

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DIAGNÓSTICO SANITARIO EN LA ELABORACIÓN Y  
MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO  
(SALSAS Y ENSALADAS) EN LA U.A.A.A.N. U.L.**

**POR**

**FRANCISCA RESENDIZ TREJO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**ABRIL DE 2002**

001913

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PRESIDENTE DEL JURADO



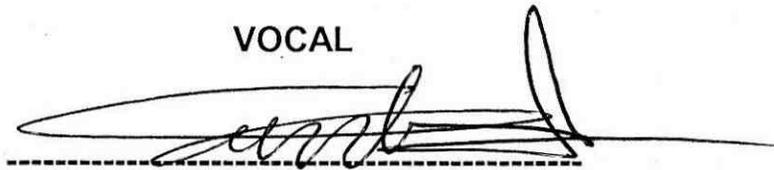
Dr. JESÚS VASQUEZ ARROYO

VOCAL



M.V.Z. EP. HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE

VOCAL



Dr. GERARDO DUARTE MORENO

SUPLENTE



Dr. AGUSTÍN CABRAL MARTELL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÒN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**DIAGNÒSTICO SANITARIO EN LA ELABORACIÒN Y  
MANIPULACIÒN DE ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO  
(SALSAS Y ENSALADAS) EN LA U.A.A.A.N. U.L.**

**TESIS**

**POR**

**FRANCISCA RESENDIZ TREJO**

**ASESOR PRINCIPAL**

-----  
**DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**ABRIL DE 2002**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

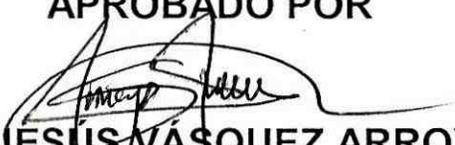
POR:

FRANCISCA RESENDIZ TREJO

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H.  
JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR



DR. JESUS VASQUEZ ARROYO  
PRESIDENTE DEL JURADO



M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE  
CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

ABRIL DEL 2002

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	PAGINAS
I RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. OBJETIVO.....	4
III. HIPOTESIS.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1 Inocuidad alimentaria.....	5
4.2 Instituciones Encargadas de Inocuidad de los Alimentos en México.....	6
4.3 Alimento ambulantes.....	7
4.4 Acciones de Apoyo Para Alimentos Ambulantes.....	9
V. Implementación del HACCP.....	10
VI. Enfermedades emergentes transmitidas por alimentos.....	13
6.1. E.coli.....	15
6.2 Bacillus.....	15
6.3 Listeria Monocytogenes.....	16
6.4 Enterococcus y Streptococcus.....	17
6.5 Salmonella.....	18
6.6 Yersinia Enterocolitica.....	19
6.7 Cryptosporidium.....	19
VII. Alimentos de consumo mínimamente preparados.....	20
7.1 Salsas y Ensaladas.....	20
7.2 Un método para el Control de la Contaminación en Frutas y Verduras.....	22
VIII. Normatividad Alimentaria Mexicana.....	23
8.1 Normatividad Vigente.....	24
8.2 Normatividad en las Entidades Federativas Mexicanas.....	26
IX. Muestreo de Alimentos.....	27
9.1 Medios de Cultivo.....	30
X. Materiales y Métodos.....	31
10.1 Localización.....	31

10.2 Métodos Normalizados.....	35
10.3 Control de la Calidad Microbiana.....	36
10.4 Análisis Estadístico.....	37
XI Resultados y Discusión.....	39
XII. Conclusión.....	46
XIII. Literatura citada.....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Cuenta bacteriana de mesofílicos en salsas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL.....	42
Figura 2.- Cuenta bacteriana de coliformes en salsas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL.....	43
Figura 3 Cuenta bacteriana de mesofílicos en ensaladas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL.....	44
Figura 4.- Cuenta bacteriana de coliformes en ensaladas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL	45

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1. Resultados de los análisis de tres estanquillos en cuanto a la calidad microbiológica para ensaladas y salsas (expresados logarítmicamente).</b>	39
---	----

## **DEDICATORIA**

### **A MI DIOS**

Gracias por estar siempre conmigo, por no permitir que no desfallezca en los momentos difíciles de mi vida.

### **MIS PADRES.**

#### **A MI PADRE.**

**Sr. Francisco Resendiz Sánchez.**

A pesar de su enfermedad supo darme todo cuanto pudo.

Gracias Papá por estar conmigo siempre.

#### **A MI MADRE.**

**Sofia Trejo Hernández.**

Por ser la única persona que confío en mi para alcanzar mi meta, porque nunca me dejó sola, por amarme y quererme mucho.

Gracias Mamá.

#### **A MIS HERMANOS.**

Eusebio, a quién ayudare hasta que Dios me lo permita.

Noé, por su ayuda económica en mis estudios.

Alejandra, por estar conmigo cuando más la necesito.

#### **A MIS SOBRINOS.**

Emmanuel Moisés, Jorge Luis y Fernando Miguel, quienes con el recuerdo de sus sonrisas y abrazos me dieron fuerzas para soportar los momentos difíciles que viví en mi ALMA TERRA MATER.

#### **A BELEN COLÍN NAVARRETE.**

Quién es una persona que siempre me apoyó en todas mis decisiones sentimentales y personales que viví en mi ALMA TERRA MATER.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MI ALMA TERRA MATER.**

Por haber permitido que terminará mi formación como profesionalista, y por haber vivido momentos inolvidables en sus aulas, y con su personal académico.

### **AL Dr. JESÚS VÁSQUEZ ARROLLO.**

Por la asesoría brindada en la realización de este trabajo de investigación.

### **AL Dr. GERARDO DUARTE MORENO.**

En la orientación y corrección del manuscrito.

### **AI M.C. DELFINO REYES MACIAS, ADRIANA RAMÍREZ BRAVO Y JULIO CESAR LÓPEZ ESCOBEDO.**

Por su ayuda en los últimos momentos de mi investigación.

### **A TODOS LOS MEDICOS E INGENIEROS ,Y SECRETARIAS QUE ME BRINDARON SU AYUDA EN TODA MI FORMACIÓN PROFESIONAL.**

## RESUMEN

Los microorganismos son complejos y siempre cambiantes, ellos pueden evolucionar rápidamente y colonizar nuevos nichos o nuevas enfermedades. Las pruebas microbiológicas comunes para agua y alimentos comprenden coliformes, mesofílicos aerobios y *Escherichia coli*. La normatividad Mexicana en lo referente a la calidad microbiológica de agua y alimentos, consideran solamente los métodos tradicionales de microbiología, los cuales bajo avances tecnológicos, se encuentran rebasados en la mayoría de los casos.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la calidad microbiológica de los alimentos servidos en estanquillos de la UAANUL. Se analizó un total de 43 muestras de alimentos de las cuales 17 pertenecieron a ensaladas y 26 a salsas cocidas a las cuales se les realizó las determinaciones mesofílicos aerobios (AM) y coliformes totales (CT) conforme a las especificaciones de las Normas Oficiales Mexicanas NOM-093-SSA-1994. Los resultados de los análisis realizados demostraron por lo general una elevada contaminación de coliformes totales, indicando con ello inadecuadas prácticas de higiene y manipulación de estos alimentos. Para el caso de las muestras de salsas analizadas, en la cuenta de mesofílicos aerobios se presentó un 23.1% de muestras que están fuera de norma. Para el caso de coliformes totales el 84.6% estuvieron fuera de norma. En el caso de las ensaladas para la cuenta de (AM) todas las muestras se encontraron dentro de la especificación de la NOM-093-SSA-1994, sin embargo para la cuenta total de coliformes totales el 88.2% de estas se encontraron. Los resultados, claramente demuestran una práctica ineficiente en la higiene, manejo y preparación de estos alimentos, por lo que se recomienda se realice una capacitación a los responsables de los estanquillos que expenden estos alimentos, así como el personal involucrado en la preparación de los mismos, y mantener un monitoreo de los citados establecimientos.

## I. INTRODUCCION

En el curso de los años, el hombre ha comido lo que estaba a sus alcances indiscutiblemente que el hombre civilizado logró cierto conocimiento de la diversidad entre los alimentos, la experiencia le enseñó que algunos alimentos están hechos de diferentes elementos nutritivos, necesarios para la vida (30).

Las enfermedades infecciosas de origen alimentario son de gran importancia a nivel mundial ya que no han podido ser eliminadas y por lo tanto seguirán prevaleciendo en la población. Además, la aparición de enfermedades reemergentes esta siendo hoy en día un problema de salud a escala mundial (41).

La seguridad alimentaria debe ser evaluada en términos de niveles de aceptación de riesgos los cuales deben ser evitados en los procesos de preparación de los alimentos, los cuales deben llegar inocuos y en un buen estado al consumidor (41).

De 1995 al 2000 en la región de América Latina se han registrado 3,577 brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), que afectaron a 113,349 personas y causaron la muerte a 210 personas (41).

En la obtención, preparación y conservación de los alimentos se han empleado técnicas adecuadas dada la necesidad de tener alimentos inocuos (23).

Para obtener un alimento inocuo, se requiere del ejercicio de buenas prácticas de manufactura y la aplicación de medidas que permitan el control de calidad de manera integral. Con ese fin se debe instrumentar un sistema que garantice la inocuidad de los alimentos, su mejoría en la calidad y disminución de pérdidas por alteración. Dichas condiciones las reúne el sistema Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (HACCP por sus siglas en inglés), como método sistemático, racional y continuo de previsión y organización de posibles riesgos (48).

Se ha definido que el número de microorganismos determinados por la cuenta en placa ha sido uno de los métodos microbiológicos más comúnmente usados para la determinación de la calidad sanitaria de los alimentos. Este método indica la higiene adecuada en las prácticas de manufactura y la formulación de

una opinión clara de si existe o no hay contaminación en los alimentos preparados (52).

Muchas aplicaciones de la seguridad microbiológica de los alimentos requieren no únicamente de la detección de microorganismos, sino también de la cuantificación de los patógenos microbiales presentes en alimentos. La cuantificación es útil en estudios de sobrevivencia de patógenos microbiales en el ambiente, en determinadas rutas de contaminación de alimentos (56).

En el caso del equipo que está en contacto con los alimentos, éste puede ser un vehículo pasivo de microorganismos, o puede constituirse en la base material sobre la cual, con un aseo deficiente, entren en actividad y lleguen a introducirse microorganismos por millares en el alimento (5).

Los microorganismos indicadores, tales como *E. coli*, y los estreptococos coliformes y fecales revelan un proceso no higiénico de los alimentos, con la posible presencia de ciertos patógenos. La presencia de éstos dependerá del tipo de alimento y los criterios cambiarán para cada caso de alimentos procesados o fermentados que implican la participación de dichos microorganismos (58).

Los posibles riesgos que generan los microorganismos presentes en los alimentos han despertado un gran interés tanto por el tipo de enfermedades que producen como por su naturaleza psicrófila (microorganismos que resisten a temperaturas bajas), estos están representados por los géneros *Listeria*, *Yersinia*, *Campylobacter* y *Escherichia*, los cuales son agentes causales de numerosos brotes y casos de ETAs (57).

El objetivo primordial en cualquier establecimiento procesador de alimentos es la limpieza y el control de bacterias, para evitar la contaminación y descomposición de éstos y aminorar el riesgo de la adquisición o exposición a las enfermedades, además, de evitar malos olores dentro de la cocina o planta procesadora. Es esencial contar con personal capacitado para el desarrollo de las actividades de preparado de alimentos. Los operarios deben trabajar con base en metas y hábitos de limpieza. Los hábitos se dan de forma inconsciente cuando el operario desarrolla o practica una actividad de forma repetida (29).

## **II. OBJETIVOS**

Establecer las condiciones sanitarias con que se expenden alimentos en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.

Estimar la contaminación bacteriana de (MA y CT) en salsas y ensaladas conforme a la NOM O93-SSA-1994.

## **III. HIPOTESIS**

Los alimentos que se venden en los estancillos de la UAAAN UL. no, cumplen con lo establecido por las Normas Oficiales Mexicanas.

## IV. REVISION DE LITERATURA

### 4.1 INOCUIDAD ALIMENTARIA

Para obtener un alimento inocuo, se requiere del ejercicio de buenas prácticas de manufactura y la aplicación de medidas que permitan el control de calidad de manera integral. Con este fin, se debe instrumentar un sistema que garantice la inocuidad de los alimentos, su mejoría en calidad y la disminución de las pérdidas por su alteración. Dichas condiciones las reúne el sistema HACCP, como método sistemático, racional y continuo de previsión y organización (47).

Uno de los principales intereses de la microbiología es mejorar la vida de anaquel de un producto alimenticio de alto riesgo por el uso de medidas apropiadas de prevención (60).

Los modelos matemáticos que han sido desarrollados simulan el crecimiento de los microorganismos en relación con las condiciones que dé el medio ambiente y pueden ser clasificadas por el evento microbiológico estudiado (60).

Las operaciones higiénicas aplicadas generalmente en la industria de los alimentos asumen el control de la formación de las biocapas por el contacto de los alimentos con las superficies pero parece que ninguna rutina de limpieza es completamente efectiva para la eliminación completa de los microorganismos de las superficies (50).

## 4.2. INSTITUCIONES ENCARGADAS EN INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS EN MÉXICO

El gobierno de México ha tomado acciones para coordinar e implementar la política de inocuidad alimentaria con la concurrencia de diversas instituciones gubernamentales con responsabilidades específicas en continuidad de la cadena producción, entre las cuales se incluyen:

- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Alimentación y Pesca.
- SS. Secretaría de Salud.
- SE: Secretaría de Economía.
- SEMARNAT: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- SEDESOL: Secretaría de Desarrollo Social.
- STPS: Secretaría de Trabajo y Previsión Social.
- SCYT: Secretaría de Comunicaciones y Transporte.
- SEP: Secretaría de Educación Pública.
- CONACYT: Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología.
- CNA: Comisión Nacional del Agua (46).

### 4.3 ALIMENTOS AMBULANTES

Se ha definido a los alimentos de venta ambulante como los alimentos que se vende en la vía pública, los alimentos y bebidas listos para el consumo preparados u ofrecidos por vendedores no permanentes en las calles y en otros lugares públicos similares (3).

Las comidas ambulantes constituyen una proporción significativa de la dieta de los residentes urbanos en México además, son una fuente cómoda, poco costosa e importante de alimentación para la población (11).

Para los centros urbanos como la ciudad de México, estos servicios conllevan una buena parte de seguridad alimentaria particularmente para las personas que tienen bajos ingresos, además de proveer una forma de vida para amplios grupos sociales, especialmente para las mujeres (10).

La proliferación de vendedores ambulantes se debe a la rápida urbanización que se ha dado no solo en México sino en todo el mundo y a las innegables ventas que estos presentan para la población que recurren a ello, pues estos sitios responden a la demanda por parte de los consumidores que no pueden regresar a comer a sus casas y que no tienen facilidades para alimentarse o cocinar (61).

Se consideran un problema por ser preparados ahí mismo y vendidos para consumo inmediato o para consumo posterior sin que sufran un proceso de preparación (26, 31).

Los alimentos callejeros se consumen porque son de bajo costo, el sabor es aceptable y estos se venden convenientemente dondequiera que las personas congregan (escuelas, mercados, oficinas, vías férreas (10).

En numerosas ocasiones los alimentos ambulantes son fuente potencial de graves intoxicaciones debido a la contaminación microbiológica, que por lo general proviene no solo de platillos preparados, sino también, por las materias primas, utensilios y del agua no potable utilizadas en su elaboración (3).

Por lo tanto, se consideran al mismo tiempo un problema, un desafío y una oportunidad. El problema es asegurar su inocuidad y la calidad. La oportunidad de graves intoxicaciones radica en el fortalecimiento del consumo de alimentos tradicionales y locales, así como el desarrollo de microempresas y cooperativas de comercialización. El desafío radica en proveer a las autoridades gubernamentales en el ámbito central y municipal, los medios necesarios para regular y vigilar que los alimentos que se preparan y sirven en las calles, sean seguros, inocuos y de buena calidad, desarrollando el sector, con la participación activa de vendedores y consumidores (31).

Es evidente que las exigencias higiénicas para los alimentos que se expendan en la vía pública deben ser los mismos que para los alimentos que se ofrecen en los establecimientos (61).

Hasta la fecha se han emprendido diversas actividades con el fin de analizar, determinar y proponer estrategias orientadas a controlar los efectos negativos en la vía pública, conservando al mismo tiempo los aspectos socioeconómicos y nutricionales (8).

Las instituciones gubernamentales y las empresas son principalmente las encargadas de proporcionar comúnmente alimentos inocuos (55). Una de las principales consideraciones es la habilidad para erradicar microorganismos patógenos y mantener la seguridad de los productos (45).

#### 4.4 ACCIONES DE APOYO PARA ALIMENTOS AMBULANTES

La FAO(Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación) propuso cuatro acciones concretas de apoyo para los alimentos que se venden en la vía pública:

- ◆ Lograr una educación de reglamentaciones para el comercio ambulante de alimentos.
- ◆ Establecer programas educativos para los vendedores ambulantes de alimentos.
- ◆ Identificar y mejorar las tecnologías y procedimientos, instalaciones y equipos para la preparación y servicio de los alimentos ambulantes.
- ◆ Promover o intensificar el control sanitario del comercio ambulante(31).

## V.- IMPLEMENTACION DEL HACCP

El HACCP es un método con enfoques sistemáticos y preventivos, para garantizar la seguridad de los alimentos (62). El sistema HACCP se basa en identificar o evaluar los riesgos o peligros que pueden generarse en cada una de las operaciones del proceso de alimentos, y en definir las medidas preventivas o los medios necesarios para que éstos riesgos o peligros no se generen o se presenten (24). Dicho sistema puede ser aplicable a todas las operaciones del proceso de un alimento, desde la producción de la materia prima, la elaboración, su distribución y finalmente la manipulación por el usuario final (62).

El HACCP consta de siete principios que son la base en la cual puede apoyarse la industria de alimentos para aplicar este método de control a la calidad en el procesamiento de un alimento. Cada principio, es una etapa dirigida hacia la obtención de productos de calidad y son los siguientes:

- 1.- Identificar los riesgos o peligros.
- 2.- Determinar los puntos críticos de control.
- 3.- Establecer especificaciones para cada punto crítico de control.
- 4.- Monitorear cada punto crítico de control.
- 5.- Establecer acciones correctivas que deben ser tomadas en caso de que ocurra una desviación en el punto crítico de control.
- 6.- Establecer procedimientos de registro.
- 7.- Establecer procedimientos de verificación (24).

Los propósitos de asignar el HACCP en la industria manufacturera de alimentos. Son los siguientes:

1).- Ver si el establecimiento o si el operador de los negocios tiene la habilidad o costumbre de fabricar y/o distribuir de forma consistente alimentos seguros, verificando que dicho sistema sea efectivo en el mantenimiento y control del producto suministrado (38).

2).- Verificar si la industria manufacturera tiene varias áreas de actividad (38).

La valoración de establecer el HACCP en el interior de una planta procesadora de alimentos, pretende que se asegure que las normas sean consistentes y tiendan a mejorarse. La valoración puede hacerse con el propio equipo del fabricante, o mediante un asesor externo al sistema. Simultáneamente, el HACCP valora a los proveedores de materias primas crudas críticas para el producto terminado donde se necesita establecer si estos productos tienen un sistema eficiente de control en el empaclado (38).

Dentro del HACCP se define como peligro a cualquier fenómeno biológico, físico o químico asociado a un alimento que pueda causar un riesgo para la salud del consumidor. Por su parte, el riesgo es una estimación de la probabilidad de que ocurra un peligro. Una etapa indispensable del HACCP es la identificación de los peligros como un estudio previo necesario para la confirmación de los riesgos, ya que ello permitirá la determinación objetiva de los puntos críticos y las adecuadas medidas de control (47).

El HACCP a venido a ser "el pasaporte de los alimentos" hacia el mercado internacional. Es el reconocimiento internacional de la importancia del sistema HACCP como un medio para controlar los riesgos relacionados con la contaminación de los alimentos. Hay muchas posibles razones que incluyen las preocupaciones de los consumidores con respecto a la seguridad de los alimentos debido a los numerosos informes en las noticias de la aparición o surgimiento de enfermedades por patógenos en los alimentos, como la enfermedad de las vacas locas o Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE) y anuncios por los gobiernos de nuevas iniciativas para superar la calidad de los alimentos y los problemas de seguridad relacionados con la comercialización de éstos (42).

El HACCP está firmemente establecido en todo el mundo como uno de los más destacados medios del control de alimentos y la implementación del sistema ha sido un importante componente de la seguridad y protección de los alimentos en los tratados internacionales. Algunos países como Nueva Zelanda tienen implementados los requerimientos del método dentro de su legislación nacional, y son específicos en sus requerimientos para sectores particulares en la industria de alimentos (27). Estos sistemas de control se basan en el diseño de premisas y la

introducción de los sistemas de control de alimentos implementados por la industria, ya que la base de ésta, requiere de un alto nivel de importancia y motivación. Un ejemplo ha sido el caso de la industria lechera (27).

Se recomienda la formación de un comité en el sistema HACCP que comprenderá a todas las instancias, gubernamentales, universitarias e industriales pertinentes. El objetivo principal de la formación de este comité, es vencer las acciones solapadas de las diferentes secciones gubernamentales, para un mejor control en la calidad de los alimentos ofrecidos al consumidor (35).

El desarrollo del sistema HACCP y la función reguladora de este programa primero reorganiza las necesidades, separando las actividades necesarias o esenciales de las no esenciales, en el control de calidad y de acuerdo al regulador de las actividades evaluadas para que mediante un enfoque sistemático de los recursos pueda ser archivado para prevenir los errores. Por una identificación apropiada de los riesgos y decisiones de las áreas críticas necesarias para el control del proceso (53).

En Australia, las regulaciones higiénicas de alimentos son desarrolladas y llevadas a cabo separadamente por los estados y territorios de producción, resultando una variación significativa entre ambas partes (51).

La parte de la certificación del sistema HACCP tiene una función primordial para lograr mejorar la seguridad global de los alimentos, esto es, que debe haber una organización independiente, con especialización para proporcionar una evaluación y comprobación de los cumplimientos de las normas y/o requerimientos legales descritos en el sistema HACCP (54).

Se ha dicho que la mejor forma de control es el "control mismo" y el mejor tipo de regulación es "la regulación misma". En la industria de los alimentos, la introducción del proceso de HACCP tiene por primera vez, proveer de los mecanismos necesarios a dicha industria para permitir que esta pueda controlarse ampliamente. Dada la fortaleza en las normas y estándares aplicables a alimentos, las compañías de alimentos ahora tienen la oportunidad de desarrollar sus propios planes, únicos de HACCP e implementarlos como parte central de sus sistemas de seguridad en los alimentos (54)

## VI.- ENFERMEDADES EMERGENTES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las enfermedades emergentes pueden ser definidas como aquellas que tienden a aparecer en una población o aquellas que incrementan rápidamente su incidencia extendiendo su rango geográfico (37).

La presencia de enfermedades está en función de diferentes variables principales la virulencia del microorganismo, es decir, la posesión de factores que le permiten causar enfermedad, su modo de transmisión, cómo infecta al huésped, y la susceptibilidad del mismo, que el huésped puede defenderse por él mismo ante el agente microbiano (36).

Los factores específicos que precipitan una enfermedad emergente pueden ser identificados virtualmente en todos los casos. Éstos incluyen factores ecológicos o ambientales que ponen a las personas en contacto con el patógeno, el huésped natural y el ambiente social, demográfico y el comportamiento de los factores que promueve el establecimiento o diseminación de un patógeno previamente introducido dentro de una población más pequeña (37).

Las condiciones en que se desarrolla la vida moderna y los cambios en el comportamiento humano hacen que haya más factores prevalentes, para dar motivo a esperar un aumento en enfermedades emergentes. Históricamente las nuevas enfermedades tienden a aparecer y desaparecer como los productos de exploración, comercio o guerra, cuando el movimiento de la gente, animales, o por otros géneros son llevados geográficamente a otros sitios para el establecimiento de estas infecciones en tierras nuevas (36).

Los agentes bacterianos más comúnmente encontrados en los alimentos preparados en el hogar o en establecimientos prestadores del servicio de alimentos en América, son *Staphylococcus spp.* en un 34.9%, *Salmonella* en un 33.8%, *E. coli* y coliformes en un 12.2%, *Clostridium perfringens* en un 8%, *Vibrio cholerae* 3.3%, *Shigella* en un 3.1%, *Bacillus cereus* en un 2.2%, otros 1.2 %, enterobacterias en 0.75% (41).

Los tipos de infecciones más importantes de intoxicación alimentaria que requiere de ingestión de microorganismos vivos, son la gastroenteritis por *Salmonella* y disentería (diarrea dolorosa) por *Shigella*. Otros microorganismos son: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*.

El tipo de toxina que se identifica a menudo es el *Staphylococcus aureus*, en el síndrome del botulismo (41).

## 6.1 *E. COLI*

Dentro de las enfermedades diarreicas destacan aquellas producidas por el grupo de patógenos de *E. coli* que se clasifican en enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enteropatógenas (EPEC), enteroagregativas (EAEC) y enterohemorrágicas (EHEC) (46).

*E.coli* es asociado con el consumo de carne molida mal cocinada (46). O menos frecuentemente por la ingestión de leche no pasteurizada, sidra de manzana, agua e incluso por transmisión de persona a persona, ya que *E. coli* O157:H7 es reconocido como un patógeno que está presente significativamente en los alimentos (25, 9, 57).

En los Estados Unidos, ataques recientes de infecciones causadas por *E. coli* O157: H7 han sido reportados debido al consumo de lechuga y germinados de alfalfa contaminados. La transmisión de persona a persona es de particular importancia en los centros hospitalarios de cuidados al niño y las áreas para los cuidados crónicos (7).

Actualmente el método de Número Más Probable requiere de cuatro días para declarar ausencia de *E.coli* en productos alimenticios (28).

## 6.2 *BACILLUS*

Las especies de *Bacillus* pertenecen al subgrupo de *B. subtilis*; son también sospechosos como agentes en la comida descompuesta. Numerosos *B. subtilis* se reproducen rápidamente por el almacenamiento, descomposición de productos alimenticios así como de *B. cerus* (18).

*Bacillus brevis*, *B. licheniformis*, *B. Subtilis* y *B. sphaericus* tienden también a ser implicados en la descomposición de los alimentos (18).

La especie de *Bacillus* es importante como microorganismo en la descomposición de los alimentos y puede ser aislado a partir de frutas, productos naturales, nuez, cereales, leche y productos lácteos, carne, alimentos secos y especies. Dicho microorganismo está asociado con defectos tales como alteración

en el sabor que lo cambia a dulce, causado por las enzimas proteínasa, lipasa y fosfolipasa producidas (18).

### **6.3 LISTERIA MONOCYTOGENES**

*Listeria monocytogenes* es ampliamente reconocida como un patógeno oportunista de los alimentos (61). Es un patógeno hemolítico oportunista de humanos y animales recientemente involucrado en severas epidemias y casos esporádicos de listeriosis asociado con el consumo y contaminación de alimentos (33).

Esta presente en el medio ambiente durante la elaboración de los alimentos y productos alimenticios expuestos a variantes del medio ambiente (33, 61).

El crecimiento de *Listeria monocytogenes* en altas o bajas temperaturas se determina por los efectos de la combinación del ácido osmótico o variantes; considerando que la temperatura es de 0 a 10° C (61).

Una temperatura de 7° C en refrigeración cambia la tolerancia y disminuye el PH en *Listeria monocytogenes*, sin embargo esta temperatura aumenta el crecimiento de *Listeria Innocua* (33).

La capacidad para crecer a temperaturas por de bajo de 5° C y aunado a una baja actividad acuosa, explica el porque los patógenos frecuentemente permanecen en las plantas de procesamiento de alimentos, particularmente en biocapas en las superficies de preparación de éstos, y las rutas empleadas para el traslado de la comida (9).

Los efectos de la temperatura, concentraciones de sal y pH incrementan el crecimiento de *Listeria monocytogenes* (61).

En el comienzo de la fase exponencial, las células bacterianas quedan expuestas a la adición de NaCl o ácido acético en hidróxido de sodio NaOH.(60).

En los tratamientos para inactivar *Listeria* se han considerado los efectos individuales del pH del medio ambiente (45).

La REDP (Restricción Proliferativa de la Digestión Enzimática) define el grado de viabilidad de *Listeria monocytogenes* (33).

Los aislados de *Listeria monocytogenes* fueron sensibles a todos los cambios de los agentes desinfectantes y limpiadores evaluados (33).

El almacenamiento a temperaturas de refrigeración aumenta la tolerancia al cloruro de sodio a ambas especies de *Listeria* y la resistencia de *Listeria monocytogenes* a ácidos (33).

La mayoría de los estudios en los cuales se evalúan los efectos de tratamiento sobre las células bacterianas de *Listeria* han considerado los efectos individuales de el pH, el medio ambiente o la presión hidrostática (45).

La presencia de *L. monocytogenes* en salsas es inaceptable debido a que éstas son producidas para consumo inmediato El almacenamiento en refrigeración no garantiza la seguridad de su uso ya que estos microorganismos pueden crecer a bajas temperaturas (44).

La leche cruda y mal pasteurizada, quesos suaves, helados, verduras crudas, embutidos fermentados a base de carnes crudas y pescados crudos ahumados son alimentos en los que la *Listeria* esta presente (57).

#### **6.4 ENTEROCOCCUS Y STREPTOCOCCUS**

*Enterococcus* y *Streptococcus* son clasificados y reconocidos que tienen un origen fecal (32). Están siempre presentes en las heces de animales de sangre caliente (16).

Han tenido que ser reorganizados para ser clasificados de origen fecal desde el inicio del siglo XX. El hábitat normal de las especies de *Enterococcus* es el intestino de los humanos y otros animales (41). Están siempre presentes en las heces de animales de sangre caliente (32). Sin embargo, los *Enterococos* son ubicuos y pueden encontrarse libres viviendo en el suelo, en plantas o en productos lácteos (32).

*Enterococcus* es una bacteria anaerobia que crece en 65% de Na Cl, 40% en sales biliares y con un pH de 9.6 Crece entre 10 y 45 grados centígrados y puede resistir por 10 minutos a una temperatura de 60 grados centígrados (32).

Los *enterococos* están firmemente establecidos como uno de los principales patógenos nosocomiales, responsables de una amplia variedad de infecciones, son la cuarta causa más común de hospitalización y la tercera de las bacteremias en los Estados Unidos de América (6).

La técnica de membrana de filtración comúnmente se usa para el aislamiento y enumeración de *Streptococcus fecal* (16).

## 6.5 SALMONELLA

Se han descubierto aproximadamente unos 2400 serotipos de salmonellas clasificados en base a los 67 grupos de antígeno O y de los numerosos antígenos H descubiertos, *S. typhimurium* y *S. enteritidis* son las especies más representativas como causales de enfermedad en el hombre (47).

La *salmonelosis* es una infección producida por alimento, causada por la especie de *Salmonella* cuando el patógeno crece en el intestino del hospedero y causa gastroenteritis (59). Los huevos crudos o mal cocinados, leche cruda, carne y pollo son típicamente los alimentos implicados en los brotes de ésta (59).

Es de importancia a nivel mundial, ya que se considera como una de las principales zoonosis. Se calcula que cerca de 2 a 4 millones de casos de *salmonelosis* ocurren cada año a nivel mundial, pero sólo el 1% de los casos reportados recibe atención por las autoridades de salud pública (47).

La *Salmonelosis* tiene importancia en áreas donde no se han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene adecuados y no cuentan con medidas óptimas de salud pública (19).

Diversos métodos rápidos han surgido recientemente con el propósito de facilitar la identificación de *Salmonella spp* en alimentos. Esto incluye exámenes bioquímicos, pruebas de DNA y RNA, y pruebas de Reacciones en Cadena de la Polimerasa (PCR) y ensayos con anticuerpos. Estos ensayos requieren de 24 hasta 72 horas para el enriquecimiento selectivo para la recuperación de bajos números de células que se pueden encontrar en los alimentos. Protocolos

convencionales para el aislamiento e identificación de especies de *Salmonella* en los alimentos requieren de 3 a 5 días (59).

## **6.6 YERSINIA ENTEROCOLITICA**

*Yersinia enterocolitica* es un patógeno emergente asociado a un amplio rango de manifestaciones clínicas e inmunológicas en humanos (13). *Y. enterocolitica* es una enterobacteria emergente que causa enterocolitis, linfadenitis mesentérica, ileítis terminal con o sin síntomas de pseudoapendicitis y otras manifestaciones extraintestinales (14).

El aislamiento de *Y. enterocolitica* y especies relacionadas han sido reportadas en un amplio rango de alimentos y productos lácteos (17). *Y. enterocolitica* es comúnmente transmitida a los humanos por vía oral en agua y alimentos contaminados (13). El cascarón de los huevos de gallina puede ser el vehículo de microorganismos patógenos para el humano, como son *E. coli*, *Salmonella* sp, *L. monocytogenes*, y *y. enterocolitica*, son algunos de los patógenos aislados de estos productos (19). Los animales silvestres y domésticos además pueden actuar como reservorios (13).

## **6.7 CRYPTOSPORIDIUM**

*Cryptosporidium parvum* es ahora reconocido a nivel mundial como agente causal de gastroenteritis que característicamente produce una diarrea acuosa, que puede ser algunas veces profusa o prolongada. *C. parvum* ha sido aislado de agua sin tratamiento y suministros de aguas tratadas para beber, albercas, ríos, arroyos, y reservorios en Norte América, Sudamérica, Reino Unido y Europa (34).

## VII.- ALIMENTOS DE CONSUMO MINIMAMENTE PREPARADOS

### 7.1 SALSAS Y ENSALADAS

Estudios microbiológicos llevados a cabo en alimentos vendidos en la calle de varios países en vías desarrollo han reportado altos contenidos de bacteria en alimentos (26). Por ejemplo, en un estudio llevado a cabo en Dinamarca, el promedio de mesofílicos aerobios fue significativo con valores promedio de log 6 UFC/g en frijoles cocidos colectados de los vendedores ambulantes. El promedio del CP de log 7.8 y 6.3 UFC/g fue reportado para garbanzos, papas y comidas guisadas respectivamente las cuales fueron colectadas de vendedores del ferrocarril y estaciones de autobuses en Pakistán (26).

Son limitadas las investigaciones sobre bacterias mesofílicas aerobias como indicadores de contaminación, aunque algunos trabajos las citan como parámetro importante en ambientes con partículas en suspensión (43).

El grupo de los coliformes totales incluye muchas bacterias de origen no fecal; por consiguiente, los coliformes fecales dentro de este grupo sólo se diferencian del grupo de los coliformes totales por su habilidad para crecer a temperaturas elevadas (44.5°C para mariscos y muestras de agua), es por ello que se han vuelto el indicador más importante de la calidad de agua (22).

Los vendedores ambulantes por lo general, se congregan en áreas muy concurridas, donde hay un alto número de posibles consumidores. Las áreas donde se congregan estos vendedores usualmente tienen un acceso limitado a las facilidades de sanitización, como es agua potable, depósitos de basura y sanitarios limpios. En estas áreas, hay grandes cantidades de basura acumulada y provee albergue a insectos y los malos olores atraen fauna nociva (26).

Las ensaladas y salsas constan de cebolla y jitomate picados y mezclados, estos tienen repetidamente altos contenidos de bacterias más que el pollo o la carne. Esto puede ser atribuido a que las ensaladas son consumidas sin cocinar y las salsas son generalmente cocidas aunque por períodos más cortos de tiempo que los estofados (26).

Las frutas y verduras mínimamente procesadas y refrigeradas (MPR) son una clase importante de alimentos para el desarrollo rápido de bacterias. Sin embargo, las frutas y verduras MPR pueden servir como un vehículo para muchos patógenos originados por los alimentos. En la mayoría de los casos, éstos alimentos son consumidos sin cocción previa, permitiendo que patógenos que son de importancia estén presentes. La fuente principal de contaminación son, el agua de riego o de lavado, fertilizantes o desechos de animales y lodos residuales, operadores infectados y operación de empresas con mala sanidad. Existen diferentes reportes de infecciones de origen alimentario relacionados con estos alimentos contaminados (21) .

## 7.2 UN MÉTODO PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN EN FRUTAS Y ENSALADAS

El lavado con agua corriente o agua clorada (50-200 ppm\* de cloro) son ampliamente utilizadas con el propósito de descontaminar frutas y verduras a escala comercial; sin embargo, no se reducen las bacterias en más de logaritmo 3 UFC/g, luego del tratamiento. Esto puede ser debido a la unión de las bacterias a la superficie de las frutas o verduras y/o protección de algún sitio de unión especial, encontraron muchas células de *E. coli* O157:H7 en los estomas y sobre los bordes de corte de lechuga después del tratamiento con 20 mg/L de solución de cloro. Las frutas y verduras MPR no únicamente pueden tener propiedades de superficie complejas (rugosas o ásperas, intactas o dañadas) para la unión bacteriana, sino que también proveen de nutrimentos para el crecimiento de las bacterias. Por lo tanto, es justificable que una tecnología con buena sanitización debería ser empleada para una reducción significativa de patógenos en frutas y verduras MPR (21).

## **VIII.- NORMATIVIDAD ALIMENTARIA MEXICANA**

La regulación sanitaria intenta simultáneamente promover medidas preventivas de auto-inspección a través de la corresponsabilidad de productores, comercializadores y consumidores, con el propósito de reducir o eliminar los riesgos de contaminación de los alimentos, a través de la verificación aleatoria realizada de forma regular, a los establecimientos mediante la toma de muestras y análisis de los productos (40)

La Secretaría de Salud es responsable de la inspección y control de los alimentos producidos en forma local, así como del sistema de control de los alimentos importados y de la certificación de los alimentos para exportación. La Secretaría tomará en consideración los procesos de producción tales como obtener, elaborar, manufacturar, preparar, conservar, mezclar, enlatar, manipular, transportar, distribuir, almacenar y vender o suministrar un producto terminado al público consumidor (40).

## 8.1 NORMATIVIDAD VIGENTE

En el siguiente listado se presenta lo relativo a la Ley General de Salud y su reglamento, así como la normatividad supletoria esto es, la legislación en materia de sanidad vegetal y animal las Normas Oficiales Mexicanas que al respecto están vigentes (58).

1. Ley General de Salud.(D.O.F. 7/11/84) ya modificada.
2. Control Sanitario de Productos y Servicios, y de su Importación y Exportación.
3. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios.
4. Agua y Hielo para Uso y Consumo Humano y para refrigerar.
5. Leche y productos derivados de la leche, sustitutos e imitaciones.
6. Crema, sus productos y condiciones sanitarias de los establecimientos donde se manipulan.
7. Productos de la pesca.
8. Huevo y sus derivados.
9. Aceites y grasas comestibles.
10. Aditivos para alimentos.
11. Frutas, hortalizas, leguminosas y sus derivados.
12. Alimentos para lactantes y niños de corta edad.
13. Cacao, café, te y productos derivados.
14. Bebidas no alcohólicas, productos para prepararlas y productos congelados de las mismas.
15. Productos para regímenes especiales de alimentación.
16. Cereales, sus productos de harinas de leguminosas.
17. Edulcorantes nutritivos y sus derivados.
18. Condimentos y aderezos.
19. Alimentos preparados.
20. Bebidas alcohólicas.
21. Envasado de los productos.

22. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la publicidad (D.O.F. 26/VII/86). Modificado el 10/VI/93.
23. Publicidad de alimentos y bebidas no alcohólicas.
24. Manual de Servicios Públicos para la Importación de Mercancías sujetas a control sanitario.
25. Normas Oficiales Mexicanas en Materia Alimentaria.
26. Ley de Sanidad Vegetal.
27. Ley de Sanidad Animal.

## **8.2 LA NORMATIVIDAD EN LAS ENTIDADES FEDERATIVAS MEXICANAS**

Hace falta que en el ámbito estatal se legisle sobre esta materia ya que solo trece estados lo han hecho en lo que se refiere a la agricultura, en ganadería los 31 estados tienen sus leyes, hace falta además la legislación de la salud humana local, así como lo relativo a alimentos. Esto tiene que suceder por la participación que tienen los estados y la autonomía en materia alimentaria.

La alternativa para la uniformidad en materia alimentaria se debe basar en una congruente legislación tanto a nivel federal como local. Buena administración, disciplina, higiene y honestidad en las decisiones, deben ser los valores principales que rijan para elevar la producción alimentaria en cantidad y calidad.

## IX.- EL MUESTREO DE ALIMENTOS

La porción y condición de la muestra o espécimen recibido para su análisis es de primordial importancia. Si las muestras son impropriadamente colectadas y maltratadas o no son representativas del lote muestreado, los resultados de laboratorio no tendrán sentido. En virtud de que las interpretaciones acerca de una grande consignación de alimento se basan en una muestra relativamente pequeña, una muestra representativa es esencial cuando los patógenos o toxinas están escasamente distribuidos en los alimentos o cuando la disposición de una remesa de alimento depende de la demostración del contenido bacteriológico en relación con los estándares legales (15).

El número de unidades que comprende una muestra representativa para un lote designado de alimento debe ser estadísticamente significativa. La composición y naturaleza de cada lote afecta la homogeneidad y uniformidad del total de la masa de muestra. El propio proceso de muestreo estadístico, ya sea de acuerdo al alimento sólido, semisólido, viscoso o líquido, debe estar determinadas por el colector antes del muestreo (15).

Para la toma y recolección de muestras de alimentos se deben usar contenedores que estén limpios, secos, a prueba de escape, con abertura amplia, estériles, y de tamaño adecuado a la muestra del producto. Los contenedores como las jarras de plástico o envases de metal deben ser a prueba de fugas estar herméticamente sellados. Para materiales secos, emplear cajas estériles de metal, envases, bolsas o paquetes con cierre adecuado. Bolsas estériles de plástico (para materiales secos y descongelados únicamente) o botellas de plástico son útiles estos contenedores para una línea de muestras. Identificar cada unidad de muestra (definiéndola después) con una tira apropiada de cinta enmascarante. Cuando sea posible, obtener al menos 100 g de cada unidad de muestra. Someter controles abiertos y cerrados de contenedores estériles con la muestra. Transportar los productos congelados o refrigerados en contenedores aislados apropiados de construcción rígida que les permita a estos llegar al laboratorio sin cambios (15).

Las muestras refrigeradas no podrán ser analizadas después de 36 horas posteriores a su colección (15).

Para superar las limitaciones del método de contacto por hisopado se ha hecho uso de las esponjas de celulosa para el muestreo de superficies (49).

El muestreo clásico microbiológico de superficies es el método de contacto con una esponja o hisopo húmedo, las esponjas estériles son frotadas sobre una área de superficie moderada (49)

Silliker y Gabis fundaron la técnica de la esponja de celulosa, eficiente en la detección particular de *Salmonella* en equipo de las plantas de alimentos y ambiente . La mayoría de las técnicas oportunas de muestreo de superficies, son la base para analizar el campo de los alimentos y para mejorar su higienización. Sin embargo, el método de contacto por hisopado convencional no detectó *Salmonella* en equipo. Luego de que Silliker y Gabis aplicaron la técnica de la esponja de celulosa en el equipo y medio ambiente encontraron un alto porcentaje de muestras positivas para *Salmonella* (49).

La técnica de la esponja de celulosa fue usada para muestrear superficies de equipos, pisos y paredes (49). La cantidad de contaminación en las superficies de hospitales incluidos pisos, paredes, mesas y fregaderos frecuentemente son moderados o elevados (20).

Sin embargo, el muestreo con esponja puede estar sujeto a variabilidad de los procesos analíticos, por ejemplo el contenido total en placa de coliformes, hongos levaduras, *Staphylococcus*, etc. Es deseable dependiendo del organismo que se esté buscado, remplazar la solución de tergitol con algún otro fluido para muestreo, como agua peptonada al 0.1%, agua fosfatada buferada destilada, etc. Debido a la posibilidad de los efectos de deterioro de las bacterias Gram-positivas por los efectos del tergitol. Cuando el examen cuantitativo efectuado en la muestra-esponja, los microorganismos son atrapados y removidos añadiendo 99 mL de diluyente a la bolsa que contiene la esponja y luego se hace compresión repetidamente a la esponja por unos 30 segundos o más. Las diluciones

apropiadas son hechas y luego manejadas de acuerdo al método analítico deseado (49).

Un método sugerido por la asociación americana de salud pública para el muestreo de alimentos congelados, productos sin descongelar envueltos dentro de empaques puede ser llevado a cabo por medio de un taladro eléctrico (1).

La preparación de suspensiones bacterianas para alimentos y otros materiales que no pueden ser disueltos inmediatamente en agua son normalmente llevados a agitación de la muestra con el diluyente en una botella homogenizadora o licuadora (48).

Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar las técnicas de muestreo representativas para el análisis de superficies como pisos, paredes, equipo, así como en superficies del cuerpo humano. Un procedimiento probando para el muestreo sería útil para el rastreo de rutas de infección, evaluación de los procedimientos de desinfección, vigilancia bacteriológica del ambiente industrial y el entrenamiento en beneficio del personal interesado en la sanitización institucional (20).

La tardanza en el vaciado en placa para el conteo bacteriano después de que la muestra fue vertida, resultó tener una reducción sustancial en su contenido bacteriano final. Esta reducción fue debida a la adsorción de las células dentro de la superficie de la caja petri, con la formación de expansiones en la base y no debido al efecto letal del diluyente (4).

## 9.1.- MEDIOS DE CULTIVO

La productividad selectiva de los medios de cultivo es tan buena como la no selectiva, y ambas dependen de varios factores. El primero y principal es el llamado factor intrínseco, este atributo tiene una función importante que incluyen (I) disponibilidad de nutrientes (II) potencial de oxido-reducción (Eh) del medio cuando es preparado recientemente y durante la incubación (III) el pH inicial y de este cambio depende de la capacidad del amortiguador (IV) actividad acuosa ( $a_w$ ) y el medio (V) actividad y tipo de los componentes antimicrobiales añadidos, y (VI) las sustancias antimicrobianas inesperadamente formadas (39).

## X.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 10.1 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA COMARCA LAGUNERA.

El presente trabajo de investigación se desarrollo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna, que se encuentra localizada en periférico y Santa Fe S/N Torreón Coahuila, ciudad que forma parte de la Comarca Lagunera.

La Comarca Lagunera se encuentra ubicada entre los meridianos 101° 40' y 104° 45' longitud oeste del meridiano de Greenwich y entre los paralelos 24° 05' y 26° 54' latitud norte, con una altura sobre el nivel del mar de 1120 metros (2).

Se seleccionaron tres estanquillos expendedores de alimentos de consumo rápido en la Universidad Autónoma Antonio Narro a los que por norma de privacidad se denominaran: A, B y C prestadores de los servicios de alimentos preparados para consumo inmediato.

Con forme a la NOM-109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, las muestras fueron tomadas en bolsas estériles de plástico y llevadas inmediatamente al laboratorio, no necesitaron refrigeración ,se procedió a realizar el análisis microbiológico.

El estudio constó del análisis de un total de 43 muestras. Estas muestras procedieron de tres estanquillos de comida rápida en la U.A.A.N. UL. Las muestras a su vez fueron divididas en dos grupos de: ensaladas de verduras crudas (17) y salsas cocidas (26).

Procedimiento para la cuenta de bacterias coliformes totales en placa se utilizo el siguiente protocolo:

- ◆ Colocar en cajas Petri por duplicado 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril.
- ◆ Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.

- ◆ Verter de 15 a 20 ml del medio RVBA fundido y manteniendo a 45± 1,0 grados centígrados en baño de agua. En el caso de utilizar cajas Petri de plástico se vierte de 10 a 15 ml del medio. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.
- ◆ Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario a las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Permitir que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.
- ◆ Preparar una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad.
- ◆ Después de que está el medio completamente solidificado en la caja, verter aproximadamente 4 ml del medio RVBA ± 1,0 grados centígrados en la superficie del medio inoculado.
- ◆ Dejar que solidifique.
- ◆ Invertir las placas y colocarlas en la incubadora a 35 grados centígrados, durante 24 ± horas.
- ◆ Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias con el contador de colonias.
- ◆ Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.
- ◆ Separar las placas que contienen el número antes mencionado de colonias características en dos diluciones consecutivas. Contar las colonias presentes. Calcular el número de coliformes por mililitro o por gramo de producto, multiplicando el número de colonias por el inverso

de la dilución correspondiente, tomando los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.

- ◆ Si cada una de las placas tiene menos de 15 colonias características, reportar el número obtenido seguido de la dilución correspondiente.
- ◆ Si en las placas no hay colonias características, reportar el resultado como : menos de un coliforme por 1/d por gramo, en donde d es el factor de dilución.
- ◆ Procedimiento Para La Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa.
- ◆ Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.
- ◆ Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 ml del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas.
- ◆ Dejar solidificar.
- ◆ Incluir una caja sin inocular por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad.
- ◆ El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos.
- ◆ Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requerán, según el tipo de alimento y microorganismo de que se trate.
- ◆ En la lectura seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 25 a 250 UFC, para disminuir el error en la cuenta.

- ◆ Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas. Hacer uso del microscopio para resolver los casos en los que se pueden distinguir las colonias de las pequeñas partículas de alimento.

El procedimiento estuvo basado en los métodos que establecen las Normas Oficiales Mexicanas de la Secretaría de Salud( 113 y 092),.

## 10.2.- MÉTODOS NORMALIZADOS

Las Normas Oficiales Mexicanas son expedidas por la Secretaría de Salud en materia de control y calidad sanitaria de bienes y servicios, son de carácter obligatorio, elaboradas por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario (12).

El análisis microbiológico de los alimentos se basó en las siguientes Normas Oficiales Mexicanas:

- Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Procedimiento para la toma, transporte y manejo de muestra de alimentos para su análisis microbiológico (12).
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico (12).
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa (DOF, 1995). Se empleo el Agar de métodos estándar preparado según las especificaciones del fabricante (Difco).
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuanta de microorganismos coliformes totales en placa (DOF, 1995). Agar de bilis y rojo violeta (Difco).

Así mismo, la verificación de los estándares microbiológicos para los establecimientos que expenden alimentos se evaluó de acuerdo con la norma;

Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos (12).

### **10.3.- CONTROLES DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA**

Se emplearon muestras testigos estériles, a las cuales se les agrego los métodos estándar y para la cuantificación y control de resultados internos a nivel de analistas y laboratorio.

Se emplearon controles positivos y negativos para cada una de las determinaciones, así como una muestra sin inocular como control de esterilidad.

#### 10.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de resultados fuera de norma se utilizó el análisis estadístico de  $X^2$  (ji-cuadrada).

Para establecer si el resultado del análisis microbiológico de los alimentos estuvo fuera o dentro de las especificaciones sanitarias se tomó como base el apéndice informativo B de la Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994, bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos que es como sigue:

##### 1. Especificaciones microbiológicas en alimentos.

Los alimentos preparados podrán ser sujetos a análisis especiales. La investigación de microorganismos patógenos específicos dependerá de los ingredientes adicionados.

##### 1.1 Ningún alimento preparado debe contener microorganismos patógenos.

1.2 Los límites microbiológicos básicos máximos permisibles para diferentes alimentos, se señalan a continuación.

1.2.1 Salsas y purés cocidos. Cuenta total de mesofílicos aerobios 5,000 UFC/g, coliformes totales 50 UFC/g

1.2.2 Mayonesas, salsas tipo mayonesa, aderezo. Cuenta total de mesofílicos aerobios 3,000 UFC/g, cuenta de mohos 20 UFC/g, cuenta de levaduras 50 UFC/g.

##### 1.2.3 Ensaladas.

1.2.3.1 Rusas, mixtas cocidas. Cuenta total de mesofílicos aerobios 100,000 UFC/g, coliformes totales <100 UFC/g.

1.2.3.2 Verdes, crudas o de frutas. Cuenta total de mesofílicos aerobios 150,000 UFC/g, coliformes fecales 100/NMP/g.

1.2.4 Alimentos cocidos. Carnes de mamíferos, aves, pescados, mariscos, crustáceos, moluscos bivalvos, etc. Cuenta total de mesofílicos aerobios 150,000 UFC/g, coliformes totales <100 UFC/g.

1.2.5 Postres no lácteos. Cuenta total de mesofílicos aerobios 5,000 UFC/g, coliformes totales 10 UFC/g.

1.2.6 Postres lácteos. Como son pastel de crema, dulce de leche, gelatina de leche, flan. Cuenta total de mesofílicos aerobios 100,000 UFC/g, coliformes totales <100 UFC/g o mL, *Staphylococcus aureus* < 100 UFC/g o mL.

1.2.6.1 Helados. Cuenta total de mesofílicos aerobios 200,000 UFC/g, coliformes totales 100 UFC/g o mL, *Salmonella* ausente en 25 g.

1.2.6.2 Yogurth. Coliformes totales 10 UFC/g o mL. mohos 10 UFC/g o mL, levaduras 10 UFC/g.

1.2.7 Agua y hielo potable. Cuenta total de mesofílicos aerobios 100UFC/mL, coliformes totales <2 NMP/100 mL.

1.2.8 Aguas preparadas. Cuenta total de mesofílicos aerobios 150,000 UFC/g o mL, coliformes totales 100 NMP/g y coliformes fecales negativo.

1.2.9 Todos los alimentos que no se preparen dentro del establecimiento pero que se manipulen para su servicio deberán cumplir con las especificaciones microbiológicas que se señalan en las normas correspondientes.

## 2. Especificaciones microbiológicas en superficies vivas e inertes.

Las superficies vivas e inertes que estén en contacto con los alimentos deben tener como límites microbiológicos los siguientes.

2.1 Superficies vivas. Cuenta total de mesofílicos aerobios < 3,000 UFC/cm<sup>2</sup> de superficie, coliformes totales <10 UFC/cm<sup>2</sup> de superficie.

2.2 Superficies inertes. Cuenta total de mesofílicos aerobios < 400 UFC/cm<sup>2</sup> de superficie, coliformes totales < 200 UFC/ cm<sup>2</sup> de superficie.

## XI.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados encontrados para las diferentes muestras analizadas se presentan en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Resultados de los análisis de tres estanquillos en cuanto a la calidad microbiológica para ensaladas y salsas (expresados logarítmicamente).**

	ENSALADA		SALSAS	
	Mesofilicos	Coliformes	Mesofilicos	Coliformes
A	2.95	2.18	2.11	3.49
A	2.97	2.79	1.00	3.38
A	3.72	2.26	3.02	1.00
A	1.00	1.00	3.74	3.90
A	3.14	3.69	3.81	3.98
A	3.89	3.94	3.45	3.80
A	3.59	4.46	3.53	3.84
A	3.57	2.00	3.53	3.28
A	3.37	3.08	3.30	3.07
B	2.91	1.70	2.36	2.84
B	2.97	3.07	1.30	2.92
B	2.65	3.27	1.00	3.68
B	4.41	4.17	3.44	3.71
B	2.61	2.87	3.73	3.33
B	4.26	3.81	4.39	3.26
B	2.49	2.41	3.56	3.28
B	3.37	2.23	3.51	2.54
B			3.89	1.00
C			2.28	3.26
C			3.18	1.00
C			3.81	1.00
C			3.48	3.34
C			3.78	4.12
C			3.70	3.84
C			3.09	3.65
C			1.00	2.91

Como se puede observar en el cuadro 1, los valores más altos para la determinación de mesófilicos aerobios en salsas los presentó el estanquillo A; que

fue él mas contaminado tanto en mesofílicos como en coliformes totales, siendo el estanquillo C el menos contaminado en coliformes totales.

Para el caso de las muestras de ensaladas, el estanquillo B presento mayor número de muestras fuera de la NOM-093-SSA1-1994 tanto para mesofílicos como coliformes.

Como se puede observar en la figura 1, la cuenta de mesofílicos aerobios en salsas los estanquillos A, B y C presentan cada uno dos muestras fuera de la NOM-093-SSA1-1994 la cual establece valores logarítmicos para las salsas de 3.7% para mesofílicos aerobios, 1.7 % en coliformes totales, de igual manera en ensaladas un 5% tanto para mesofílicos como para coliformes respectivamente. En la figura 2, se presentan los resultados de coliformes totales para el caso de ensaladas, destacándose que el estanquillo A presenta solamente tres muestras dentro de norma de 9 muestras analizadas, mientras que para el B las 9 muestras estuvieron dentro de NOM-093-SSA1-1994, el estanquillo C; dos muestras estuvieron dentro de la norma de las 8 analizadas.

En la figura 3 se presentan los resultados de la cuenta bacteriana de mesofílicos aerobios en ensaladas, destacándose que el estanquillo A indica que todas las 9 muestras estuvieron fuera de NOM-093-SSA1-1994, en el estanquillo B 6 muestras respectivamente

En la figura 4, y para el caso C los resultados de coliformes totales para ensaladas, el estanquillo A presenta 4 muestras dentro de NOM-093-SSA1-1994 de 9 tomadas, el estanquillo B solamente presento una muestra dentro de la NOM-093-SSA1-1994 .

De acuerdo con lo que se señala por De Curtís et al, existen peligros potenciales y microbiológicos y diversos, asociados con la elaboración y manipulación de los alimentos.

Los valores encontrados, para la determinación bacteriana de mesofílicos aerobios y coliformes totales de los tres estanquillos variaron de acuerdo a la inadecuada higiene y a la falta de capacitación del personal.

Se considera que la calidad microbiológica de los alimentos servidos en los estancillos son inaceptables y deben mejorarse; sin embargo esto dificulta uno de los aspectos que influye sobre la calidad, es el personal, en virtud de que no tiene una capacitación continua de la preparación, servicio e higiene de los alimentos. Los criterios o límites microbianos que se han seleccionado para los alimentos que se sirven en este tipo de establecimiento, pudieran ser el punto de partida para mantener una adecuada calidad microbiológica, segura para el usuario desde el punto de vista de salud pública.

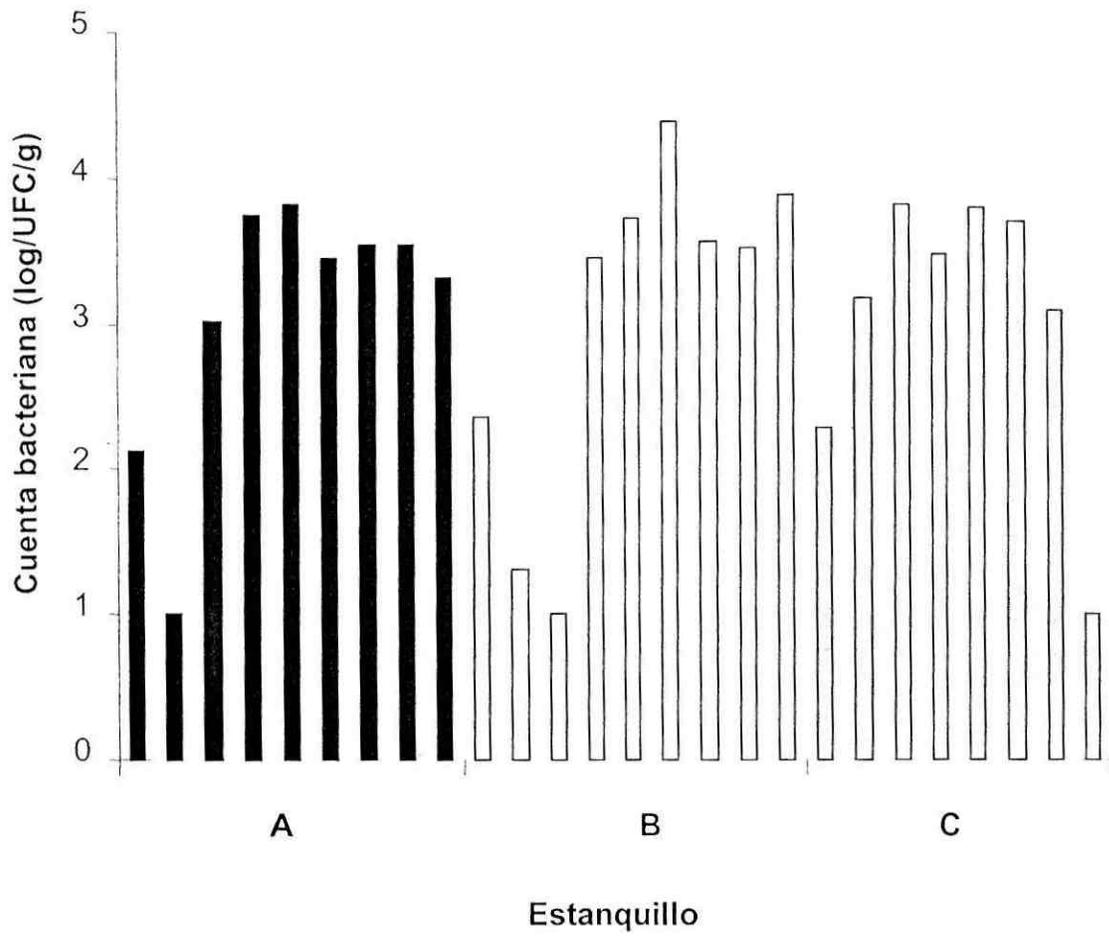


Figura 1.- Cuenta bacteriana de mesofílicos en salsas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL

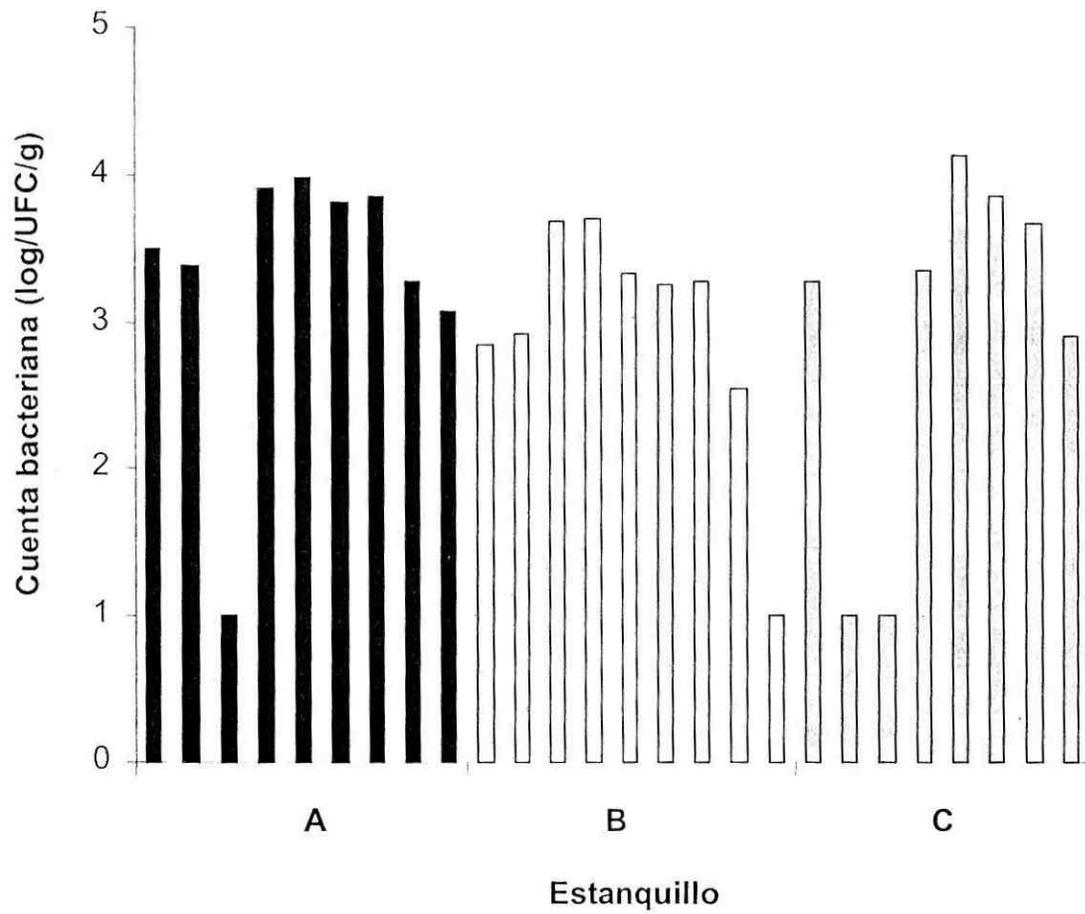


Figura 2.- Cuenta bacteriana de coliformes en salsas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL

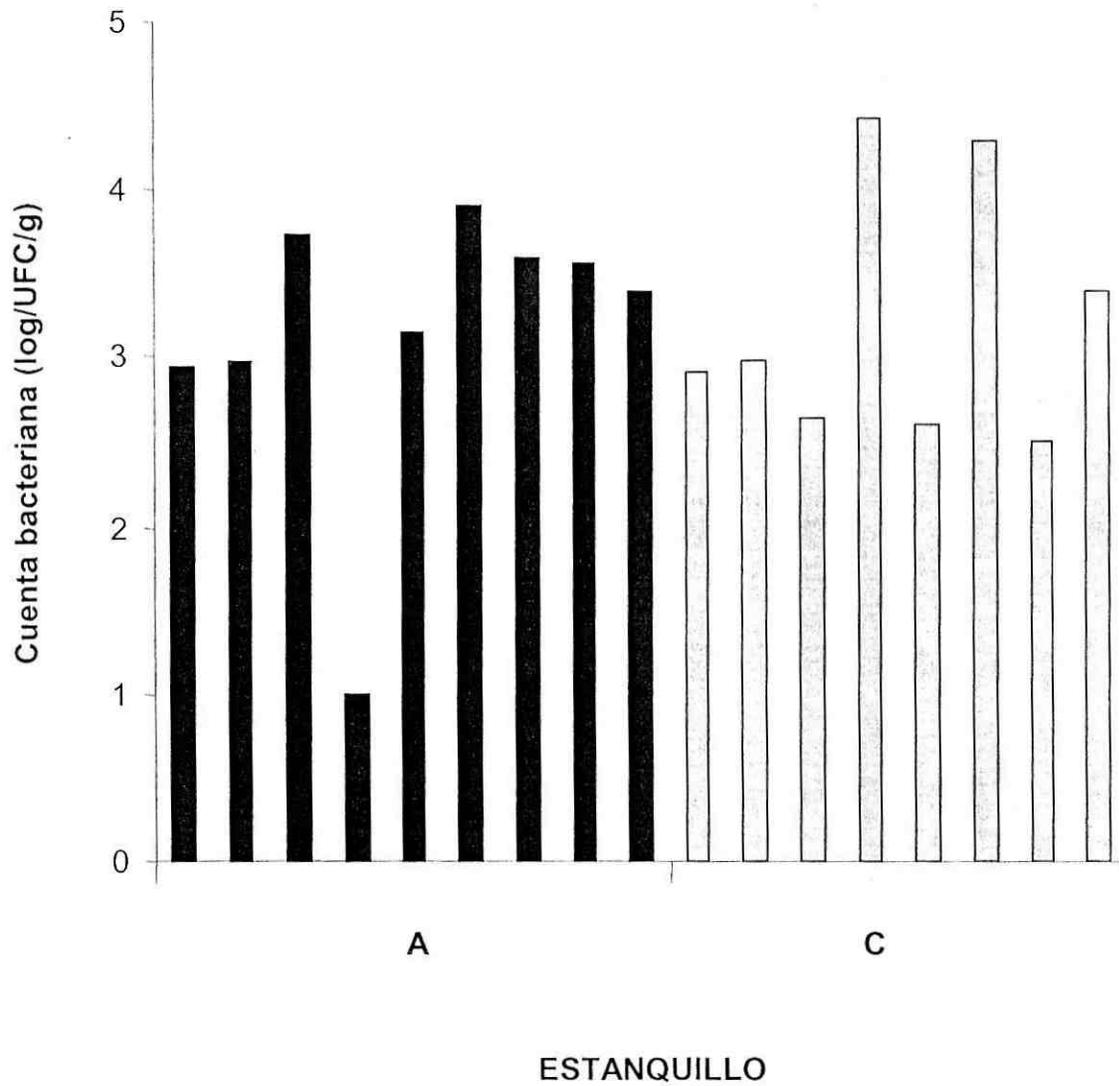


Figura 3 Cuenta bacteriana de mesofílicos en ensaladas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL

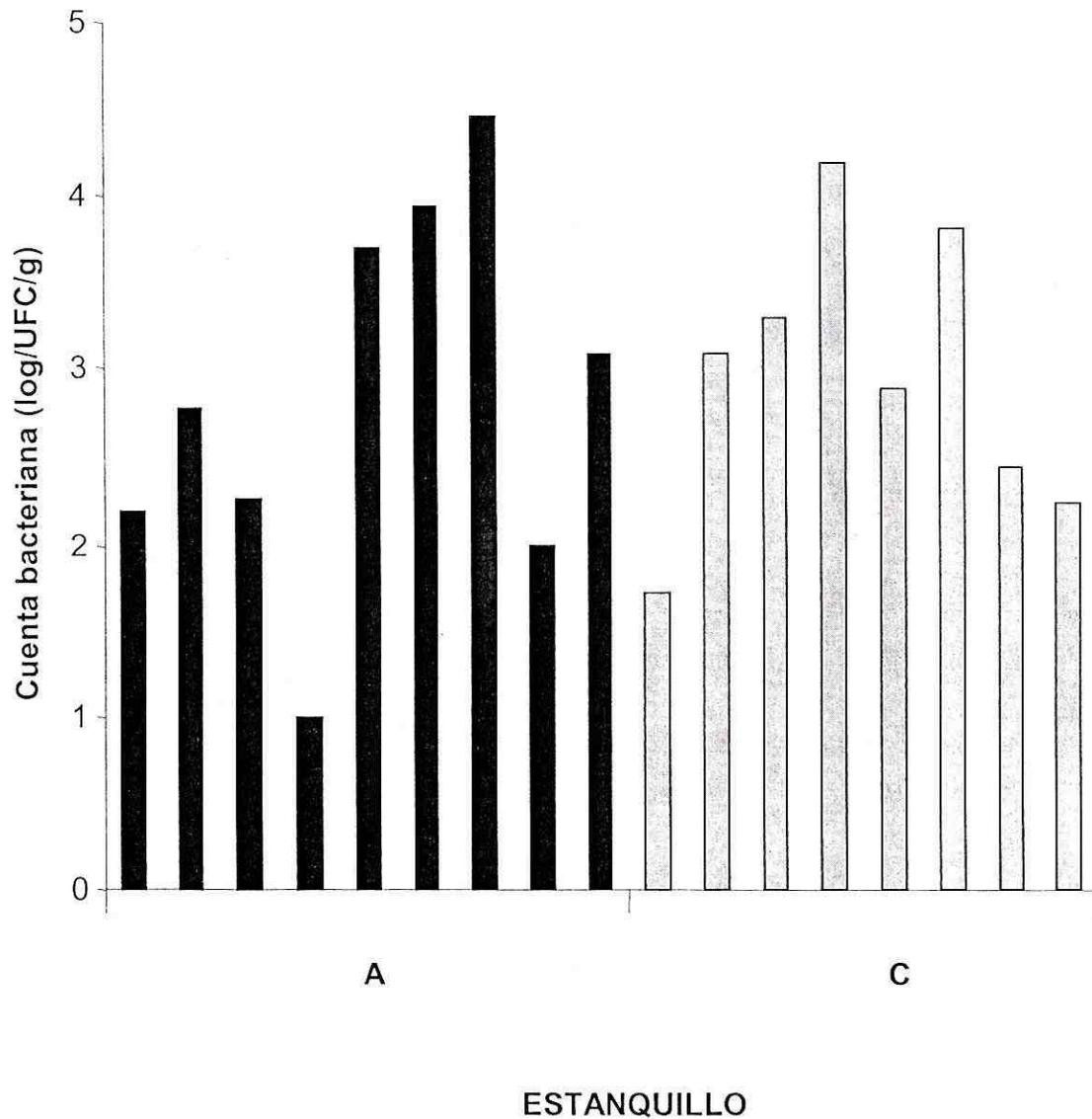


Figura 4.- Cuenta bacteriana de coliformes en ensaladas proporcionadas semanalmente por expendedores de alimentos en la UAAAN-UL

## **XII.- CONCLUSIONES**

- ◆ Las muestras de salsas y ensaladas de los tres estanquillos presentaron valores superiores a los que indica la NOM-093-SSA1-1994 para la determinación de coliformes totales y mesofílicos aerobios.
- ◆ Es confirmatorio que la falta de asesoramiento y capacitación del personal son factores determinantes que influyen a obtener alimentos que no reúnen los requisitos establecidos por las NOM-093-SSA1-1994.

## LITERATURA CITADA

1. **Adams, D. M., and F. F. Busta** 1970. Simple method for collection of samples from a frozen food. *Appl. Environ. Microbiol.* **19**:878.
2. **Aguirre, S. O.** 1981. Guía climática de la Comarca Lagunera. CIAN-CAELALA-INIA-SARH, Torreón, Coah. Méx.
3. **Almedia C.R.** 1998. Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública. *Cuadernos de nutrición.* **21**:3:22-28.
4. **Anónimo.** s.f. Effects of delays in pour plating on bacterial counts. *Dairy Sci.*
5. **Aviles-Ruiz, D., A. Cortez-Gomez, and E. M. G. Hernández** 1983. Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas., México, D.F.
6. **Bertrand X., Mulin B., Viel J.F., Thouverez M., and T. D.** 2000. Common PFGE patterns in antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* from humans and cheeses. *Food Microbiol.* **17**:543-551.
7. **Besser R. E., Griffin P. M., and S. L.** 1999. *Escherichia coli* O157:H7 gastroenteritis and the hemolytic uremic syndrome: an emerging infectious disease. *Annu. Rev. Med.* **50**:355-367.
8. **Canetetc C., and D. N`.** 1996. L' alimentación de rue en Africa. *FNA/ANA.* **17-18**:4-13.
9. **Castillejo-Rodríguez A M., Barco-Alcalá E., García-Gimeno R. M., and Z.-C. G.** 2000. Growth modelling of *Listeria monocytogenes* in packaged fresh green asparagus. *Food Microbiol.* **17**:421-427.
10. **Chakravarty, I., and C. Canet** 1996. Street foods in calcutla *FNA/ANA.* **17/18**:30-37.
11. **Dawson, R., L. S., and B. F.** 1996. bangkok's street food project *FNA/ANA.* **17/18**:38-46.
12. **DOF** 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
13. **Escudero, M. E., L. Velázquez, and A. M. S. De Guzman** 1996. *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from animals slaughtered for human consumption . *Food Microbiol.* **13**:201-204.
14. **Favier, G. I. , Escudero M. E., and Guzman A.M.S.** 2000. Reduction of *yersinia enterocolitica* and mesophilic aerobic bacteria in egg-shell by washing with surfactants and effect on the shell microstructure. *Food Microbiol.* **17**:73-81.
15. **FDA.** 1995. *Bacteriological Analytical Manual ., USA.*
16. **Figueras, J. M., I. Inza, L. F. Polo, T. M. Feliu , and J. Guarro** 1996. A fast Method for the confirmation of Fecal Streptococci from M-*Enterococcus* Medium. **62**:2177-2178.
17. **Greenwood, M. H.** 1993. Comparasion of enrichment at 9o C and 21o C for recovery of *Yersinia* species from food and milk . *Food Microbiol.* **10**::23-30.
18. **Griffel, M. C., R. R. Beumer, S. Leijendekkers, and F. M. Rombouts** 1996. Incidence of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in the Netherlands. *Food Microbiol.* **13**:53-58.

19. **Gutierrez-Cogco, L., Montiel-Vázquez E., Aguilera-Pérez P., and C. González-Andrade M** 2000. Serotipos de salmonella identificados en los servicios de salud en México Salud pública de México. **42**:490-495.
20. **Hall L B., and H. M. J.** 1964. Measurement of the bacterial contamination on surfaces in hospitals. Public Health Reports. **79**:1021-1024.
21. **Han, y., D. M. Sherman, R. H. Linton, Nielsen S. S., and N. P. E.** 2000. The effects of washing and chlorine dioxide gas on survival and attachment of Escherichia coli O157: H7 to green pepper surfaces. Food Microbiol. **17**:521-533.
22. **Harwood , V. J., Butler J., Parrish D., and W. V.** 1999. Isolation of fecal coliform bacteria from the diamondback terrapin (*Malaclemys terrapin centrata*) . Appl Environ Microbiol. **65**:865-867.
23. **Hernández, F., and B. Villanava** 1993. Conservas de alimentos., 2a. ed. Mundi Prensa, Barcelona, España.
24. **Hinojosa-Puga A., and V.-A. M. D. L.** 1994. Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la industria de leche pasteurizada. Secretaría de Salud, México. Secretaría de Salud., México.
25. **Johnson J L., Brooke CH. L., and J. Fritschel S** 1998. Comparison of the BAX for screening/E. coli O157:H7 method with conventional methods for detection of extremely low levels of Escherichia coli O157:H7 in ground beef Appl Environ Microbiol. **64**:4390-4395.
26. **Kubheka, L. C., F. M. Mosupye, and A. von Holy** 2001. Microbiological suvery of street-vended salad and gravy in Johannesburg city, South Africa. Food Control. **12**:127-131.
27. **Lee, J. A., and H. S. C.** 2000. New Zealand approaches to HACCP systems. Food Control. **11**:373-376.
28. **Lin, C. K., and T. H.Y.** 1999. Comparison of the partial 16Sr RNA gene sequences and development of oligonucleotide probes for the detection of Escherichia coli dells in water and milk. J Food Microbiol. **16**:551-562.
29. **Longrée K., and B. G. G.** 1972. Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos, México, D.F.
30. **Lowenberg G., E. Miriam, and T. N. E.** 1979. Los alimentos y el hombre, México.
31. **Luna, S. R. P.** 1998. Avances en el mejoramiento de la inocuidad y calidad de los alimentos que se venden en las calles en America Latina Y El Caribe Cuadernos de Nutrición. **21**:3:15 - 16.
32. **Manero A., and B. A. R.** 1999. Identification of Enterococcus spp. with a biochemical key. Appl Environ Microbiol. . **65**:4425-4430.
33. **Margolles, A., M. B., and De Los Reyes Clara G.** 2000. Phenotypic characterization of Listeria monocytogenes and Listeria innocua streins isolated from shortripened cheeses. Food Microbiol. **17**:461-467.
34. **Meinhardt P L., Casemore D. P., and M. K. B.** 1996. Epidemiologic aspects of human Cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. Epidemiol Rev. **18** : 118-136.
35. **Merican, Z.** 2000. The role of government agencies in assessing HACCP the Malaysian procedure. Food Control. **11**:371-372.
36. **Morris G J., a. P. M.** 1997. Emergence of new pathogens as a function of changes in host susceptibility Emerging Infectious Diseases. **3**:435.

37. **Morse S S., and H. J. M.** 1996. Developing an integrated epidemiologic approach to emerging infectious diseases. *Epidemiologic Reviews*. **18**:1-3.
38. **Mortimore, S.** 2000. An example of some procedures used to assess HACCP systems within the food manufacturing industry. *Food Control*. **11**:403-413.
39. **Mossel D A., Van-Rossem A. F., V. M. Koopmans M. M. H., and E. I.** 1980. Quality control of solid culture media: a comparison of the classic and the so-called ecometric technique. *Appl Environ Microbiol*. **49**:439-454.
40. **OCDE.** 2000. Reporte del sistema de inocuidad alimentaria en México y sus actividades.
41. **OPS.** 2000. El progreso en la salud de la población (Informe anual del director -2000). Organización Panamericana de la Salud.298.
42. **Orriss G. D., and W. A. J.** 2000. Hazard analysis and critical control point (HACCP) as a part of an overall quality assurance system in international food trade . *Food Control*. **11**:345-351.
43. **Peréz-Guzzi J. I., Isla I. F., Zamora S. A., Folabella M. A., and D. L. C. L.** 2000. Evaluación de la contaminación microbiológica en cuencas hídricas que drenan en la costa del partido de gral. Pueyrredon *Diversidad y Ambiente*. **1**:59-66.
44. **Pourshaban M., Gianfranceschi M., Gattuso A., Menconi F., and A. P.** 2000. Identification of *Listeria monocytogenes* contamination sources in two fresh sauce production plants by pulsed-field gel electrophoresis. *Food Microbiol*. **17**:393-400.
45. **Ritz, M., Juguiau. F., F. Rama, P. Courcoux, M. Semenou, and M. Federigh** 2000. Inactivation of *Listeria monocytogenes* by high hydrostatic pressure: effects and interactions of treatment variables studied by analysis of variance. *Food Microbiol*. **17**:375-382.
46. **Ryu J H., and B. L. R.** 1999. Changes in heat tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 after to acidic environments. *Food Microbiology*. **16**:317-324.
47. **Salgado-Mancha J., Jaramillo-Arango C., F. Nuñez-Espinosa J., and M.-M. P.** 1999. *Salmonella* spp en tres tipos de chorizos, como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control (HACCP), en una empacadora de la ciudad de México. *Veterinaria México*. **30**:157-165.
48. **Sharpe A. N., and J. A. K.** 1972. Stomaching: a new concept in bacteriological sample preparation. *Appl Microbiol*. **24**:175-178.
49. **Silliker, J. H., and D. A. Gabis** 1975. A cellulose Sponge Sampling Technique for Surfaces. *Milk Food Technol*. **38**:504.
50. **Sinde, E., E, and C. J.** 2000. Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiol*. **17**:439-447.
51. **Souness, R.** 2000. HACCP in Australian food control. *Food Control*. **11**:353-357.
52. **Spencer J. F. T., and R. A. L.** 1999. Methods in biotechnology, Totowa New Jersey. *Food microbiology protocols*. **1**:131.
53. **Stolfa P., Stringfellow D., and G. E. S.** 2000. HACCP development and regulatory assessment in the United States of America John Kvenberg. *Food Control*.:11.

54. **Tanner, B.** 2000. Independent assessment by third-party certification bodies. *Food Control*. **11**:415-417.
55. **Tompkin, R. B.** 2001. Interactions between government and industry food safety activities. *Food Control*. **12**:203-207.
56. **Tortorello M L., and R. K. F.** 2000. Direct enumeration of *Escherichia coli* and enteric bacteria in water, beverages and sprouts by 16S rRNA in situ hybridization. *Food Microbiol*. **17**:305-313.
57. **Vaqueiro, G. C.** 2000. Las Enfermedades Emergentes Transmitidas por Alimentos. *Cuadernos de Nutrición*. **23**:5,509-517.
58. **Vásquez-Arroyo J., and C.-M. A.** 2001. La inocuidad alimentaria, realidad y reto mundial. *Nutrición Alimentación y Agricultura*. En prensa. FAO. 4-15.
59. **Velázquez, M., R. Tatini, and J. M. Feirtag** 2000. Evaluation of a two-step protocol for rapid detection of *Salmonella* in ice cream and cheddar cheese. *Food Microbiol*. **17**:349-359.
60. **Vialette, M. C., and A. Lebert** 2000. Growth of *Listeria monocytogenes* as a function of dynamic environment at 10°C and accuracy of growth predictions with available models. *Food Microbiol*. **17**:83-92.
61. **Vidaurri, D. E., and K. H. M.** 1998. Hacia la recomendación sanitaria de la venta de alimentos en la vía pública. *Cuadernos De Nutrición*. **21**:3,30-46.
62. **Zárate C. E., and G. J. R.** 1994. Aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la industria del hielo. Secretaría de Salud, México.