

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



CALIDAD SANITARIA DE CARNE MOLIDA DE RES
QUE SE EXPENDE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL
AREA METROPOLITANA DE NUEVO LEON

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

I. A. MA. GUADALUPE ROJAS VERDE

San Nicolás de los Garza, N. L.

Abril de 2000

TM

TS1975

.R6

2000

c.1



1080124377

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**CALIDAD SANITARIA DE CARNE MOLIDA DE RES QUE SE
EXPENDE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ÁREA
METROPOLITANA DE NUEVO LEÓN**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGÍA**

I. A. MA. GUADALUPE ROJAS VERDE

San Nicolás de los Garza, N. L.

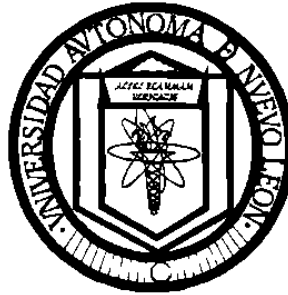
Abril de 2000



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**CALIDAD SANITARIA DE CARNE MOLIDA DE RES QUE SE
EXPENDE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ÁREA
METROPOLITANA DE NUEVO LEÓN**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA**

POR

I. A. Ma. Guadalupe Rojas Verde

**APROBADA
COMISIÓN DE TESIS**

**Dra. Norma Laura Heredia R.
Presidente**

**M. C. Arturo Espinoza Mata
Secretario**

**Dr. José Santos García Alvarado
Vocal**

**Dra. Marivel Gómez Treviño
Suplente**

CALIDAD SANITARIA DE CARNE MOLIDA DE RES QUE SE EXPENDE EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE NUEVO LEÓN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección de la Dra. Norma Laura Heredia R. y la Codirección del M. C. Arturo Espinoza Mata y del Dr. José Santos García Alvarado.

*"No es que mejoramos y logramos
crecer a pesar de nuestros
problemas, es que mejoramos y
crecemos gracias a ellos"*

ARU

Dedicatoria

Durante el transcurso de la vida, se van presentando retos, triunfos y fracasos, siendo de estos últimos de los que más aprendemos y los cuales en ocasiones parecen imposibles de superar. Entonces es necesario pensar que aunque algunas puertas se nos cierran otras se nos abrirán y todo resultará mejor de lo que creemos. Sin embargo, para superar estos pequeños obstáculos siempre habrá quienes estén dispuestos a creer en nosotros y en nuestra capacidad para afrontarlos.

Por tal motivo este trabajo se lo dedicó a:

DIOS por infundirme la Fé, la Esperanza y la Fuerza necesarias para salir adelante aún en las etapas más difíciles de mi vida.

Mis Padres: Ma. Guadalupe y Claudio, por darme la oportunidad de continuar mi formación y jamás reprocharme los fracasos que he tenido.

Mis Hermanos: Claudio, Asael y Víctor Hugo, por su aliento y apoyo para continuar.

Mis Amigas: Rosa Elena, Verónica, Rosalba, Laura y Sonia, porque siempre me infundieron confianza y creyeron en mí.

A los nuevos miembros de la Familia: Silvia y Claudio A., con ustedes comienza una etapa llena de sorpresas para nosotros.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Norma Laura Heredia y al Dr. José Santos García Alvarado, por su valiosa asesoría durante la realización de este trabajo, pero sobre todo, por haberme dado la oportunidad de pertenecer durante dos años al Laboratorio de Bioquímica y Genética de Microorganismos.

Al Dr. Rafael Castro Franco, por haberme ayudado con las cuestiones estadísticas.

A la Dra. Marivel Gómez Treviño y a la Dra. Julia Verde Star, por la ayuda brindada para la culminación exitosa de este trabajo.

A mis amigos Gerardo, César, Geno, Queta y principalmente a Natalia, por los pequeños ratos de ocio y esparcimiento que compartimos y que hicieron más llevadera mi estancia en el Laboratorio. Así como a mis compañeros y amigos de la maestría, principalmente a Ivonne y Abraham.

A todos y cada uno de los compañeros del Laboratorio, por que gracias a ellos aprendí a valorar lo que una vez tuve y deje para buscar la superación, pero sobre todo por el gran reto que representaron para mí.

A I. A. Rosa E. Delgado Portales, I. A. Rosalba Paloalto, I. A. Sonia Amaro Berzunza, Q. Laura Fuentes Rubio e I. A. Verónica Cano A., por los consejos dados durante todo este tiempo y sobre todo por otorgarme su invaluable amistad.

A M. C. Ma. De los Angeles Cabrero Mendoza por la confianza, apoyo y ayuda incondicional dada en todo momento.

A la UASLP, principalmente al personal del Laboratorio de Microbiología de Alimentos, por ayudarme a despejar muchas dudas en las cuestiones microbiológicas. Este logro es también de ustedes.

ÍNDICE GENERAL

| | Pag |
|---|-----|
| PÁGINA DE TITULO..... | i |
| DEDICATORIA..... | iv |
| AGRADECIMIENTOS..... | v |
| INDICE GENERAL..... | vi |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xi |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | xii |
| RESUMEN..... | xiv |
| ABSTRACT..... | xvi |
| 1.- INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2.- ANTECEDENTES | |
| 2.1.- GENERALIDADES..... | 3 |
| 2.2.- MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN ALGUNOS BROTES DE INTOXICACIÓN Y/O TOXI-INFECCIÓN..... | 4 |
| 2.2.1.- <i>L. monocytogenes</i> | 5 |
| 2.2.2.- Coliformes Totales y Fecales..... | 6 |
| 2.2.3.- <i>E. coli</i> | 8 |
| 2.2.4.- <i>Salmonella</i> sp..... | 10 |
| 2.2.5.- <i>S. aureus</i> | 12 |
| 2.2.6.- <i>Shigella</i> sp..... | 14 |

| | |
|--|----|
| 2.2.7.- Hongos y Levaduras..... | 15 |
| 3.- HIPÓTESIS..... | 17 |
| 4.- OBJETIVO..... | 18 |
| 5.- MATERIAL Y MÉTODOS | |
| 5.1.- Obtención de las Muestras..... | 19 |
| 5.2.- Cepas de Referencia..... | 19 |
| 5.3.- Preparación de las Muestras..... | 20 |
| 5.4.- Recuento de Organismos Mesofílicos Aerobios..... | 20 |
| 5.5.- Recuento de Coliformes Totales y Fecales..... | 21 |
| 5.6.- Determinación de <i>E. coli</i> O157:H7..... | 21 |
| 5.7.- Aislamiento e Identificación de <i>L. monocytogenes</i> | 23 |
| 5.8.- Determinación de <i>Salmonella</i> sp. y <i>Shigella</i> sp..... | 25 |
| 5.9.- Recuento de <i>S. aureus</i> | 26 |
| 5.10.- Recuento de Hongos y Levaduras..... | 27 |
| 5.11.- Diseño Experimental..... | 27 |
| 6.- RESULTADOS | |
| 6.1.- Organismos Mesofílicos Aerobios..... | 30 |
| 6.2.- Levaduras y Hongos..... | 30 |
| 6.3.- Coliformes Totales..... | 33 |
| 6.4.- Coliformes Fecales..... | 38 |
| 6.5.- <i>Salmonella</i> sp..... | 38 |
| 6.6.- <i>Listeria</i> sp..... | 41 |
| 6.7.- <i>L. monocytogenes</i> | 42 |
| 6.8.- <i>E. coli</i> | 44 |
| 6.9.- <i>E. coli</i> O157:H7..... | 45 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 6.10.- <i>S. aureus</i> | 47 |
| 6.11.- Análisis Estadístico..... | 47 |
| 7.- DISCUSIÓN..... | 49 |
| 8.- CONCLUSIONES..... | 58 |
| 9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 59 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | pag. |
|--|-------------|
| 6.1.- Recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias correspondientes a las muestras adquiridas en carnicerías de los diferentes municipios del Área Metropolitana..... | 31 |
| 6.2.- Recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias de las muestras adquiridas en Centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 32 |
| 6.3.- Recuento de Levaduras correspondientes a las muestras adquiridas en carnicerías de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 34 |
| 6.4.- Recuento de Levaduras de las muestras analizadas obtenidas de centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 35 |
| 6.5.- Recuento de Coliformes Totales de las muestras adquiridas en carnicerías provenientes de cada uno de los cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 36 |
| 6.6.- Recuento de Coliformes Totales de las muestras adquiridas de centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 6.7.- Recuento de Coliformes Fecales de las muestras adquiridas en carnicerías de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 39 |
| 6.8.- Recuento de Coliformes Fecales de muestras adquiridas en centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 40 |
| 6.9.- Resultados de los Análisis Serológicos, Bioquímicos y Moleculares de cepas de <i>E. coli</i>..... | 47 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | pag. |
|---|-------------|
| 5.1.- Prueba de CAMP en agar Sangre de Carnero..... | 25 |
| 6.1.- Presencia de <i>Salmonella</i> sp. en carne molida de res adquirida en cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 41 |
| 6.2.- Presencia de <i>Listeria</i> sp. em carne molida de res proveniente de cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 42 |
| 6.3.- <i>Listeria</i> sp. y <i>Listeria monocytogenes</i>, aisaldas de las muestras de carne utilizando el método cromogénico RAPID'L.MONO (SANOFI-PASTEUR)..... | 43 |
| 6.4.- Presencia de <i>L. monocytogenes</i> en carne molida de res que se expende en cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 44 |
| 6.5.- Presencia de <i>E. coli</i> en carne molida de res que se expenden en cuatro municipios del Área Metropolitana..... | 45 |
| 6.6.- Fermentación de Sorbitol en agar MacConkey-Sorbitol..... | 39 |
| 6.8.- <i>E. coli</i> aislado de las muestras de carne utilizando el medio RAPID-Ecoli (SANOFI-PASTEUR)..... | 40 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------------------|--|
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| ATTC | American Type Collection |
| BMA | Bacterias Mesofílicas Aerobias |
| TSAYE | Agar de Soya Trypticase con Extracto de Levadura |
| CAMP | Christie, Atkins y Munch-Peterson |
| MgCl ₂ | Cloruro de Magnesio |
| KCl | Cloruro de Potasio |
| EHEC | <i>E. coli</i> Enterohemorrágico |
| EMB | Eosina y Azul de Metileno |
| FDA | Food and Drug Administration |
| °C | Grados Celcius o Centígrados |
| g | Gramos |
| h | Hora |
| ICC | Infusión de Cerebro-Corazón |
| μL | Microlitros |
| mM | Milimolar |
| mL | Mililitros |
| MUG | 4-metilumbeliferil-β-D-glucoronido |
| min. | Minutos |
| NMP | Número Más Probable |
| pb | Pares de Bases |
| % | Por ciento |

| | |
|------------|--|
| p | Probabilidad |
| pH | Logaritmo recíproco de la concentración del ión Hidrógeno |
| PCR | Reacción en Cadena de la Polimerasa |
| s | Segundos |
| U | Unidades |
| UV | Ultravioleta |
| V | Volts |

RESUMEN

Cada año miles de personas enferman por el consumo de alimentos contaminados, lo que trae como consecuencia pérdidas económicas considerables.

Existe una gran variedad de microorganismos que pueden llegar a desarrollarse en alimentos tales como la carne molida, muchos de ellos inocuos, sin embargo existen aquellos que pueden llegar a provocar brotes de infección y/o intoxicación. *E. coli*, específicamente el serotipo O157:H7 ha sido implicado en brotes de intoxicación e infección por el consumo de hamburguesas con un tratamiento térmico deficiente. Así mismo, bacterias como *Salmonella* sp., *L. monocytogenes*, etc. pueden ser transferidas a estos productos antes o durante el proceso de obtención debido a una manipulación inadecuada o a las condiciones deficientes presentes. La presencia de estos microorganismos en éste tipo de producto pueden llegar a presentar un riesgo latente para el consumidor, si el alimento no es tratado en forma adecuada.

Se analizaron 88 muestras de carne molida provenientes de cuatro municipios del área metropolitana de Monterrey, adquiridas en centros comerciales y carnicerías. Se determinó la presencia de Bacterias Mesofílicas Aerobias, Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Hongos, Levaduras, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Listeria* sp., *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7.

La metodología utilizada fue la establecida por las Normas Oficiales Mexicanas.

Se presentaron cuentas muy elevadas de coliformes totales y fecales; en cuanto a los mesofílicos aerobios, sólo dos muestras se excedieron de las especificaciones dadas por la Secretaría de Salud; el recuento de levaduras fue bajo, mientras que especies de hongos filamentosos (*Fusarium moniliforme* y *Mucor* sp.) sólo se presentaron en tres muestras. Algo muy similar sucedió en la determinación de *S. aureus*, ya que sólo el 2.3% lo presentó. Por otro lado, el 76% de las muestras presentaron *E. coli*, sin embargo el serotipo O157:H7 no fue detectado en ninguna. *Salmonella* sp., fue aislada del 11.4%. *Listeria* sp. del 62.5% y *L. monocytogenes* del 16%. *Shigella* sp. no fue detectada en el 100% de muestras analizadas.

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza, se obtuvo que el lugar de procedencia y el tipo de establecimiento no los afectaban significativamente ($p>0.05$).

ABSTRACT

Every year thousand of people around the world get sick after consumption of contaminated food. This results in considerable economic and productive losses.

A great variety of microorganisms can grow in nutritious foods such as ground meat. Many of them are innocuous, however those that cause infection and/or intoxication could be present. *E. coli*, specifically serotype O157:H7 has been implicated in food poisoning after consumption of hamburgers with a faulty thermal treatment. Other bacteria, such as *Salmonella* sp., *L. monocytogenes*, etc., also can be transferred during an inadequate manipulation. If the food is not appropriately treated, the presence of these microorganisms in this type of product is a latent risk for the consumer.

88 samples of ground meat from four municipalities of the metropolitan area of Monterrey Mexico were analyzed. Samples were obtained from supermarkets and butcher shops. The presence of mesophilic aerobic bacteria, total coliforms, fecal coliforms, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, and *E. coli* O157:H7, mold and yeast were determined. The methodology used was in accordance with the Mexican Official Methodologies.

Very high levels of total and fecal coliforms were presented in the samples; as for the mesophilic, only two samples exceeded the official limits. The levels of

presented in only three samples. *S. aureus*, was also isolated in only 2.3% of the samples. On the other hand, 76% of the samples were contaminated with *E. coli*, however the serotype O157:H7 was not detected. *Salmonella* sp., was isolated from 11.4% of the samples; *Listeria* sp. from 62.5% and *L. monocytogenes* from 16%. *Shigella* sp. was not detected in any of the samples analyzed. No significant difference ($p>0.05$) in ground meat contamination was found between the municipalities and the type of establishment where the sampling was carried out.

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos pueden presentar riesgos para la salud, ya que en ocasiones son el vehículo de ciertas sustancias químicas o biológicas provenientes de diversas fuentes. Los riesgos inherentes a los alimentos pueden dividirse en 6 grupos: riesgos microbiológicos, malnutrición, contaminaciones ambientales, toxinas naturales, plaguicidas y aditivos cibilógicos (Banwart G. J., 1982). Sin embargo, los que más preocupan son aquellos provocados por agentes biológicos, ya que pueden ocasionar enfermedades transmisibles por alimentos contaminados. Éstos agentes incluyen: bacterias, virus, hongos, helmintos, protozoarios, algas y sus productos tóxicos (Buchanan, R. L., 1998a y 1998b).

La carne es muy susceptible de ser contaminada desde el momento del sacrificio por las condiciones higiénicas deficientes del rastro, los cuchillos, sierras, etc., empleados para este fin y por las personas que llevan a cabo ésta actividad. Por otro lado, la obtención de la carne molida, involucra una serie de pasos adicionales (Banwart G. J., 1982), permitiendo la llegada de microorganismos causantes de enfermedad, tales como *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *L. monocytogenes*, etc. Si a esto añadimos un abuso de la temperatura de almacenamiento por parte del consumidor, se pudiera favorecer la proliferación de los géneros bacterianos presentes y por

consecuencia la descomposición del alimento (Beninhaus A. J. and H. W. Ockerman, 1991).

La carne molida se utiliza para la elaboración de hamburguesas, las cuales han sido implicadas como vehículos transmisores de *E. coli* O157:H7 (Mermelstein, N. H., 1993; Doyle M. P., *et al*, 1997). Además, *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. son bacterias que tienden a contaminar fácilmente a los productos de origen animal, debido a que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (D'Aust, J. Y., 1997; Maurelli, A. T., and Lampel, K. A., 1997). Algo muy similar sucede con *S. aureus*, el cual es habitante normal de la piel y del aparato respiratorio de humanos (Bennett, R. W., 1993). Si bien *L. monocytogenes* no ha sido relacionado con brotes por el consumo de carne molida, si puede estar presente en éste tipo de alimento.

El principal objetivo de éste trabajo consistió en determinar la presencia de bacterias como *E. coli* O157:H7; *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *L. monocytogenes*, *S. aureus*, así como la cuantificación de microorganismos mesofílicos aerobios, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras en carne molida de res que se expende en cuatro municipios del área metropolitana de Nuevo León.

Los resultados obtenidos podrán marcar pautas a fin de establecer en forma real el estado higiénico de la carne que día con día consumimos, pues desafortunadamente en México la normativa existente sólo contempla a algunos de los microorganismos que pudieran estar presentes, dejando fuera a otras bacterias que son peligrosas.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- GENERALIDADES

Al ser los alimentos fuente de proteínas, vitaminas, minerales, grasas, hidratos de carbono y agua, son muy susceptibles de ser contaminados con una gran variedad de microorganismos (Bryan F. L., 1980).

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. Si se exceptúa el reducido número de productos esterilizados, cada bocado de alimento contiene levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos (ICMSF, 1984); su importancia en los alimentos dependerá de: 1) su número; 2) su clase; 3) el tipo de alimento; 4) el tratamiento dado a éste; 5) la manipulación, la elaboración y el almacenamiento del que será objeto; 6) si el alimento queda listo para su consumo o si debe ser calentado y 7) los individuos que puedan consumir el alimento (Banwart G. J., 1982).

Sin embargo, la mayor parte de los alimentos llegan a convertirse en peligros potenciales sólo después de que han sido sometidos a condiciones que pudieran permitir la llegada de microorganismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, convirtiéndose en vehículos de transmisión de enfermedades (ICMSF, 1984).

Algunas enfermedades transmitidas por los alimentos, si bien son conocidas, se consideran emergentes porque están ocurriendo con mayor frecuencia y han ocasionado en los últimos años brotes epidémicos en varios países desarrollados y en vías de desarrollo. La fuente principal de infección es el agua y los alimentos. Además, otros de los factores que contribuyen a la prevalencia de las enfermedades transmitidas por alimentos, incluyen la ausencia de programas nacionales integrados de protección de alimentos y falta de continuidad y desarticulación de los existentes; falta de legislación actualizada; adiestramiento insuficiente del personal encargado de la protección de los alimentos; infraestructura deficiente para el almacenamiento, transporte y distribución de alimentos y productos alimentarios, así como los factores culturales que influyen en la preparación y preservación de alimentos; etc. (SPP29/5, 1997).

2.2.- MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN ALGUNOS BROTES DE INTOXICACIÓN Y/O TOXI-INFECCIÓN

Los reportes existentes sobre brotes de enfermedades provocadas por el consumo de alimentos contaminados no solo se basan en el análisis de carne cruda, ya que en los últimos años, el consumo de hamburguesas ha crecido enormemente en nuestro país. Este tipo de alimento no sufre un proceso de

cocción adecuado, lo que pudiera no destruir a las bacterias existentes; las cuales en ocasiones son productoras de toxinas termoestables.

Existe una gran variedad de microorganismos que pueden crecer en éste tipo de alimento, sin embargo sólo algunos han sido implicados en brotes de intoxicación y/o infección provocados por el consumo de alimentos contaminados con bacterias patógenas.

2.2.1.- *L. monocytogenes*

Es una bacteria grampositiva, psicrófila, sin embargo crece en un amplio rango de temperatura (4 a 45°C); es móvil mediante flagelos y en ciertos tipos de alimentos puede llegar a multiplicarse rápidamente. Del 1 al 10% de los humanos son portadores de este microorganismo (Notermans S. J. *et al*, 1998). Su hábitat es extenso, se localiza en el agua, suelo y alimento para animales, se ha encontrado que al menos 37 especies de mamíferos son portadores, así como 17 especies de aves. A pesar de no formar esporas tiende a resistir el congelamiento (El-Kest S. E. *et al*, 1991), secado y calentamiento (Boyle D. L. *et al*, 1990).

L. monocytogenes tiene la capacidad de invadir el epitelio gastrointestinal. Una vez que la bacteria entra a los monocitos, los macrófagos o leucocitos polimorfonucleares del huésped, se genera una septicemia y el microorganismo puede crecer. Su presencia intracelular en células fagocíticas permite el acceso al cerebro y probablemente una migración transplacentaria en el feto. La

patogenicidad de ésta bacteria se centra en su habilidad para sobrevivir y multiplicarse en las células fagocíticas del huésped.

La listeriosis es una enfermedad clínicamente definida sólo cuando el organismo es aislado de sangre, fluido cerebroespinal u otros sitios generalmente estériles (placenta y/o feto). Las manifestaciones de la enfermedad incluyen septicemia, meningitis (o meningoencefalitis), encefalitis, infecciones cervicales o intrauterinas en mujeres embarazadas, lo cual puede resultar en aborto espontáneo; síntomas gastrointestinales, como pueden ser náusea, vómito y diarrea. La dosis infectiva varía de una persona a otra, pero normalmente un número de 1,000 organismos puede causar la enfermedad (Koneman E. W. *et al*, 1992).

Los alimentos que han sido implicados incluyen leche, queso, col, todos los tipos de carne cruda, etc. (Lovett J. *et al*, 1987; Bailey J. S. *et al*, 1989; Heisick J. L. *et al*, 1989; Farber J. M. *et al*, 1991). Estudios realizados en Taiwan por Wong H. *et al*. (1990) mostraron que la mayor incidencia se encontró en carne de puerco, canales de pollo, vegetales, piezas de pavo y filetes de res, entre otros.

2.2.2.- Coliformes Totales y Fecales

Los coliformes totales comprenden todos aquellos bacilos no formadores de esporas gramnegativos, aeróbicos o facultativamente anaeróbicos, que fermentan la lactosa con formación de gas antes de 48 horas a 35°C. Formados

por microorganismos tales como *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Edwardsiella*.

Habitan comúnmente en el tracto intestinal humano y animal. Sin embargo, el origen de las bacterias de éste grupo es tanto fecal como no fecal. Por la amplia distribución de los coliformes estos pueden ser detectados en muchos tipos de productos alimenticios, especialmente los de origen animal (Banwart G. J., 1982). Incluso han sido aislados de alimentos con un contenido de humedad bajo como las especias (Iracheta N. F. A., 1998).

En 1904, Eijkman descubrió que los coliformes fecales producen gas en medio de glucosa incubado a 46°C, mientras que los no fecales no lo hacen; comprenden principalmente al género *Escherichia*; sin embargo, algunas cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella* pueden producir gas en un medio de lactosa a 44.5°C (Duncan D. W., and Razziell W. E., 1972).

Los coliformes fecales se encuentran en la materia fecal de animales de sangre caliente, aunque también se detectan en productos frescos. Los insectos, plantas, animales, el suelo y el agua de riego contaminada pueden ser fuentes de contaminación por coliformes fecales (Geldreich H., and Bordner R. H., 1971).

La presencia de éste tipo de microorganismos en un alimento indica que el alimento no ha sido manipulado adecuadamente, o bien que las condiciones en las que se encuentran los contenedores e instrumentos de éstos alimentos pueden no ser las adecuadas (Banwart G. J. , 1982; Fernández E. E., 1982; ICMSF, 1984).

2.2.3.- *E. coli*

Esta especie perteneciente al grupo de los coliformes fecales, es de forma bacilar, aerobio facultativo, su temperatura de crecimiento va de 35 a 45°C, es fermentador de la lactosa y productor de indol. Su hábitat es variado siendo las vacas asintomáticas el principal reservorio (Zhao, T. *et al*, 1995). Se reconocen seis grupos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales, *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* enteroinvasivo (EIEC), *E. coli* adherente difuso (DAEC), *E. coli* enteroagregativo (EA_gEC) y *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) (Buchanan R. L., and M. P. Doyle, 1997). De ellas, la más importante y peligrosa es la *E. coli* enterohemorrágica, en donde el serotipo más frecuente es el O157:H7. Este microorganismo es productor de dos tipos de toxinas conocidas como verotoxinas o shigatoxinas, ya que tienen similitud con las toxinas producidas por *Shigella* sp.

Esta bacteria es capaz de soportar condiciones de acidez provocados por ácidos orgánicos y temperaturas de refrigeración (Uljas H. E. and Inham S. C., 1998). Se ha reportado que las principales fuentes de contaminación por el microorganismo incluyen alimentos de origen bovino, (Karmali M. A., 1989; Griffin P.M. and R. V. Tauxe, 1991; Griffin P. M., 1995) e incluso en alimentos como la leche no pasteurizada (Feng, P., 1995).

Debido a la tolerancia que generan los microorganismos al ser expuestos a condiciones de stress (Jyhsiun L, *et al*, 1993), se ha reportado que en productos

fermentados tales como el pepperoni es posible la sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 (Riordan D. C. *et al*, 1998).

Dado que la carne molida sirve como materia prima para la elaboración de productos tales como el chorizo, el cual no es sometido a un proceso térmico o de calentamiento y cuya acidez se incrementa conforme avanza la madurez (Anonymous, 1995), puede ser muy susceptible a contaminarse por la bacteria. Por otro lado, para complicar más su control, reportes recientes indican que éste microorganismo puede generar resistencia a las condiciones adversas que se pueden producir en algunos alimentos (Brackett R. E. *et al*, 1994; Rocelle S. M. and L. R. Beuchat, 1996). Glass K. A., *et al*. observaron que *E. coli* O157:H7 podía sobrevivir a condiciones de almacenamiento y secado en alimentos fermentados. Actualmente, el camino más efectivo para eliminar a éste microorganismo de carne de res molida es mediante el calentamiento adecuado.

Los síntomas intestinales producidos por el serotipo *E. coli* O157:H7, incluye diarrea leve, diarrea con sangre (colitis hemorrágica) y dolor abdominal agudo. El síndrome urémico hemolítico (SUH) es una complicación posterior al cuadro diarréico que se caracteriza por dolor renal agudo, anemia hemolítica microangiopática y púrpura trombocitopénica y en ocasiones extremas, el paciente puede morir (Riley L. W., 1987; Karmali M. A., 1989; Dev V. J. *et al*, 1991; Griffin P. M. and R. V. Tauxe, 1991; Giono S. *et al*, 1993; Keene W. E. *et al*, 1997).

2.2.4.- *Salmonella* sp.

El bacilo tifoideo, ahora designado como *S. typhi*, fue el primer miembro en ser descrito y aislado. En 1888, la identificación de *Salmonella* no tifoidea como un patógeno de humanos fue el resultado de un brote en Alemania que afectó a 58 personas, quienes habían consumido carne cruda procedente de una vaca moribunda. Un organismo fue aislado del estómago e hígado y posteriormente fue llamado *Bacillus enteritidis*.

Actualmente a éste organismo se le conoce como *S. typhimurium*. El nombre de *Salmonella* fue acuñado por Lignières en 1900, después de que Salmon, un bacteriólogo, había identificado *S. choleraesuis* en 1885.

Se ha presumido que todas las especies de *Salmonella* pueden ser patogénicas para el hombre. La enfermedad típica producida en humanos puede variar de fiebre tifoidea, una infección bacterémica sistémica, a gastroenteritis, identificada por diarrea, fiebre y dolor abdominal con una rara invasión sistémica, los cuales generalmente aparecen de 8 a 72 h después del contacto inicial con el agente infeccioso. La septicemia es evidente a los 10 días o más después que aparecieron los primeros síntomas de la enfermedad (Tiedjen M. and D. Y. C. Fung, 1995).

Es un microorganismo localizado ampliamente en la naturaleza. Es una bacteria gram negativa que pertenece al grupo de las enterobacterias, no esporulado, móvil o inmóvil, no fermentador de lactosa, anaerobio facultativo, que puede utilizar el citrato como única fuente de carbono y algunas cepas producen

H₂S y gas a partir de glucosa, catalasa positivo y oxidasa negativo. Existen más de 2000 serotipos, clasificados en base al antígeno somático (O), al flagelar (H) y al viraleno (V) (Al-Sheddy, I. A. *et al*, 1995); ha sido recuperado prácticamente de casi todos los vertebrados (Taylor J. and H. MacCoy, 1969). El aislamiento a partir de alimentos de origen animal es común y vacas, aves de corral y cerdos son portadores frecuentes (Lammerding A. M. *et al*, 1988; Bean N. H. and P. M. Griffin, 1990; Wilcock B. P. and K. J. Schwartz, 1992). En cambio, alimentos tales como frutos y vegetales han sido menos relacionados con brotes de infección por el microorganismo (Tiedjen M. and D. Y. C. Fung, 1995).

Los factores que pueden influir para que éste microorganismo esté presente en un alimento determinado incluyen contaminación de la canal (Mafu A. A. *et al*, 1989), utensilios mal lavados, contaminación cruzada, malas condiciones de almacenamiento y manipulación inadecuada o deficiente por parte del personal encargado del manejo y distribución del producto (Bryan F. L., 1980). El pollo es un reservorio importante de *Salmonella* sp. (Bryan F. L., and M. P. Doyle, 1995).

Jones D. D., *et al* (1993), aislaron a *Salmonella* spp. de alimentos marinos, principalmente de ostiones, los cuales han sido implicados en brotes de gastroenteritis, enterocolitis y septicemia, además en esos episodios las pérdidas económicas fueron considerables lo que tuvo un efecto negativo en la industria pesquera.

En 1997 Vought K. J., and Tatini S. R., reportaron que entre 1994 se produjo un brote de intoxicación alimentaria provocada por helado contaminado

con *Salmonella enteritidis*, en donde alrededor de 224,000 personas fueron infectadas. En 1996 se presentó un brote provocado por *S. typhimurium*, aunque no fue implicado directamente un alimento, la mayoría había ingerido carne de puerco proveniente de un pequeño matadero, tres días antes de presentarse los síntomas (Hald T., *et al*, 1997).

Se ha determinado que una dosis infectiva baja es suficiente para provocar infección; pues en estudios realizados por Waterman S. R., and Small P. L. C. (1998) con carne molida inoculada con *S. typhimurium*, se demostró que la cantidad de bacterias presentes no influía en la sobrevivencia de éste microorganismo bajo condiciones adversas, debido a un posible efecto protector que ejercían algunos componentes del alimento.

2.2.5.- *S. aureus*

Microorganismo mesofílico aerobio, grampositivo, en forma de coco, se puede encontrar en pares, cadenas cortas o agrupado en racimos. Su hábitat natural son las vías respiratorias de humanos y piel, por lo que fácilmente es transmitido a los alimentos por manipuladores poco cuidadosos. La contaminación estafilocócica es una de las mayores causas de enfermedades provocadas por los alimentos en muchos países (Bryan F. L., 1980). Esta es mediada por la producción de toxinas termoestables. Existen al menos siete enterotoxinas estafilocócicas de naturaleza proteica que son serológicamente distintas. Estudios realizados por Bennett, R. W. (1992), determinaron que aún cuando

éstas toxinas fueron sometidas a un tratamiento térmico severo (100°C, 25.4 min.), conservaban su actividad biológica.

No se conoce la cantidad de toxina que se requiere para causar enfermedad en el hombre, pero se sabe que 1µg de toxina/100g de alimento suelen ser suficientes para causar la aparición de síntomas clínicos. Éstas toxinas son formadas por el estafilococo al proliferar en la matriz del alimento que contaminan. La población crece abundantemente cuando el alimento sufre un abuso moderado en la temperatura. Los síntomas predominantes incluyen gastroenteritis o inflamación de la pared del tracto intestinal, náusea, vómito agudo y en algunas ocasiones postración después de 2 a 6 horas de haber consumido el alimento contaminado (Bennett, R. W., 1992). Los alimentos tales como carne de mamíferos y de aves, queso, natillas, etc., han estado implicados en las intoxicaciones por *S. aureus* (Banwart G. J., 1982).

Un punto importante radica en que la presencia de este microorganismo en un número reducido en productos no procesados no necesariamente implica una manipulación inadecuada del alimento, sin embargo, si no es mantenido bajo condiciones adecuadas de almacenamiento, el número inicial de bacterias presentes puede incrementarse, provocando que se puedan producir toxinas por el microorganismo en cantidades tales, que pudieran causar riesgos para la salud del consumidor.

2.2.6.- *Shigella* sp.

Es una bacteria gramnegativa que forma parte del grupo de las enterobacterias, inmóvil, bacilar y no esporulada, no fermenta la lactosa. Raramente se localiza en animales y normalmente se encuentra en agua contaminada con heces humanas.

La dosis infecciosa para causar una enfermedad en el humano es muy bajo, considerándose que son suficientes 10 células para producir los síntomas característicos que incluyen dolor abdominal, diarrea, fiebre, vómito y sangre, pus o moco en las heces.

Los alimentos que han sido asociados con la shigelosis incluyen papas, atún, macarrones, vegetales crudos, leche, productos lácteos y carne de cerdo. La contaminación de estos alimentos generalmente es a través de la ruta oral-fecal, por lo que el agua contaminada con heces fecales y la manipulación inadecuada por las personas que manejan los alimentos son las causas más comunes de contaminación.

Existen diversos reportes que implican a *Shigella* en brotes de intoxicaciones alimentarias (Bryan F. L., 1980), sin embargo la incidencia es mucho menor que la presentada por especies como *Salmonella*, *E. coli* y *S. aureus*. Sin embargo, esto no quiere decir que no se presente; sino más bien a que en ocasiones llegan a confundirse los síntomas con otras enfermedades. Además de que no todas las personas recurren al servicio médico para su

tratamiento, lo que hace imposible tener datos precisos que indiquen la cantidad de brotes provocados por este microorganismo.

2.2.7.- Hongos y Levaduras

Los mohos forman parte del extenso grupo de microorganismos denominados hongos. Son ubicuos, y aparecen ampliamente distribuidos en el suelo, aire, agua y materias orgánicas en descomposición.

Los hongos asociados con los alimentos no se consideran patógenos, sin embargo, algunos producen micotoxinas que representan un peligro potencial para la salud del hombre (Banwart, G. J., 1982; Bonifaz, A., 1991), tal es el caso de *A. flavus*, *A. niger*, *Fusarium* sp., entre otras. Éstos pueden contaminar los alimentos si las condiciones de manejo y almacenamiento no son las adecuadas.

Puesto que se desarrollan mejor en aquellos alimentos cuya actividad de agua se encuentra en un valor cercano al 0.8 (Badui D. S., 1994) y en la carne fresca la actividad de agua es alrededor de 0.95, estos productos son más susceptibles al ataque de bacterias y de ciertas levaduras, en tanto que los hongos están más relacionados a alimentos como cereales, harina o frutos secos con escasa concentración de agua o en frutos con pH bajo (Banwart G. J., 1982). El problema empieza cuando el producto o carne comienza a sufrir deshidratación, provocando que este valor disminuya, lo que favorece el desarrollo de los hongos.

Las levaduras son definidas como hongos en los que la forma usual denominante es unicelular; presentando una mayor relación de superficie/volumen, que permite una mayor actividad metabólica y a la vez permitiendo que se diseminen más fácilmente que los hongos filamentosos. Éstos microorganismos están asociados con casi todos los tipos de productos alimentarios, tales como las hortalizas, carne y queso a menudo contienen levaduras, aunque en estos alimentos predominan relativamente las bacterias (Banwart, G. J., 1982).

Debido a lo anterior y al incremento en el consumo de alimentos denominados comida rápida y al hecho de que la carne molida es utilizada como materia prima para la elaboración de hamburguesas, se decidió llevar a cabo el análisis de este tipo de carne, pues a pesar de que son sometidos a un proceso térmico previo a su consumo, esto no garantiza la inocuidad del alimento, sobre todo si el calentamiento no ha sido el suficiente para garantizar la destrucción de los microorganismos potencialmente patógenos.

3.- HIPÓTESIS

La carne molida de res que se expende en el Área Metropolitana de Nuevo León, está contaminada con los microorganismos patógenos *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *Salmonella sp.*, *L. monocytogenes*, *Shigella sp.*, así como por bacterias mesofílicas aerobias, coliformes totales, coliformes fecales, hongos y levaduras.

4. OBJETIVO

Determinar la presencia y cantidad de microorganismos mesofílicos aerobios, coliformes totales y fecales, hongos, levaduras, *S. aureus*, *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *E. coli* O157:H7 presentes en carne molida de res que se expende en el Área Metropolitana de Nuevo León.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras de carne molida de res se adquirieron al azar de supermercados y carnicerías localizados en cuatro municipios del Área Metropolitana de Nuevo León: Monterrey, San Nicolás de los Garza, Guadalupe y San Pedro Garza García. Las muestras fueron transportadas en hieleras, con el fin de conservar el número de microorganismos lo más constante posible, hasta el momento del análisis, el cual se realizó en un lapso no mayor a 4 horas desde el momento de su compra.

5.2.- CEPAS DE REFERENCIA

Las cepas utilizadas como referencia fueron: *S. aureus* 743-SEA; *S. typhimurium* (aislada de chocolate); *S. dysenteriae* (presumiblemente humano); *E. coli* O157:H7 ATCC 43889, donada por la Dra. Lynn McClane de la Universidad de Massachusetts, Amherst, MA EUA y *L. monocytogenes* ATCC 19114. Todas las cepas se activaron en Caldo Infusión de Cerebro Corazón (ICC, DIFCO) y se

mantuvieron almacenadas en agar ICC a 4°C, realizándose resiembras periódicas cada dos meses.

5.3.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el caso de organismos mesofílicos aerobios, *S. aureus*, *E. coli*, hongos y levaduras, se pesaron 15 g de la muestra y se le adicionaron 135 mL de diluyente (peptona de caseína al 0.5% y NaCl al 0.85%), se mezcló en licuadora durante 30 seg. a velocidad reducida. Para la búsqueda de *Listeria* sp. se pesaron 9 g de la muestra y se colocaron en 90 mL de caldo de Enriquecimiento para *Listeria* (DIFCO) y para el caso de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. se utilizó caldo lactosado como medio de pre-enriquecimiento (135 mL), y se agregaron 15 g de carne.

La determinación de cada uno de los microorganismos anteriores se llevó a cabo de acuerdo a las normas establecidas por la Secretaría de Salud de México (NOM-092-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-1994, NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994, NOM-143-SSA1-1995) (Fig. 5.2 y 5.3).

5.3.1.- Recuento de Organismos Mesofílicos Aerobios

Este se hizo tal como lo especifica la Norma Oficial Mexicana (NOM -092-SSA1-1994). A partir del homogeneizado se prepararon las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} y

se sembraron (100 μ L) en cajas de petri por duplicado. El medio de cultivo utilizado fue el Agar para Métodos Estándar (DIFCO). Las placas se incubaron por espacio de 24 horas a 37°C. Transcurrido éste tiempo se procedió al conteo de las colonias, reportándose como UFC/g de alimento. Las cajas escogidas fueron aquellas que contenían de 30 a 300 colonias.

5.3.2.- Recuento de Coliformes Totales y Fecales

Ésta determinación se llevó a cabo mediante la técnica del número más probable (NMP), según la Norma Oficial Mexicana (NOM-112-SSA1-1994). A partir de la dilución 10^{-2} , se inocularon (10 mL) una serie de 3 tubos con campana Durham, los cuales contenían 20 mL de caldo lactosado 1.5X. A otra serie de tubos con caldo lactosado 1X, se inoculó (1 mL) de la dilución de la muestra. Por último, otra serie de 3 tubos se inocularon con 100 μ L de la dilución de la muestra. Esto mismo se repitió para las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} . Se incubaron por espacio de 24 a 48 h a 37°C. De los tubos que presentaron crecimiento con producción de gas, se transfirieron dos asadas a tubos que contenían caldo bilis verde brillante con campana Durham, incubándose el mismo tiempo. Una serie se inoculó a 37°C para confirmar la presencia de coliformes totales y otra a 43°C para determinar coliformes fecales. Se consideraron tubos positivos a aquellos donde hubo crecimiento con producción de gas. Los resultados se interpolaron en las tablas de NMP que para tal fin existen.

5.3.3.- Determinación de *E. coli* O157:H7

A partir de los tubos positivos para coliformes fecales, se inocularon 2 asadas por estría cruzada en placas con Agar de Eosina y Azul de Metileno (DIFCO) y Agar MacConkey (DIFCO). Las colonias típicas (colonias con brillo verde metálico, en el agar EMB y colonias con precipitado, en el agar de MacConkey) se sometieron a una serie de pruebas bioquímicas (fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa, y sorbitol; descarboxilación de la lisina, descarboxilación de la ornitina, indol y reacción de la ureasa) y prueba de producción de β -glucuronidasa (MUG). Aquellas colonias que no fermentaron el sorbitol y fueron MUG negativo, se sometieron a su identificación definitiva por medio de pruebas moleculares específicas (reacción en cadena de la polimerasa, PCR) y serología, tanto para el antígeno O157 como para el H7.

PCR

Las cepas aisladas fueron sembradas en placas de agar soya triptosa e incubadas a 37°C. Las células bacterianas de una colonia bien aislada se resuspendieron en PBS estéril, en una concentración de 10^5 UFC/mL y esto fue utilizado como templado de DNA. Los primers de oligonucleótidos utilizados fueron *uidA* (252 pb), *Stx₁* (348 pb), *eaeA* (397 pb) y *Stx₂* (584 pb), así como para el plásmido EHEC (166 pb). Estos primers fueron sintetizados en un aparato (Beckman Instruments Inc.), como lo indica el proveedor.

El DNA bacteriano fue amplificado usando 10 μ L de la suspensión bacteriana previamente preparada, el cual fue añadido a la mezcla que contenía de 2 a 4 mM de $MgCl_2$, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM de KCl, 0.2 mM dATP, 0.2 mM dGTP, 0.2 mM dCTP, 0.2 mM dTTP, y cada primer en una concentración de 1 μ M y 2.5 U de DNA polimerasa de *Thermus aquaticus* (*Taq*). La amplificación se llevó a cabo con un termociclador de DNA (Perkin-Elmer), bajo las siguientes especificaciones: 30 ciclos de 30 s a 94°C, 1.5 min. a 58°C y 2.5 min. a 72°C, con un paso final de 7 min. a 72°C. Posteriormente a la amplificación del DNA, se tomaron alícuotas de 15 μ L de cada mezcla y se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 2%, por espacio de 50 min. a 100V. Las bandas teñidas se visualizaron con una transiluminación de UV. Se incluyó un marcador de tamaño molecular (secuencia líder de 100 pb), en cada gel.

SEROLOGÍA

Se utilizaron antígenos somáticos y flagelares específicos para O157 y para H7 de la compañía REMEL.

Ambas pruebas fueron realizadas en la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de Estados Unidos, en Washington D. C., por el Dr. Peter Feng.

5.3.4.- Aislamiento e Identificación *L. monocytogenes*

A partir del medio de pre-enriquecimiento se tomó una asada y se sembró por estría cruzada en medio Oxford (DIFCO), incubándose por 24 horas a 37°C.

De este se pasaron todas aquellas colonias características (colonias negras con halo negro) a Agar Soya Triptosa con Extracto de Levadura al 0.6%. Después de incubarse por espacio de 24 horas a 37°C, las colonias aisladas se sometieron a la tinción de Gram y a las pruebas bioquímicas: catalasa, fermentación de manitol, ramnosa y xilosa, reducción de nitratos y movilidad.

Simultáneamente a la siembra en medio de Oxford, del caldo de pre-enriquecimiento se prepararon diluciones decimales, sembrándose en medio RAPID'L.MONO (SANOFI, PASTEUR), mediante la técnica de extensión en superficie. Las placas se incubaron por espacio de 24 a 48 horas. Aquellas colonias azules se consideraron *L. monocytogenes*, aislándose para su posterior confirmación mediante la prueba de CAMP. Así mismo, las cepas obtenidas por el método tradicional se sembraron en éste medio para determinar si presentaban la actividad de la fosfolipasa, la cual es característica de éste microorganismo.

Prueba de CAMP

Para observar el sinergismo que presenta *L. monocytogenes* con *S. aureus*, se sembró una estría de *S. aureus* a mitad de una caja petri de agar sangre de carnero, posteriormente en forma perpendicular se sembraron las cepas sospechosas. La prueba de CAMP se consideró positiva si después de incubar las cajas por 24 a 48 h, se obtuvo una hemolisis con forma de punta de flecha en la zona donde confluyeron ambas reacciones β -hemolíticas (Figura 5.1).



FIG. 5.1.- Prueba de CAMP en agar Sangre de Camero

5.3.5.- Determinación de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp.

A partir del cultivo de pre-enriquecimiento, se tomaron 100 μ L y se colocaron en tubos con caldo tetracionato adicionado con 40 μ L de yodo al 1% y se incubaron 18 horas a 37°C. De este tubo se tomó una alícuota y se sembró por estría en placas de Agar *Salmonella-Shigella* y Agar XLD, se incubaron por 24 h a 37°C. A las colonias típicas (translúcidas) se les realizaron las pruebas bioquímicas producción de H₂S en agar TSI (Hierro y tres azúcares, DIFCO), producción de Indol (MIO, DIFCO), omitina descarboxilasa (MIO, DIFCO), lisina descarboxilasa (LIA, DIFCO), rojo de metilo (Caldo Rojo de Metilo y Vogues-Proskauer, DIFCO), Vogues-Proskauer (el caldo es el mismo que en la prueba anterior), producción de gas a partir de glucosa (TSI, DIFCO), fermentación de

manitol, ureasa (Agar urea de Christensen, MERCK) y utilización de citrato (Citrato de Simmons, MERCK).

5.3.6.- Recuento de *S. aureus*

Para éste análisis se utilizaron placas de petri con Agar Baird Parker adicionadas con Emulsión de Yema de Huevo al 10% y Telurito de Potasio al 1%. Éstas placas fueron preparadas 24 horas antes de su uso a fin de que estuvieran secas. Sobre la placa se depositaron 100 μ L de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} y se extendieron utilizando para tal fin un asa de Driglaski. Se incubaron por 48 h a 37°C. Transcurrido el tiempo, se seleccionaron aquellas colonias características (negras, con halo de clarificación y precipitado de las sales alrededor de la misma). Se tomaron las colonias representativas y se sembraron en tubos con 500 μ L de caldo ICC. Se incubaron por 24 horas a 37°C en baño de agua. Posteriormente se añadió plasma de conejo estéril (200 μ L) a cada uno de los tubos, observándose si había formación de coágulo a las 4, 8 y 24 horas. En base a los tubos positivos se procedió a hacer la corrección del número inicial, reportándose como UFC/ g de alimento.

5.3.7.- Recuento de Hongos y Levaduras

Se hizo mediante la técnica de vertido en placa utilizando como medio de cultivo el Agar Dextrosa y Papa (DIFCO) adicionado con ácido tartárico al 10%. La temperatura de incubación fue de 28°C, por 96 h en el caso de levaduras y por

5 días para hongos filamentosos. Mediante la observación al microscopio se determinó el género al cual pertenecía cada uno de los hongos.

5.4.- DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar si existía una diferencia significativa entre los diferentes lugares de procedencia de las carnes (municipio y tipo de comercio) sobre cada una de los microorganismos determinados, se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias, con una confiabilidad del 95%. El número total de muestras analizadas fue de 88, correspondiendo 22 a cada uno de los cuatro municipios: Monterrey, San Nicolás de los Garza, Guadalupe y San Pedro. Las variables fueron: Organismos Mesofílicos Aerobios, Organismos Coliformes Totales y Fecales, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *L. monocytogenes*, Hongos y Levaduras.

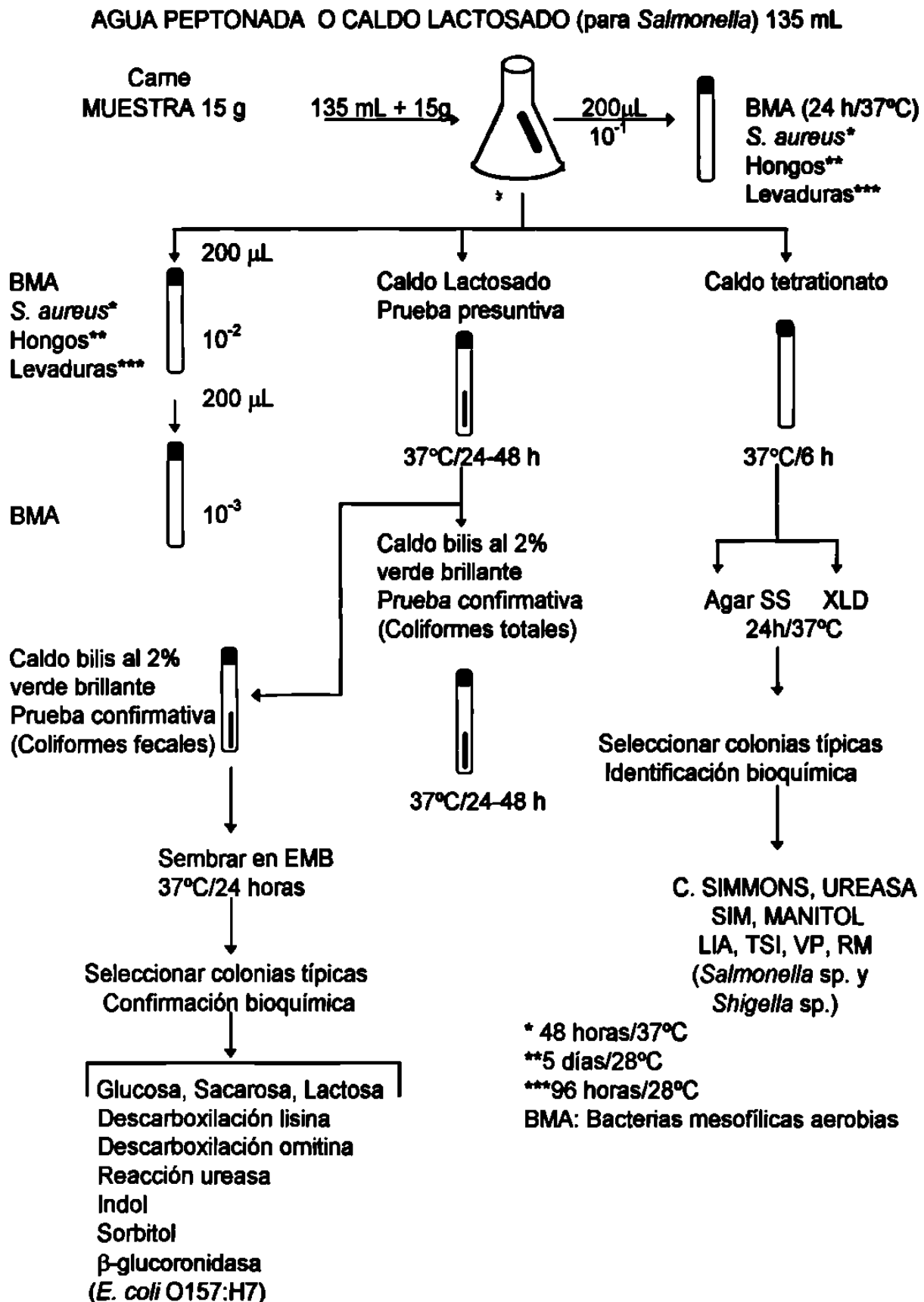


FIGURA 5.2.- ESQUEMA GENERAL DEL PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA PARA LA BÚSQUEDA Y RECuento DE DIFERENTES MICROORGANISMOS

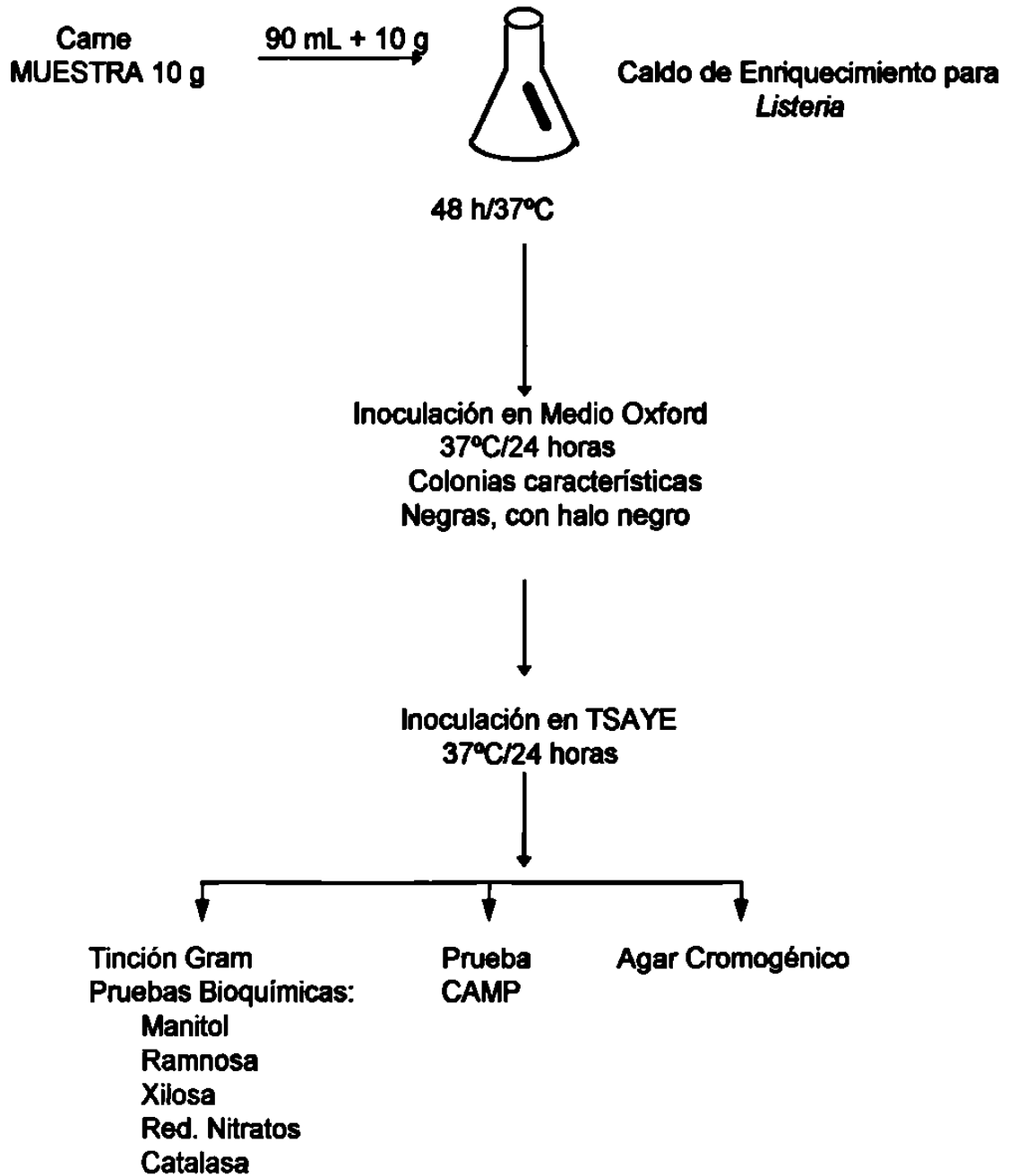


FIGURA 5.3.- MÉTODO UTILIZADO PARA EL AISLAMIENTO DE *L. monocytogenes*

6.- RESULTADOS

6.1.- ORGANISMOS MESOFÍLICOS AEROBIOS

El recuento de las bacterias mesofílicas aerobias tuvo un rango uniforme que fue de 10^4 a 10^6 UFC/g, en cada uno de los cuatro municipios analizados (Tablas 6.1 y 6.2).

El 38% de las muestras obtenidas de carnicerías se encontró en el rango de 10^6 , el 36% en 10^5 y el resto (26%) en 10^4 UFC/g. El valor mínimo fue encontrado en las muestras provenientes de San Nicolás (Tabla 6.1).

Con respecto a las muestras adquiridas en los centros comerciales, el 32% de ellas contenían 10^6 UFC/g; el 57%, 10^5 UFC/g y el resto mostró 10^4 UFC/g. Esto pudiera indicar que estas muestras estuvieron ligeramente menos contaminadas que las muestras compradas en carnicerías (Tabla 6.2).

Sin embargo, el análisis estadístico mostró que no existía diferencia significativa entre los municipios y el sitio de procedencia de la muestra.

6.2.- LEVADURAS Y HONGOS

Al igual que para la determinación de mesofílicos aerobios, se observó que tanto en las muestras adquiridas en carnicerías como en centros comerciales, los valores obtenidos de levaduras mostraron poca variación, a excepción de una de ellas. Su presencia varió de <100 hasta 10^5 UFC/g (Tablas 6.3 y 6.4).

TABLA 6.1.- Recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias correspondientes a las muestras adquiridas en carnicerías de los diferentes municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (UFC/g) | SAN NICOLÁS (UFC/g) | GUADALUPE (UFC/g) | SAN PEDRO (UFC/g) |
|-------------|---|---|---|---|
| 1 | 1.62X10 ⁵ ±(1.55x10 ⁴) | 1.59X10 ⁶ ±(1.27x10 ⁴) | 4.4X10 ⁴ ±(2.08x10 ³) | 1.37X10 ⁵ ±(8.1x10 ³) |
| 2 | 2.15X10 ⁶ ±(2.12x10 ⁴) | 2.75X10 ⁶ ±(3.21x10 ⁵) | 6.0X10 ⁵ ±(3.05x10 ⁴) | 2.61X10 ⁶ ±(6.55x10 ⁵) |
| 3 | 1.41X10 ⁶ ±(3.53x10 ⁴) | 3.47X10 ⁶ ±(3.5x10 ⁴) | 7.9X10 ⁵ ±(9.86x10 ⁴) | 2.3X10 ⁵ ±(0.0) |
| 4 | 1.05X10 ⁴ ±(1.28x10 ³) | 1.02X10 ⁵ ±(2.51x10 ⁴) | 1.76X10 ⁶ ±(8.5x10 ⁴) | 3.03X10 ⁶ ±(1.7x10 ⁵) |
| 5 | 3.7X10 ⁴ ±(8.5x10 ³) | 1.48X10 ⁶ ±(8.72x10 ⁴) | 7.13X10 ⁴ ±(5.03x10 ³) | 1.23X10 ⁶ ±(1.48x10 ⁵) |
| 6 | 4.7X10 ⁵ ±(5.77x10 ⁴) | 1.78X10 ⁶ ±(8.77x10 ⁵) | 4.0X10 ⁶ ±(1.12x10 ⁵) | 1.5X10 ⁶ ±(1.06x10 ⁵) |
| 7 | 1.75X10 ⁵ ±(2.05x10 ⁴) | 3.68X10 ⁵ ±(4.16x10 ⁴) | 5.1X10 ⁴ ±(6.03x10 ³) | 5.74X10 ⁶ ±(6.01x10 ⁵) |
| 8 | 7.5X10 ⁵ ±(1.06x10 ⁵) | 2.85X10 ⁵ ±(3.78x10 ³) | 8.7X10 ⁴ ±(1.57x10 ⁴) | 1.12X10 ⁵ ±(1.44x10 ⁴) |
| 9 | 9.4X10 ⁵ ±(4.9x10 ⁴) | 3.3X10 ⁵ ±(6.4x10 ⁴) | 4.9X10 ⁴ ±(1.73x10 ³) | 2.0X10 ⁵ ±(1.99x10 ⁴) |
| 10 | 1.38X10 ⁴ ±(9.76x10 ²) | 2.78X10 ⁵ ±(8.38x10 ³) | 3.8X10 ⁴ ±(5.6x10 ³) | 3.79X10 ⁵ ±(2.12x10 ³) |
| 11 | 1.84X10 ⁴ ±(2.82x10 ²) | 1.91X10 ⁶ ±(1.07x10 ⁵) | 1.73X10 ⁶ ±(1.76x10 ⁵) | 4.79X10 ⁶ ±(1.3x10 ⁵) |

() Desviación Estándar

TABLA 6.2.- Recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias de las muestras adquiridas en centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (UFC/g) | SAN NICOLÁS (UFC/g) | GUADALUPE (UFC/g) | SAN PEDRO (UFC/g) |
|-------------|--|---|---|---|
| 1 | 4.795X10 ⁶ ±(5.58x10 ⁵) | 1.08X10 ⁵ ±(1.9x10 ⁴) | 5.17X10 ⁵ ±(3.78x10 ⁴) | 2.48X10 ⁵ ±(2.28x10 ⁴) |
| 2 | 6.97X10 ⁶ ±(2.83x10 ⁴) | 2.0X10 ⁵ ±(2.37x10 ⁴) | 7.7X10 ⁵ ±(4.93x10 ⁴) | 2.61X10 ⁶ ±(6.35x10 ⁴) |
| 3 | 3.25X10 ⁵ ±(7.07x10 ³) | 1.97X10 ⁵ ±(3.05x10 ⁴) | 2.82X10 ⁶ ±(5.77x10 ⁴) | 5.39X10 ⁵ ±(4.28x10 ⁴) |
| 4 | 2.9X10 ⁵ ±(1.97x10 ⁴) | 1.22X10 ⁶ ±(6.56x10 ⁴) | 2.54X10 ⁵ ±(4.1x10 ⁴) | 1.09X10 ⁶ ±(3.51x10 ⁴) |
| 5 | 2.58X10 ⁶ ±(2.29x10 ⁴) | 4.0X10 ⁵ ±(2.0x10 ⁴) | 4.5X10 ⁵ ±(2.1x10 ⁴) | 9.78X10 ⁴ ±(2.9x10 ⁴) |
| 6 | 1.14X10 ⁶ ±(5.65x10 ⁴) | 1.36X10 ⁶ ±(6.56x10 ⁴) | 2.38X10 ⁶ ±(1.26x10 ⁵) | 1.83X10 ⁶ ±(1.54x10 ⁵) |
| 7 | 1.77X10 ⁵ ±(1.38x10 ⁴) | 3.0X10 ⁴ ±(0.0) | 4.48X10 ⁶ ±(4.13x10 ⁵) | 2.09X10 ⁵ ±(2.02x10 ⁴) |
| 8 | 1.54X10 ⁴ ±(6.56x10 ³) | 6.72X10 ⁴ ±(9.88x10 ³) | 8.1X10 ⁵ ±(7.81x10 ⁴) | 3.89X10 ⁶ ±(2.0x10 ⁵) |
| 9 | 1.37X10 ⁶ ±(1.81x10 ⁵) | 2.73X10 ⁶ ±(1.07x10 ⁵) | 8.96X10 ⁴ ±(2.08x10 ³) | 5.1X10 ⁵ ±(6.03x10 ⁴) |
| 10 | 1.4X10 ⁵ ±(9.5x10 ³) | 1.86X10 ⁵ ±(1.9x10 ⁴) | 1.56X10 ⁵ ±(1.62x10 ⁴) | 6.5X10 ⁵ ±(7.1x10 ⁴) |
| 11 | 2.61X10 ⁵ ±(1.05x10 ⁴) | 2.29X10 ⁶ ±(1.69x10 ⁴) | 9.37X10 ⁵ ±(5.13x10 ⁴) | 1.48X10 ⁵ ±(1.23x10 ⁴) |

() Desviación Estándar

La mayoría de las muestras (36.4%) provenientes de carnicerías mostraron valores que se encontraban en el rango de 10^2 UFC/g.

Se observó que las muestras más contaminadas con estos microorganismos fueron las que provenían de San Nicolás de los Garza; en tanto, las que presentaron menor contaminación fueron las de Monterrey (Tablas 6.3).

Un comportamiento similar fue observado en las muestras adquiridas en centros comerciales, en donde el 47.7% de ellas presentaron cuentas de levaduras en el log de 10^3 UFC/g (Tabla 6.4).

Sólo se presentaron hongos filamentosos en tres muestras: dos correspondientes a carnicerías provenientes de Monterrey y San Pedro (200 y 100 UFC/g, respectivamente) y la tercera adquirida en un centro comercial localizado en San Nicolás (100 UFC/g).

Los hongos presentes fueron del género *Fusarium* y *Mucor*.

6.3.- COLIFORMES TOTALES

Siguiendo la metodología del NMP, se encontró que el 41% de las muestras adquiridas en carnicerías mostraron cuentas en el log de 10^6 UFC/g (Tabla 6.5). Las carnes provenientes de San Pedro fueron las más contaminadas, mientras que aquellas provenientes de Monterrey presentaron un menor crecimiento (Tabla 7.5), sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencia significativa.

Resultados similares se obtuvieron al analizar las muestras provenientes de centros comerciales, en donde el 84% de ellas contenían coliformes totales en promedio, en el log de 10^4 UFC/g (Tabla 6.6).

TABLA 6.3.- Recuento de Levaduras correspondientes a las muestras adquiridas en carnicerías de cuatro municipios del

Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (UFC/g) | SAN NICOLÁS (UFC/g) | GUADALUPE (UFC/g) | SAN PEDRO (UFC/g) |
|--------------------|---|---|---|---|
| 1 | <100 | 8.0X10 ² ±(0.0) | 5.0X10 ² ±(0.0) | <100 |
| 2 | 3.3X10 ⁵ ±(0.0) | 1.5X10 ⁴ ±(8.38x10 ²) | 1.7X10 ² ±(1.0x10 ²) | 2.0X10 ² ±(5.7x10 ¹) |
| 3 | 1.53X10 ⁴ ±(5.77x10 ²) | 6.2X10 ³ ±(8.23x10 ²) | 3.03X10 ³ ±(1.78x10 ²) | <100 |
| 4 | <100 | 2.2X10 ³ ±(1.5x10 ²) | 2.43X10 ³ ±(3.09x10 ²) | 3.0X10 ² ±(5.7x10 ¹) |
| 5 | 1.73X10 ⁴ ±(2.03x10 ³) | 3.5X10 ⁴ ±(3.6x10 ²) | 3.0X10 ³ ±(1.0x10 ²) | 9.0X10 ² ±(0.0) |
| 6 | <100 | 2.45X10 ³ ±(6.13x10 ²) | 1.63X10 ⁴ ±(6.3x10 ²) | 1.03X10 ³ ±(1.15x10 ²) |
| 7 | 1.73X10 ³ ±(0.0) | 8.33X10 ³ ±(1.23x10 ³) | 2.8X10 ³ ±(6.86x10 ²) | 1.92X10 ⁴ ±(1.41x10 ³) |
| 8 | 2.54X10 ⁴ ±(2.41x10 ³) | 2.06X10 ² ±(1.5x10 ¹) | 2.5X10 ³ ±(5.7x10 ¹) | 1.38X10 ³ ±(1.56x10 ²) |
| 9 | 1.09X10 ⁴ ±(8.8x10 ²) | 3.35X10 ² ±(2.1x10 ¹) | 2.0X10 ² ±(7.0x10 ¹) | 6.7X10 ³ ±(9.69x10 ²) |
| 10 | 5.0X10 ² ±(5.7x10 ¹) | 1.16X10 ⁴ ±(1.13x10 ³) | 6.33X10 ² ±(2.08x10 ²) | 7.7X10 ³ ±(4.16x10 ²) |
| 11 | <100 | 7.73X10 ⁴ ±(6.65x10 ²) | 4.7X10 ³ ±(6.08x10 ²) | 4.9X10 ³ ±(1.73x10 ²) |

() Desviación Estándar

TABLA 6.4.- Recuento de Levaduras de las muestras analizadas obtenidas de centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (UFC/g) | SAN NICOLÁS (UFC/g) | GUADALUPE (UFC/g) | SAN PEDRO (UFC/g) |
|-------------|---|---|---|---|
| 1 | 9.3X10 ³ ±(0.0) | 1.46X10 ⁴ ±(2.05x10 ³) | 6.67X10 ² ±(3.05x10 ²) | 3.97X10 ³ ±(2.51x10 ²) |
| 2 | 1.2X10 ⁴ ±(0.0) | 2.0X10 ² ±(0.0) | 2.95X10 ³ ±(3.1x10 ²) | 7.56X10 ³ ±(4.5x10 ²) |
| 3 | <100 | 6.5X10 ² ±(7.0x10 ¹) | 1.7X10 ³ ±(7.0x10 ²) | 2.5X10 ³ ±(7.07x10 ²) |
| 4 | <100 | 2.8X10 ⁴ ±(2.51x10 ²) | 1.82X10 ³ ±(2.06x10 ²) | <100 |
| 5 | 7.0X10 ² ±(2.82x10 ²) | 9.66X10 ² ±(2.08x10 ²) | 2.67X10 ² ±(5.7x10 ²) | <100 |
| 6 | 1.09X10 ⁴ ±(1.03x10 ³) | 2.3X10 ³ ±(2.88x10 ²) | 2.82X10 ³ ±(1.7x10 ²) | 2.04X10 ⁴ ±(5.77x10 ²) |
| 7 | 3.6X10 ³ ±(1.41x10 ²) | 6.33X10 ² ±(3.51x10 ²) | 8.67X10 ² ±(1.52x10 ²) | 6.64X10 ⁴ ±(9.07x10 ³) |
| 8 | 5.8X10 ³ ±(1.46x10 ³) | 1.67X10 ³ ±(4.04x10 ²) | 6.13X10 ³ ±(7.2x10 ²) | 4.04X10 ⁴ ±(2.51x10 ³) |
| 9 | 1.46X10 ³ ±(2.82x10 ²) | 2.03X10 ⁴ ±(3.32x10 ³) | 8.0X10 ² ±(2.64x10 ²) | 7.63X10 ³ ±(2.11x10 ³) |
| 10 | <100 | 1.9X10 ³ ±(0.0) | 4.56X10 ³ ±(5.13x10 ²) | 5.77X10 ³ ±(4.93x10 ²) |
| 11 | <100 | 7.0X10 ³ ±(1.02x10 ³) | 5.33X10 ² ±(2.33x10 ²) | 1.67X10 ³ ±(2.51x10 ²) |

() Desviación Estándar

TABLA 6.5.- Recuento de Coliformes Totales de las muestras adquiridas en carnicerías provenientes de cada uno de los cuatro municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (NMP/g) | SAN NICOLÁS (NMP/g) | GUADALUPE (NMP/g) | SAN PEDRO (NMP/g) |
|-------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | <30 | 4.6X10 ⁴ | 2.3X10 ³ | 4.3X10 ³ |
| 2 | 1.1X10 ³ | 1.1X10 ⁵ | 4.3X10 ³ | 2.4X10 ⁴ |
| 3 | 1.1X10 ⁶ | 3.9X10 ³ | 1.1X10 ⁵ | 9.0X10 ³ |
| 4 | 150 | 150 | 1.1X10 ⁶ | 7.5X10 ⁴ |
| 5 | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁵ | 2.4X10 ⁴ | 1.1X10 ⁶ |
| 6 | 9.3X10 ⁴ | 2.1X10 ⁴ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ |
| 7 | 9.3X10 ⁴ | 1.1X10 ⁶ | 2.1X10 ⁵ | 1.1X10 ⁶ |
| 8 | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | 2.4X10 ⁵ | 1.1X10 ⁶ |
| 9 | 1.1X10 ⁷ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | <30 |
| 10 | 1.5X10 ⁵ | 1.1X10 ⁶ | 4.3X10 ⁴ | 1.1X10 ⁶ |
| 11 | 4.6X10 ⁵ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ |

TABLA 6.6.- Recuento de Coliformes Totales de las muestras adquiridas de centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (NMP/g) | SAN NICOLÁS (NMP/g) | GUADALUPE (NMP/g) | SAN PEDRO (NMP/g) |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 1 | 1.1X10 ³ | 4.6X10 ⁵ | 9.3X10 ³ | 1.1X10 ⁸ |
| 2 | 1.1X10 ³ | 2.4X10 ⁴ | 2.4X10 ⁴ | 2.4X10 ⁵ |
| 3 | 1.1X10 ³ | 6.4X10 ³ | 1.1X10 ⁵ | 1.1X10 ⁸ |
| 4 | 1.1X10 ³ | 1.5X10 ⁴ | 1.1X10 ⁵ | 1.5X10 ⁴ |
| 5 | 1.1X10 ⁵ | 1.1X10 ⁵ | 4.3X10 ³ | 1.1X10 ⁸ |
| 6 | 1.1X10 ⁸ | 1.1X10 ⁵ | 1.1X10 ⁸ | 1.1X10 ⁸ |
| 7 | 2.1X10 ⁵ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁸ |
| 8 | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁷ | 1.1X10 ⁶ |
| 9 | 1.1X10 ⁷ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁴ | 4.6X10 ⁵ |
| 10 | 1.1X10 ⁶ | 4.3X10 ⁴ | 1.1X10 ⁸ | 4.6X10 ⁵ |
| 11 | 1.5X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁷ | 4.6X10 ⁵ |

Las muestras de carnicerías resultaron estar menos contaminadas con coliformes fecales que las muestras adquiridas en los centros comerciales, pero al igual que en las determinaciones anteriores, las diferencias fueron mínimas y no resultaron estadísticamente significativas.

6.4.- COLIFORMES FECALES

Debido a que en promedio los recuentos de los coliformes totales fueron relativamente altos en la mayoría de las muestras, se esperaba que en la totalidad de las mismas se encontraron coliformes fecales, sin embargo, los resultados variaron mucho, algunas dieron cuentas muy altas (10^6 NMP/g), mientras que en otras por el contrario, no se detectó su presencia (Tabla 6.7 y 6.8).

Las carnes menos contaminadas correspondieron a aquellas provenientes de San Pedro y las de mayor crecimiento fueron las adquiridas en Guadalupe.

6.5.- *Salmonella* sp.

La incidencia de este microorganismo patógeno fue más alta de la esperada, ya que fueron varias las muestras que lo presentaron (Figura 6.1).

De las muestras provenientes de carnicerías, se encontraron 3 positivas de San Nicolás, mientras que en las muestras de Guadalupe no fue detectada en ninguna.

TABLA 6.7.- Recuento de Coliformes Fecales de las muestras adquiridas en carnicerías de cuatro municipios del Área

Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (NMP/g) | SAN NICOLÁS (NMP/g) | GUADALUPE (NMP/g) | SAN PEDRO (NMP/g) |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 1 | <30 | 1.5×10^4 | 2.3×10^3 | 9.0×10^2 |
| 2 | 1.1×10^3 | 9.3×10^3 | 2.3×10^3 | 4.3×10^3 |
| 3 | 2.4×10^5 | 3.9×10^3 | 9.0×10^2 | <30 |
| 4 | 90 | 150 | 1.1×10^6 | 7.5×10^4 |
| 5 | 1.1×10^3 | 1.1×10^5 | 2.4×10^4 | 2.3×10^4 |
| 6 | 9.3×10^4 | 1.2×10^4 | 1.1×10^6 | 2.3×10^4 |
| 7 | 2.3×10^4 | 1.1×10^6 | 2.1×10^5 | 7.0×10^4 |
| 8 | <30 | 4.3×10^4 | 9.0×10^3 | <30 |
| 9 | 2.4×10^6 | 4.3×10^4 | 1.1×10^6 | 9.3×10^3 |
| 10 | 1.5×10^5 | 9.0×10^3 | 4.3×10^4 | 1.5×10^5 |
| 11 | 6.4×10^4 | 1.1×10^6 | 2.3×10^4 | <30 |

TABLA 6.8.- Recuento de Coliformes Fecales de las muestras adquiridas en centros comerciales de cuatro municipios del Área Metropolitana

| No. MUESTRA | MONTERREY (NMP/g) | SAN NICOLÁS (NMP/g) | GUADALUPE (NMP/g) | SAN PEDRO (NMP/g) |
|-------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 4.6X10 ² | 1.5X10 ⁵ | 9.0X10 ² | 9.3X10 ⁴ |
| 2 | 1.1X10 ³ | <30 | 4.3X10 ³ | 2.1X10 ⁴ |
| 3 | 1.1X10 ³ | 4.0X10 ² | 2.1X10 ⁴ | 2.4X10 ⁴ |
| 4 | 1.1X10 ³ | 9.3X10 ³ | 1.5X10 ³ | 4.0X10 ² |
| 5 | 1.1X10 ⁵ | 2.3X10 ³ | 9.0X10 ² | 2.3X10 ⁴ |
| 6 | 4.6X10 ⁵ | 4.3X10 ³ | 9.3X10 ⁴ | 4.6X10 ⁵ |
| 7 | 2.3X10 ⁴ | 9.3X10 ⁴ | 1.1X10 ⁶ | 1.1X10 ⁶ |
| 8 | 9.3X10 ⁵ | 2.1X10 ⁵ | 4.0X10 ⁴ | 1.5X10 ⁴ |
| 9 | 1.5X10 ⁶ | 2.1X10 ⁵ | <30 | <30 |
| 10 | 9.0X10 ³ | 2.1X10 ⁴ | 2.4X10 ⁵ | 4.6X10 ⁵ |
| 11 | <30 | 4.6X10 ⁵ | <30 | <30 |

Cuando analizamos las muestras provenientes de centros comerciales, de las 44 muestras analizadas, sólo 4 contenían al microorganismo, 2 de San Nicolás y 2 de Monterrey.

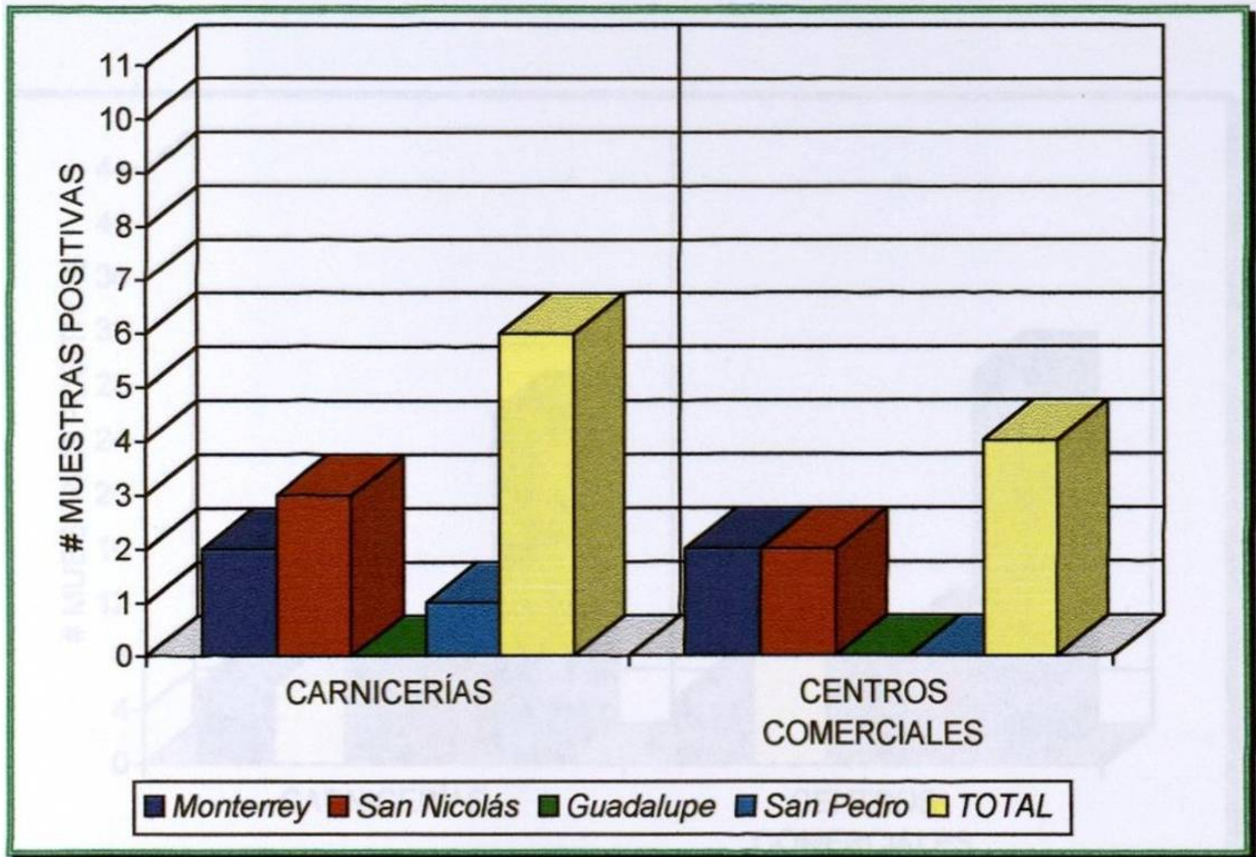


FIGURA 6.1.- Presencia de *Salmonella* sp. en carne molida de res adquirida en cuatro municipios del Área Metropolitana

6.6.- *Listeria* sp.

Ocho de las muestras adquiridas en Carnicerías de Guadalupe, se encontraron contaminadas con *Listeria* sp. y en el resto de los municipios sólo se aislaron de 6 muestras.

Se presentó un ligero aumento en el número de muestras provenientes de centros comerciales que presentaron *Listeria* sp., siendo los municipios de Guadalupe y San Pedro los que mayor número de muestras positivas tuvieron (Figura 6.2).

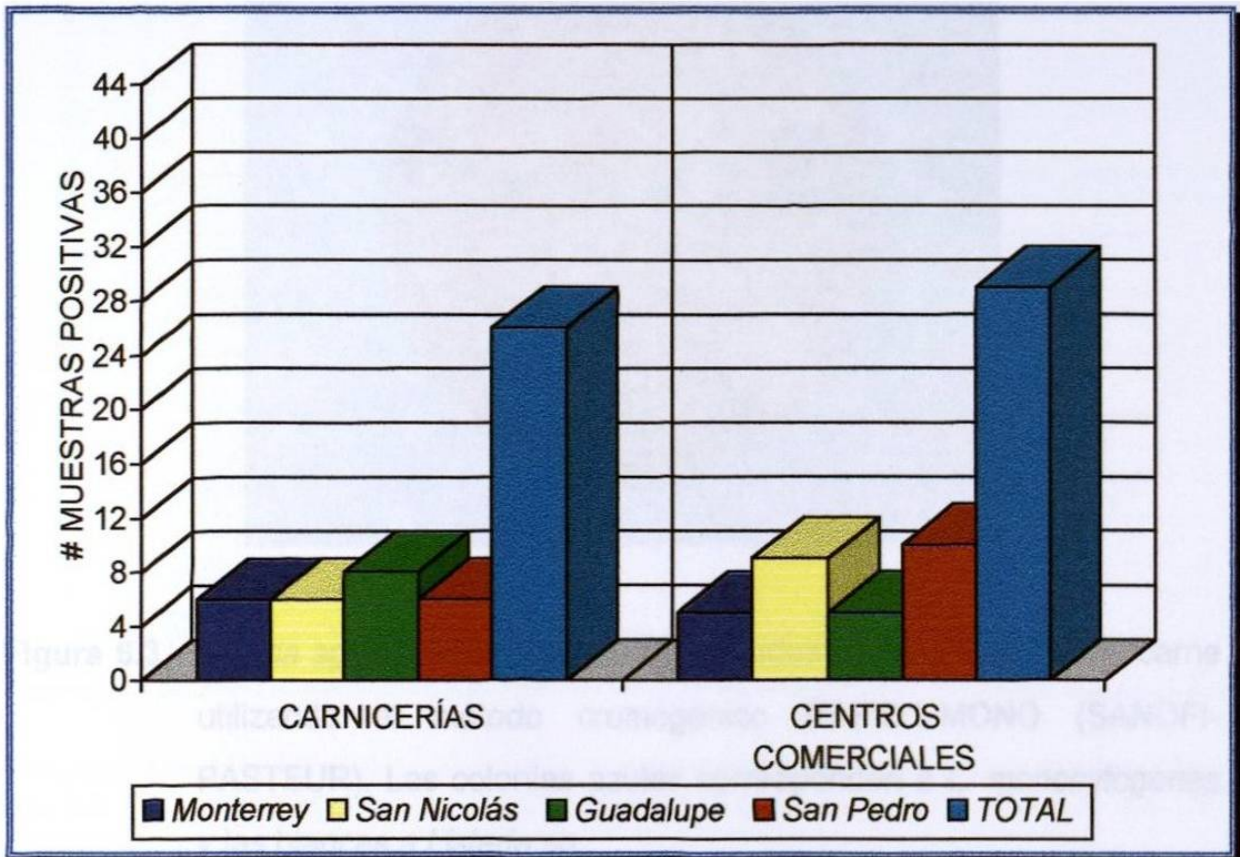


FIGURA 6.2.- Presencia de *Listeria* sp. en carne molida de res proveniente de cuatro municipios del Área Metropolitana

6.7.- *L. monocytogenes*

El total de cepas aisladas de *Listeria* sp. y *L. monocytogenes*, se sembraron en el agar cromogénico RAPID'L.MONO (SANOFI-PASTEUR) en

donde, aquellas colonias azules correspondieron a la especie de *L. monocytogenes*, mientras que las colonias blancas y/o amarillas fueron *Listeria* sp. (Figura 6.3).

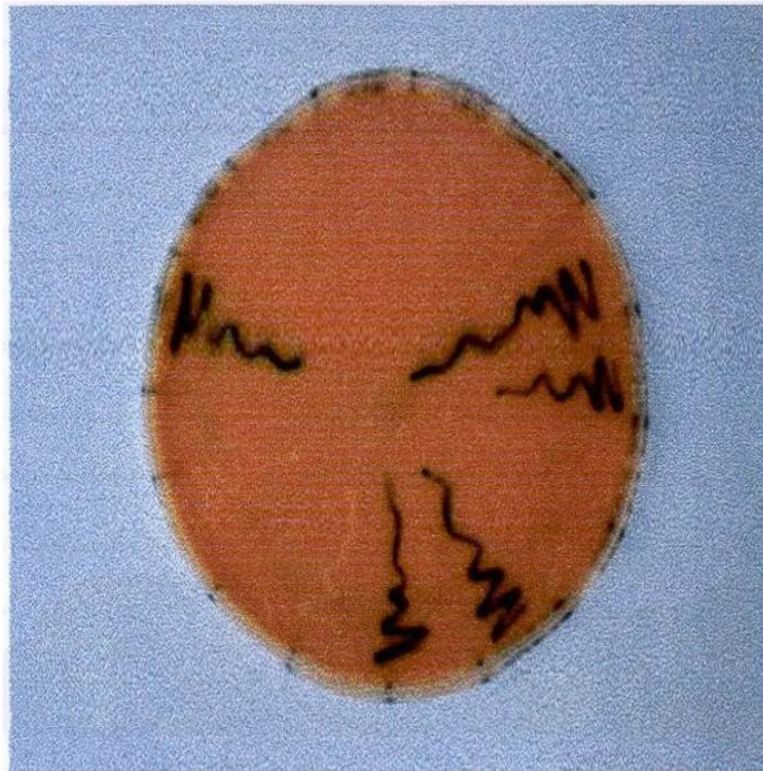


Figura 6.3.- *Listeria* sp. y *L. monocytogenes*, aisladas de las muestras de carne utilizando el método cromogénico RAPID'L.MONO (SANOFI-PASTEUR). Las colonias azules corresponden a *L. monocytogenes* y las blancas a *Listeria* sp.

En base a esto y a la prueba de CAMP se logró aislar esta especie en las muestras de carnicerías de los cuatro municipios (Figura 6.4), lo cual indica una prevalencia relativamente alta, sin embargo en las carnes procedentes de Monterrey sólo una de ellas fue positiva.

Por el contrario, en el caso de las muestras de los centros comerciales, en tres de los cuatro municipios se presentó el microorganismo (Figura 6.4).

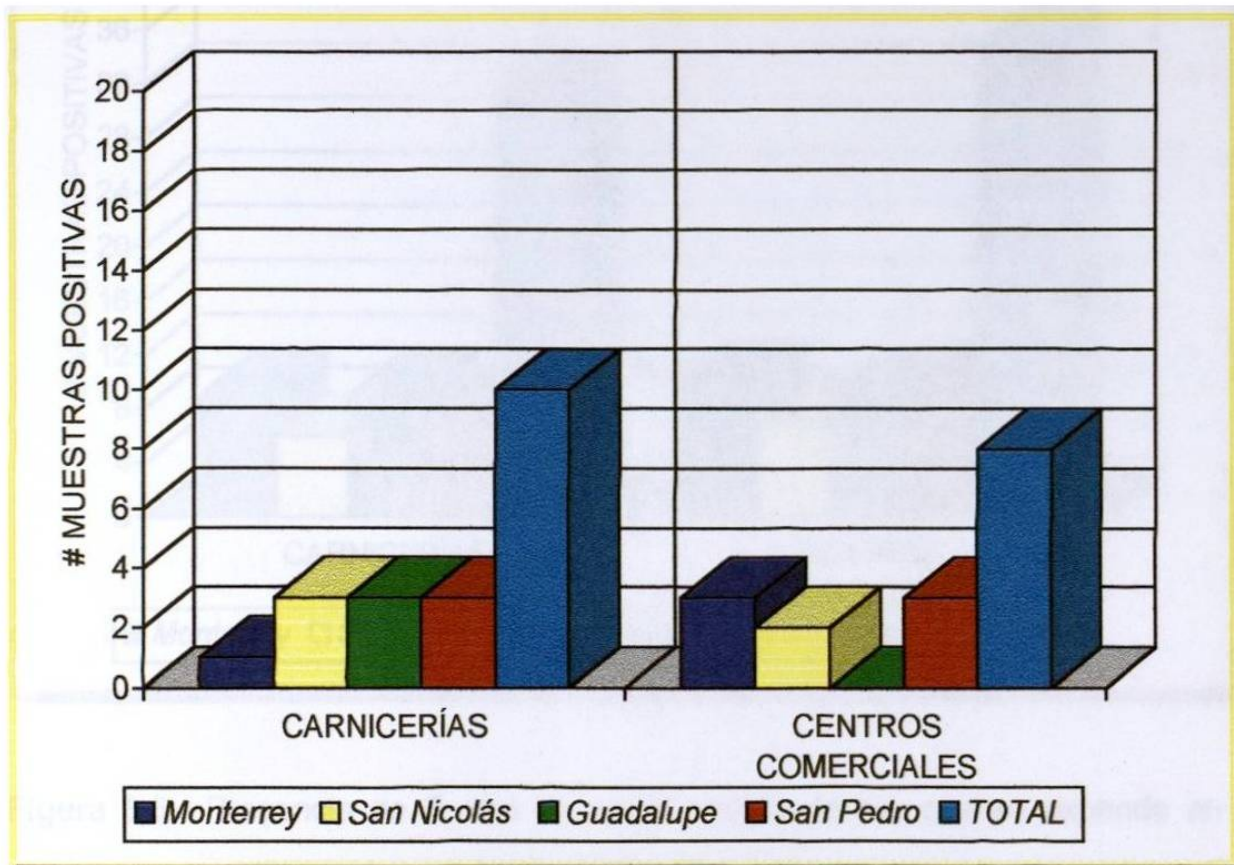


Figura 6.4.- Presencia de *L. monocytogenes* en carne molida de res que se expende en cuatro municipios del Área Metropolitana

6.8.- *E. coli*

Esta bacteria fue la que se detectó en un mayor número de muestras analizadas (Figura 6.5). El municipio que la presentó en menor proporción fue San Nicolás y el de mayor fue Monterrey, aunque estadísticamente no hubo diferencia significativa.

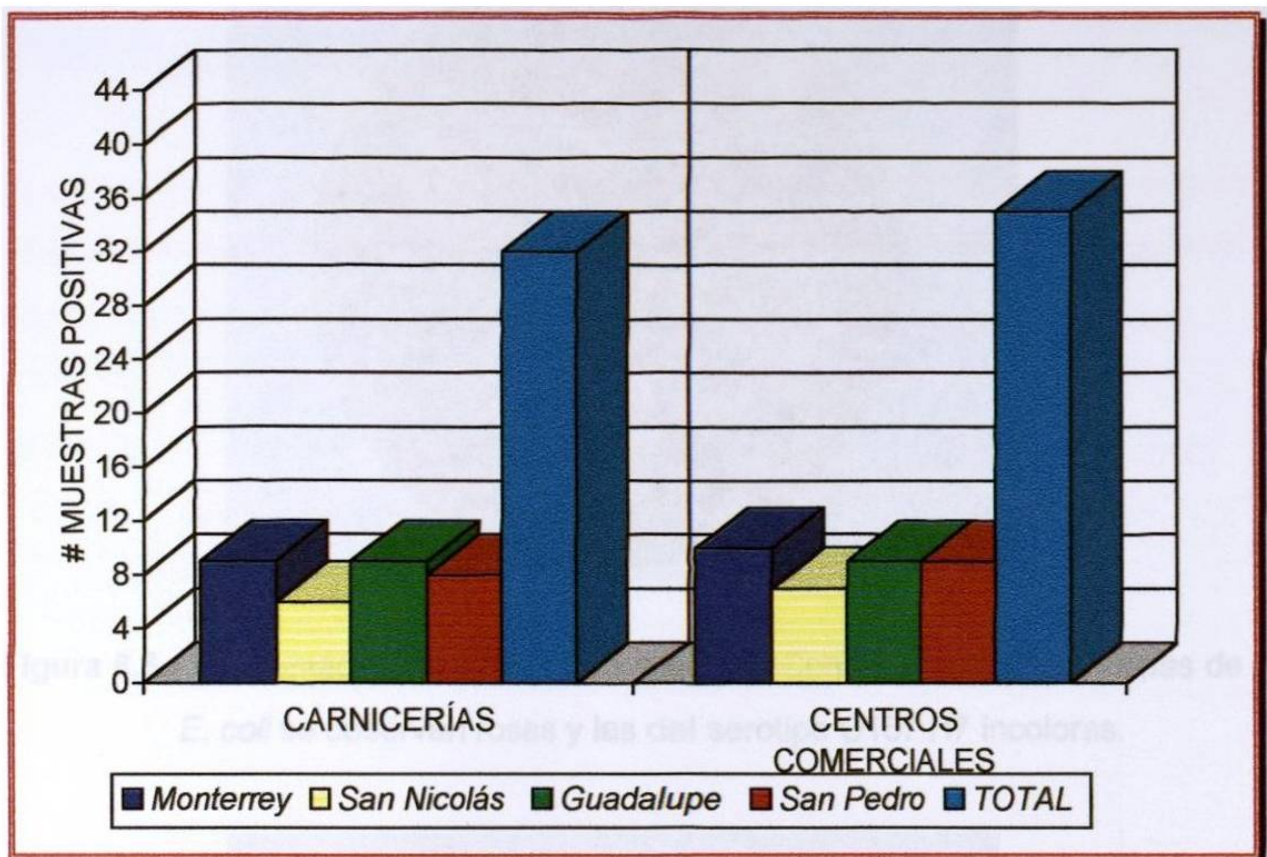


Figura 6.5.- Presencia de *E. coli* en carne molida de res que se expende en cuatro municipios del Área Metropolitana

6.9.- *E. coli* O157:H7

De las 77 muestras positivas para *E. coli*, se les realizó el ensayo de la β -galactosidasa (MUG). Esto se hizo usando el medio cromogénico RAPID-Ecoli de la Compañía Sanofi-Pasteur. Los análisis revelaron que de las cepas analizadas, sólo dos eran MUG y Sorbitol negativo, por lo que eran sospechosas del serotipo enterohemorrágico (Figura 6.6 y 6.7).

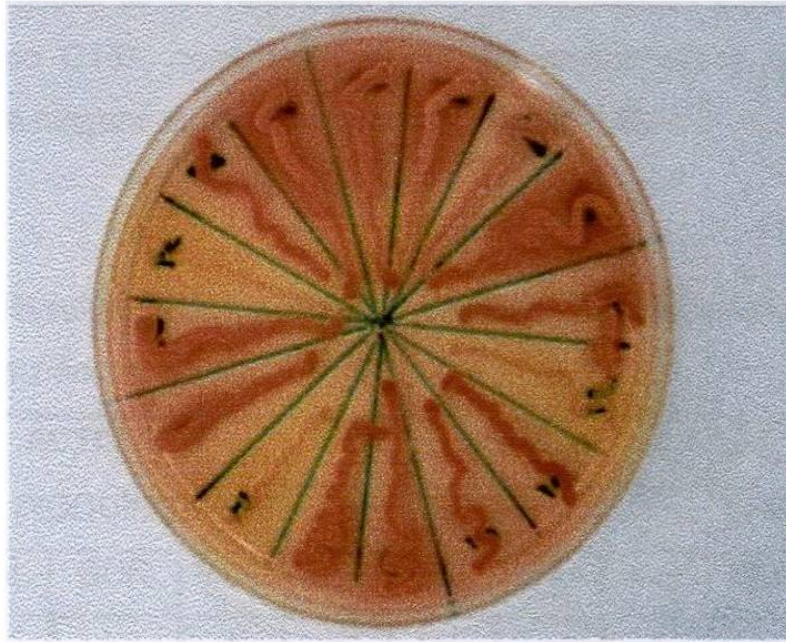


Figura 6.6.- Fermentación de Sorbitol en agar MacConkey-Sorbitol. Las cepas de *E. coli* se observan rosas y las del serotipo O157:H7 incoloras.

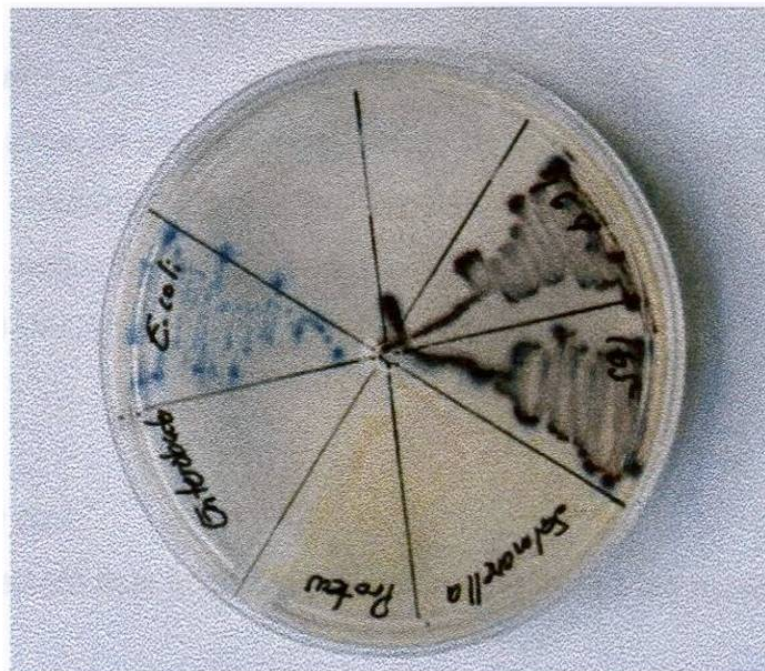


Figura 6.7.- *E. coli* aislado de las muestras de carne utilizando el medio RAPID-Ecoli (SANOFI-PASTEUR). Las cepas de *E. coli* se observan azules y las del serotipo O157:H7 incoloras, ya que presentan la prueba de MUG (-).

A estas cepas se les realizaron ensayos serológicos y moleculares, tanto para el serotipo O157, como para el H7. En ambos casos, no se encontró positividad para ninguno de los dos serotipos (Tabla 6.9).

TABLA 6.9.- Resultados de los Análisis Serológicos, Bioquímicos y Moleculares de cepas de *Escherichia coli*

| TIPO DE ENSAYO | ACTIVIDAD BIOQUÍMICA | | | ENSAYOS MOLECULARES | | | | | ENSAYOS INMUNOL. | |
|----------------|----------------------|-----|-----|-------------------------|-------------------------|-------------|------------|------------|------------------|----|
| | | | | PCR para: | | | | EHEC | | |
| CEPA | GAL | SOR | MUG | <i>Stx</i> ₁ | <i>Stx</i> ₂ | <i>uidA</i> | <i>eae</i> | <i>plA</i> | O157 | H7 |
| 1 | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - |

6.10.- *S. aureus*

La búsqueda de este microorganismo se realizó según marca la normativa mexicana, sin embargo sólo en San Nicolás de los Garza se detectó en dos muestras, una adquirida en un centro comercial (500 UFC/g) y la otra en una camicería (100 UFC/g).

6.11.- *Shigella* sp.

No se detectó este microorganismo en ninguna de las muestras analizadas.

6.12.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar si el lugar de procedencia y el tipo de establecimiento afectaban al número y tipo de

microorganismos presentes en las muestras de carne analizada. Se determinó que no existía ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las variables analizadas: bacterias mesofílicas aerobias, coliformes totales, coliformes fecales, levaduras, hongos, *S. aureus*, *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, *E. coli* y *Salmonella* sp.

7. DISCUSIÓN

El recuento de bacterias mesofílicas aerobias resultó ser muy elevado, no observándose marcadas diferencias entre las muestras de los centros comerciales y las de las carnicerías. Sin embargo, el número máximo permitido de estos microorganismos según la normativa oficial mexicana es de 5×10^6 UFC/g (NOM-034-SSA1-1993), siendo sólo dos las muestras que sobrepasaron este valor. Aún así, algunos autores, entre ellos Fernández Escartín (1981), han indicado que aún con cuentas bajas de mesofílicos aerobios, puede existir la posibilidad de encontrar bacterias patógenas. Además, debe considerarse que existe otro gran riesgo, ya que hay una gama de bacterias (denominadas psicrótrofas), capaces de desarrollarse a temperaturas cercanas a los 5°C (Berry, E. D., and Foegeding, P. M., 1997).

En alimentos tales como la carne molida, el número inicial de microorganismos puede incrementarse durante su proceso como consecuencia de la naturaleza del alimento ya que este tiende a contaminarse durante su elaboración por microorganismos que en forma natural se encuentran en piel y pelos (Jackson T. C., *et al*, 1997), así como en los cuchillos y sierras empleados para cortar y moler carne, la manipulación suplementaria que esto implica y a la expulsión de jugos cármicos que favorecen la proliferación de las bacterias (Banwart, G. J., 1981; ICMSF, 1982).

Se ha reportado que las levaduras pueden estar presentes en una gran variedad de alimentos, entre ellos las carnes y sólo cuando el alimento contenga cifras elevadas, el consumidor se dará cuenta de la alteración. Afortunadamente, los valores encontrados fueron relativamente bajos. Sin embargo, el inconveniente de su presencia en la carne, se debe al hecho de que pueden presentarse condiciones que favorezcan el desarrollo de números tales que provoquen el deterioro del alimento, ocasionando pérdidas económicas. Por otro lado, las normativas mexicanas no contemplan a estos microorganismos dentro de su legislación, por lo que no existe un control en relación a su presencia y número en los alimentos de este tipo.

El grupo de coliformes totales agrupa una gama variada de microorganismos, los cuales pueden ser fecales y no-fecales. Para considerar a estos microorganismos como un grupo indicador de calidad sanitaria, es necesario definir la máxima cantidad permisible en el alimento y si su presencia implica riesgos para el consumidor. Desafortunadamente, la Secretaría de Salud, organismo encargado de la regulación en el rubro de calidad sanitaria y presencia de microorganismos en alimentos (NOM-034-SSA1-1993), no considera a este grupo de bacterias, por lo cual no existe un parámetro de comparación. Sobre todo considerando que los valores obtenidos fueron altos, lo cual implica que pudo existir una contaminación post-elaboración y/o una manipulación inadecuada. Esto puede incrementar las probabilidades de encontrar

microorganismos patógenos tales como *Salmonella* sp., *Shigella* sp. e incluso *Escherichia coli*. Todos pertenecientes a este grupo de microorganismos.

Por supuesto, no debe olvidarse que al ser un alimento sin tratamiento alguno, es lógico la alta cantidad de bacterias presentes, independientemente del grupo indicador del cual se trate.

Algo muy similar sucedió con los recuentos de coliformes fecales, cuyos valores fueron también muy elevados, pero al igual que en los casos anteriores, no se tiene contemplado un máximo permitido para este producto. No existen reportes actuales que indiquen la incidencia o grado de presencia de este tipo de bacterias en alimentos como la carne molida. Sin embargo, debe considerarse que los coliformes fecales están más relacionados con la contaminación fecal que el conjunto total de coliformes. Puesto que estos microorganismos pueden desarrollarse en superficies de tratamiento insuficientemente desinfectadas en las plantas de procesado, su presencia puede reflejar la calidad sanitaria (Banwart, G. J., 1982).

Se encontró la presencia de *Salmonella* sp. en 10 muestras analizadas, lo cual implica que 11.4% del total quedan fuera de las normativas oficiales establecidas por la Secretaria de Salud para este tipo de alimento (NOM-034-SSA1-1993). Dado que esta bacteria tiene la capacidad de crecer en un amplio rango de temperatura y pH (Al-Sheddy *et al*, 1995), puede llegar a convertirse en

un riesgo potencial para el consumidor. Si bien, generalmente son necesarias de 10^5 a 10^6 células/g para producir infección, en brotes de salmonelosis provocados por algunos alimentos se determinó que estos contenían al menos 50 células por gramo (Greenwood, M. H., and Hooper, M. H., 1983). Lo anterior indica el gran riesgo que puede presentar un alimento que contenga alguna especie de *Salmonella*, si el tratamiento que se le dará posteriormente no es el adecuado.

En aquellas muestras en las cuales no fue posible detectar al microorganismo (*Salmonella* sp.), no necesariamente indica que este no estuviera presente, ya que el método utilizado no es tan sensible como otros existentes, tales como los denominados métodos rápidos (D'Aust, J. Y., 1981; Ibrahim, G. F., et al, 1985; De Smedt et al 1986; Konuma, H., 1989; Knight, T. et al, 1990; Wilson S. G. et al, 1990; Tsen H. et al, 1991; Gouws et al, 1998). Se ha reportado que estos además de ser más sensibles ahorran tiempo en la detección de ciertos microorganismos como *Salmonella*. Desafortunadamente, la Secretaría de Salud sólo acepta resultados obtenidos por el método tradicional, el cual involucra varios días para poder dar un dictamen.

En el caso de *Shigella* sp., esta no fue detectada en ninguna de las muestras analizadas. Sin embargo debemos considerar que *Shigella* sp., tiende a ser un microorganismo difícil de demostrarse en los alimentos debido a que los métodos existentes para su detección son poco sensibles (FDA/CFSAN, 1998). Además existe una serie de factores que afectan su recuperación de un alimento,

tales como la composición del alimento, el contenido en grasa; parámetros fisicoquímicos como serían el pH y contenido de sal; la flora acompañante encontrada en el alimento, que puede enmascarar la presencia de *Shigella* en el medio de cultivo y por último, el estado fisiológico de la bacteria en el alimento (Maurelli, A. T., and Lampel K. A., 1997).

Las especies de *Listeria* suelen encontrarse ampliamente distribuidas en el ambiente, por lo que no es de extrañar la cantidad tan elevada de muestras en donde se detectaron (62%). Se ha reportado que las especies de *Listeria* a excepción de *L. monocytogenes* y *L. innocua* son patógenas para el hombre. En un estudio hecho en los Emiratos Árabes Unidos (Virendra S., et al 1995), se encontró que la incidencia de *Listeria* sp. en carne cruda era del 6.7%, mucho más bajo que en nuestro estudio. Sin embargo, debe considerarse que en este caso, se trató de cortes de carne, mientras que aquí se analizó carne molida. Este tipo de carne presenta una mayor superficie de contacto y mayor sinéresis, lo que puede favorecer la presencia de bacterias, principalmente si la manipulación durante el procesado, envasado y distribución es deficiente.

Al estar ampliamente distribuida en el ambiente, *L. monocytogenes* es fácil encontrarla en una amplia variedad de alimentos, entre ellos la carne (Shelef, L. A., 1989). En nuestro caso, la incidencia de esta bacteria fue un poco menor que la presentada por *Listeria* sp., pues sólo en el 20.5% del total se encontró. Esto concuerda con estudios realizados en Taiwan (Wong, H. et al, 1990), en el cual

encontraron una incidencia del 24% en carne cruda. No existen reportes que hagan referencia en carne molida de res, sin embargo esto muestra la alta incidencia de este microorganismo en alimentos perecederos.

E. coli fue aislada a partir del 76% de los tubos positivos obtenidos de la técnica del NMP para coliformes fecales. Esto indicó que no todas las muestras positivas para coliformes fecales presentaban a esta bacteria. De hecho, este no es el único microorganismo que tiende a fermentar a 44.5°C, también suelen hacerlo algunas especies de *Enterobacter* y *Klebsiella*. Las muestras adquiridas en carnicerías tuvieron una incidencia ligeramente mayor que aquellas adquiridas en los centros comerciales, pero no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

El 97% de las cepas de *E. coli* tienden a hidrolizar el MUG, si bien es cierto que otras especies de la familia *Enterobacteriaceae* también lo hacen (Feng P. C. S., and Hartman, P. A., 1982), así como la fermentación de sorbitol. Por el contrario, *E. coli* O157:H7 no produce β -glucoronidasa y no fermenta el sorbitol (Doyle M. P., *et al*, 1997; Vernozy-Rozand, C., 1997). En base a esto, se probaron todas las cepas que resultaron ser *E. coli*, siendo sólo dos de ellas las que cumplieron con estas características. Con pruebas más específicas se concluyó que no correspondían al serotipo buscado, puesto que no presentaban el gen que codifica para la producción de toxinas.

Si bien es cierto que sólo se realizaron pruebas específicas para determinar la existencia de *E. coli* enterohemorrágica, en especial al serotipo

O157:H7, dando negativa su presencia, no debe olvidarse que existen otros serotipos y grupos igualmente peligrosos, aunque con una incidencia menor, por lo que el hecho de que solo exista *E. coli* no se puede descartar la posibilidad de encontrar otra serovariedad patogénica. Además, la forma de obtención de la carne molida involucra varios pasos para su obtención y puede facilitar en un momento dado la contaminación con esta bacteria, esto puede indicar las condiciones deficientes con las cuales se está trabajando, pues este microorganismo es considerado el principal indicador de contaminación fecal.

S. aureus es un microorganismo comúnmente encontrado en la piel y el aparato respiratorio de humanos, por lo que puede ser fácilmente transferido a los alimentos por una manipulación inadecuada de los mismos. Sin embargo, sólo un bajo porcentaje de las muestras resultaron positivas, con cuentas muy bajas, inferiores a las máximas permitidas para este tipo de alimento (1,000 UFC/g; NOM-034-SSA1-1993). Esto puede indicar que no existe un riesgo directo para el consumidor, siempre y cuando el alimento sea almacenado a temperaturas adecuadas y el tratamiento térmico dado sea suficiente para la destrucción de los microorganismos, de modo que no se permita el incremento de los mismos hasta cantidades tales que puedan ser patógenos, ya que algunas de las toxinas producidas por este microorganismo soportan temperaturas iguales o superiores a aquellas utilizadas para la pasteurización (Tatini, S. R., 1976; Everson, M. L. *et al*, 1989).

Los hongos son microorganismos que no suelen desarrollarse en alimentos con actividad de agua superiores a 0.9 (Badui, D. S., 1990). En nuestro caso sólo en tres muestras hubo presencia de los mismos.

De las especies de hongos filamentosos presentes en las carnes analizadas, solamente *Fusarium moniliforme* llega a producir una serie de toxinas denominadas fumonisinas (Bonifaz, A., 1991) y si bien es cierto que suele encontrarse en suelo, materiales de descomposición y algunos alimentos, generalmente este microorganismo ataca a los cultivos de cereales y algunos frutos (Banwart, G. J., 1982; Sala, N., *et al*, 1994; Jiménez, M., *et al*, 1997; Siame B. A., *et al*, 1998), por lo que su presencia en alimentos como la carne no representaría mayor riesgo, pues este solo se detectó en dos muestras y en bajos números.

En lo que respecta a *Mucor* sp., este género también se encuentra ampliamente distribuido en suelo, estiércol, frutos, hortalizas, granos almacenados y otros alimentos (Banwart, G. J., 1982), por lo que pudiera ser fácilmente transferido al alimento en el rastro, instrumentos utilizados para la matanza o el vehículo en el cual se transporta la carne si no esta en condiciones higiénicas aceptables. Sin embargo, su efecto será más corruptor que patógeno.

A pesar de no estar estipulado en la Normativa dada por la Secretaria de Salud la presencia de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos, como *E. coli* y *L. monocytogenes*, así como cuentas máximas permitidas de

coliformes totales y fecales; consideramos que la calidad sanitaria de la carne fue deficiente pudiendo llegar a convertirse en un problema serio de salud, sobre todo si no se llevan a cabo condiciones de almacenamiento y tratamiento térmico adecuados que garanticen la destrucción y/o inhibición de la flora microbiana existente.

En base a los resultados obtenidos con el presente trabajo, se considera que la hipótesis planteada al inicio del trabajo se cumplió en forma parcial dado que se encontraron valores altos de bacterias mesofílicas aerobias, coliformes totales y coliformes fecales; mientras que bajos recuentos en el caso de las levaduras; así como el hecho de que algunas muestras están contaminadas con especies de hongos filamentosos, *S. aureus*, *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp. y *E. coli*. Sin embargo, no se encontró *Shigella* sp. ni *E. coli* O157:H7.

8. CONCLUSIONES

- 1. A excepción de dos, todas las muestras de carne cayeron dentro de las especificaciones establecidas por la Secretaria de Salud para el recuento de microorganismos mesofilicos aerobios.**
- 2. *Salmonella* sp., *Listeria* sp. y *L. monocytogenes* fueron aisladas en el 11.4, 64 y 20.5%, respectivamente.**
- 3. *Escherichia coli* se encontró en el 76% de muestras.**
- 4. No hubo presencia de *Shigella* sp. ni *E. coli* O157:H7 en ninguna de las muestras analizadas.**
- 5. Las levaduras estuvieron presentes en valores muy bajos, aún así pueden llegar a provocar una reducción en la vida de anaquel.**
- 6. *S. aureus* y algunas especies de hongos sólo estuvieron presentes en el 3.4%.**
- 7. La procedencia de la carne y el tipo de establecimiento no afectaron significativamente ($p \geq 0.05$) los recuentos de microorganismos ni la incidencia de bacterias patógenas.**

9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Sheddy, I. A., D. Y. C. Fung, and C. L. Kastner. 1995. Microbiology of Fresh and Restructured Lamb Meat: A Review. *Critical Rev. Microbiol.* **21**: 31-52.
- Anonymous, 1995. *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Kinked to Commercially Distributed Dry-Cured Salami. *Morbidity and Mortality Weekly Rep.* **44**:157-160.
- Badui, D. S. 1991. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra. México. Pág. 10-12.
- Bailey, J. S., D. L. Fletcher, and N. A. Cox. 1989. Recovery and Serotype Distribution of *Listeria monocytogenes* from Boiler Chickens in the Southeastern United States. *J. Food Prot.* **52**:148-150.
- Barwart, G. J. 1982. Microbiología Básica de los Alimentos, Ed. Anthropos, España. Págs. 6, 11, 13-17, 19-21, 84-86, 258.
- Bean, N. H., and M. P. Griffin. 1990. Foodborne Disease Outbreaks in the United States, 1973-1987.: Pathogens, Vehicles and Trends. *J. Food Prot.* **53**:804-817.
- Beast, M., M E. Kennedy and F. Coates. 1990. Efficacy of Variety of Desinfectans Against *Listeria* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**:377-380.

- Bedinhaus, A. J., and H. W. Ockerman. 1991. Temperature, pH and Bacteria Populations of Meats as Influenced by Home Freezer Failure. *J. Food Sci.* **56**:1508-1510.
- Bennet, R. W. 1992. The Biological Temperament of Staphylococcal Enterotoxin in Thermally Processed Foods. *J. AOAC Internat.* **75**:6-12.
- Bennet, R. W. 1993. *Staphylococcus aureus* and Enterotoxins. International Symposium on Current Concerns in Microbial Food Safety. Nov. 19-20. Monterrey, N. L. Mexico.
- Berry E. D., and P. M. Foegeding. 1997. Cold Adaptation and Growth of Microorganisms. A Review. *J. Food Prot.* **60**:1583-1594.
- Bonifaz A. 1991. *Micología Médica*. Ed. Cervantes. México, pp. 5-6.
- Boyle D. L., J. N. Sofos, and G. R. Schmidt. 1990. Thermal Destruction of *Listeria monocytogenes* in a Meat Slurry and in Ground Beef. *J. Food Sci.* **55**:327-329.
- Brackett, R. E., Y. Y. Hao, and M. P. Doyle. 1994. Ineffectiveness of Hot Acid Sprays to Decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on Beef. *J. Food Prot.* **57**:198-203.
- Bryan, F. L. 1980. Foodborne Disease in the United States Associated with Meat and Poultry. *J. Food Prot.* **43**:140-150.
- Bryan, F. L., and M. P. Doyle. 1995. Health Risk and Consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in Raw Poultry. *J. Food Prot.* **58**:326-344.

- Buchanan, R. L., and M. P. Doyle. 1997. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 ND Other Enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technol.* **51**:69-76.
- Buchanan, R. L. 1998a. Principles of Risk Assessment for Illness Caused by Foodborne Biological Agents. *J. Food Prot.* **61**:1071-1074.
- Buchanan, R. L. 1998b. Potencial Aplicacion of Risk Assessment Techniques to Microbiological Issues Related to International Trade in Food and Food Products. ICMSF. *J. Food Prot.* **61**:1075-1086.
- D'Aust, J. Y. 1981. Update on Pre-enrichment and Selective Enrichment Conditions for Detection of *Salmonella* in Foods. *J. Food Prot.* **44**:369-393.
- De Smedt, J. M., R. F. Bolderdijk, H. Rappold and D. Lautenschlaeger. 1986. Rapid *Salmonella* Detection in Foods by Motility Enrichment on a Modified Semi-Solid Pappapor-Vassiliadis Medium. *J. Food Prot.* **49**:510-514.
- Dev, V. J., M. Main, and I. Gould. 1991. Waterborne Outbreak of *Escherichia coli* O157. *Lancet* **337**:1412.
- Duncan, D. W., and W. E. Razzell. 1972. *Klebsiella* Biotypes Among Coliforms Isolated from Forest Environments and Farms Produce. *Appl. Microbiol.* **24**:933-938.

- El-Kest, S. E., A. E. Yousef, and E. H. Marth. 1991. Fate of *Listeria monocytogenes* During Freezing and Frozen Storage. *J. Food Sci.* **56**:1068-1071.
- Everson, M. L., W. M. Hind, R. S. Berstein, M. S. Bergoll. 1987. Estimation of Human Dose of Staphilococcal Enterotoxin A from a Large outbreak of Food Poisoning Involving Chocolate Milk. *Int. J. Food Microbiol.* **7**:311.
- Farber, J. M., M. A. Johnston, U. Purvis, and L. Liot. 1987. Surveillance of Soft and Semi-Soft Cheeses for the Presence of *Listeria* spp. *Int. J. Food Microbiol.* **5**:157-163.
- FDA/CFSAN. 1998. U. S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Bad Bug Book.
<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap19.html>.
- Feng, P. C. S., and P. A. Hartman. 1982. Fluorogenic Assays for Immediate Confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**:1320-1322.
- Feng, P. 1995. *Escherichia coli* Serotype O157:H7: Novel Vehicles of Infection and Emergence of Phenotypic Variants. *Emerging Infect. Dis.* **1**:47-51.
- Fernández, E. E. 1981. Microbiología Sanitaria (Agua y Alimentos), Vol. I, Ed. Edug, Guadalajara, Jal. México. pp. 109, 110, 175-181, 210-216, 246, 415-419, 428, 441, 656, 660.

- Glass, K. A., J. M. Loeffelholz, J. P. Ford, and M. P. Doyle. 1992. Fate *Escherichia coli* O157:H7 as Affected by pH or Sodium Chloride and in Fermented Dry Sausage. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**:30-35.
- Geildreich, K. A., and R. H. Bordner. 1971. Fecal Contaminations of Fruits and Vegetables During Cultivation and Processing for Market. A Review. *J. Milk Food Technol.* **34**:184-195.
- Gouws, P. A., M. Visser, and J. S. Brözel. 1998. A Polimerase Chain Reaction Procedure for the Detection of *Salmonella* spp. Within 24 Hours. *J. Food Prot.* **61**:1039-1042.
- Greenwood, M. H., and M. H. Hooper. 1984. Chocolate Bars Contaminated by *Salmonella napoli* and Infective Study. *Br. Med. H.* **286**:1394.
- Griffin, P. M., and R. V. Tauxe. 1991. The Epidemiology of Infections Caused by *Escherichia coli* O157:H7, other Enterohemorrhagic *E. coli*, and the Associated Uremic Syndrome. *Epidem. Rev.* **13**:60-98.
- Griffin, P. M. 1995. *Escherichia coli* O157:H7 and other Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. In M. J. Blaser, P. D. Smith, J. I. Ravdin, H. B. Greenberg, and R. L. Guerrant (Ed.). *Infections of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press. New York. p. 739-762.
- Hald, T., K. Mølbak, D. L. Baggesen, J. Neimann. 1997. An Outbreak of Human Salmonellosis in Denmark Caused by Pork from a Small Slaughterhouse. Paper Presentation. ASM General Meeting. Miami, Beach.

- Heisick, J. L., D. E. Wagner, M. L. Nieman, and J. T. Peeler. 1989. *Listeria* spp. Found on Fresh Market Product. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**:1925-1927.
- Ibrahim, G. F., G. M. Fleet, M. J. Lyons, and R. A. Walker. 1985. Immunological Relationship Between *Salmonella* Flagella and their Potencial for Salmonellae Detection by Inmunoassay. *Med. Microbiol. Inmunol.* **179**:87-89.
- ICMSF. 1985. *Ecología Microbiana de los Alimentos 2 (Productos Alimenticios)*. Ed. Acribia, Zaragoza, España. p. 474-476.
- Iracheta, N. F. S. 1998. *Calidad Microbiológica de 5 Especies que se Expenden en el Área Metropolitana de Monterrey, N. L. Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.*
- Jackson, T. C., G. R. Acuff, and J. S. Dickson. 1997. Meat, Poultry and Seafood. In Doyle M. P., L. R. Beuchat, and T. J. Montville (Ed.). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press Washington, D. C. p. 83-100.
- Jimenez, M., T. Huerta, and R. Mateo. 1997. Micotoxin Production by *Fusarium* Species Isolated from Bananas. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**:364-369.
- Jyhshiun, L., M. P. Smith, K. D. Chapin, H. S. Baik, G. N. Bennet, and J. W. Foster. 1993. Mechanisms of Acid Resistance in Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**:3094-3100.

- Jones, D. D., R. Law, and A. K. Bej. 1993. Detection of *Salmonella* spp. in Oyster Using Polimerase Chain Reaction (PCR) and Genes Probes. *J. Food Sci.* **58**:1191-1197.
- Karmali, M. A. 1989. Infections by Verotoxins-Producing *Escherichia coli*. *Cli. Microbiol. Rev.* **2**:15-38.
- Keene, W. E., E. Sazie, J. Kok, D. H. Rice, D. D. Hancock, V. K. Balan, T. Zhao, and M. P. Doyle. 1997. An Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections Traced to Jerkey Made from Deer Meat. *JAMA* **227**:1229-1231.
- Knight, I. T., S. Shults, C. W. Kaspar, and R. R. Colwell. 1990. Direct Detection of *Salmonella* spp. in Estuaries by Using a DNA probe. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**:1059-1066.
- Koneman, E. W., S. D. Allen, V. R. Dowell, W. M. Janda, H. M. Sommers, W. C. Winn. 1992. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. p. 462-464.
- Konuma, H. 1989. Rapid Meted and Automation in Food Microbiological Examination. *Food Sanit. Res.* **39**:39-53.
- Lammerding, A. M., M. M. Garcia, E. D. Mann, Y. Robinson, W. J. Dorward, R. B. Truscott, and F. Tittiger. 1988. Prevalence of *Salmonella* and Thermophilic *Campilobacter* in Fresh Pork, Beef, Veal and Poultry in Canada. *J. Food Prot.* **52**:642-645.
- Lovett, J., D. W. Francis, and J. M. Hunt. 1987. *Listeria monocytogenes* in Raw Milk: Detection, Incidence and Pathogenicity. *J. Food Prot.* **50**:188-192.

- Mafu, A. A., R. Higgins, M. Nadeau, and G. Cousineau. 1989. The Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in Swine Carcasses and the Slaughterhouse Environment. *J. Food Prot.* **52**:642-645.
- Maurelli, A. T., and K. A. Lampel. 1997. *Shigella* Species. In M. P. Doyle, L. R. Beuchat, and T. J. Montville (Ed.). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press. Washington, D. C. p. 216-227.
- Mermelstein, N. H. 1993. Controlling *E. coli* O157:H7 in Meat. *Food Technol.* **47**:90-91.
- Notermans, S., J. Dufrenne, P. Teunis, and T. Chachborty. 1998. Studies on the Risk Assessment of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* **61**:244-248.
- Riordan, D. C. R., G. Duffy, J. J. Sheridan, B. S. Eblen, R. C. Whiting, I. S. Blair, and D. A. MacDowell. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 During the Manufacture of Pepperoni. *J. Food Prot.* **61**:146-151.
- Rocelle, S. M., and L. R. Beuchat. 1996. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Broth and Processed Salami as Influenced by pH, Water Activity, and Temperature and Suitability of Media for its Recovery. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**:2735-2740.
- Sala N., V. Sanchis, P. Vilaro, R. Viladrich, M. Torres, I. Viñas, and R. Canela. 1994. Fumonisin Producing Capacity of *Fusarium* Strains Isolated from Cereals in Spain. *J. Food Prot.* **57**:915-917.

- Shelef, L. A. 1989. Survival of *Listeria monocytogenes* in Ground Beef or Liver During Storage at 4 and 25°C. *J. Food Prot.* **52**:379-383.
- Siame, B. A., S. F. Mapuchane, B. A. Gashe, J. Allotey, and G. Teffera. 1998. Occurrence of Aflatoxins, Fumonisin B₁, and Zearalenone in Foods and Feeds in Botswana. *J. Food Prot.* **61**:1670-1673.
- SPP29/5. 1997. Vigilancia y Prevención de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos. Organización Panamericana de la Salud (OMS). Subcomité de Planificación y Programación del Comité Ejecutivo.
- Tatini, S. R. 1976. Thermal Stability of Enterotoxins in Food. *J. Milk Food Technol.* **39**:432.
- Taylor, J., and H. MacCoy. 1969. *Salmonella* and *Arizonae* Infections and Intoxications. In H. Riemman (ED.). *Foodborne Infections and Intoxications*. Academic Press, New York. p. 3-71.
- Tiedjen, M., and D. Y. C. Fung. 1995. *Salmonellae* and Food Safety. *Critical Microbiol. Rev.* **21**:53-83.
- Tsen, H., L. Jian, and W. Chi. 1998. Use of a Multiplex PCR System for the Simultaneous Detection of Heat Toxin I and Heat Stable Toxin II Genes of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Skim Milk and Porcine Stool. *J. Food Prot.* **61**:141-145.
- Uljas, H. E., and S. C. Inham. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Synthetic Gastric Fluid after Cold and Acid Habituation in Apple Juice or

- Trypticase Soy Broth Acidified with Hydrochloric Acid or Organic Acids. J. Food Prot. 61:939-947.**
- Vernozy-Rozand, C. 1997. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Verotoxin-Producing *E. coli* (VTEC) in Food. A Review. J. Appl. Microbiol. 82:537-551.**
- Virendra, G. S., M. A. Ahmed, R. Davis, and R. K. Robinson. 1995. Incidence of *Listeria* spp. in Retail Foods in the United Arab Emirates. J. Food Prot. 58:102-104.**
- Vought, K. J., and S. R. Tatini. 1997. *Salmonella enteritidis* Contamination of Ice Cream Associated with a 1994 Multistate Outbreak. J. Food Prot. 61:5-10.**
- Waterman, S. R., and P. L. C. Small. 1998. Acid-Sensitive Pathogens are protected from Killing Under Excremelly Acidic Contitions of pH 2.5 when they are Inoculated onto Certain Solid Food Sources. Appl. Environ. Microbiol. 64:3882-3886.**
- Wilcock, B. P., and K. J. Schwartz. 1992. Salmonellosis. In A. D. Leman, B. E. Straw, W. L. Mengeling, S. D'Alaire, and D. J. Taylor (Ed.). Diseases of Swine. 7th Ed. Iowa State University Press, Ames, I. A. p. 570-583.**
- Wong, H., W. lang, and S. Lee. 1990. Incidence and Characterization of *Listeria monocytogenes* in Food Available in Taiwan. Appl. Environ. Microbiol. 56:3101-3104.**

Zhao, T., M. P. Doyle, J. S. Shere, and L. Garber. 1995. Prevalence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Survey of Dairy Herds. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1290-1293.



DONATIVO

