



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

Análisis microbiológico de alimentos de
consumo humano y otros análisis en el
laboratorio de microbiología de la empresa
“Quimiometría Alimentaria”

**MEMORIA DE EXPERIENCIA
PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LIC. EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

P R E S E N T A:

LUZ YESENIA JIMÉNEZ ROJAS

ASESOR:

Dr. Enrique Salas Téllez

(2019)



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo Profesional**.

Análisis microbiológico de alimentos de consumo humano y otros análisis en el laboratorio de microbiología de la empresa "Quimiometría Alimentaria".

Que presenta la pasante: Luz Yesenia Jiménez Rojas

Con número de cuenta: 309285580 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de Marzo de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Salas Téllez	
VOCAL	Dra. Alma Lucila Nuñez del Arco	
SECRETARIO	QBP. Martha Elena García Corrales	
1er. SUPLENTE	M. en C. María Lucero Paniagua García	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. David Ladislao Sánchez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Dedicatoria

*Dedico esta tesis a mi abuelita lucha (en paz descansa), sin tí
abuelita no hubiera podido llegar tan lejos.*

Agradecimientos

Luego Samuel tomó una piedra y la puso entre Mizpa y Sen, y la llamó Eben-ezer, diciendo: —¡Hasta aquí nos ayudó el SEÑOR!

1 Samuel 7:12

Mis padres y mi hermano han sido mi roca a lo largo de mi vida, día con día me impulsan a querer ser mejor persona. Por ello, agradezco grandemente su apoyo y su sostén, mi mamita chula hermosa querida jaja me motiva a ser una mujer independiente y guerrera como ella siempre lo ha sido. Papito lindo, te admiro por tu sentido de responsabilidad hacia el trabajo, me has dado consejos que me han servido en la vida. Gracias a mis dos padres por siempre apoyarme aun cuando parecía que iba a dejar todo, seguían creyendo en mí. Uriel (niggitu) me has enseñado que la edad no te hace maduro sino lo que está en tu mente gracias por enseñarme tantas cosas que aveces no comprendo, gracias por enseñarme que el que persevera alcanza.

También agradezco a Crash, Haka y a la Pikiiii por darme alegría al regresar a casa después de pasar un día largo y pesado.

Quiero agradecer a los tíos de mi mamá Antonio y Felicitas que para mí son como mis abuelos y a sus hijos por estar en los momentos oportunos de mi vida, por los consejos que me daban y la confianza que me permiten depositar en ellos. Los quiero y los admiro.

Karla Grecia te agradezco grandemente tu amistad, gracias por estar conmigo en los momentos buenos y malos y a mi primo Luis, gracias a los dos por motivarme a tomar decisiones, gracias por siempre ofrecernos su amistad y su apoyo gracias por mostrarme que la familia es primero.

Mi niño Iván te agradezco el que me hayas apoyado siempre, en las noches de desvelo, en los días de stres de exámenes cuando me ayudabas a estudiar, gracias por darme ánimos en todo momento, siempre alegras mis días tratando de sacarme una sonrisa, gracias por estar conmigo a cada paso.

Quiero agradecer a mis suegros Chely y Ricardo por apoyarme a lo largo de mi carrera, recuerdo cuando me ayudaban hacer mis previos o me ayudaban a estudiar, gracias por confiar en mí, por darme consejos que me han ayudado en la vida y gracias por decirme ya mero, ¡te falta poquito! Los quiero muchísimo.

A mis amigos les deseo éxito a lo largo de su vida profesional, me alegra saber que todos son personas de bien.

Karlita y Yesy, ustedes son mis personas más confiables, las quiero y las aprecio mucho porque me tenían mucha paciencia, gracias por alegrar mis días dentro y fuera de las aulas, ustedes me enseñaron a ser responsable y a querer ser una buena estudiante, me alegra que cada día crecen más y más profesionalmente.

Alejandra, gracias por tu linda amistad, me has enseñado que la sencillez vale mucho y que puedo contar contigo incondicionalmente, eres la persona más noble que he conocido y deseo que siempre siga siendo así tu corazón.

Valeruqui hermosa me encanta tu tranquilidad con la que afrontas los problemas, siempre ves para adelante, siempre se puede! y eso me demostraste, con dedicación y esmero pero sin perder la sonrisa (y el glamours) siempre hay que sonreír.

Ruben querido, gracias por tus regaños, por tus peleas, por hacerme responsable a la mala, agradezco la confianza que has depositado en mí y por decirme ashhh como eres tonta, esto se hace así!

Jhonny Flores (flowers) que te puedo decir a ti! ¡Lo caído ... caído...! Amigo gracias porque me has ayudado siempre, me hacías reír demasiado tanto que hasta postularon nuestra clase de seminario de diagnóstico integral como la risa en vacaciones, aunque siempre fuiste manchadito conmigo, te perdono jaja, sé que después de esta etapa estudiantil puedo contar con tu amistad.

¡Mone Mendoza hay amiga eres la última pero no la menos importante y es que sin ti esta tesis no hubiera tenido fin! ni la memoria de servicio social. Gracias Monse Mendoza por darme ánimos a cada rato que hablábamos, por decirme ya luz ya termina, ya luz busca algo para que trabajes, ya luz ya escribe tu tesina, muchas gracias, Mone M. Tu eres mi empujoncito final.

Agradezco a cada uno de mis profesores que con tanto esmero trabajan para transferirlos su conocimiento.

Con agradecimiento especial a:

Quimiometría Alimentaria S. de R.L de C.V.

Q+A fue el primer trabajo en donde me desarrollé profesionalmente, ahí aprendí a amar mi trabajo y a reforzar la decisión del área a la que me quiero dedicar.

Agradezco a:

Q. A. Corina Armendáriz, químicaaaa!! usted me enseñó que hay que resolver los problemas en vez de darles la vuelta, me enseñó a tener buena actitud y aunque todo parezca una tormenta hay que seguir adelante con la mejor actitud. Gracias por estar ahí para aconsejarme y para ayudarme a tomar decisiones.

Q. A. Martín, químico!!! gracias por transmitirme su sabiduría, con usted aprendí que la sinceridad es importante para tener un buen ambiente laboral, me enseñó que el trabajo en equipo siempre será mejor para soportar la carga y a que hay que esforzarse todos los días para hacer algo en la vida.

Sra. Lílana le agradezco sus consejos y sus anécdotas, usted me ayudó a ser una persona más madura, muchas gracias por echarme porras cada que llegaban muestras, hay que robarle tiempo al tiempo jeje.

Gracias Q + A por la confianza que depositaron en mí a cada momento.

También agradezco a:

PAPIME: PE209219 Aula virtual para el apoyo de la educación en micología médica.

Dr. Enrique Salas agradezco sus consejos, asesoría y el impulso que me daba para terminar esta tesis. Gracias por ser un excelente profesor.

Gracias UNAM por la persona que soy ahora y por todo lo que me has dado.

“Por mi raza hablara el espíritu”

Luz Y. Jiménez

Contenido

1. Objetivos	7
1.1 Objetivo general	7
1.2 Objetivos particulares	7
2. Introducción	8
2.1 Grupos microbianos en los alimentos	8
2.2 Quimiometría alimentaria	10
2.3 Distintivo H	11
2.4 Papel de un Lic. en Bioquímica Diagnóstica en un laboratorio de microbiología de alimentos.	11
3. Fundamento teórico	12
3.1 NORMA Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico	12
3.2 NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.	12
3.3 NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.	13
3.4 NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.	14
3.5 NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.	15
3.6 NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.	16
3.7 NMX-BB-040-SCFI-1999 Métodos generales de análisis - determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas.	16
4. Tareas desempeñadas dentro de Quimiometría alimentaria S. de R. L. de C. V.	17
4.1 Muestreo	17

4.2 Transporte	22
4.3 Control de condiciones ambientales: Temperatura y humedad.	22
4.4 Elaboración de medios de cultivo, control de calidad de medios de cultivo.	24
4.3 Inactivación, preparación y esterilización de material	27
4.6 Preparación, dilución de muestras, identificación de microorganismos patógenos.	32
4.7 Lectura y expresión de resultados	48
5. Conclusiones	56
6. Anexos	57
Abreviaturas	57
7. Referencias	59

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Describir el papel que desempeña un Lic. en Bioquímica Diagnóstica en el área de microbiología de alimentos para evaluar la inocuidad alimentaria mediante el seguimiento de normas oficiales mexicanas en vigor dentro del laboratorio de microbiología de la empresa “Quimiometría alimentaria S. de R.L. de C.V.”

1.2 Objetivos particulares

- Describir mi experiencia profesional dentro de la empresa Quimiometría Alimentaria.
- Aplicar los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera dentro del campo laboral.
- Explicar los procedimientos analíticos empleados para el análisis microbiológico de los alimentos.

2. Introducción

La seguridad alimentaria es un tema de salud pública en México que conlleva al monitoreo microbiológico de los alimentos para prevenir la transmisión de enfermedades.

La microbiología de los alimentos es una rama de la microbiología que estudia a los microorganismos que afectan la calidad higiénica del agua y de los alimentos. (Urzúa, 2016)

Los grupos microbianos pueden incluir varios géneros o especies. Desde el punto de vista sanitario, Urzua (2016) los agrupa de la siguiente manera:

2.1. Grupos microbianos en los alimentos

Deterioradores

Aquellos que alteran las características organolépticas del comestible, es decir, afectan la textura, olor, sabor o color de los alimentos. Los principales grupos deterioradores son: proteolíticos, lipolíticos, sacarolíticos, fermentadores, amilolíticos y pectinolíticos.

Patógenos

Son microorganismos que causan enfermedades. Entre los principales microorganismos patógenos se puede mencionar a las bacterias *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria* y *Brucella*.

Indicadores

Son microorganismos que sugieren malas prácticas sanitarias, tales como fuentes de contaminación indeseables o de otro tipo de accidentes durante el manejo del agua y los alimentos. Los grupos indicadores más importantes son bacterias mesófilas aerobias, coliformes, mohos, levaduras, y *Staphylococcus aureus*.

La Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. Rige los métodos de prueba microbiológicos para la determinación de microorganismos patógenos e indicadores.

Iniciadores

Estos corresponden a aquellos microorganismos que sirven para controlar el comienzo de los procesos de fermentación. Por ejemplo: *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *Sacharomyces cereviceae*, etc.

La norma que ayuda a la detección de hongos y levaduras es la Norma Oficial Mexicana nom-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Indiferentes

Son microorganismos normales del alimento, que generalmente no alteran al comestible ni causan enfermedad al ingerirlos.

Hay microorganismos que pueden encontrarse a la vez en más de una de las clasificaciones y que pueden llevar a una toxi-infección causada por alimentos, una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos. Ejemplo: *Vibrio cholerae* causante del cólera.

En general las fuentes de contaminación son diversas entre las principales encontramos:

1. Salud de los animales
2. Ambiente
3. Transporte
4. Utensilios
5. Procesado
6. Ser humano (Rugama, 2010)

Cabe señalar que los microorganismos como ya se ha dicho antes están presentes en todas partes y pueden ser parte de la microbiota de piel, manos, cavidad oral, tracto gastrointestinal, vías respiratorias, oído externo, conjuntivas, vías genitourinarias, de tal manera que es posible fácilmente contaminar un alimento (Rugama, 2010).

Por esto, el control sanitario de los alimentos consiste en evaluar la calidad e inocuidad de alimentos, a fin de garantizar el cumplimiento de las normas sanitarias vigentes. Es una evaluación técnica que se realiza a través de estudios fisicoquímicos, microbiológicos y de contaminantes.

La elección de los métodos de laboratorio a utilizar para la detección de microorganismos y evaluación de buenas prácticas de higiene están dictados por normas oficiales mexicanas como:

- Norma oficial mexicana NOM-110-SSA1-1994, bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- La Norma oficial mexicana NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

2.2. Quimiometría alimentaria

La empresa Quimiometría alimentaria que abreviaremos Q+A sigue los procedimientos y requerimientos señalados por las normas oficiales mexicanas.

La empresa Quimiometría alimentaria esta encargada de ofrecer servicios de análisis microbiológico tanto de alimentos y agua; como de muestreo de superficies vivas e inertes, análisis de eficacia de sanitizantes, asesoría y ayuda para la mejora continua de sus clientes.

Q+A ayuda a sus clientes a mejorar sus prácticas de higiene desde cualquier punto de producción del alimento: limpieza del personal, calidad del de consumo humano o hielo, calidad de agua para lavado, desinfección y preparación de alimentos, evaluación de la desinfección de alimentos, evaluación de utensilios usados en la preparación, evaluación microbiológica del producto final.

2.3. Distintivo H

El distintivo H es un reconocimiento que otorga la Secretaría de Turismo y la Secretaría de Salud, a aquellos establecimientos fijos de alimentos y bebidas: (restaurantes en general, restaurantes de hoteles, cafeterías, fondas etc.), por cumplir con los estándares de higiene que marca la Norma Mexicana NMX-F605 NORMEX 2004.

Tiene el propósito de disminuir la incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos en turistas nacionales y extranjeros y mejorar la imagen de México a nivel mundial con respecto a la seguridad alimentaria.

Cuando el establecimiento se sujeta a estos estándares y los cumple, la Secretaría de Turismo entrega el reconocimiento Distintivo “H”, mismo que tiene vigencia de un año. (Secretaría de Turismo, 2014)

Generalmente los negocios que buscan esta distinción se apoyan de la empresa Q+A para alcanzar su objetivo.

2.4. Papel de un Lic. en Bioquímica Diagnóstica en un laboratorio de microbiología de alimentos.

El Lic. en Bioquímica Diagnóstica posee conocimientos de las ciencias químico-biológicas, habilidades para adaptarse, diseñar y manejar técnicas de diagnóstico en diferentes áreas biomédicas.

En el área de alimentos el BQD puede desarrollarse en áreas como: control de calidad, control de procesos, supervisión de personal, cuidado de la nutrición, biotecnología de alimentos, análisis fisicoquímicos de alimentos, análisis microbiológico de alimentos, etc.

En especial, para este caso en el área microbiológica, el BQD es capaz de diferenciar las bacterias con base a sus propiedades químicas, biológicas y metabólicas, usar métodos adecuados para su aislamiento e identificación. Describir los fundamentos de las pruebas de laboratorio para la identificación, realizarlas e interpretarlas.

Los alimentos y agua insalubres que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas causan enfermedades, que van desde la diarrea hasta cáncer, el Lic. en Bioquímica

Diagnostica es responsable de identificar oportunamente la circulación riesgo sanitario y reportarlo al sistema de vigilancia epidemiológica.

El papel que ocupa un Lic. en Bioquímica Diagnóstica en un laboratorio de microbiología es fundamental para la emisión de un resultado final que satisfaga al cliente para su mejora. Papel que va desde la toma de muestra, procesamiento, lectura y entrega de resultados.

3. Fundamento teórico

Las normas oficiales mexicanas de aplicación microbiológica son utilizadas para estandarizar la forma de trabajo de los laboratorios que se dedican a esta área, de esta manera, se emiten resultados en un lenguaje que cualquier laboratorio o especialista de esta área puede interpretar.

A continuación, se analizarán las normas utilizadas para la preparación de muestras, procesamiento, análisis y emisión de resultados.

3.1 NORMA Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico

Las condiciones de conservación y transporte, tiempo comprendido entre la recolección de la muestra, su entrega al laboratorio, así como la realización del análisis influyen notoriamente en los resultados obtenidos, ya que la población microbiana puede sufrir cambios cualitativos y cuantitativos. Esto es especialmente cierto en los alimentos perecederos. (NOM- 109- SSA1-1994, 1994)

3.2 NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Esta norma proporciona los requisitos generales para la preparación de diluciones para el examen microbiológico de alimentos (tomando en cuenta que estos requisitos pueden no ser aplicables para algunos alimentos y para otros requerirse otros métodos diferentes) por lo que se recomienda apegarse a estas guías y modificarse únicamente cuando sea necesario.

La preparación de diluciones decimales adicionales, si son necesarias, tiene como objetivo reducir el número de microorganismos por unidad de volumen, para permitir, después de la incubación, la observación de la prueba en el caso de tubos o matraces y la cuenta de colonias en el caso de placas (NOM-110-SSA1-1994, 1995).

3.3 NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Esta Norma Oficial Mexicana establece el método para estimar la cantidad de microorganismos viables presentes en un alimento, agua potable y agua purificada, por la cuenta de colonias en un medio sólido, incubado aeróbicamente.

El fundamento de la técnica consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. La temperatura y tiempo de incubación depende del grupo bacteriano que se busque.

Termofílicos aerobios se incuban a $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 ± 2 h

Mesofílicos aerobios se incuban a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 ± 2 h

Psicrotróficos se incuban a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 3 - 5 días

Psicrofílicos se incuban a $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 - 10 días

En realidad, esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes. La variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente y la misma refleja si el manejo sanitario del producto ha sido el adecuado (NOM- 092-SSA1-1994, 1995).

3.4 NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Las *enterobacteriaceae* lactosa- positivas o grupo *coli- aerogenes* constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae- ae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar lactosa con producción de ácido y gas más o menos rápidamente cuando se inoculan en caldos con lactosa. Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: suelo, plantas, cascara de huevo, etc. (Pascual Anderson & Calderon , 2000)

La Norma Oficial Mexicana 113 establece el método microbiológico para determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en productos alimenticios por medio de la técnica de cuenta en placa.

El método de la NOM 113 permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares (NOM-113-SSA1-1994, 1995).

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

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

- La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos.
- La evaluación de la calidad microbiológica de un producto, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario.
- Evaluación de la eficiencia de prácticas sanitarias e higiénicas del equipo.
- La calidad sanitaria del agua y hielo utilizados en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos.

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

3.5 NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

Esta Norma tiene por objeto establecer los métodos generales y alternativos de prueba para la determinación de los siguientes indicadores microbianos y patógenos en alimentos, bebidas y agua para uso y consumo humano:

Salmonella spp.

- Apéndice A Normativo.

Staphylococcus aureus

- Apéndice B Normativo

Listeria monocitogenes

- Apéndice C Normativo.

Enterococos

- Apéndice D Normativo.
- Apéndice E Normativo.
- Apéndice F Normativo.
- Apéndice G Normativo.

Coliformes fecales

- Apéndice H Normativo.

E. coli.

- Apéndice H Normativo.
- Apéndice I Normativo.
- Apéndice J Normativo. (NOM-210-SSA1-2014, 2015)

3.6 Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Los mohos y levaduras están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o como agentes contaminantes y en los equipos sanitizados inadecuadamente, provocando el deterioro fisicoquímico de éstos, debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos originando mal olor, alterando el sabor y el color en la superficie de los productos contaminados. Además, los mohos y levaduras pueden sintetizar metabolitos tóxicos termorresistentes, capaces de soportar algunas sustancias químicas, así como la irradiación y presentan capacidad para alterar sustratos desfavorables, permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas.

Es de gran importancia cuantificar los mohos y levaduras en los alimentos, puesto que, al establecer la cuenta de estos microorganismos, permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima inadecuada.

El método se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3,5 e incubado a una temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos (NOM-111-SSA1-1994, 1995).

3.7 NMX-BB-040-SCFI-1999 Métodos generales de análisis - determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas.

Esta norma mexicana establece el método de prueba para determinar la actividad antimicrobiana.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se establece un solo método, éste se basa en determinar el porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos, cuando se ponen en contacto con un germicida, bajo condiciones de prueba específicas (NMX-BB-040-SCFI-1999, 1999).

En Q+A no se tiene establecido el procedimiento de evaluación de germicidas con apego a la NMX- BB- 040 debido a que no se cuenta con espectrofotómetro para hacer la suspensión de los microorganismos de prueba.

El inóculo de los microorganismos de prueba en Q+A se hace por siembra en tubo con Agar Soya Trypticaseína inclinado, a modo de que la evaluación se acepta hasta que la cuenta del inóculo cae dentro de los valores de 75 a 125 X 10⁸ UFC / mL (NMX-BB-040-SCFI-1999, 1999) Por lo que esta cuenta depende de la habilidad y precisión del analista para sembrar el inóculo.

4. Tareas desempeñadas dentro de Quimiometría alimentaria S. de R. L. de C. V.

Mi labor dentro del laboratorio de Quimiometría alimentaria consiste en aplicar las normas oficiales mexicanas vigentes para la evaluación microbiológica de los alimentos.

Las tareas llevadas a cabo son:

4.1 Muestreo

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Menciona los Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Para muestreo aséptico debe utilizar: bata, cofia, guantes y cubreboca. La recolección de la muestra se debe efectuar evitando toda contaminación externa, tanto ambiental como humana, para asegurar la integridad de esta.

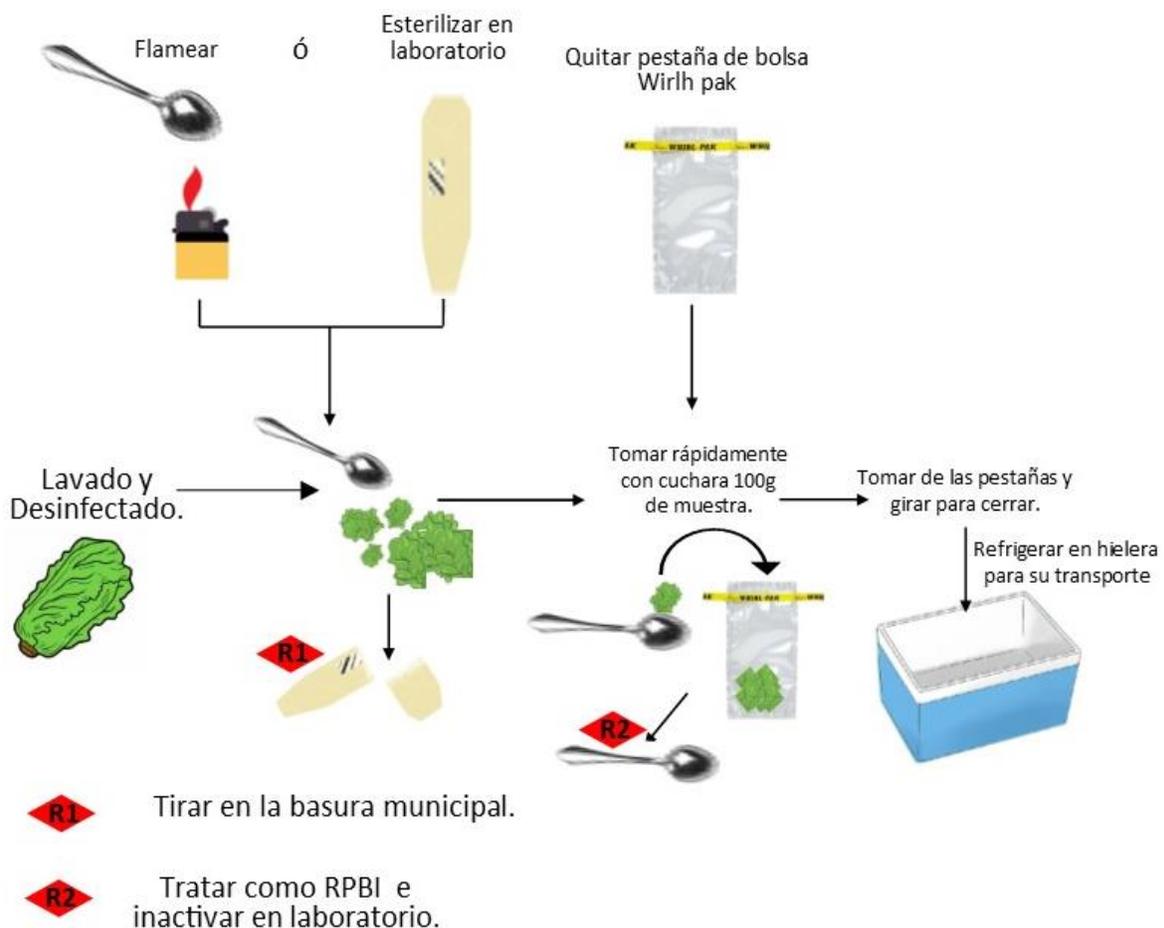
Muestreo de alimentos

Para la recolección de alimentos se utilizan bolsas asépticas Whirl pak de 8 oz ver figura 4.1.1 y el procedimiento para la toma de muestra de alimento en la figura 4.1.2



Figura 4.1.1 Bolsa Whirl pak para muestreo de alimentos de consumo inmediato (MERCK, 2019).

Figura 4.1.2 Procedimiento para la toma de muestra de alimento.



El alimento muestreado puede ser solido como un pastel, fruta, carne, verduras, granos, materias primas, un guisado, etc; o líquido como agua de sabor, sopa, salsa, crema, yogurt, etc.

Al momento del muestreo se deben hacer anotaciones de las observaciones ya que estas pueden dar una guía al laboratorio de la carga bacteriana que pueda poseer el alimento, por ejemplo: temperatura, condiciones ambientales (corrientes de aire, temperatura ambiental, humedad, etc.), condiciones de envasado, marca comercial, lote y fecha de caducidad, etc.

Muestreo de gua

Para el muestreo de agua se utilizan bolsas Whirl- pak Thio- bag 18 oz. ver figura 4.1.3. y el procedimiento para la toma de muestra de agua en la figura 4.1.4.



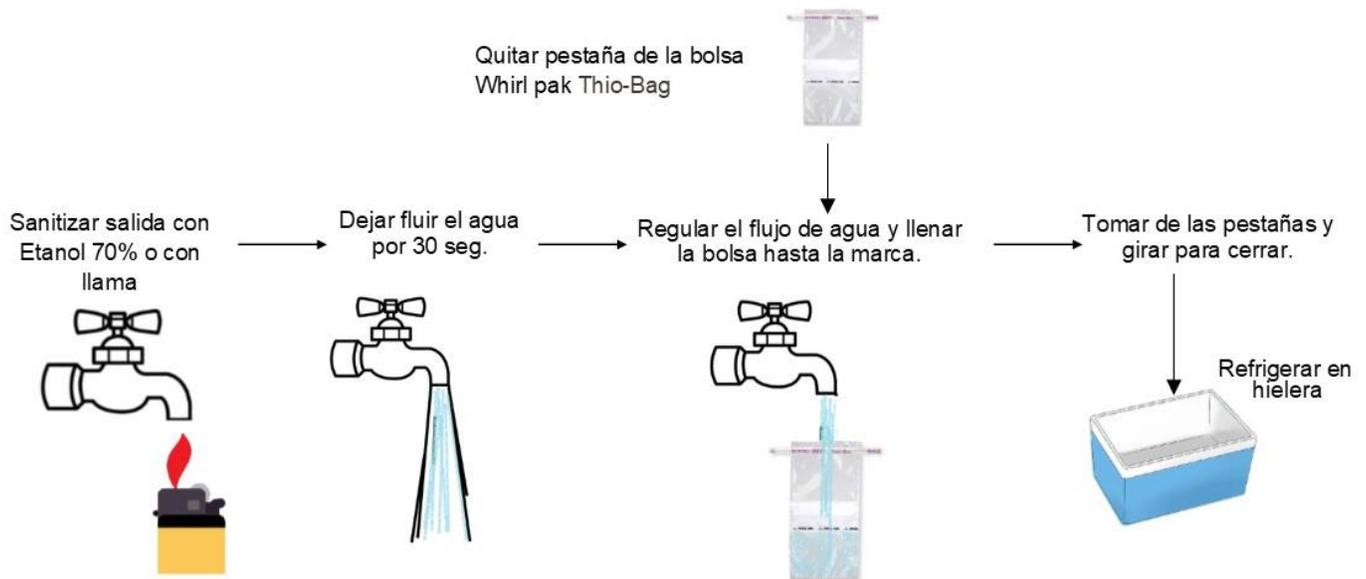
Figura 4.1.3. Bolsa Whirl pak para muestreo de agua (MERCK, 2019).

Las bolsas de agua contienen tabletas de tiosulfato que neutralizan el cloro libre a través de una reacción redox.



Para el muestreo de agua de sistema de filtrado y/o hielo no es necesario utilizar bolsas con tableta de tiosulfato, de igual manera, si se manda a analizar la cantidad de cloro libre por método colorimétrico. Para el muestreo en general de agua se debe seguir el procedimiento de la figura 4.1.4.

Figura 4.1.4 Procedimiento para toma de muestra de agua



Muestreo de superficies por frotis

Para el muestreo de superficies se utilizan bolsas con esponja, esta tiene que ser previamente hidratada con 100 mL de solución buffer de fosfatos. Se puede muestrear una superficie inerte o bien una superficie viva, generalmente manos de manejadores de alimentos y utensilios de cocina.

En Q+A no hay una norma o procedimiento establecido para la toma de muestra de superficies por frotis. La toma de muestra puede hacerse con hisopo, esponja, pincel, etc en Q+A se adoptó el uso de esponjas por la facilidad de su manejo y transporte.



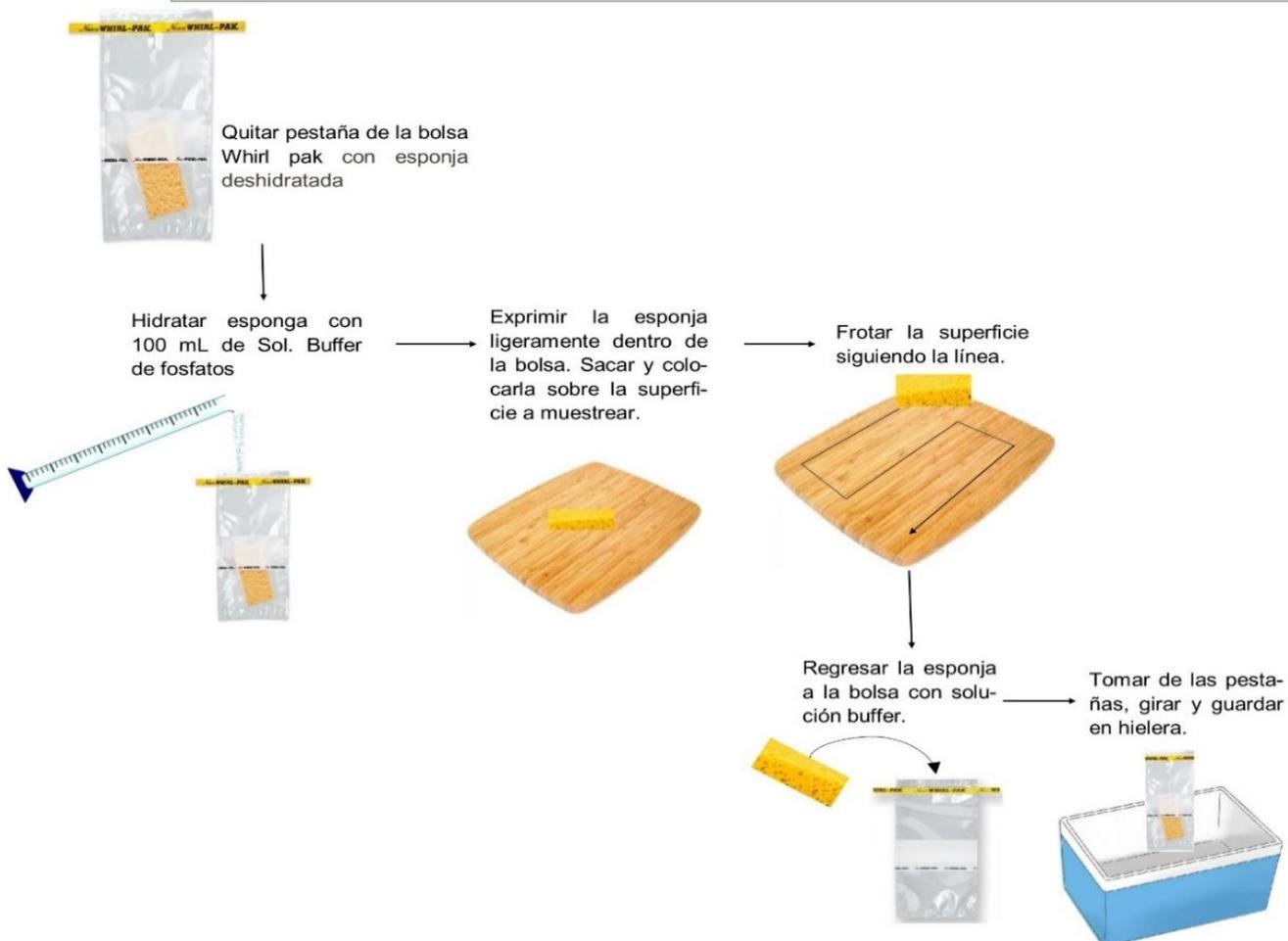
Figura 4.1.5. Bolsa Whirl pak con esponja para muestreo de superficies. (MERCK, 2019)

El análisis de superficies por frotis es un método utilizado para identificar la presencia de microorganismos que pueda perjudicar la salud en los instrumentos y superficies de trabajo, teniendo en cuenta que, por las condiciones habituales de uso, o bien, a causa de una deficiente desinfección, pueden actuar como reservorios de los contaminantes biológicos (Controlab, 2019).

Entre los objetos a los que se les puede hacer análisis superficial se encuentran: tablas para picar, cucharas, tenedores, cucharones, cuchillos, superficies de mesas, etc. Ver la figura 4.1.6 que muestra el procedimiento para el muestreo de frotis de superficie.

El muestreo de superficie de manos consta de hacer pasar la esponja por las palmas y dedos, encima de las palmas, entre los dedos y encima de las uñas.

Figura 4.1.6 Procedimiento para toma de muestra de superficies viva o inerte.



4.2 Transporte

Las condiciones del transporte las indica la NOM 109 de procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Las muestras debidamente etiquetadas se tienen que transportar en hieleras que contengan geles refrigerantes a modo de que la muestra se conserve a 2- 8 °C en caso de ser un producto perecedero. Debe ser entregada al laboratorio lo antes posible para que sea analizada dentro de las 24 horas siguientes a su recolección (NOM- 109- SSA1- 1994, 1994).

La empresa cuenta con un servicio de paquetería que garantiza la entrega antes de las 24 horas esto permite hacer llegar muestras desde varios lugares de la república mexicana.

4.3 Control de condiciones ambientales: Temperatura y humedad.

Los locales del laboratorio tienen el espacio suficiente para realizar los trabajos y prestar los servicios establecidos y documentados, estando protegidos contra condiciones extremas, tales como calor, polvo, humedad, etcétera.

Además, dispone de los equipos, suministros y servicios necesarios para la realización de los exámenes.

Las características ambientales generales del laboratorio permiten al personal realizar su trabajo con unas disposiciones adecuadas de salud y seguridad. (Fernández Espina & Mazziotta , 2005)

Dentro del laboratorio de microbiología de Q+A se controlan las condiciones ambientales tales como temperatura y humedad, gracias a los equipos mini splits se mantiene la temperatura a menos de 21 °C y la humedad al 40 %.

Otro elemento importante del control es el monitoreo ambiental. El objetivo en este caso es determinar primero un nivel aceptable de partículas y microorganismos y luego controlarlos. Si se descubre que es excesivo, deben tomarse medidas llevar los niveles dentro de los límites aceptables de modo de no comprometer la calidad del producto. (Remington , 2003) Una de las

medidas tomadas en el laboratorio de microbiología para el control ambiental es la rotación de sanitizantes, uno diferente por cada semana en superficies:

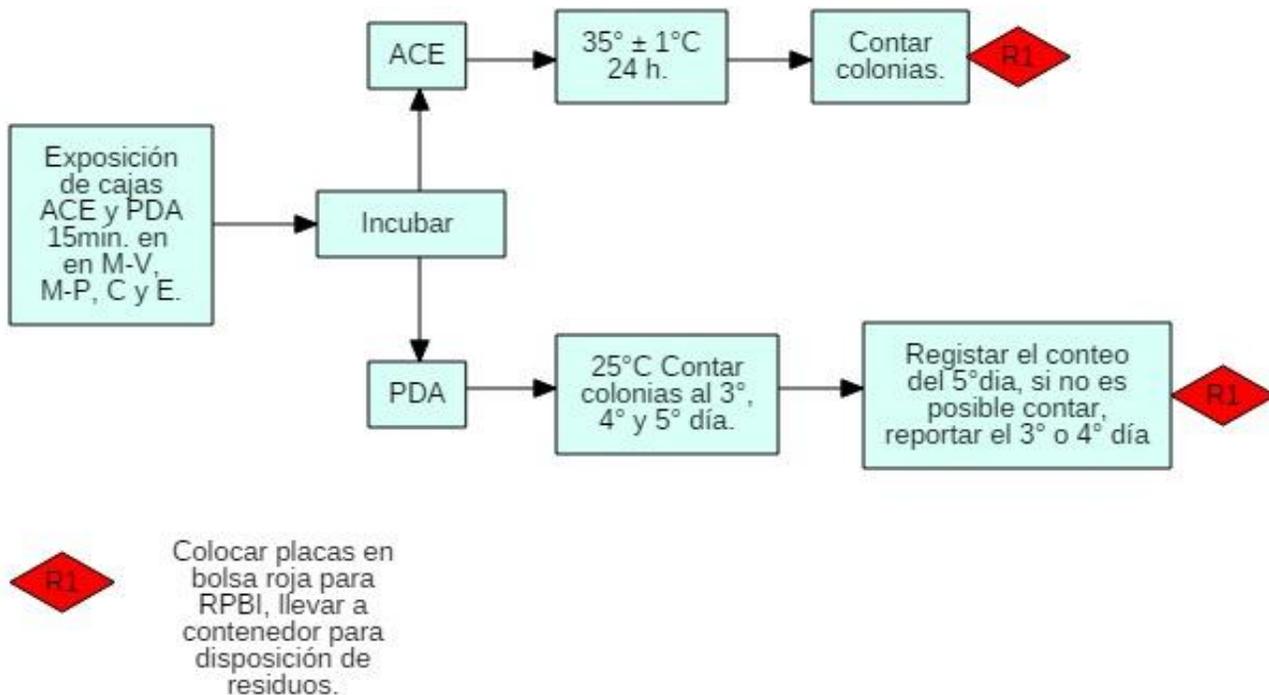
- Citrical (sanitizante amoniacal)
- Etanol 70%
- Mezcla 1:1 de Etanol 70% + Alcohol isorpopilico.

Mientras que para la limpieza del piso y paredes se utiliza

- Cloro
- Citrical (sanitizante amoniacal)

El monitoreo ambiental se lleva a cabo con la exposición de 15 minutos cajas Petri abiertas con agar dextrosa papa y otra con agar cuenta estándar en cuatro sitios del área de siembra: mesa-ventana, mesa-pasillo, esclusa y dentro de la campana de flujo laminar. Posterior a la exposición se incuban las placas de agar cuenta estándar y PDA a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ y a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ respectivamente, ver la figura 4.3.1.

Fig. 4.3.1 Monitoreo ambiental



Con respecto al coteo de colonias, si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis.

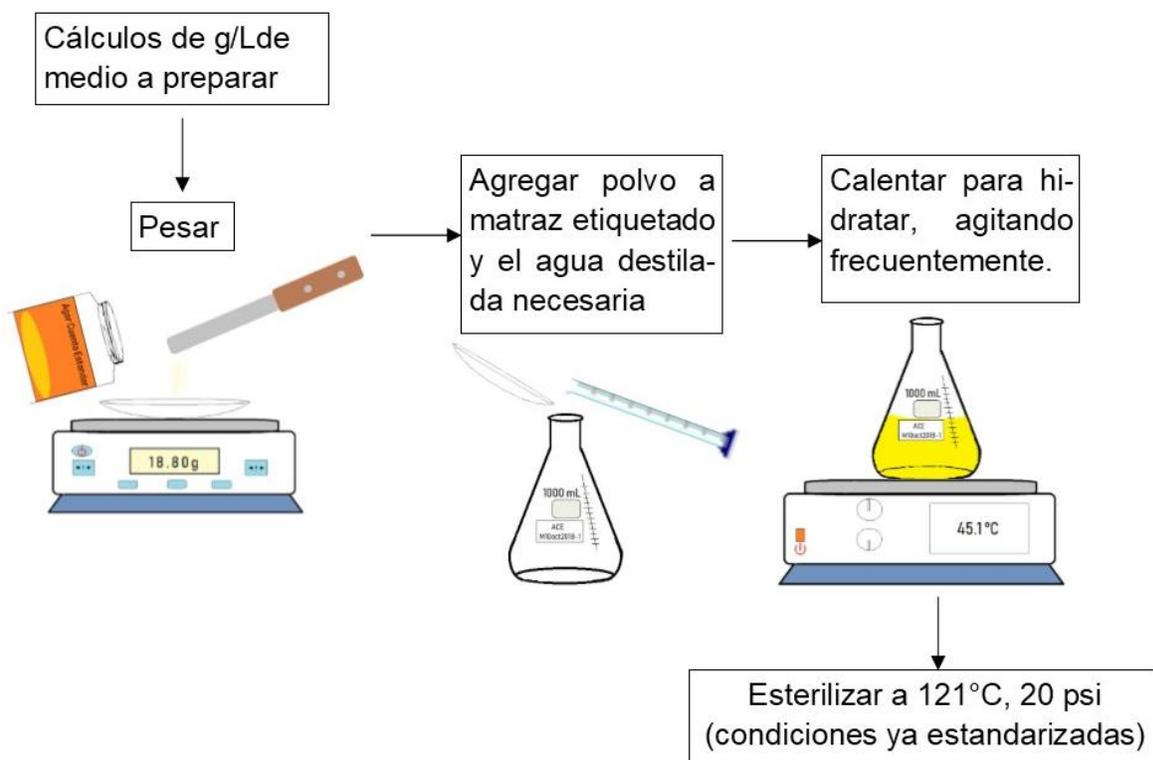
4.4 Elaboración de medios de cultivo, control de calidad de medios de cultivo.

Una vez que se ingresa un medio de cultivo al laboratorio se debe identificar con una clave para un control interno, registrar la fecha de recepción, apertura y caducidad. El almacenamiento debe realizarse en las condiciones especificadas por el fabricante. (Esteban Méndez, Quintos Escalante, & Herrera Benavides, 2018)

Algunas bacterias pueden crecer bien casi en cualquier medio de cultivo; otras requieren medios especiales y otras no pueden crecer en ninguno de los medios inertes existentes hasta ahora. (Tortora & Berdell, 2007)

Para la elaboración de los medios de cultivo se siguen las indicaciones del fabricante.

Figura 4.4.1 Procedimiento para la elaboración de medios de cultivo



Para la elaboración de los medios casi siempre se sigue la misma metodología de la figura 4.4.1, pero algunos medios como por ejemplo el Agar Sulfito Bismuto, Xilosa Lisina Desoxicolato y Caldo Mueller Kauffman no deben ser esterilizados en autoclave.

Los medios más utilizados en Q+A son: Agar Cuenta Estándar (ACE), para método de cuenta de bacterias aerobias en placa; Agar Bilis y Rojo Violeta (RVBA), para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

La evaluación de la calidad de medios de cultivo es un requisito esencial en los laboratorios de microbiología, uno de los aspectos que se evalúa es:

- ❖ Selectividad y especificidad de medios de cultivo selectivos

Prueba Ecométrica:

Con esta prueba se evalúa la selectividad y especificidad de medios de cultivo selectivos. Se emplean tres microorganismos que se desarrolla en el medio de cultivo y tres cepas de microorganismos que son inhibidos en el medio de cultivo. De cada microorganismo se prepara un cultivo en fase estacionaria y se siembra con un asa calibrada de 1 µL trazando sobre la superficie del medio de cultivo en forma paralela 5 estrías sobre cada cuadrante y una estría central sin esterilizar y recargar el asa, como se muestra en la Tabla 4.4.2. Las cajas Petri se incuban a 35° C durante 24 horas, y después se efectúan las lecturas teniendo en cuenta que cada estría tiene un valor de 0.2 y la estría central de 1.0. La técnica de sembrado se ejemplifica en la figura 4.4.2

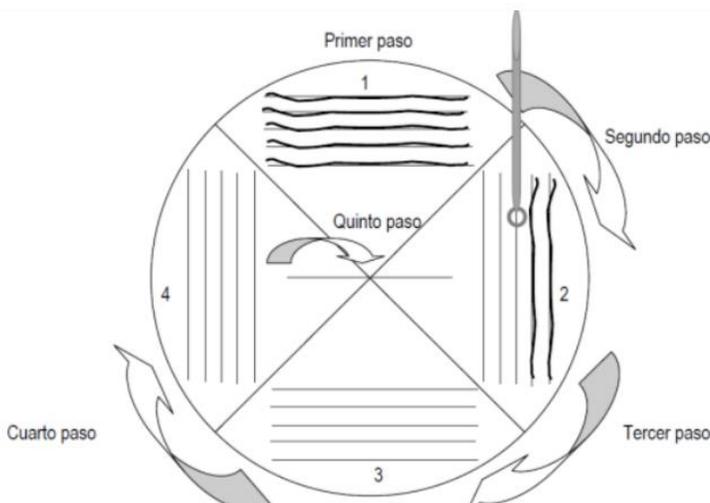


Figura 4.4.2 Siembra por estría para la técnica ecométrica en agares selectivos e indicadores. (Campos Radillo , 2013)

Las líneas por inocular se marcan tanto en el agar selectivo como en el que no lo es.

Conteo:

Cada estría tiene un valor de 0.2, este valor corresponde a crecimiento completo o parcial (considerándose válida cualquier estría que tenga crecimiento en más del 25% de la línea).

El valor 0.2 se multiplica por el número de estrías que se realizó en cada cuadrante que son 5, por lo tanto, cada cuadrante tiene un valor total de 1.

La estría central tiene un valor de 1 este valor corresponde a crecimiento completo o parcial que se presente en ella.

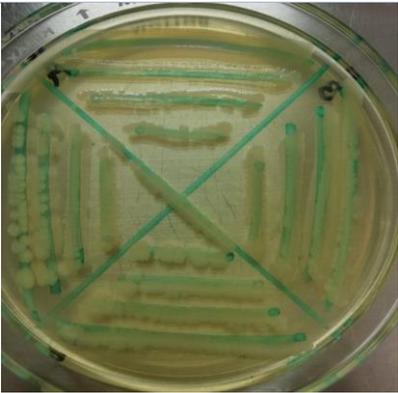
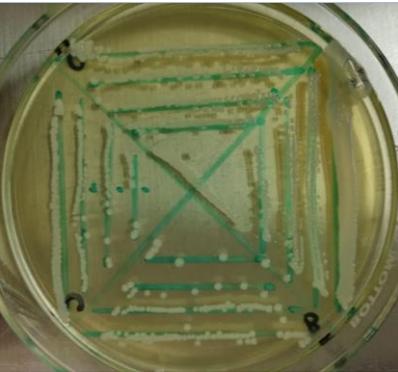
La placa está dividida en 4 cuadrantes si cada cuadrante tiene valor de 1 entonces $4 \times 1 = 4$ a este valor le sumamos el valor de la estría central que es de 1 y tenemos que la placa tiene un valor máximo de 5.

Los resultados obtenidos se expresan con un número de 6 cifras, en que las primeras 3 representan la presencia de crecimiento en las estrías de las cepas que deben crecer en el medio, y las otras 3 representan la presencia en las estrías de las cepas que no deben crecer. Así, un medio muy selectivo estaría representado por el número (5, 5,5, 0, 0,0), en el que las cepas que se esperaban que crecieran, se desarrollaron en las 5 estrías de las 3 cajas, y las que no deberían no lo hicieron en las 5 estrías de las 3 cajas.

Son aceptables para un medio selectivo las fórmulas (5,5,5,0,0,0), (5,5,4 0,0,1) y (5,4,4 1,1,0). Para los medios indicadores se deben probar con cepas que produzcan las reacciones características y otras que no las den. (Campos Radillo , 2013)

La Tabla 4.4.3 muestra un ejemplo de resultados de una prueba ecométrica para evaluar Agar Eosina Azul de Metileno. No se realizó el conteo debido a que se inocularon 4 estrías por cuadrante en vez de 5 estrías por cuadrante y una estría central. Se esperaba que el agar mostrara las características de crecimiento brillo metálico verde de *E. coli*.

Tabla 4.4.3. Resultados de prueba ecométrica para evaluar Agar Eosina Azul de Metileno.

		<p>Los coliformes producen colonias de color negro azulado. Las colonias de <i>Escherichia coli</i> pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa.</p>
<p>Crecimiento de <i>E. coli</i> en agar AST</p>	<p>Crecimiento de <i>E. coli</i> en EMB</p>	
		<p>Los colorantes de azul de metileno y eosina inhiben las bacterias gram-positivas en cierto grado</p>
<p>Crecimiento de <i>S. aureus</i> en agar AST</p>	<p>No hubo crecimiento de <i>S. aureus</i> en agar EMB</p>	

4.3 Inactivación, preparación y esterilización de material

Lavado y secado de material.

El lavado del material se realiza en un área específica. La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización (Organización Mundial de la Salud, 2008). El lavado del

material se hace con jabón neutro y agua, realizando un último enjuague con agua destilada que previamente haya pasado el control de calidad interno.

El secado del material es por gravedad cuando no se ocupa en ese momento, pero de lo contrario, se puede secar por calor seco en aproximadamente 15 min. Una vez listo el material se hace un control de calidad que consiste en tomar material al azar (una o dos piezas de cada tipo, pipeta, caja Petri, vaso de licuadora, tubos) para colocarle una gota de indicador azul de bromotimol el cual cambiara de coloración según el pH. La coloración cambia a amarillo en pH ácido, a azul en pH básico y en el rango de pH neutro permanece de color verde olivo (Correa Maya , 2014).

Sin el indicador cambia de verde olivo a amarillo, significa que el enjuague con agua destilada no fue adecuado y hay restos de agua ácida en el material y no pasa el control de calidad.

Si el indicador cambia de verde olivo a azul, significa que el material contiene restos de jabón y no se realizó bien el enjuague, por lo tanto no pasa el control de calidad.

Si el indicador permanece en color verde olivo significa que el lavado de material paso el control de calidad. De lo contrario, cuando no pasa el control de calidad se tendrá que lavar el material.

Preparación del material.

El material de vidrio se prepara según su uso.

- Pipetas: Las pipetas que se usan son de 1mL, se les coloca un pequeño tapón de algodón para que no exista contaminación al momento de usarlas y se hacen paquetes de 25 pipetas cada uno envueltas en papel estraza marcadas con cinta testigo, sobre la cinta testigo se escribe la cantidad de pipetas y su volumen. Las pipetas de 10 mL son envueltas una por una. Después de envueltas las pipetas en papel se envuelven en aluminio y posteriormente en bolsas de polipapel esto para que el material permanezca totalmente seco cuando se saque de la autoclave después de la esterilización.
- Vasos de licuadora: A los vasos se les coloca el empaque para que no existan derrames, y la tapa con aspas, se les coloca cinta testigo en el vaso y se

envuelven en bolsas de polipapel de dos en dos o de uno en uno según convenga el espacio en la autoclave.

- Tubos: A los tubos se les coloca campana de Durham o no, según se requiera y se cierran con tapa de rosca. Los tubos se envuelven en bolsa de poli papel para meter en autoclave para esterilizar.
- Matraces: Se les colocan tapones de algodón cubiertos de aluminio, se marcan con cinta testigo.
- Cucharas, Asas de cristal en triangulo, mangueras de latex: Se envuelven individualmente en papel estraza, se marcan con cinta testigo, se hacen paquetes de 5 o 10 pzas según se requiera y se envuelven en papel aluminio y posteriormente en bolsa de polipapel.

Esterilización.

El termino estéril es un término absoluto, no relativo, así, un material estéril es aquel en el que hay ausencia total de cualquier microorganismo en cualquiera de sus formas. (Cañestro Márquez & et.al. , 2007)

Para la esterilización en Q+A se utilizan autoclaves a vapor. Es un método sencillo y económico. Es el método de elección siempre que sea posible su utilización, dependiendo del tipo de material que se vaya a esterilizar, presentando eficacia por su capacidad de penetración, fiabilidad, posibilidad de monitorización y seguridad (no deja residuos tóxicos).

La eliminación de los microorganismos se realiza por desnaturalización de sus proteínas, proceso que se ve acelerado por la presencia de agua.

La destrucción térmica del microorganismo se produce debido a la interacción de la humedad (agua), tiempo y temperatura. A temperaturas superiores a 90°C las proteínas coagulan y se destruye el sistema enzimático de la célula. Esta reacción es catalizada por la presencia de agua en forma de vapor. Por eso, es más rápida la esterilización por calor húmedo que por calor seco. (Cañestro Márquez & et.al. , 2007) Las condiciones empleadas ya estandarizadas son a 121° C, 21 psi, 15 min. Para comprobar la esterilización se emplean bioindicadores como los de la figura 5.1.0.



Fig. 4.5.1 Bioindicador Sterikon® para comprobar el funcionamiento de autoclaves (15 minutos a 121 °C). (tomada de <https://goo.gl/8xJcw3>)

Principio de Sterikon® plus bioindicador

Sterikon® plus bioindicador MERCK consta de una ampolla, que contiene caldo nutritivo, azúcar, un indicador de pH, así como esporas de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (de esporulación optimada) como organismo de ensayo apatógeno. La termorresistencia está ajustada de tal manera que las esporas mediante calentamiento en vapor a presión tras 15 minutos a no menos de $121^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$, 21 psi experimentan una destrucción total. A temperatura más baja o tiempo de acción más breve las esporas sobreviven al menos parcialmente. Las ampollas se agregan al material de carga. Después de haber tenido lugar el autoclavaje se controla el éxito de la esterilización mediante incubación de las ampollas: Si no existe crecimiento de *Geobacillus stearothermophilus* queda demostrada una esterilización satisfactoria, mientras que la existencia de crecimiento indica una esterilización no satisfactoria.

Después de la esterilización se toman las ampollas y se incuban a $60^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ durante 48 horas. Como control debe incubarse simultáneamente una ampolla no esterilizada. (KGaA, 2012)

Evaluación de Sterikon® plus bioindicador

En caso de esterilización satisfactoria, las esporas de *Geobacillus stearothermophilus* quedan destruidas. El color del contenido de las ampollas permanece rojo a violeta rojizo y transparente después de la incubación.

En caso de esterilización no satisfactoria, sobreviven las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*. El contenido de las ampollas muestra generalmente ya dentro de 24 horas

de incubación un viraje de color hacia amarillo o amarillo-naranja por formación de ácido como consecuencia de la fermentación del azúcar, así como una turbidez levemente debida a crecimiento. (KGaA, 2012)



Figura 4.5.2. Evaluación de esterilidad de dos tandas de material.

Se evalúa la esterilidad y la inactivación por lo menos una vez al mes por cada autoclave y se registran los resultados.

Por lo tanto, en resumen, los procesos que llevan a utilizar el material de vidrio en el análisis microbiológico se encuentran en la figura 4.5.3

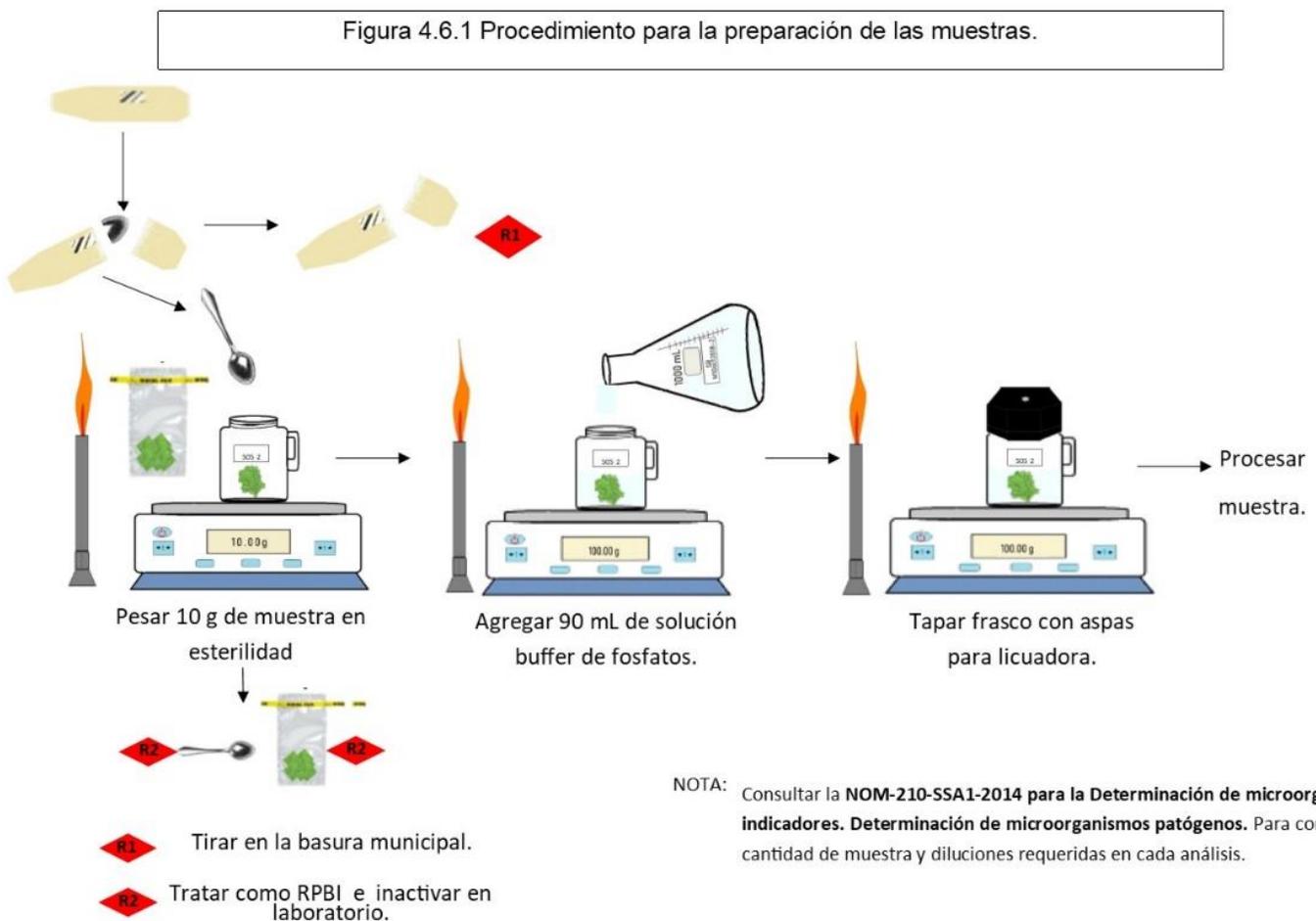


Fig. 4.5.3. Proceso para utilizar el material de vidrio en el análisis microbiológico.

4.6 Preparación, dilución de muestras, identificación de microorganismos patógenos.

La preparación y el sembrado de las muestras este marcado por la [NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.](#)

La figura 4.6.1 muestra el procedimiento para el pesado de las muestras, la cantidad a pesar depende del tipo de análisis que se realice.

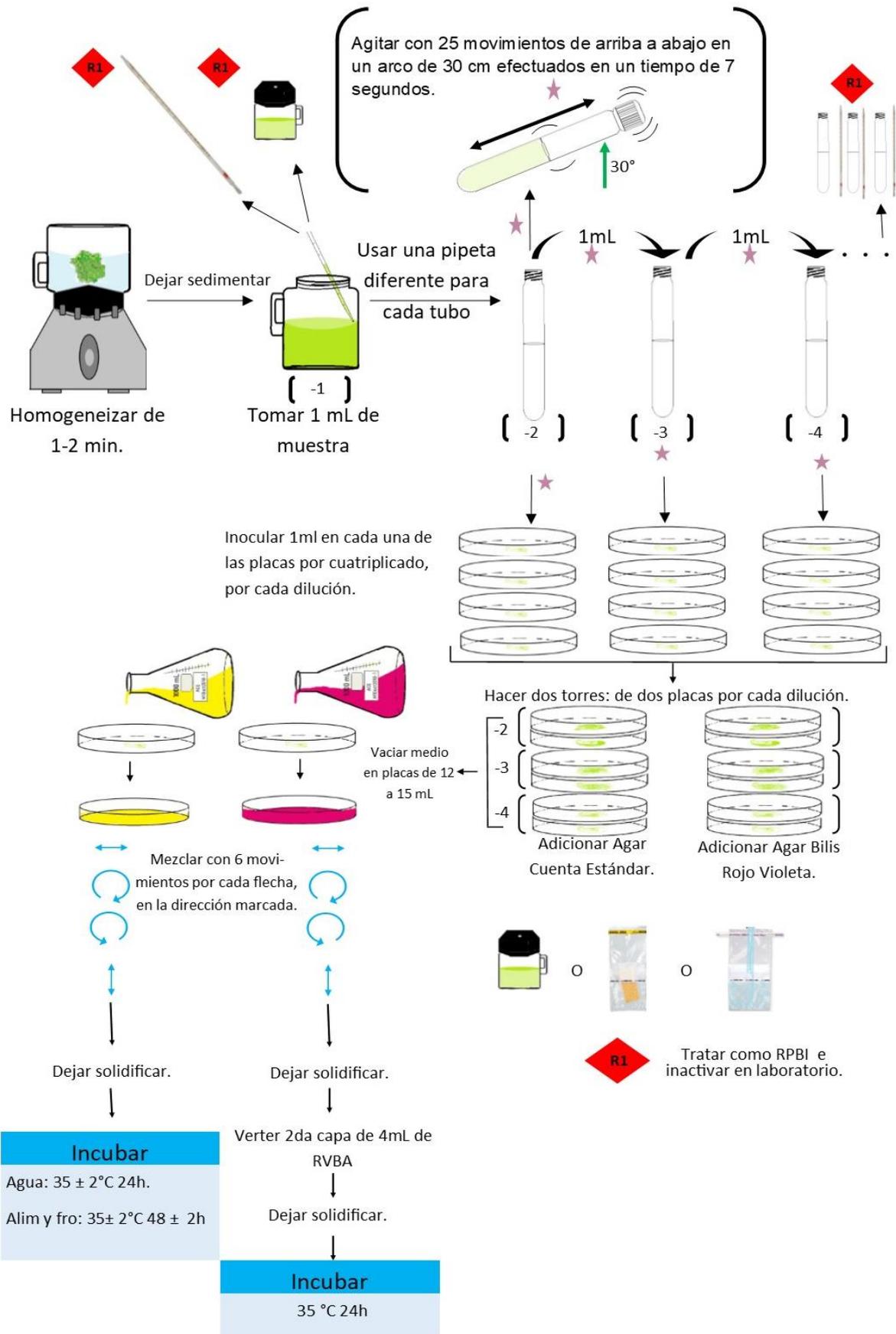


La figura 4.6.2 ejemplifica la manera de hacer las diluciones y el sembrado de las muestras. Dependerá del tipo de análisis si la muestra es sembrada en placa o en tubos con algún tipo de caldo en específico.

La NOM 092 Y NOM 113 para análisis de mesófilos y coliformes totales en placa, respectivamente, especifican que se debe pesar 10 g de muestra y homogeneizar con 90 mL de diluyente, por el contrario, la NOM 210 especifica que se debe pesar 25 g de muestra con 225 mL de diluyente. En Ambos casos se obtiene la dilución primaria 10^{-1} ó 10^1 .

La figura 4.6.2 ejemplifica la manera de hacer diluciones, al final el medio que se vació a la placa dependerá de los microorganismos que se quieran obtener, si se quieren hacer crecer bacterias aerobias se tendrá que adicionar Agar Cuenta Estándar, si se quieren obtener coliformes totales se tendrá que adicionar Agar Bilis Rojo Violeta, pero si se quiere obtener hongos y levaduras se adiciona Agar Dextrosa Papa acidificado con ácido tartárico y su incubación es a 25 ± 1 °C por 5 días con observaciones y cuenta de colonias desde el 3ro y 4to día.

Figura 4.6.2 Procedimiento para la dilución de las muestras.



NORMA Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

Esta norma conjunta en una sola norma, los métodos para determinar todos los microorganismos indicadores y los patógenos más comunes.

Antes de que la NOM 210 se publicara en el Diario Oficial de la Federación, existían otras normas que establecían los métodos para la determinación de patógenos en alimentos, estas normas fueron juntadas en lo que resultó ser la NOM 210.

Por lo que la NOM 210 dejó sin funcionamiento a las siguientes normas:

- **NOM-143-SSA1-1995**, Determinación de *Listeria monocytogenes*;
- El Capítulo B.16. Determinación de *L. monocytogenes* **NOM-242-SSA1-2009**
- El capítulo B.13 Determinación de *L. monocytogenes* **NOM-243-SSA1-2010**
- NOM-114-SSA1-1994 determinación de *Salmonella*,
- El capítulo B.4 Determinación de *Salmonella* , **NOM-131-SSA1-2012**
- **NOM-115-SSA1-1994**, determinación de *Staphylococcus aureus*
- Capítulos B 7.4 determinación de *Salmonella* spp. en alimentos y B 7.8 determinación de *Staphylococcus aureus*, **NOM-218-SSA1-2011**
- Capítulos B.14 determinación de *Salmonella* spp. en alimentos y B.15 determinación de *Staphylococcus aureus* **NOM-242-SSA1-2009**
- Capítulos B.12 determinación de *Salmonella* spp. en alimentos y B.11 determinación de *Staphylococcus aureus* **NOM-243-SSA1-2010**
- Capítulos B 4.4 determinación de *Salmonella* spp. en alimentos y B 4.5 determinación de *Staphylococcus aureus* **NOM-247-SSA1-2008**

- Así como **NOM-112-SSA1-1994**, Determinación de bacterias Coliformes, Técnica del número más probable: Capítulos B.2, B7.5 y B12 Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable y B.6 ,B7.6 y B17 De la estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable. Determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple, de las **NOM-131-SSA1-2012** , **NOM-218-SSA1-2011** y **NOM-242-SSA1 2009** respectivamente.
- Capítulo B.18 Estimación de la Densidad Microbiana por la Técnica del Número Más Probable de Bacterias Coliformes, Coliformes fecales y *Escherichia coli*, por la Técnica de Diluciones en Tubo Múltiple, **NOM-243-SSA1-2010**
- Deja sin efecto a **PROY-NOM-210-SSA1-2002**. (Silliker México S.A. de C.V., 2017)

Algunas metodologías de las normas recopiladas en la NOM 210 fueron conservadas y a otras se les hizo modificaciones o actualizaciones:

Apéndice A. Determinación de *Salmonella*. Se modifica en el paso de enriquecimiento a uso de de caldo tetrionato y caldo selenito cistina por caldo Rappaport (RVS) y caldo Mueller Kaufman (MKTTn). Se agregan: detección de B galactosidasa y caldo L-lisina descarboxilasa en pruebas bioquímicas.

Apéndice B. Determinación de *S. aureus*. Se modifica el número de colonias para pruebas bioquímicas, ahora son 5 siempre, la incubación en BHI es en baño de agua, y en paralelo se inocula en AST, cambian volúmenes de cultivo y plasma de conejo para prueba de coagulasa y se añaden pruebas auxiliares (Tincion de Gram,catalasa, fermentación de manitol y glucosa).

Apéndice C. Determinación de *L. monocytogenes*. Cambia el medio de cultivo para enriquecimiento primario y secundario ahora es en caldo Fraser. El enriquecimiento secundario se hace en agar Oxford y 2 placas de PALCAM. Se añaden pruebas auxiliares confirmatorias (Luz de Henry sobre placas de ASTEL), se elimina prueba de reducción de nitratos. Este patógeno no se determina en Quimiometría alimentaria S. de R. L. de C. V.

Apéndice D, E y F. Determinación de Enterococos. En la presente Norma se describen 3 técnicas para cuantificar y estimar la presencia de enterococos en agua para uso y consumo

humano, agua envasada y hielo, agua de uso recreativo (dulce y salobre): 1. Técnica de filtración por membrana (y conteo en medio selectivo sólido que contiene azida de sodio), 2. Técnica del NMP (caldo azida dextrosa)y 3. Técnica del sustrato cromogénico definido. comercialmente disponible. Este patógeno no se determina en Quimiometría alimentaria S. de R. L. de C. V.

Apéndice G. Nuevo: Para el monitoreo de Enterococos fecales recomendado para el monitoreo de aguas para uso recreativo. Filtro de membrana, conteo en agar mEI, verificación en BHI, transferir ABE y a BHI y BHI con 6.5% de NaCl. Este patógeno no se determina en Quimiometría alimentaria S. de R. L. de C. V.

Apéndice H. Determinación de Coliformes Fecales. Cambia el medio por caldo lauril triptosa, se agregan pruebas complementarias en Agar Mc Conkey, tinción de Gram, formación de gas en los tubos de caldo lauril sulfato.

Apéndice I. Determinación de *E. coli*. se agregan aislamiento y confirmación en agar triptona bilis glucuronido.

Apéndice J. Nuevo: Enumeración de *E. coli* por detección de β -glucuronidasa, cambio de sustrato utilizando 5-Bromo-4-cloro-3-Indol β -D-Glucurónido. (Silliker México S.A. de C.V., 2017)

En Q+A los clientes deciden que determinaciones se hacen a los alimentos con base a sus requerimientos y necesidades para la mejora.

Por ejemplo, a un alimento lácteo se le puede hacer determinación de *Salmonella spp*, Coliformes Fecales y *E. coli* por NMP y *S. aureus* por la NOM 210. Además, se puede hacer determinación de Mesófilos Aerobios por la NOM 092 y Coliformes Totales en Placa por la NOM 113. Un alimento lácteo puede ser un pastel, queso, gelatina, etc.

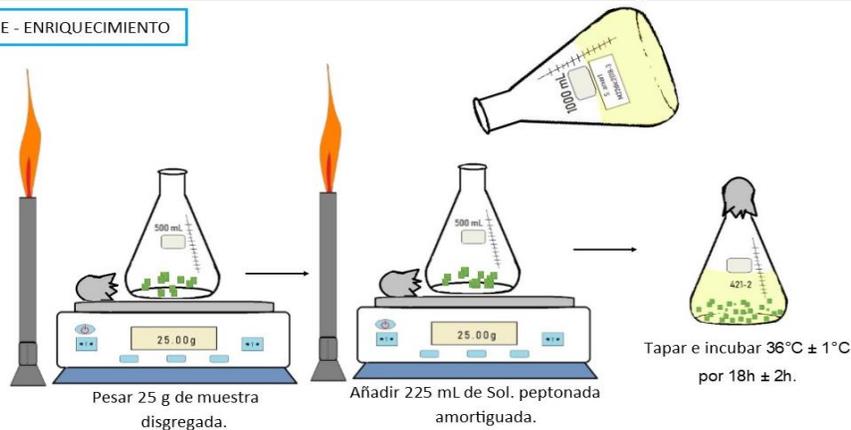
A continuación, se mencionan los patógenos que se determinan en Q+A a través de la NOM 210.

Salmonella spp.

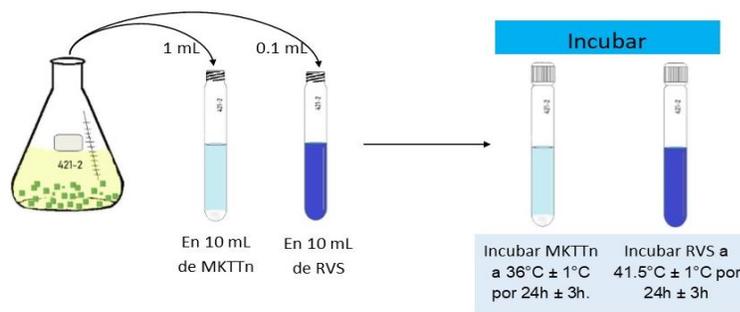
En las figuras 4.6.3 y 4.6.4 se muestra el procedimiento para la determinación de *Salmonella spp.* en alimentos de consumo humano.

Figura 4.6.3. Método de referencia para el aislamiento de Salmonella.

1. PRE - ENRIQUECIMIENTO



2. ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO



3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN

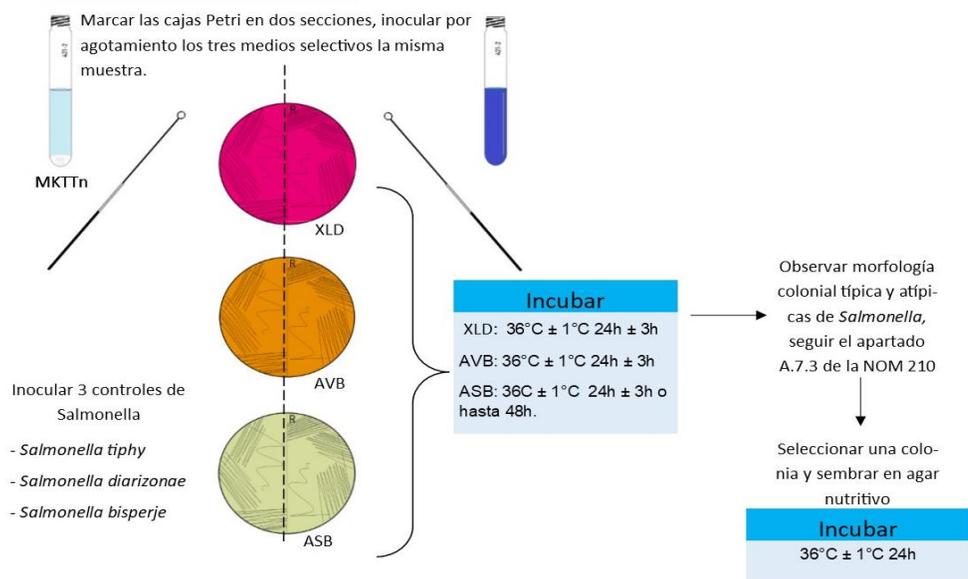
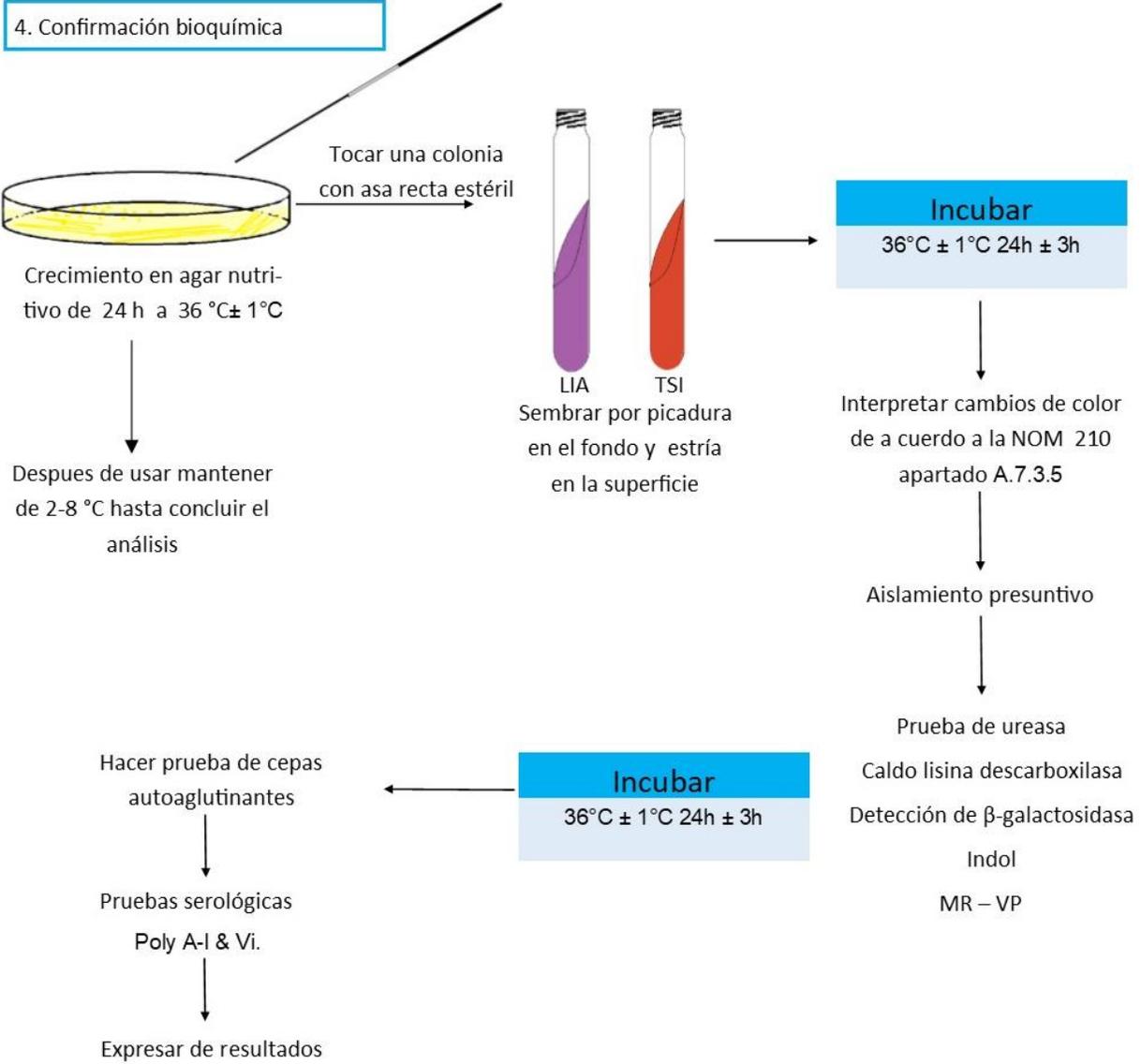


Figura 4.6.4. Método de referencia para el aislamiento de Salmonella (continuación)



Staphylococcus aureus

Seguir el procedimiento de preparación de muestras mostrado en la figura 4.6.1. con la modificación de pesar 25 g de muestra y diluir con 225 mL de solución Buffer de fosfatos.

En las figuras 4.6.5 y 4.6.6 se muestra el procedimiento para la detección de *S. aureus* en alimentos de consumo humano.

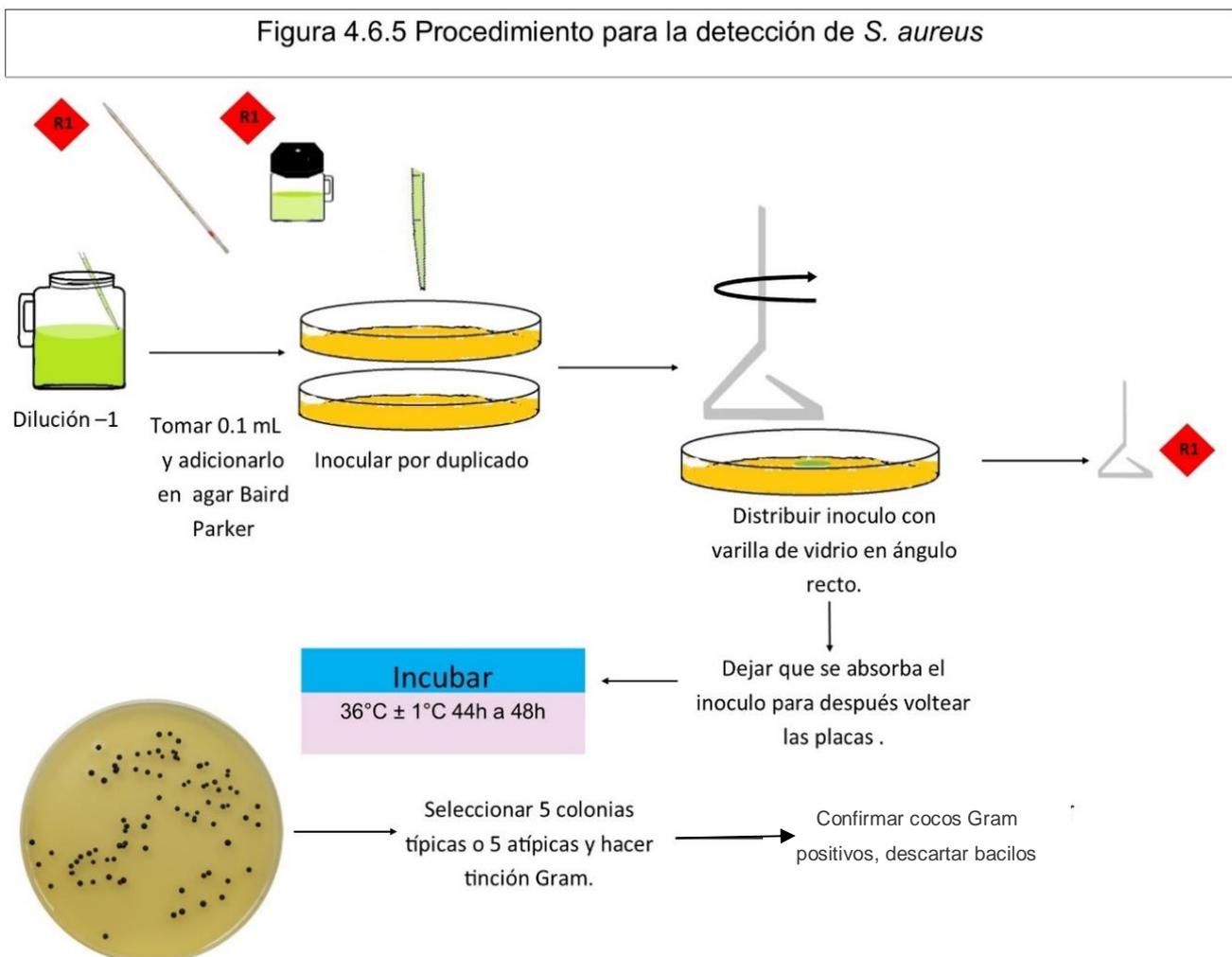
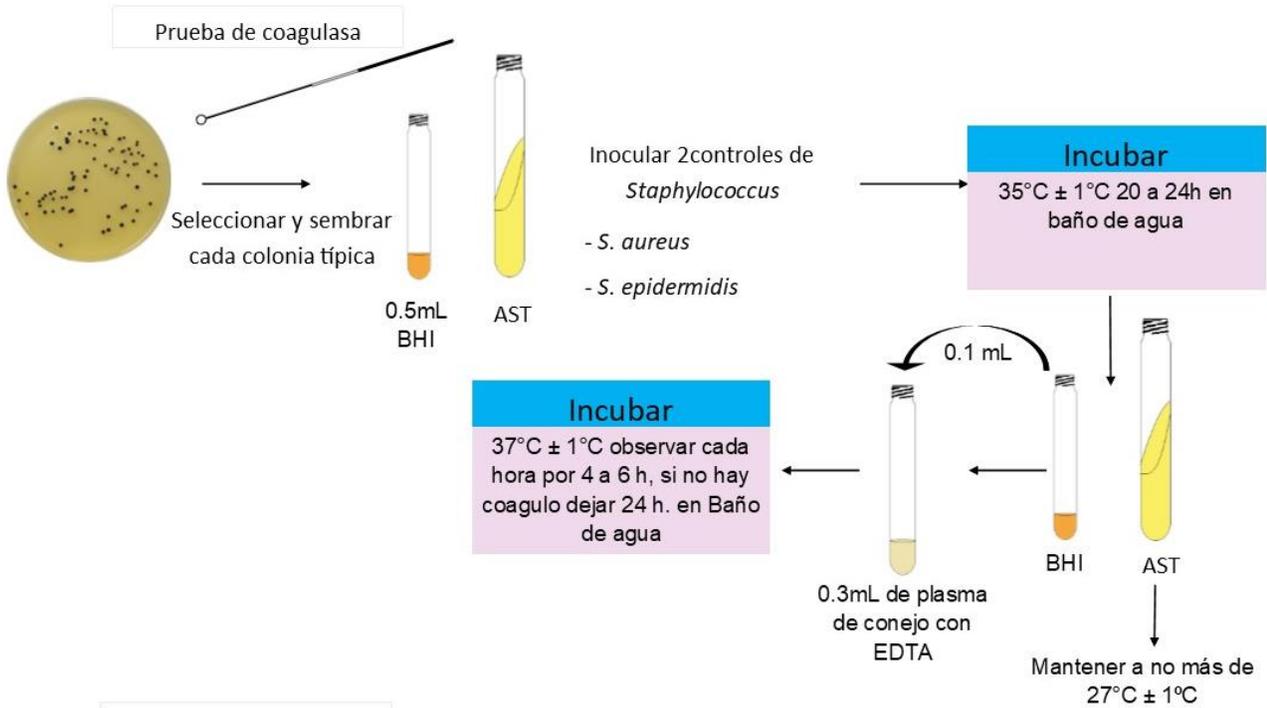
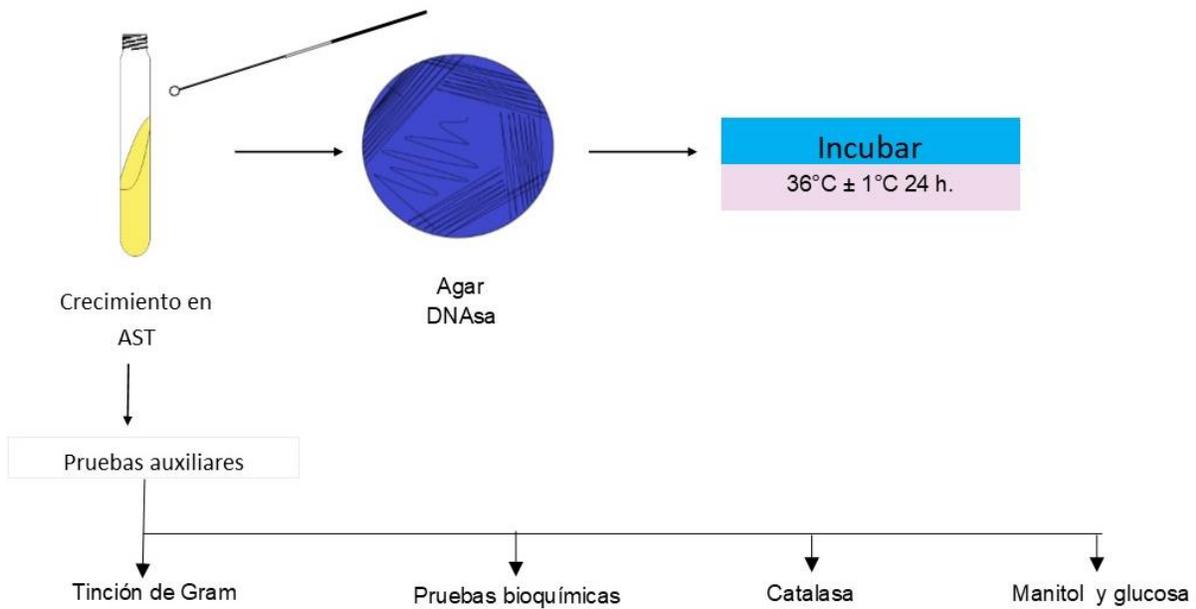


Figura 4.6.6 Procedimiento para la detección de *S. aureus* (continuación)

Confirmación



Prueba de termonucleasa

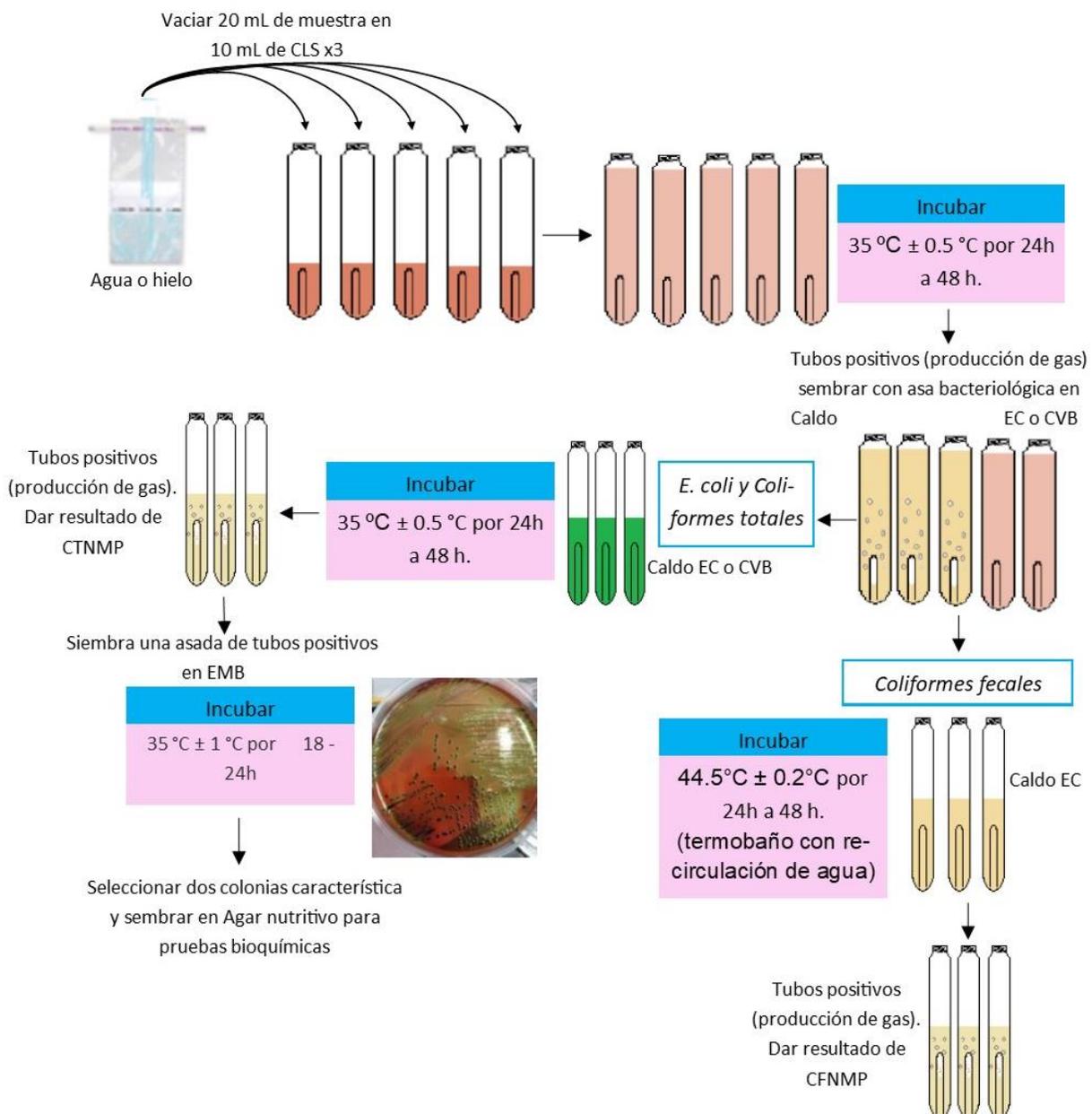


Coliformes totales, fecales y *E. coli* por la técnica de NMP

Agua y hielo:

En las figuras 4.6.7 se muestra el procedimiento para la detección de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E. coli* por la técnica de NMP en Agua o hielo.

Figura 4.6.7 Procedimiento para la estimación de coliformes totales, fecales y *E. coli* por la técnica de NMP en agua.



Alimentos:

Para mejor comprensión de la norma, los alimentos se separan en dos grupos: Alimentos congelados y/o refrigerados y alimentos de consumo inmediato.

Se entiende como alimentos congelados o refrigerados aquellos que por su naturaleza necesitan permanecer siempre en refrigeración o congelación hasta el momento en que sean utilizados para su consumo o caduquen.

Para detectar *E. coli* en alimentos congelados o refrigerados se hace lo indicado en la figura 4.6.8 y 4.6.9. Utilizando Caldo Lauril Sulfato con MUG en vez de Caldo Lauril Sulfato. Se inocula un tubo con una cepa *E. coli* (ATCC 25922) GUD positiva como control positivo y otro tubo con una cepa *E. aerogenes* (ATCC 13048) GUD negativa como control negativo, ver figura 4.6.10 Tubos positivos a GUD y figura 4.6.11 Crecimiento de *E. coli* en agar EMB (NOM-210-SSA1-2014, 2015).

Los controles positivos y negativos son utilizados también en la detección de Coliformes Fecales por NMP de agua y alimentos durante la confirmación.

En general, para todos los alimentos, seguir el procedimiento de preparación de muestras mostrado en la figura 4.6.1. con la modificación de pesar 25 g de muestra y diluir con 225 mL de solución buffer de fosfatos o diluyente de peptona.

En las figuras 4.6.8 y 4.6.9 se muestra el procedimiento para la detección de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E. coli* por la técnica de NMP en Alimentos de consumo humano.

Figura 4.6.8 Procedimiento para la estimación de coliformes totales, fecales y *E. coli* por la técnica de NMP en alimentos.

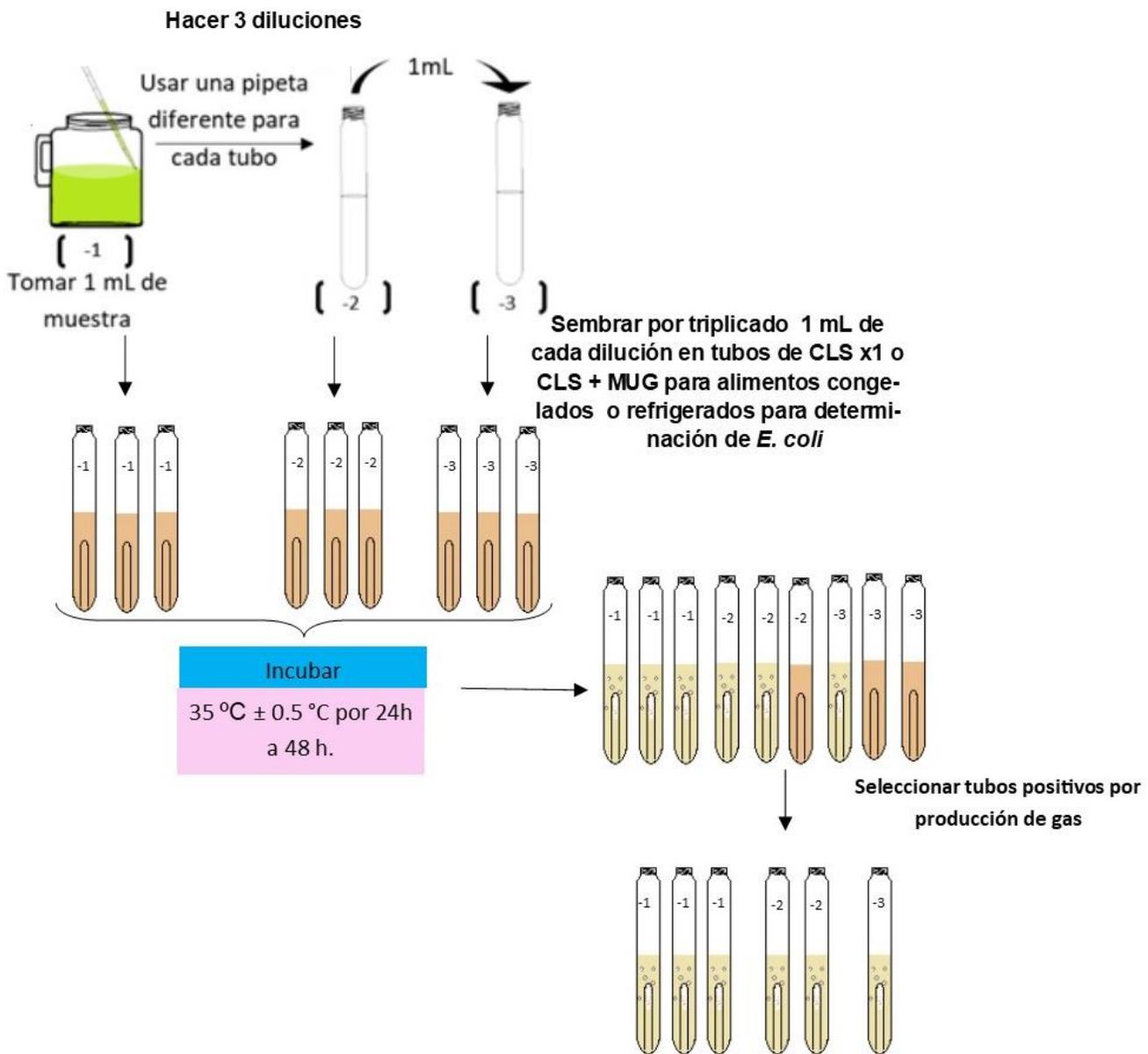


Figura 4.6.9 Procedimiento para la estimación de coliformes totales, fecales y *E. coli* por la técnica de NMP en alimentos. (continuación)

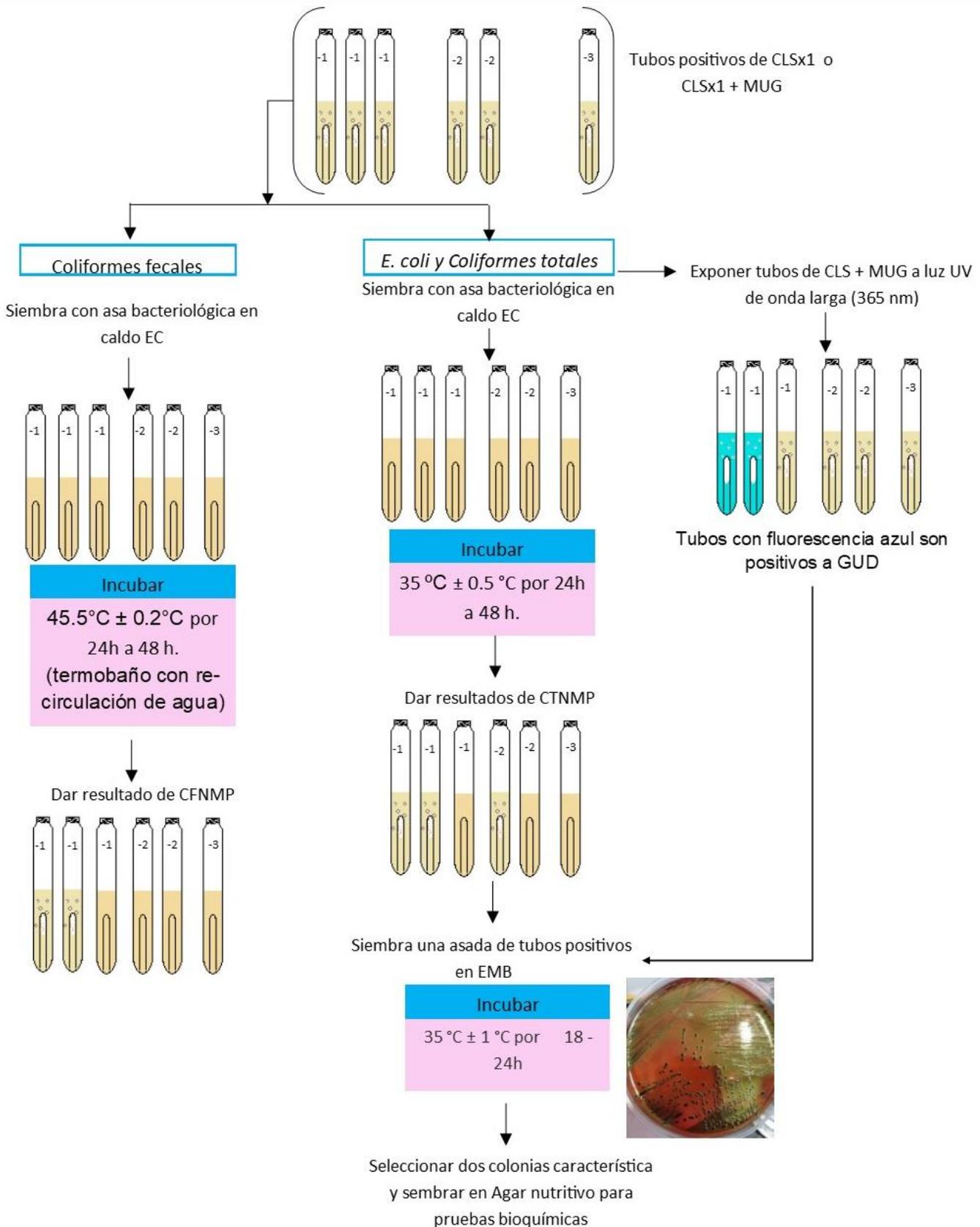




Figura 4.6.10 Tubos positivos a GUD (Dicorlab, 2016).

Muestran Fluorescencia azul debido a la producción de la enzima β - glucuronidasa (GUD), la cual rompe el sustrato específico 4- metilumbeliferyl- β - D- glucuronido (MUG).



Figura 4.6.11 Crecimiento de *E. coli* en agar EMB

Las colonias de *Escherichia coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico debido a la rápida fermentación de la lactosa.

Para tener una mejor comprensión sobre el método del apéndice H se diseñó la tabla 4.6.8

Tabla 4.6.8. Condiciones para analizar CTNMP, CFNMP y E. coli en agua y alimentos de consumo humano.

Etapa del análisis	Condiciones	CTNMP (agua)	CFNMP (agua)	E. coli (agua)	CTNMP (alim)	CFNMP (alim)	E. coli (alim)	Observaciones
Presuntiva	CLS- MUG	NA	NA	NA	NA	NA	Si	
	CLS	Si	Si	Si	Si	Si	No	Conservar a T° amb. Y en oscuridad no mas de 7 días.
	Concentración	[x3]	[x3]	[x3]	[x1]	[x1]	[x1]	[] para agua de mar, ver H.7.1.4 y ttabla H.8.4.2
	T° incubación	35 ± 0.5 °C	35 ± 0.5 °C	35 ± 0.5 °C	35 ± 0.5 °C	35 ± 0.5 °C	35 ± 0.5 °C	incubadora Q+A 201
Confirmación	Caldo EC	Si (o CVB)	Si	Si	Si	Si	NA	NA
	Control (+ y -)	Si	Si	Si	Si	Si	NA	<i>E. coli</i> y <i>E. aerogenes</i>
	Incubación	35 ± 0.5 °C 48 ± 2h	44.5 ± 0.2 °C (termobaño) 24h a 48h	35 ± 0.5 °C 24h a 48h	35 ± 0.5 °C 24h a 48h	45.5°C ± 0.2°C (termobaño) 24h a 48h	NA	La incubación en termo baño es con recirculación de agua
Confirmativa <i>E.coli</i>	Agar EMB	NA	NA	Si	NA	NA	Si	NA
	Control (+ y -)	NA	NA	Si	NA	NA	Si	<i>E. coli</i> y <i>E. aerogenes</i>
	Incubación	NA	NA	35°C ± 1°C 18°C - 24h.	NA	NA	35°C ± 1°C 18°C - 24h.	NA
	Anut	NA	NA	Si	NA	NA	Si	NA
	Tinción Gram	NA	NA	Si	NA	NA	Si	NA
	BQ's (IMVIC)	NA	NA	Si	NA	NA	Si	NA

aplica

x 3: Triple concentración

x 1: Concentración sencilla

4.7 Lectura y expresión de resultados

4.7.1 Conteo de Mesófilos aerobios y Coliformes totales en placa: De acuerdo con la NOM 092 y 113.

Se reporta de la siguiente manera:

- a) Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 25 a 250 UFC para mesófilos aerobios o 15 a 150 para coliformes totales en placa. Cuando el conteo de UFC es mayor o menor a 25 a 250 UFC para mesófilos aerobios o 15 a 150 para coliformes totales en placa respectivamente, colocar la leyenda Valor estimado (ve). Promediar el resultado de las dos placas y multiplicar por el inverso de la dilución, reportar como UFC/ g o mL .
- b) En caso de no haber crecimiento en la menor dilución reportar con el signo menor a (<) , y el inverso de la dilución, por ejemplo: si la dilución fue de 10^{-2} y no hubo crecimiento, se reporta como <100 ufc/g o mL
- c) Las colonias deben ser biconvexas y aproximadamente 1-2 mm
- d) Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de mohos y levaduras), incluyendo las colonias puntiformes. Hacer uso del microscopio. Ver Figuras 4.7.1.1 a 4.7.1.6

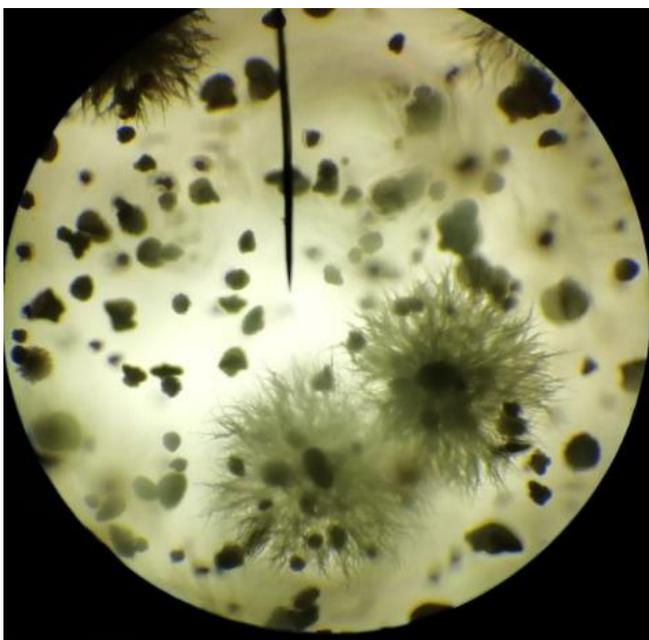


Figura 4.7.1.1 Vista al microscopio 20x de estructuras fúngicas en muestra de agua de limón.

Las estructuras fúngicas se caracterizan por tener un crecimiento radial del micelio aéreo y vegetativo los cuales se logran distinguir al microscópio y a simple vista suelen tener aspecto algodonoso. Se emite el resultado del conteo de estas colonias con la observación de que los hongos en alimentos se determinan por la técnica mencionada en la NOM 111.

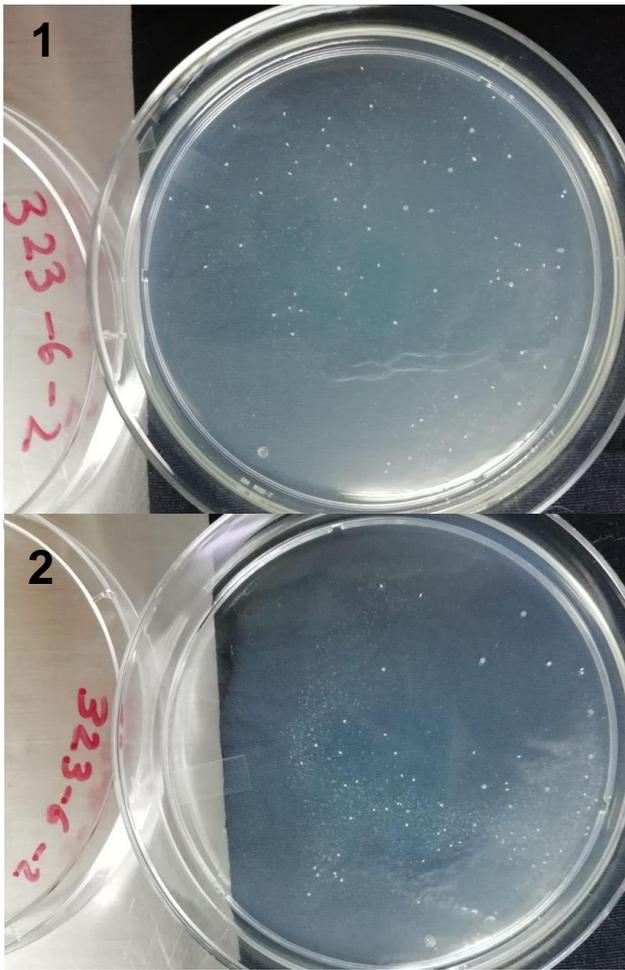


Figura 4.7.1.2 Crecimiento de bacterias mesofílicas aerobias en Agar Cuenta Estándar.

Resultados de la placa 1 y 2: 24 UFC y 23 UFC respectivamente.

Promedio redondeado: 24 UFC

Promedio se multiplica por el inverso de la dilución: 24 UFC x 100

Resultado: MA: 240,000 ufc/g CTP: <1ufc/gve

Número de muestra: 323-6 Salmón ahumado

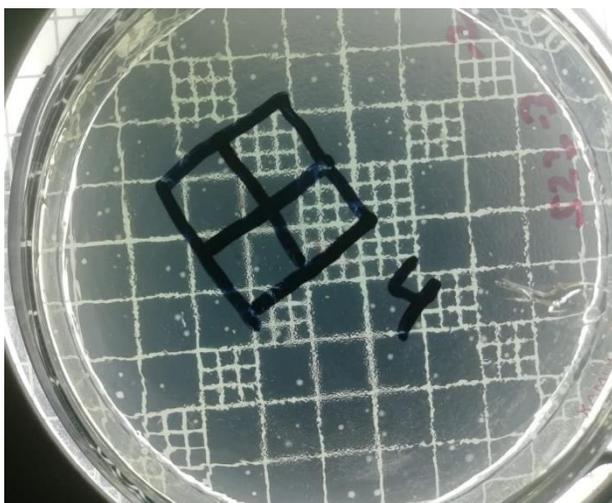


Figura 4.7.1.3. Caja marcada por cuadrantes para conteo de mesófilos aerobios.

Para un conteo rápido, se selecciona un área de la placa puede ser: la mitad de la caja, un cuarto del área de la caja o bien un cuadrante de 4 cm o varios cm. Posteriormente se calcula el número total de UFC en toda la placa.



Figura 4.7.1.4 Crecimiento de bacterias Coliformes en Agar Bilis y Rojo Violeta vistas al microscopio a 20x.

Las estructuras biconvexas mas oscuras representan bacterias coliformes, tienen coloración rojiza- violeta están acompañadas de materia orgánica del alimento.

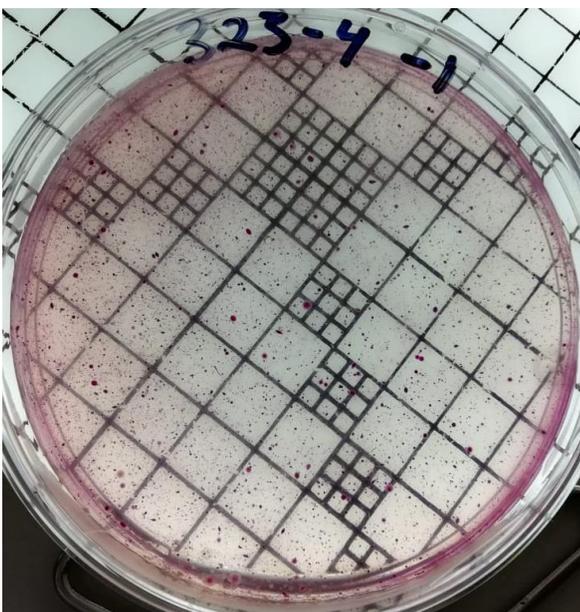


Figura 4.7.1.5. Crecimiento de Coliformes en placa con Agar Rojo Bilis Violeta.

Los coliformes resisten la presencia de bilis en el medio; cuando se desarrollan en este medio, el ácido producido por la fermentación de la lactosa, ocasiona el vire del indicador rojo neutro y la precipitación de las sales biliares por lo que las colonias son solor rojo oscuro.



Figura 4.7.1.6. Crecimiento de Coliformes en placa con Agar Rojo Bilis Violeta.

Se observan fibras propias de la naturaleza de la muestra que a simple vista podrían ser confundidas con crecimiento bacteriano denso.

El licenciado en Bioquímica Diagnóstica debe desarrollar la habilidad para contar y diferenciar estas colonias de manera rápida y sin confusiones.

La diferencia en la cuenta de UFC entre una placa y su par dependerá de la experiencia y capacidad de reproducibilidad y repetibilidad del analista para realizar la de procesamiento de la muestra.

4.7.2 Conteo de UFC en monitoreo ambiental.

El monitoreo ambiental se hace en el área de siembra del laboratorio de microbiología,

También, es un servicio que se ofrece a los clientes para evaluar la calidad del aire en donde se producen sus alimentos.

Las placas de PDA expuestas se incuban durante 5 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, se hace una lectura al tercer, cuarto y quinto día. Se elige la cuenta del día en el que mejor se aprecie el crecimiento de las colonias y se reporta como: Hongos: No. de UFC, Levaduras: No. de UFC. Si se tiene alguna duda sobre si una colonia es levadura o no, hacer una tinción Gram.



Figura 4.7.2.1. Crecimiento de hongos y levaduras en agar PDA.

La placa fue expuesta de bajo el aire acondicionado de una cocina. El flujo del aire se dirigía a la mesa de trabajo para la preparación de alimentos.

A petición del cliente, el monitoreo ambiental puede ser realizado con placas de Agar Cuenta Estándar, Agar Dextrosa Papa o Agar Bilis Rojo Violeta.

Las placas de ACE y RVBA se incuban a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48h y también se reporta como UFC de mesófilos aerobios o coliformes por placa.

4.7.3 Reporte de Salmonella de acuerdo con la NOM 210.

Se reporta de la siguiente manera:

- a) Los cultivos determinados como presuntivos con las pruebas bioquímicas y confirmados por la aglutinación, informar como: *Salmonella* spp en 25g: PRESENCIA.
- b) Descartar los cultivos con resultados atípicos a partir de las pruebas bioquímicas miniaturizadas clasificadas como no *Salmonella* spp, informar: *Salmonella* spp en 25g: AUSENCIA.

- c) Placas con agar XLD, ASB y el tercer medio selectivo sin desarrollo y/o colonias atípicas, informar: *Salmonella* spp en 25g: AUSENCIA.
- d) En caso de que la cantidad sea menor a 25g se debe reportar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp en la porción de ensayo (g o mL) de producto utilizado.
- e) Para los casos en los que se analiza una pieza de producto reportar como presencia o ausencia por piezas analizadas.

4.7.4 Reporte de *Staphylococcus aureus*. De acuerdo con la NOM 210.

Se reporta de la siguiente manera:

- a) Las pruebas de termonucleasa o coagulasa positiva son consideradas como resultados confirmatorios de *S. aureus*.
- b) Si al menos el 80% de las colonias típicas seleccionadas fueron coagulasa positiva y/o termonucleasa positiva tomar el número total de las colonias contadas como presuntivas de *S. aureus*.
- c) En otros casos, calcular el número de colonias presuntivas de *S. aureus* a partir del porcentaje obtenido de colonias coagulasa y/o termonucleasa positivas confirmadas.
- d) Promediar los resultados de los duplicados.
- e) Cuando en dos diluciones consecutivas se obtienen cuentas entre 15 y 150 colonias (típicas o atípicas) calcular el número de *S. aureus* para cada dilución como se especifica en los puntos anteriores, calcular la cuenta de *S. aureus* considerando el factor de dilución, calcular el logaritmo en base diez de cada dilución y realizar la resta de éstos, si la diferencia entre los logaritmos de las dos diluciones es menor a 0.3, reportar el promedio de las dos diluciones. Si por el contrario la diferencia entre los logaritmos es mayor a 0.3; reportar el valor más bajo.
- f) Cuando no se tenga crecimiento reportar como:

DILUCIÓN DE LA MUESTRA	VOLUMEN INOCULADO	RESULTADO
MUESTRA DIRECTA	1mL (0.4mL, 0.3mL Y 0.3 mL)	< 1 UFC/mL
MUESTRA DIRECTA	0.1 mL	< 10 UFC/mL
10-1	1mL (0.4, 0.3 Y 0.3 mL)	< 10 UFC/mL
10-1	0.1mL	< 100 UFC/mL

4.7.5 Reporte de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y E. coli por NMP en agua según la NOM 210 apéndice H.

Se reporta de la siguiente manera:

Después de confirmar cada uno de los tubos positivos de coliformes totales y fecales anotar los resultados y compararlos con la tabla de la figura 4.7.5.1

H.8.4.3 Tabla 3. NMP 100mL de muestra de agua o hielo e intervalos de confianza del 95% utilizando cinco tubos con 20 mL de muestra.

Tubos positivo	NMP/100mL	95% de Limite de confianza (aproximado)	
		Inferior	Superior
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.05	6.3
2	2.6	0.3	9.6
3	4.6	0.8	14.7
4	8.0	1.7	26.4
5	>8.0	4.0	-

Referencia: American Public Health Association. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 20th edition 1998. Washington DC.

Figura 4.7.5.1 Tabla usada para la determinación de CTNMP, CFNMP y E. coli en agua o hielo.

Tabla tomada de la pagina 71 de la NOM 210, apéndice H. La comparación de los resultados con la tabla para E. coli se hace después de dar positivo a las pruebas bioquímicas IMVIC.

Reportar como NMP/100 mL o bien reportar como NO DETECTABLE cuando el resultado es < 1,1 NMP /100 mL

4.7.6 Reporte de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y E. coli por NMP en alimentos según la NOM 210 apéndice H.

Después de confirmar cada uno de los tubos según corresponde, comparar los resultados con la tabla de la figura 4.7.6.1

H.8.4.5 Tabla 5. NMP por g de muestra e intervalos de confianza del 95%, utilizando tres tubos con 0.1g, 0.01g y 0.001g de muestra.

NMP por g de muestra e intervalos de confianza del 95%, utilizando tres tubos con 0.1g, 0.01g y 0.001g de muestra.											
Tubos positivos			NMP/g	Límite de confianza		Tubos positivos			NMP/g	Límite de confianza	
0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

Referencia: Bacteriological Analytical Manual. FDA, 8th Edición, Revisión A, 1998 Actualización Diciembre 2003.

Figura 4.7.6.1. Tabla usada para la determinación de CTNMP, CFNMP y E. coli en alimentos.

Tabla tomada de la página 71 de la NOM 210, apéndice H.

Reportar como NMP/g o bien reportar como NO DETECTABLE cuando el resultado es < 3 NMP /g.

4.7.7 Reporte de Mohos y levaduras en alimentos: De acuerdo con la NOM 111.

Contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, seleccionar aquellas placas que contengan entre 10 y 150 colonias. Si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis.

Si es necesario, cuando la morfología colonial no sea suficiente, examinar microscópicamente para distinguir las colonias de levaduras y mohos de las bacterias.

Considerar las cuentas de placas con 10 a 150 colonias como las adecuadas para el informe. En caso de que salgan de este valor se coloca la leyenda: valor estimado.

Se reporta como:

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de mohos en agar papa dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

Unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (UFC/g o ml) de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

5. Conclusiones

Un Licenciado en Bioquímica Diagnóstica tiene la labor de hacer cumplir las normas mexicanas para la evaluación de la inocuidad alimentaria lo cual ayuda a cuidar la salud tanto de los mexicanos como de extranjeros previniendo la transmisión de microorganismos patógenos a través de los alimentos. Los conocimientos aprendidos en la carrera sobre microbiología son ampliamente utilizados en esta área los cuales colocan al Licenciado en Bioquímica Diagnostica en una posición de ventaja en el campo laboral. En la carrera, el área de microbiología de

alimentos o alimentos es un área en la que no se indaga tanto, sin embargo, las oportunidades de crecimiento en el campo laboral son grandes, actualmente en la industria alimentaria se trabaja con equipos automatizados, en Q+A el proceso de sembrado es manual y no se hacen modificaciones a los métodos, eso ayuda a poner en práctica las normas capacitándonos para la correcta interpretación de ellas. Cabe destacar que además de los conocimientos teóricos y prácticos la carrera enseña al Lic. en Bioquímica Diagnóstica a conducirse con valores, responsabilidad, ética, profesionalismo, etc. aptitudes que ayudan al egresado a crecer día con día siendo altamente recomendado y buscado para esta área.

6. Anexos

Abreviaturas

Q+A: Quimiometría alimentaria S. de R.L. de C.V.

ACE: Agar Cuenta Estándar

RVBA: Agar Bilis y Rojo Violeta

PDA: Agar Dextrosa papa

XLD: Medio de cultivo Xilosa Lisina y Desoxicolato

AVB: Agar Verde Brillante

ASB: Agar Sulfito Bismuto

AST: Agar Soya Trypticaseina

EMB: Medio de cultivo Eosina Azul de Metileno

LIA: Agar Hierro Lisina

TSI: Agar Hierro y Triple Azúcar

IMVIC: Pruebas bioquímicas para la identificación de especies de enterobacterias: Indol, Rojo de metilo, Vogues Proscauer y Citrato

RPBI: Residuo Peligroso Biológico Infeccioso

MA: Bacterias Mesófilas aerobias

CTP: Coliformes Totales en Placa

NMP: Número Más Probable

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

NOM: Norma Oficial Mexicana

NA: No aplica

CTNMP: Coliformes Totales por Numero Mas Probable

CFNMP: Coliformes Fecales por Numero Mas Probable

ATCC: American Type Culture Collection

BHI: Infusión Cerebro Corazón (Caldo o agar)

NA: No Aplica

CLS: Caldo Lauril Sulfato

X3: Triple concentración

X1: Concentración sencilla

7. Referencias

- Ávila Ramírez J, O. I. (2013). Calidad microbiológica de productos cárnicos analizados en el. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.*, 4(1). Obtenido de <https://goo.gl/ajW31W>
- Campos Radillo , J. E. (2013). *Evaluación de los medios de cultivo para verificar su reproducibilidad y selectividad*. Colima: Instituto tecnológico de Colima.
- Cañestro Márquez, F., & et.al. . (2007). *TCAE en el servicio de esterilización*. España : Vértice
- Controlab. (2019). *Calidad microbiológica*. Obtenido de <https://bit.ly/2GZJNlr>
- Correa Maya , C. A. (2014). *Fenómenos químicos*. Colombia : Fondo editorial Universidad EAFIT.
- Dicorlab. (2016). *dicorlab.com*. Obtenido de <https://urlzs.com/ZJH6m>
- Esteban Méndez, M., Quintos Escalante, M., & Herrera Benavides, A. (2018). Contro de calidad de medios de cultivo. *Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango*. Recuperado el 29 de Oct de 2018, de <https://goo.gl/ML3LbE>
- Fernández Espina , C., & Mazziotta , D. (2005). *Gestión de la calidad en el laboratorio clínico*. Buenos Aires: Medica Paramericana.
- KGaA, M. (2012). *Inserto Sterikon® plus bioindicador*. Obtenido de 1.10274.0001: <https://goo.gl/sHd17m>
- MERCK. (17 de Feb de 2019). *MERCK millipore*. Obtenido de IS NOW MERCK: <https://goo.gl/etvPyE>
- NMX-BB-040-SCFI-1999. Métodos generales de análisis- Determinación de la actividad antimicrobina en productos germicidas. *Diario Oficial de la Federación* . (1999).
- NOM- 092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación*. (1995).
- NOM- 109- SSA1- 1994. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. *Diario Oficial de la Federación* . (1994).
- NOM-093-SSA1-1994. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. *Diario Oficial de la Federación*. (1995).
- NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. *Diario Oficial de la Federación* . (1995).

- NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. *Diario Oficial de la Federación* . (1995).
- NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de de microorganismos coliformes totales en placa. . *Diario Oficial de la Federación* . (1995).
- NOM-210-SSA1-2014. Método de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos. . *Diario Oficial de la Federación* . (2015).
- Organización Mundial de la Salud. (2008). Manual de bioseguridad en el laboratorio. *Medicina & Laboratorio*, 14, 225-253. Recuperado el 04 de Oct de 2018, de <https://goo.gl/73pBie>
- Pascual Anderson , M., & Calderon , V. (2000). *Microbiología Alimentaria*. Madrid, España: Díaz de Santos S. A.
- Remington , A. G. (2003). *Farmacología* . Buenos Aires: Medica Panamericana .
- Rugama, F. A. (2010). *Curso, Microbiología de los alimentos, un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria*.
- Secretaría de economía . (2010). SE. Obtenido de Secretaría de economía : <https://goo.gl/w6P6Jm>
- Secretaria de Turismo. (03 de Oct de 2014). *gob.mx*. Obtenido de <https://goo.gl/FfVE1X>
- Silliker México S.A. de C.V. (4 de Abril de 2017). *MERIEUX NutriSciences*. Recuperado el 02 de Feb de 2019, de <https://goo.gl/D5LLzj>
- Tortora, G. J., & Berdell, R. (2007). *Introducción a la microbiología* . Buenos Aires: Medica Panamericana .
- Urzúa, H. (2016). *Microbiología de los alimentos* . Médica Panamericana .