del indicador debido a la fermentación de la glucosa; en la superficie del medio se observa un color rojo más intenso que el color original debido a la no fermentación de la lactosa ni de la sacarosa. En la mayoría de los casos se observa coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de ácido sulfhídrico.

En agar LIA se observa intensificación del color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina. Se consideran negativos aquellos cultivos que produzcan claramente color amarillo en el fondo del agar. La mayoría de las cepas de *Salmonella* produce ácido sulfhídrico en este medio con ennegrecimiento a lo largo de la punción.

5.7.3 Identificación de *Salmonella spp.* Mediante sistema API 20e.

A partir de una colonia bien aislada del microorganismo, se hizo una suspensión en 5 mL de solución salina (0.85% de NaCl). Con la suspensión de bacterias se llenaron los tubos (cada pocillo tiene un tubo y una cúpula, parte aerobia), de todos los pocillos, para CI, VP, GEL se llenó la cúpula con la suspensión de bacterias. En los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H₂S se le agregó a la cúpula aceite mineral para obtener anaerobiosis. Se colocó la tira en la cámara húmeda de incubación que previamente se le había colocado agua en los alvéolos de la cámara para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación. Se incubaron a 37°C durante 18-24h. Tras la incubación se anotaron los resultados inmediatos, es decir, los que no requieren ser revelados.

Algunas pruebas requirieron ser reveladas:

TDA. Añadir una gota de FeCl₃ 10 %. Un color marrón-rojizo indica una reacción positiva.

VP. Añadir una gota del reactivo 1 (KOH al 40%) y una gota del reactivo 2 (C₂H₅OH). Esperar 10 min, un color rosa rojo indica una reacción positiva.

IND. Añadir una gota de reactivo de Kovacs o de Dimetilamino-cinamaldehído. Un color rosado que se difumina en toda la cúpula indica una reacción positiva.

GLU. Reducción de los nitratos en nitritos (NO₂) y en nitrógeno (N₂). Anadir una gota del reactivo NIT 1 y NIT 2. Esperar de 2 a 5 min, una reacción roja o amarilla se considera como positiva.

Interpretación. La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con los de las tablas de lectura, y anotando el resultado

como positivo o negativo. En la Tabla 3 se muestra la interpretación de resultados para la prueba API 20e.

Tabla 3. Interpretación de resultados para la prueba API 20e

Prueba	Reacción / Enzimas	Negativo	Positivo
ONPG	Beta-galactosidasa	sin color	Amarillo
ADH	Arginina deshidrolasa	amarillo	rojo o naranja
LDC	Lisina descarboxilasa	amarillo	rojo o naranja
ODC	Ornitina descarboxilasa	amarillo	rojo o naranja
CIT	Utilización del citrato	verde	azul oscuro o turquesa
H₂S	Producción de H ₂ S	sin precipitado negro	precipitado negro
URE	Ureasa	amarillo	rojo o naranja
TDA	Triptófano desaminasa	amarillo	marrón-rojo
IND	Producción de indol	amarillo	color rosa o anillo rosa-rojo
VP	Producción de acetoina (Voges-Proskauer)	sin color	rosa-rojo
GEL	Gelatinasa	sin difusión	difusión de pigmento
GLU	Fermentación/oxidación de glucosa	azul o verde	Amarillo
MAN	Fermentación/oxidación de manitol	azul o verde	Amarillo
INO	Fermentación/oxidación de inositol	azul o verde	Amarillo
SOR	Fermentación/oxidación de sorbitol	azul o verde	Amarillo
RHA	Fermentación/oxidación de ramnosa	azul o verde	Amarillo
SAC	Fermentación/oxidación de sacarosa	azul o verde	Amarillo
MEL	Fermentación/oxidación de melobiosa	azul o verde	Amarillo
AMY	Fermentación/oxidación de amigdalina	azul o verde	Amarillo
ARA	Fermentación/oxidación de arabinosa	azul o verde	Amarillo

Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, Se suman los valores de cada triplete que hayan dado positivos, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras. Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata, para realizar esta operación se utilizó el sitio apiweb™ <https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>.

5.8 Análisis Estadístico

Los resultados de los microorganismos mesófilos, coliformes mohos y levaduras se analizaron realizando la media de cuadrados del ANOVA utilizando el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS; SAS Inst., Inc.). El modelo estadístico contenía la diferencia significativa ($P < 0.05$) de los supermercados y las delegaciones.

6.- RESULTADOS Y DISCUSION

En México no se cuenta con ninguna Normatividad para la carne fresca de cerdo en supermercados, es por esto que decidimos ocupar 2 Normas que eran las que más se acercaban con los objetivos de nuestro proyecto:

La Norma Oficial Mexicana, 034-SSA1-1993. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias, en donde los números aceptados de microorganismos son:

Mesófilos aerobios 5 000 000 UFC/g

Salmonella spp. Ausente

Staphylococcus aureus 1000 UFC/g

Y la Norma Oficial Mexicana 194-SSA1-2004. Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos, la cual admite además como microorganismo indicador a *E.coli* con 1000 UFC/g.

Las normas anteriores no contemplan la presencia de *Listeria monocytogenes*, ni de hongos y levaduras.

Los resultados se dividieron en 2 partes, primero se muestran los microorganismos indicadores de 6 supermercados de las 6 delegaciones y después los resultados de microorganismos patógenos.

6.1 Microorganismos indicadores

Como microorganismos indicadores consideramos a los mesófilos aerobios, hongos y levaduras y coliformes.

La Tabla 4 muestra los resultados del análisis estadístico que se realizó, como se puede ver, en las delegaciones Álvaro Obregón, Coyoacán, Cuauhtémoc, Gustavo A. Madero, Iztapalapa y Tlalpan la mayor significancia ($P < 0.05$) se encuentra entre los supermercados C, D y F (entre D y F no existe diferencia significativa)

comparados con los supermercados A, B y E, observando que en estos tres últimos no se encuentra diferencia significativa entre sí. Díaz Vela y col. (2011), muestrearon carne molida de 5 tiendas de una cadena de supermercados del municipio de Ecatepec, dando resultados de mesófilos aerobios dentro de norma, nosotros tenemos que el supermercado A y D de la delegación Álvaro Obregón sobrepasan los límites permitidos en norma para mesófilos aerobios, los otros supermercados correspondientes a sus delegaciones tienen una cuenta por debajo de lo que establece la norma 5 000 000 ufc/g. El nivel de microorganismos refleja la calidad microbiológica o integridad de la carne de cerdo, así como la afectividad de las medidas para el control y destrucción de tal microorganismo (Zamudio y col., 2006), así, los supermercados deben reforzar las buenas prácticas de manufactura ya que como sabemos varios patógenos son mesófilos, sin embargo, una cuenta baja de mesófilos no asegura que el alimento esté exento de la presencia de microflora patógena (Frazier, 2000). Existen diversos factores que hacen que aumente el crecimiento de la población bacteriana, como son el tiempo y la temperatura de almacenamiento, por lo tanto, esta cuenta alta nos da el panorama general de cómo es manipulada la carne de cerdo en estos supermercados.

Tabla 4. Resultados de mesófilos aerobios en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.

DELEGACIÓN	Supermercado					
	A	B	C	D	E	F
Álvaro Obregón	7.46 ^{aB}	5.98 ^{aB}	4.84 ^{aC}	6.85 ^{aA}	5.51 ^{aB}	5.86 ^{aA}
Coyoacán	5.10 ^{bB}	4.39 ^{bB}	4.39 ^{bC}	5.86 ^{bA}	3.97 ^{bB}	7.44 ^{bA}
Cuahuatémoc	4.32 ^{cB}	5.46 ^{cB}	5.33 ^{cC}	5.80 ^{cA}	4.8 ^{cB}	5.09 ^{cA}
Gustavo A Madero	4.30 ^{cB}	4.99 ^{cB}	3.54 ^{cC}	6.11 ^{cA}	5.52 ^{cB}	6.37 ^{cA}
Iztapalapa	4.51 ^{cB}	4.84 ^{cB}	4.55 ^{cC}	4.45 ^{cA}	5.78 ^{cB}	5.72 ^{cA}
Tlalpan	6.28 ^{bB}	5.03 ^{bB}	3.45 ^{bC}	6.65 ^{bA}	6.50 ^{bB}	5.60 ^{bA}

a, b, c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente ($P>0.05$) diferentes para la Delegación

A, B, C Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente ($P>0.05$) diferentes para la Supermercado

En la Tabla 5 se muestran los resultados del análisis realizado para mohos y levaduras, en donde podemos observar que, el supermercado A y D cuenta con una mayor cuenta microbiana, aunque en ninguna de las Normas consultadas se contemplan a estos microorganismos. En teoría, en las carnes frescas nunca crecen mohos, cuando se permite que en las mismas crezcan libremente las bacterias. Al parecer, la causa radica en que las bacterias crecen con mayor rapidez que los mohos, consumiendo de este modo el oxígeno de la superficie que los mohos también necesitan para desarrollar su actividad (Brown y Baird-Parker, 1982), por lo que su presencia puede no representar ningún problema. El

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

problema real de los mohos y las levaduras es que pueden sintetizar metabolitos tóxicos, pero su presencia en carne es muy poca, es por esta razón por la cual se tiene una cuenta baja en los resultados obtenidos.

En las delegaciones Álvaro Obregón, Coyoacán, Cuauhtémoc, Gustavo A. Madero, Iztapalapa y Tlalpan tenemos que la mayor significancia ($P < 0.05$) se encuentra entre los supermercados C y D comparados con los supermercados A, B, E y F (aunque entre estas no existe diferencia).

Tabla 5. Resultados de mohos y levaduras en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.

DELEGACION	Supermercado					
	A	B	C	D	E	F
Álvaro Obregón	5.84 ^{aB}	4.31 ^{aB}	5.14 ^{aC}	5.97 ^{aA}	5.04 ^{aB}	5.28 ^{aB}
Coyoacán	4.43 ^{cbB}	5.14 ^{cbB}	3.53 ^{cbC}	5.19 ^{cbA}	3.31 ^{cbB}	5.60 ^{cbB}
Cuauhtémoc	3.61 ^{bB}	4.70 ^{bB}	4.61 ^{bC}	6.03 ^{bA}	5.34 ^{bB}	4.24 ^{bB}
Gustavo A Madero	3.77 ^{cdB}	3.90 ^{cdB}	3.2 ^{cdC}	5.39 ^{cdA}	4.61 ^{cdB}	5.15 ^{cdB}
Iztapalapa	3.44 ^{dB}	4.64 ^{dB}	4.16 ^{dC}	3.61 ^{dA}	4.31 ^{dB}	4.10 ^{dB}
Tlalpan	5.20 ^{cdB}	3.82 ^{cdB}	2.71 ^{cdC}	4.63 ^{cdA}	5.08 ^{cdB}	4.16 ^{cdB}

a, b, c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente ($P > 0.05$) diferentes para la Delegación

A, B, C Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente ($P > 0.05$) diferentes para la Supermercado

La Tabla 6 nos muestra los resultados obtenidos del análisis que se hizo para coliformes, teniendo que el supermercado A de la delegación Álvaro Obregón y los supermercados B y F de la delegación Coyoacán son los que tienen una mayor cuenta microbiana, aunque ninguna de la Normas consultadas contempla tampoco a estos microorganismos, deben tomarse en consideración ya que nos indican las buenas prácticas de higiene con las que fue manipulada la carne y la posibilidad de que haya presencia de *E. coli*.

Se observa que en las delegaciones Álvaro Obregón, Coyoacán, Cuauhtémoc, Gustavo A. Madero, Iztapalapa y Tlalpan tenemos que la mayor significancia ($P < 0.05$) se encuentra entre los supermercados C y E comparados con los supermercados A y F (entre si no existen significancia) y entre los supermercados B y D (entre estos dos no hay una diferencia significativa).

Tabla 6. Resultados de coliformes en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.

DELEGACION	Supermercado					
	A	B	C	D	E	F
Álvaro Obregón	6.16 ^{aA}	4.47 ^{aA}	4.16 ^{aC}	5.81 ^{aA}	5.43 ^{aB}	3.68 ^{aA}
Coyoacán	4.52 ^{aA}	6.16 ^{aA}	3.13 ^{aC}	5.47 ^{aA}	3.25 ^{aB}	6.44 ^{aA}
Cuauhtémoc	3.36 ^{bA}	4.74 ^{bA}	4.71 ^{bC}	4.81 ^{bA}	3.84 ^{bB}	4.19 ^{bA}
Gustavo A Madero	3.76 ^{bA}	3.85 ^{bA}	3.31 ^{bC}	5.23 ^{bA}	3.68 ^{bB}	5.40 ^{bA}
Iztapalapa	4.22 ^{bA}	5.97 ^{bA}	3.28 ^{bC}	2.74 ^{bA}	4.41 ^{bB}	3.73 ^{bA}
Tlalpan	5.23 ^{bA}	4.20 ^{bA}	2.56 ^{bC}	4.97 ^{bA}	4.57 ^{bB}	3.60 ^{bA}

a, b, c Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente ($P>0.05$) diferentes para la Delegación

A, B, C Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente ($P>0.05$) diferentes para la Supermercado

En general para microorganismos indicadores se tiene una cuenta elevada principalmente para el supermercado A y D de la delegación Álvaro Obregón, que en el caso de mesófilos aerobios sobrepasa los límites microbianos reportados en Norma.

6.2 Microorganismos patógenos

6.2.1 *Listeria sp.*

La prevalencia que se tiene de *Listeria sp.* es del 16.66% de las 72 muestras analizadas (Tabla 7), este valor es elevado ya que al ser un patógeno no debería estar presente, el supermercado C y D tienen la mayor presencia en las delegaciones analizadas, en contraste, podemos observar que las muestras analizadas de los supermercados A y E están exentas, *Listeria* se encuentra principalmente en superficies, posiblemente la contaminación pudo haber venido de las cámaras de refrigeración, de las mesas, cuchillos o tablas mal sanitizadas. Pérez-Chabela y col. (2008) muestrearon carne molida de bovino que se vende en supermercados de la Ciudad de México para identificar microorganismos patógenos e indicadores. Reportando la presencia de *Listeria* solo en 1 de 5 supermercados muestreados, esto posiblemente por una contaminación por los malos hábitos de higiene al manipular los empaques. Gamboa-Marín y col. (2012) determinaron la prevalencia de *L. monocytogenes* en 566 muestras, de las cuales 160 en carne de desposte dieron positivas. La prevalencia encontrada fue de 3.7% y 33.9% en carne en canal y cortes de carne respectivamente. Los aislamientos se confirmaron con PCR-multiplex para identificar el género y especie. *L. monocytogenes* ha causado varios brotes alimentarios, especialmente a través de un grupo de productos listos para el consumo de alimentos, donde la carne y los productos lácteos son los más afectados (Kostenko y col., 1999).

Tabla 7. Resultados de presencia de *Listeria sp.* en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.

DELEGACION	Supermercado					
	A	B	C	D	E	F
Álvaro Obregón			+	+		
Coyoacán			+			+
Cuauhtémoc		+		+		+
Gustavo A. Madero			+	+		
Iztapalapa				+		
Tlalpan		+		+		

+ Presencia de *Listeria sp* en carne de lomo de cerdo

6.2.2 *Staphylococcus aureus*

La Tabla 8 muestra que algunos supermercados poseen un nivel elevado de *Staphylococcus aureus* productores de enterotoxinas, se deben regular más estos niveles ya que aunque se cocine perfectamente la carne, la toxina producida seguirá permaneciendo en la carne dando origen de esta manera a la intoxicación, en general no hay mucha prevalencia, aun así se deben seguir las Buenas Prácticas de Higiene. Díaz-Vela y col. (2011), reportaron una alta presencia de *Staphylococcus* que sobrepasa la Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993. Torres-Vitela y col. (2011) determinaron la prevalencia de *Staphylococcus aureus* en chorizo y longaniza, de 100 muestras de 50 carnicerías el recuento de *S. aureus* presento una media de 24,600 ufc/g de chorizo y para longaniza mostro una media

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

de 7 800 ufc/g. concluyendo que la alta presencia en chorizo y longaniza constituye un peligro potencial para los consumidores. En nuestro caso tenemos una media de 770 ufc/g, en general se tiene una cuanta baja dentro de norma, solo algunos supermercados sobresalen.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos indica errores en la elaboración por parte de los operarios o de la conservación y manejo de los distribuidores de los productos (Amador y col., 1986), ya que, en las personas, el principal reservorio es la cavidad nasal, la piel, las heridas, ojos, garganta y tracto intestinal. Desde estas localizaciones, el microorganismo pasa al aire y al polvo, a los vestidos, y a otros lugares en los que puede contaminar los alimentos (Jay, 2000).

Atanassova y col. (2001) determinaron la presencia de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* y estafilococos en la carne de cerdo cruda y jamón ahumado sin cocinar, realizando una comparación en la detección de cultivo clásico y RFLP-PCR en un total de 135 muestras, *S. aureus* se detectó por cultivo en el 25.9% de las muestras y 51.1% resultaron positivas cuando se utilizó PCR. La carne fresca salió más frecuentemente contaminada. Por PCR el 62.2% fueron identificados como *S. aureus* en comparación con el 57.7% de las muestras positivas mediante la técnica de cultivo. Ellos concluyen que el PCR es un método más confiable que el método de cultivo clásico.

Tabla 8. Resultados de prevalencia de *Staphylococcus aureus* en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

DELEGACION	Supermercado					
	A	B	C	D	E	F
Álvaro Obregón	29900		167			
Coyoacán			218	194	1333	
Cuauhtémoc	11900		1920		470	
Gustavo A. Madero			770			
Iztapalapa	2400		5000	150	178	745
Tlalpan						106

6.2.3 *Salmonella sp.*

Salmonella sp. tiene una prevalencia baja comparada con algunos trabajos reportados, solo del 2.77% del total de las muestras analizadas (Tabla 9), aun así, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, esta nos dice que *Salmonella* debe estar ausente en 25g de muestra analizada, por tanto estos parámetros salen de Norma. Bello-Pérez y col. (1990) analizaron un total de 336 muestras de carne cruda, del total, 109 muestras estuvieron contaminadas con este patógeno 47 muestras eran de carne de cerdo de las cuales el 13.99% fueron positivas. Al haber encontrado microorganismos patógenos en la mayoría de los productos cárnicos podría representar un riesgo a la salud si no son adecuadamente cocinados y manejados. Pérez-Chabela y col. (2008) muestreó 5 supermercados

de los cuales *Salmonella* se encontró en 3. La carne y otros alimentos contaminados son especialmente peligrosos cuando se han mantenido bajo circunstancias que favorecen la multiplicación de *Salmonella* y especialmente durante la época de calor. La mayor parte de intoxicaciones por alimentos son causadas por contaminación con *Salmonella*.

También llama la atención la presencia de *E.coli* que arrojó este análisis ya que la presencia fue de 6.94%, mayor incluso a la de *Salmonella*, es importante considerar esta cuenta ya que *E. coli* es una de las principales enfermedades que son transmitidas por alimentos. Hernández y col. (2008) evaluaron la calidad microbiológica de la carne de canal en un rastro municipal de Hidalgo, México y encontraron que los niveles de *E. coli* registrados en ese estudio representaron un riesgo sanitario para los consumidores. Ramos (2008) realizó un estudio de incidencia de *E. coli* en chuletas crudas de cerdo, reportando niveles de contaminación del 50% de las muestras, por lo que la calidad higiénica fue deficiente, debido a que esta bacteria se asocia a las condiciones higiénico-sanitarias del lugar y a los manipuladores. Del mismo. Gallegos y col. (2009) realizaron un estudio para determinar *E. coli* O157:H7 en canales de bovinos y porcinos mediante PCR, de 18 muestras compuestas (nueve de cerdo y nueve de res), seis de cerdo (66.66%) y seis de bovino (66.66%) fueron positivas por PCR, lo cual representa un riesgo para la salud, esto, no necesariamente implica que el animal sea el portador, sino que pone de manifiesto la ineficiencia de las buenas prácticas higiénicas en el manejo de la canal. A pesar de que el proceso de sacrificio del ganado bovino y porcino es diferente, no se observaron diferencias en la incidencia de *E coli* en las canales. León- Félix y col. (2012) evaluaron la calidad microbiológica de carne de res en 18 comercios de los 36 locales que se dedican al comercio de carne en el mercado municipal de Culiacán Sinaloa. El 31.5% de muestras resultaron positivas para *E. coli* con concentraciones de entre 100 y 700 UFC/g, ellos aislaron nueve cepas presuntivas de *E. coli* O157:H7 de 16 muestras las cuales se descartaron con la técnica PCR-TR, en estas no se

detectaron genes de virulencia. Así como *Salmonella*, *E coli* debería estar ausente según la Norma o en su defecto tener un límite máximo permisible.

TABLA 9. Resultados de presencia de *Salmonella sp.* en carne de lomo de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal.

Delegación	SUPERMERCADOS					
	A	B	C	D	E	F
Tlalpan	<i>Salmonella choleraesuis spp. arizonae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae spp. ozaenae</i>	<i>Citobacter youngae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Coyoacán	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Klebsiella pneumoniae spp. pneumoniae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Serratia odorifera</i>	<i>Enterobacter sakasaki</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
Iztapalapa	<i>Enterobacter sakasaki</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pantoea spp</i>	<i>Pantoea spp</i>	<i>Pantoea spp</i>	<i>Aeromonas salmonicida spp. salmonicida</i>
Cuauhtémoc	<i>Salmonella spp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae spp. ozaenae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Gustavo A. Madero	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>
Álvaro Obregón	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus vulgaris group</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia ribudiea</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>

7.- CONCLUSIONES

La carne es un producto perecedero que contiene una gran cantidad de nutrientes para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. Ninguno de los procesos utilizados para convertir el ganado en carne, puede garantizar hasta el momento, la ausencia de microorganismos en los productos cárnicos. De ahí que los niveles y tipos de microorganismos reflejen la integridad y seguridad de un producto cárnico.

Todas las cadenas de supermercados de las 6 delegaciones muestreadas mostraron valores altos de microorganismos lo cual es preocupante, ya que existe la presencia de patógenos. La presencia de estos microorganismos depende del supermercado.

La cadena de supermercados C maneja su corte de lomo de cerdo en la mayoría de sus tiendas congelada, lo cual refiere a que algunas bacterias sean inhibidas o destruidas, y esto se ve reflejado en la cuenta baja que se tuvo en determinadas tiendas, pero también representan un peligro mayor, ya que, si alguna especie de salmonella sobrevive se hará más resistente.

Es necesario contar con una Norma Oficial Mexicana para la carne de cerdo que se vende en supermercados.

8.- BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, N. (2007) Virulencia, resistencia y elementos genéticos móviles en serotipos no prevalentes de *Salmonella entérica* (Tesis doctoral). Universidad de Oviedo. España.
- Amador, R., Costarrica, L., Parrilla, C., Mota, L. (1986). Determinación de la enterotoxigenicidad de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de productos cárnicos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 28:127-131.
- Arcos-Ávila, E.C. y Mora C.L. (2011). Determinación de la prevalencia y resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp.* en carne porcina y fomites de 6 plantas de beneficio y 14 expendios del departamento del Tolima. (Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Colombia.
- Atanassova, V., Meindl, A. y Ring, C. (2001). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham - a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. International Journal of Food Microbiology 68:105-113.
- Borch, E., Kant, Muermas, Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. International Journal of Applied Bacteriology, Symposium supplement 73:S103-S104.
- Bello-Pérez, L.A., Ortiz Dinalles, D.M., Pérez Memue, E., Castro Domínguez V. (1990). Salmonella en carnes crudas: un estudio de localidades en el estado de Guerrero. Salud Pública de México, México, 32:74-79.
- Brown, M.H. y Baird-Parker, A.C. (1982). The microbial examination of meat en M.H. Brown (editor), Meat Microbiology. Applied science publishers. London England. pp. 459- 488.

- Cakir, I., Dogan, H.B., Kadir- Halman, A.Y. Worobo, R.W. (2001). An alternative approach for enumeration of *Escherichia coli* in foods. *International Journal of Food Microbiology* 68: 217-223.
- Cano-Rueda, S. (2006). Métodos de análisis microbiológico. Analiza Calidad URL: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi148anmic.pdf>. Fecha de acceso: 25/08/ 2013.
- Codex Alimentarius (2005). Código de prácticas de higiene para la carne URL: www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXP_058s.pdf. Fecha de acceso: 25/02/2013
- Díaz-Vela, J., Galván, B.A., Rosales, G.A., (2011). Estudio comparativo de los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una cadena de supermercados y mercados en el municipio de Ecatepec. *Nacameh*, 5: 1-9.
- Forrest, J.C., E.D. Aberle, H.B. Hedrick, M.D. Judge, R.A. Merkel. (1975). Conversión del músculo en carne. Capítulo 6. En: *Fundamentos de ciencia de la carne*. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp. 125-134.
- Frazier, W.C. y Westhoff, D.C. (2000). Microbiología de los alimentos. Parte I. En: *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España pp. 30-58.
- Gallegos, M., A. Morales, G. Álvarez, J. Vázquez, L. Morales. I. Martínez, J. Maldonado. 2009. Caracterización de aislados de *Escherichia coli* O157:H7 en canales de Bovinos y Porcinos mediante PCR. *Red de Revistas Científica, FCV-LUZ/Vol. XIX, No. 2:139-146*.
- Gamboa-Marín, A., Buitrago, S., Pérez-Pérez, K., Marcela Mercado, M., Poutou-Piñales, R., Carrascal-Camacho, A. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in pork-meat and other processed products from the Colombian swine industry. *Revista MVZ Córdoba* 17:2827-2833.

- Gracey, J.E. (1989) Infecciones e intoxicaciones alimentarias y microbiología de la carne. Capítulo 11. En: Higiene de la carne. J.F. Gracey (Editor). Madrid, España. Interamericana Mc-Graw Hill, 1989. pp 209 – 238.
- Hernández, S., Estrada, A., Sánchez, I., Castro, J., Román A. y Santos E. (2007). Condiciones microbiológicas en el proceso del sacrificio en un rastro municipal del Estado de Hidalgo, México. *Vet. Méx* 38:187-195
- Izquierdo, P., Allara, M., Torres G., Sánchez, M., Peña, G., y Sangronis, M.(2004). Aminas biogénicas y crecimiento bacteriano en carne de hamburguesas. *Revista científica* 14. 1:7-12.
- Jay, James M. (2000) Microorganismos en alimentos. En: *Microbiología Moderna de los Alimentos*. D.R. Heldman (editor) Zaragoza. España. Editorial Acribia. pp 233 – 257.
- Kline, K. H., Bechtel, P. J. (1990). Effects of postmortem time and electrical stimulation on histochemical muscle fiber staining and pH in their middle gluteus muscle from beef cattle. *Journal of Food Quality*. 13:447-452.
- Kostenko, Y.G., Shagowa, T.S., Yankovsky, K.S. (1999). Listeriosis: Technological factors and safety on meat products during their manufacture. 45th International Congress of Meat Science and Technology. Yokohama, Japon.
- Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat science* 52:299-305.
- Lawrie, R.A. (1985) *Meat Science*. 4^a Edicion Pergamon Press. London, England. pp 1- 44.
- León-Félix, J., Jiménez, E.M. y Chaidez, Q. C. (2012) Calidad microbiológica de la carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. México. *Vet. Méx* 43:273-284
- McDonald, K, y Sun, D. (1999) predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* 52:1-27.

- NOM-034-SSA1-1993. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias.
- NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos.
- NOM-115-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de *staphylococcus aureus* en alimentos.
- NOM-143-SSA1-1995, Bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria Monocytogenes*.
- NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (1988). Serie de informes técnicos. Control de Salmonelosis: importancia de la higiene veterinaria de los productos de origen animal. Ginebra pp. 10 – 11.
- Pérez-Chabela, M. L., Guerrero, L. I., Ponce, A. E. (2008). Detección de microorganismos patógenos e indicadores en carne de bovino que se expende en supermercados de la Ciudad de México. *Nacameh* 2:188-194.
- Ramos, A.Y., Hernández, A. y Hurtado, E. (2008) Incidencia de *Escherichia coli* en chuletas de cerdo vendidas al detal en Maturín, estado Monogas, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola* 8: 138-142.

- Ríos, R. F. G. y Acosta, S. D. C. (2008). Sacrificio humanitario de ganado bovino e inocuidad de la carne. *Nacameh*. 2:106- 123.
- Rosmini, R. M. (2006). Capítulo II. Métodos de insensibilización y matanza. En: *Ciencia y tecnología de carnes*. Hui, Y. H. (Editor). Limusa, México. pp. 18 - 43.
- Sinell, H. J., (1994) Capítulo IV, Microbiología de la carne. En: *Tecnología e higiene de la carne*. Prändl O. (Editor). Acribia, Zaragoza, España. pp. 171- 195.
- Torres Vitela, Ma. Refugio, Navarro, H. V. Villaruel, L. A. y Olea, R. M. de los A. (2011). Prevalencia de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en chorizo y longaniza. *Nacameh* 5:S96-S107.
- Zamudio, M. M. (2006). Capítulo XI. Microorganismos patógenos y alterantes. En: *Ciencia y tecnología de carnes*. Hui, Y. H. (Editor). Limusa, México. pp. 337- 365.
- Zúñiga, A. 2006. Reacción de Widal- interpretacion clinica. *Revista Panamericana de Infectología* 8(2): 40-44.

9.- ANEXO 1.- Medios de cultivo

Agar Triptona-Extracto de Levadura (agar para cuenta estándar).

Ingredientes

Extracto de levadura 2,5 g

Triptona 5,0 g

Dextrosa 1,0 g

Agar 15,0 g

Agua 1,0 l

Preparación.

Suspender los componentes del medio deshidratado en un litro de agua. Hervir hasta total disolución. Distribuir en recipientes de vidrio esterilizables de capacidad no mayor de 500 ml, cantidades de aproximadamente la mitad del volumen del mismo. Esterilizar en autoclave a $121 \pm 1,0$ °C, durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser $7,0 \pm 0,2$ a 25°C. Si el medio de cultivo es utilizado inmediatamente, enfriar a $45^\circ\text{C} \pm 1,0$ °C en baño de agua y mantenerlo a esta temperatura hasta antes de su uso. El medio no debe fundirse más de una vez. En caso de medios deshidratados seguir las instrucciones del fabricante.

Agar papa - dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada.

Preparación.

Seguir instrucciones del fabricante y después de esterilizar, enfriar en baño de agua a 45 ± 1 °C, acidificar a un pH de $3,5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1,4 ml de ácido tartárico por 100 ml de medio). Después de adicionar la solución, mezclar y medir el pH con potenciómetro. Dejar solidificar una porción del medio. Hacer esto en cada lote de medio preparado.

A fin de preservar las propiedades gelificantes del medio, no calentar después de agregar el ácido tartárico.

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

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.

Medio de Baird-Parker*Ingredientes*

Medio base 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.

Medio base de Baird-Parker

Ingredientes

Triptona 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.

Solución de telurito

Ingredientes

Telurito de potasio 1,0 g

Agua 100,0 ml

Preparación

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

Disolver el telurito de potasio en agua y esterilizar. La solución puede ser almacenada por varios meses a temperatura de 0 a 5°C.

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 mercuríco (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.

Solución salina isotónica

Ingredientes

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.

Caldo de infusión cerebro-corazón (BHI)

Ingredientes

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.

Acido desoxirribonucleico helicoidal de timo de ternera.

Ingredientes

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.

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.

Calidad microbiológica de la carne de cerdo que se vende en supermercados del Distrito Federal

Solución de azul de toluidina 0,1 M

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

Solución amortiguadora 0,05 M Tris-(hidroximetilaminometano)

(Tris pH 9) PM = 121,1

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

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 citrada

Caldo selenito-cistina*Ingredientes*

Triptona o polipeptona 5,00 g

Lactosa 4,00 g

Fosfato disódico 10,00 g

Selenito ácido de sodio 4,00 g

L-cistina 0,01 g

Agua destilada 1,00 L

pH final: 7,0 ± 0,2 a 25°C

Preparación

Disolver los ingredientes en un litro de agua destilada estéril y distribuir en volúmenes de 10 y 225 ml en recipientes estériles, según se requiera. El caldo así preparado es transparente. De preferencia usarlo el mismo día de su preparación.

Si se desea conservar el medio por varios días, puede exponerse al calor en autoclave por 5 min a 110°C \pm 1°C, tomando entonces un color salmón.

Agar verde brillante (VB)

Ingredientes

Extracto de levadura 3,0000 g

Polipeptona (Proteosa peptona No. 3) 10,0000 g

Cloruro de sodio 5,0000 g

Lactosa 10,0000 g

Sacarosa 10,0000 g

Rojo de fenol 0,0800 g

Agar 20,0000 g

Verde brillante 0,0125 g

Agua destilada 1,0000 l

pH final: 6,9 \pm 0,2

Preparación

Suspender los ingredientes en un litro de agua destilada y calentar a ebullición, hasta disolución completa. Ajustar el pH. Esterilizar en autoclave por 15 min a 121°C \pm 1°C. El sobrecalentamiento del medio disminuye su selectividad. Enfriar el medio a 50°C y distribuirlo en cajas de petri estériles. El aspecto del medio es oscuro, de color marrón.

Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)

Ingredientes

Xilosa 3,75 g

L-lisina 5,00 g

Lactosa 7,50 g

Sacarosa 7,50 g

Cloruro de sodio 5,00 g

Extracto de levadura 3,00 g

Rojo de fenol 0,08 g

Agar 15,00 g

Desoxicolato de sodio 2,50 g

Citrato férrico-amónico 0,80 g

Tiosulfato de sodio 6,80 g

Agua destilada 1,00 l

pH final: 6,9±0,2

Preparación

Suspender los ingredientes en un litro de agua destilada, y calentar en baño de agua a 55°C, agitando frecuentemente, hasta disolución completa. Ajustar el pH. Enfriar a 50°C y verter en cajas de petri estériles. No se esterilice. El sobrecalentamiento produce una precipitación; la reactividad del medio puede ser satisfactoria, pero las colonias suelen ser muy pequeñas. El aspecto del medio es claro y de color rojo brillante.

Agar de tres azúcares y hierro (TSI)

Ingredientes

Peptona de carne * 1,0 g

Peptona de caseína * 1,0 g

Cloruro de sodio 0,5 g

Lactosa 1,0 g

Sacarosa 1,0 g

Glucosa 0,1 g

Agar 1,3 g

Rojo de fenol 2,5 mg

Sulfato ferroso amónico

pentahidratado 20,0 mg

Tiosulfato de sodio 20,0 mg

Agua destilada 100,0 ml

pH final: 7,3±0,2

Preparación

Suspender los ingredientes en 100 ml de agua destilada. Calentar a ebullición, agitando ocasionalmente, hasta disolución completa. Enfriar a 60°C y ajustar el pH. Distribuir en volúmenes de 3 ml en tubos de 13 x 100 mm y esterilizar a 121°C ±1°C durante 15 min. Inclinar los tubos de manera que el medio de cultivo en el fondo alcance una altura de 3 cm y una profundidad de 4 cm. El medio es de color rojo.

Agar de hierro y lisina (LIA)

Ingredientes

Peptona de gelatina 0,5 g

Extracto de levadura 0,3 g

Glucosa 0,1 g

L-lisina 1,0 g

Citrato férrico-amónico 50,0 mg

Tiosulfato de sodio anhidro 4,0 mg

Púrpura de bromocresol 2,0 mg

Agar 1,5 g

Agua destilada 100,0 ml

pH final: $6,7 \pm 0,2$

Preparación

Suspender los ingredientes en el agua destilada y mezclar bien, calentar hasta ebullición con agitación frecuente hasta conseguir la disolución completa. Ajustar el pH. Distribuir en volúmenes de 3 ml en tubos de 13 x 100 mm, con tapón de rosca. Esterilizar en autoclave a $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 12 min. Dejar que los tubos se enfríen en posición inclinada, de tal modo que se obtengan columnas de medio de 4 cm y una superficie inclinada de 2 cm. El medio ya preparado es de color púrpura.

Caldo de enriquecimiento (EB) pH 7,3

Un litro de caldo soya tripticaseína con extracto de levadura (CSTEL) debe contener los siguientes suplementos:

Suplementos

Clorhidrato de acriflavina 15,0 mg

Acido nalidíxico (sal sódica) 40,0 mg

Cicloheximida 50,0 mg

Acido pirúvico (sal sódica) solución al 10 % (p/v) * 11,1 ml

Preparar los suplementos de acriflavina y nalidíxico a partir de una solución al 0,5 % (p/v) con agua. El suplemento de cicloheximida prepararlo como una solución al 1,0 % (p/v) en una solución al 40 % (v/v) de etanol en agua. Esterilizar por filtración los suplementos. Agregar en condiciones asépticas los suplementos al medio CSTEL previamente esterilizado, justo antes de su uso. Para la preparación de un litro del medio CSTEL se debe partir de las soluciones anteriores, agregando las siguientes cantidades: 3,0 ml de acriflavina, 8,0 ml de ácido nalidíxico y 5,0 ml de solución de cicloheximida.

Precaución: La cicloheximida es una sustancia química altamente tóxica, durante su manejo deben emplearse guantes, lentes de protección y lavarse las manos inmediatamente después de usarla!

Medio Oxford

Medio base Oxford (OXA)

Ingredientes

Base de agar Columbia 39,0 g

Esculina 1,0 g

Citrato férrico amónico 0,5 g

Cloruro de litio 15,0 g

Agua 1000,0 ml

Agregar los ingredientes a un litro de agua y llevar a ebullición hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a $121\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. Enfriar a 50°C el medio base y en condiciones asépticas agregar los suplementos.

Un litro de medio Oxford debe contener los siguientes suplementos:

Suplementos

Cicloheximida 400 mg

Sulfato de colistina 20 mg

Acriflavina 5 mg

Cefotetán 2 mg

Fosfomicina 10 mg

Disolver la cicloheximida, el sulfato de colestina, acriflavina, cefotetán y la fosfomicina en 10 ml de una mezcla 1:1 de etanol: agua. Esterilizar por filtración antes de agregar al medio base. Mezclar y vaciar en cajas Petri estériles.

Las placas del medio Oxford se pueden almacenar como máximo dos semanas.

Medio de SIM**Ingredientes**

Peptona de caseína 20,0 g

Peptona de carne 6,1 g

Sulfato de fierro y amonio 0,2 g

Tiosulfato de sodio 0,2 g

Agar 3,5 g

Agua 1000,0 ml

Preparación

Agitar y calentar a ebullición hasta disolver el agar. Envasar en porciones de 4 ml en tubos de 13 x 100 mm. Esterilizar en autoclave a $121\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. pH final $7,3\pm 0,2$.

Agar sangre de carnero**Ingredientes**

Base de agar sangre 95,0 ml

Sangre de carnero desfibrinada 5,0 ml

Preparación

Preparar el agar base de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Enfriar a $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ y agregar aseptícamente la sangre de carnero, la cual previamente se debe encontrar a temperatura ambiente ($20 - 25^{\circ}\text{C}$). Homogeneizar el medio y verter en las cajas Petri estériles de 15 a 20 ml para la prueba de hemólisis.

Reactivos para Tinción de Gram**Alcohol-acetona***Ingredientes*

Etanol (95%) 700,0 ml

Acetona 300,0 ml

Mezclar ambos líquidos.

Cristal violeta

Solución A

Ingredientes

Cristal violeta 2,0 g

Etanol (95%) 20,0 ml

Disolver el cristal violeta en el etanol.

Solución B

Ingredientes

Oxalato de amonio 0,8 g

Agua 80,0 ml

Disolver el oxalato de amonio en el agua. Después de preparar las soluciones A y B, verter una en la otra y agitar hasta que se mezclen perfectamente.

Solución de Yodo

Ingredientes

Yodo 1,0 g

Yoduro de potasio 2,0 g

Agua 300,0 ml

Triturar finamente el yodo y el yoduro de potasio en un mortero, de ser posible en una campana de extracción. Añadir una pequeña cantidad de agua para lavar el material, agregar el resto del agua y agitar.

Nota: Evitar el contacto de los reactivos con la piel.

Solución de Safranina

Ingredientes

Safranina 0,25 g

Etanol (95%) 10,00 ml

Agua 100,00 ml

Disolver la safranina en el etanol, mezclar, agregar el agua y volver a agitar. Filtrar la solución con papel filtro.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



Casa abierta al tiempo

Unidad Iztapalapa

C.B.S >>>>

ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE DE CERDO QUE SE VENDE EN SUPERMERCADOS DEL DISTRITO FEDERAL

I.A. Reyna Gutiérrez Cruz

Asesores:

Dra. Ma. de Lourdes Pérez Chabela. Universidad Autónoma Metropolitana.

Dr. Diego Braña Varela. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ajuchitán, Querétaro.

Lector:

Dr. Alfonso Totosaus Sánchez. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec

Diciembre del 2013