



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS
EN ÁREAS DE SACRIFICIO Y ÁREAS DE VENTA Y EN
CARNE DE RES, EN CÁRDENAS, TABASCO**

LUIS FERNANDO MENDOZA SALAZAR

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2021

La presente tesis, titulada **IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ÁREAS DE SACRIFICIO Y ÁREAS DE VENTA Y CARNE DE RES, EN CÁRDENAS, TABASCO**, realizada por el alumno **LUIS FERNANDO MENDOZA SALAZAR**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

DR. JUAN MANUEL ZALDÍVAR CRUZ.

ASESOR

DR. HILARIO BECERRIL HERNÁNDEZ.

ASESOR

DR. LUIS MANUEL VARGAS VILLAMIL.

ASESOR

DR. JOSÉ HUMBERTO CAMAAL
VELÁZQUEZ.

H. CÁRDENAS TABASCO, MÉXICO, DICIEMBRE DEL 2021

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ÁREAS DE SACRIFICIO Y ÁREAS DE VENTA Y EN CARNE DE RES EN CÁRDENAS TABASCO

LUIS FERNANDO MENDOZA SALAZAR, M.C

Colegio de Posgraduados 2021

RESUMEN

Objetivo: Identificar la presencia de microorganismos patógenos en el área de sacrificio, venta y en la carne de carnes de res destinadas al consumo humano, mediante técnicas de microbiológicas estipuladas en la NOM-210-SSA1-2014, en un municipio del estado de Tabasco, México.

Materiales y método: Se realizó una lista de verificación basado en el sistema HACCP identificar posibles fuentes y peligros en los establecimientos dedicados al expendio de carne de res la cual comprendió los componentes de sacrificio y transporte de la carne, correspondiente al rastro municipal. El componente de beneficio estuvo constituido por carnicerías locales pertenecientes a la unión de ganaderos del municipio de Cárdenas. Para la selección de los puntos de muestreo se realizó mediante un diseño completamente al azar, tomando en cuenta únicamente las carnicerías registradas en el padrón municipal en el que encuentran registradas 68 carnicerías de las cuales se seleccionó el 20% obteniendo un total de 14 carnicerías

Resultados y discusión: Con la implementación de la lista de verificación se identificaron posibles fuentes de contaminación en los puntos de venta de carne de res. Se detectó presencia de microorganismos patógenos en superficies, carne y agua en las carnicerías en la zona urbana de Cárdenas

Palabras clave: HACCP, Inocuidad, Patógenos

ABSTRACT

Objective: To identify the presence of pathogenic microorganisms in the area of slaughter, butchers and beef for human consumption, using microbiological techniques of the NOM-210-SSSA1-2014, in a municipality in the state of Tabasco, Mexico.

Materials and methods: A checklist based on the HACCP system identified possible sources and hazards in butchers, including slaughter and transport of the meat, corresponding to the municipal trail. The profit component consisted of local butchers belonging to the livestock union of the municipality of Cárdenas. The sampling points were selected using a completely random design, taking into account only the butchers registered in the municipal register where 68 butchers are registered, of which 20% were selected, obtaining a total of 14 butchers.

Results and discussion: With the implementation of the checklist, possible sources of contamination were identified at butchers. Pathogenic microorganisms were detected on surfaces, meat and water in butchers in the urban area of Cárdenas, Tabasco, Mexico.

Keywords: HACCP, Safety, Pathogens

DEDICATORIAS

A Dios, que con su bendición me ha dado la salud y fortaleza para no rendirme y seguir adelante y me ha permitido finalizar esta etapa de mi vida.

A mi madre Carmelita Salazar Jiménez, por darme la vida e inculcarme los valores que ahora poseo, por todo el amor que a lo largo de mi existencia he recibido, por exigirme a dar siempre lo mejor de mí y haberme apoyado en los momentos más difíciles, ya que sin su amor y comprensión no hubiera podido salir adelante y lograr lo que en estos momentos soy. Por todo lo que me has dado solo te puedo decir...Gracias.

A mi querida esposa Graciela Jerónimo Junco, por su comprensión y paciencia, por impulsarme a conseguir otra meta de mi vida.

A mis hijos que me enorgullecen Luis Fernando Mendoza Jerónimo y Jade Yatzil Mendoza Jerónimo y que con su llegada a mi vida llenaron de luz mis días; espero que este trabajo algún día les sirva de inspiración para lograr sus sueños

A mis hermanos, Víctor, Benigno y Guadalupe con mucho cariño para ustedes por estar conmigo en todo momento compartiendo cada uno de mis logros.

Con mucho cariño para ustedes

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado para realizar mis estudios de nivel Maestría.

Al Dr. Juan Manuel Zaldívar Cruz por su dedicación y paciencia que siempre tuvo conmigo en los buenos y malos momentos, por ayudarme a concluir un objetivo más de mi vida.

Al Dr. Hilario Becerril Hernández, por su apoyo, consejos, disposición de tiempo y facilidades otorgadas para realizar este proyecto de investigación.

A mis asesores por su apoyo guía y sugerencias durante el desarrollo de la presente investigación

A todos los profesores del Campus Tabasco que contribuyeron con su tiempo para fortalecer mi formación académica durante los cursos adquiridos en la maestría.

A mis colegas y amigos, del Campus Tabasco por los momentos tristes y alegres, por apoyarme, por estar siempre ahí.

CONTENIDO

RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
LISTA DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE CUADROS	5
DISCUSIÓN	6
CAPITULO I	7
1 .1 INTRODUCCIÓN GENERAL	7
1.2 Planteamiento del problema	8
1.3 Objetivos específicos	9
1.4 Hipótesis	9
1.5 MATERIALES Y MÉTODOS	10
1.5.1 Área de Estudio.....	10
1.5.2 Unidad de análisis	10
1.6 BIBLIOGRAFÍA	10
CAPÍTULO II	13
DIAGNÓSTICO SANITARIO DE LAS ÁREAS DE SACRIFICIO Y VENTA Y CARNE DE RES EN UN MUNICIPIO DE TABASCO.....	13
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
2.1 INTRODUCCIÓN	16
2.1.1 ETAs	19
2.1.2 Inocuidad de los alimentos	19
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.2.1 Área de Estudio.....	20
2.2.2 Unidad de análisis	20
2.2.3 Aplicación de los principios del sistema	20
2.2.4 Entrevistas	22
2.2.4 Observación de procesos	22
2.2.5 Revisión de información documental disponible	22
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
2.4 CONCLUSIONES	26

2.5 REFERENCIAS.....	27
CAPITULO III	31
“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ÁREAS DE VENTA Y ÁREAS DE SACRIFICIO Y CARNE DE RES EN CÁRDENAS TABASCO”	31
Resumen.....	32
ABSTRACT	33
3.1 INTRODUCCIÓN	34
3.1.1 Inocuidad de los alimentos	34
3.2 Materiales y Métodos	35
3.2.1 Toma de muestras	35
3.2.2 Procedimiento analítico.....	36
3.2.3 Salmonella spp.....	36
3.2.4 Listeria monocytogenes.....	38
3.2.4.1 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.....	38
3.2.5 Escherichia coli.....	43
3.2.5.1 Procedimiento Analítico	43
3.3 Resultados	45
3.4 DISCUSIÓN.	54
3.5 Literatura Citada.....	57

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO II

FIGURA 1. TIPOS DE PISO EN LOS PUNTOS DE VENTA.....	23
FIGURA 2. TIPOS DE PAREDES EN LOS PUNTOS DE VENTANA.....	24
FIGURA 3. MOSTRADORES REFRIGERADORES.....	24
FIGURA 4. PROCEDENCIA DE AGUA USADA EN LOS ESTABLECIMIENTOS.....	25
FIGURA 5. CONTENEDORES DE RESIDUOS.....	25
FIGURA 6. ÁREA DE LIMPIEZA DEL TRABAJADOR.....	26

LISTA DE FOTOS

CAPITULO III

FOTO 1. PRUEBAS ADICIONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>. PANEL A. POSITIVO PARA LA REACCIÓN DE CATALASA. PANEL B. POSITIVO PARA RAMNOSA Y XILOSA.	51
FOTO 2. PANEL A. COLONIAS PRESUNTIVAS. PANEL B. POSITIVO PARA LA PRUEBA DE INDOL.	53

ÍNDICE DE CUADROS

CAPITULO III

CUADRO 1. CRECIMIENTO BACTERIANO EN AGARES SELECTIVOS PARA MUESTRAS DE AGUA.	46
CUADRO 2. CRECIMIENTO BACTERIANO EN AGARES SELECTIVOS PARA MUESTRAS DE CARNE.	47
CUADRO 3. CRECIMIENTO BACTERIANO EN AGARES SELECTIVOS PARA MUESTRAS DE SUPERFICIE.	48
CUADRO 4. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA <i>SALMONELLA SPP.</i>	49
CUADRO 5. PRESENCIA DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> EN MUESTRAS DE AGUA, CARNE Y SUPERFICIES DE LAS CARNICERÍAS DE LA CIUDAD DE CÁRDENAS, TABASCO.....	50
CUADRO 6. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS POSITIVOS DE <i>LISTERIA</i>	51
CUADRO 7. PRESENCIA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> EN MUESTRAS DE AGUA, CARNE Y SUPERFICIES DE LAS CARNICERÍAS DE LA CIUDAD DE CÁRDENAS, TABASCO.....	52
CUADRO 8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA <i>E. COLI</i>	53

LISTA DE GRAFICAS

DISCUSIÓN

GRAFICA 1. PRESENCIA DE TRES DIFERENTES BACTERIAS EN MUESTRAS DE AGUA.	55
GRAFICA 2. PRESENCIA DE TRES DIFERENTES BACTERIAS EN MUESTRAS DE CARNE.	56
GRAFICA 3. PRESENCIA DE TRES DIFERENTES BACTERIAS EN MUESTRAS DE SUPERFICIES EN CARNICERÍAS DE LA CIUDAD DE CÁRDENAS, TABASCO.	56
GRAFICA 4. MUESTRAS POSITIVAS PARA <i>E. COLI</i> , <i>SALMONELLA SPP.</i> Y <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> EN AGUA, CARNE Y SUPERFICIES DE LAS CARNICERÍAS.....	57

CAPITULO I

1 .1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Según la OMS (2015), cada año aproximadamente 600 millones las personas enferman después de consumir alimentos contaminados. Entre estas víctimas, se estima que 420.000 mueren, incluyendo 125.000 niños menores de 5 años de edad. Sin embargo, los casos de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) a menudo son influenciadas, generalmente debido a la no identificación de los síntomas o ningún síntoma comparado con microorganismos patógenos (Scallan y Ángulo, 2007) o debido a algunas enfermedades con síntomas temporales, para que la gente no requiera atención médica (MacDougall *et al.*, 2008). La seguridad es un componente crítico del desarrollo sostenible, y los problemas que ocurren en un país puede poner a otros en riesgo, porque los alimentos de proceso de globalización han mostrado un impacto significativo en la seguridad alimentaria (Scott, 2003). Este proceso de globalización se ha centrado en la producción, distribución y comercialización a gran escala y busca satisfacer las necesidades de la creciente población mundial. Una asimetría de la información en la globalización de los alimentos, sin embargo, puede conducir a fallas de mercado caracterizadas por la presencia de peligros biológicos, químicos y físicos. Para tomar decisiones legales y políticas creíbles y sostenibles, la decisión para el proceso de fabricación debe basarse en pruebas sólidas. Considerando la complejidad creciente del campo de la inocuidad de los alimentos, los enfoques para mejorar la priorización, contabilizar el total de la disponibilidad de conocimientos y la necesidad de integrar nuevos desarrollos científicos y rápidos (OMS, 2013). Las prácticas de manipulación inapropiadas pueden causar contaminación ETAs en consecuencia, menoscabando la salud del consumidor (Greig *et al.*,2007). Por lo tanto, una herramienta generalmente utilizada para asegurar la calidad higiénico sanitaria es la aplicación del modelo de conocimiento, actitudes y prácticas (Bas *et al.*, 2006; Da Cunha *et al.*, 2015).

La carne es una matriz rica en nutrientes que proporciona un entorno adecuado para la proliferación y propagación de diversos microorganismos, deteriorantes y patógenos. Dentro de estos últimos se encuentra *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*. Por otro lado, la creciente demanda de productos “similares a los

frescos” con calidad sanitaria, organoléptica y nutrimental ha impulsado el desarrollo de tecnologías alternativas con el objetivo de suplir a las tradicionales o térmicas y garantizar de esta forma lo que el consumidor solicita.

1.2 Planteamiento del problema

Las superficies en contacto con el medio ambiente albergan una variedad de microorganismos, por lo que en muchas ocasiones los contaminantes se derivan de la piel del animal, o bien, de aquellos presentes en heces. Sin embargo, se ha determinado que las carnes procesadas son más susceptibles a contaminarse con microorganismos patógenos durante las diferentes etapas de su procesamiento (Datta *et al.* 2012). La fiebre tifoidea es una infección potencialmente mortal causada por la bacteria *Salmonella typhi*. Por lo general, se propaga a través de alimentos o agua contaminados. Una vez que se comen o beben las bacterias *Salmonella typhi*, se multiplican y se propagan al torrente sanguíneo. La urbanización y el cambio climático tienen el potencial de aumentar la carga mundial de la fiebre tifoidea. Además, el aumento de la resistencia al tratamiento con antibióticos facilita la propagación de la fiebre tifoidea a través de poblaciones superpobladas en ciudades y sistemas de agua y saneamiento inadecuados y / o inundados. Estos microorganismos se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en el tracto gastrointestinal de los mamíferos domésticos y salvajes, los reptiles, las aves y los insectos (Rincón, 2011). En el estado de Tabasco se comercializan carnes de res que no cumplen con los requisitos de inocuidad (Cordova, 2018). En dicho alimento se ha encontrado la presencia de unos patógenos, pero estos solo han sido identificados por métodos microbiológicos y pruebas bioquímicas. Por lo que es necesaria su confirmación mediante técnicas moleculares.

1.3 Objetivos específicos

- Conocer las operaciones involucradas en la obtención de carne, mediante la aplicación de la NOM 194- SSA1- 2004. (Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio), Y La NOM-251-SSA1-2009. (Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios).

- Aislar bacterias en las diferentes etapas de procesamiento de carne de res destinadas al consumo humano mediante técnicas microbiológicas.

- Identificar colonias presuntivas de microorganismos en las muestras de las diferentes etapas de procesamiento (sacrificio, y comercialización) de carne de res destinadas al consumo humano, mediante reacciones bioquímicas.

- Confirmar la presencia de microorganismos en las muestras de las diferentes etapas de procesamiento de carne de res destinadas al consumo humano mediante reacciones bioquímicas.

1.4 Hipótesis

La determinación de microorganismos por técnicas de biología molecular agilizará los métodos para identificar la calidad de la carne de res para consumo humano.

1.5 MATERIALES Y MÉTODOS

1.5.1 Área de Estudio

Carnicerías y Rastros de la Ciudad de H. Cárdenas, Tabasco, México

1.5.2 Unidad de análisis

La unidad de análisis en la sección de prebeneficio comprendió los componentes de sacrificio y transporte de la carne, correspondiente al rastro municipal. El componente de beneficio estuvo constituido por carnicerías locales pertenecientes a la unión de ganaderos del municipio de Cárdenas Tabasco.

En primera instancia se realizó una lista de verificación basado en el sistema HACCP el cual consiste en 7 principios para identificar posibles fuentes y peligros en los establecimientos dedicados al expendio de carne de res.

1.6 BIBLIOGRAFÍA

- 1) Bas M, Ersun A. S, & Kivanç G (2006). The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers in food businesses in Turkey. *Food Control*, 17: 317–322
- 2) Da Cunha D. T, Braga A. R. C, Passos E. C, Stedefeldt, E, & De Rosso, V. V. (2015). The existence of optimistic bias about foodborne disease by food handlers and its association with training participation and food safety performance. *Food Research International*, 75: 27–33

- 3) Datta S. A. Akter I, Shah K, Fatema T, Islam A, Bandiopadhyay Z, Khan D, Biswasl (2012). Microbiological quality Assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated Staphylococcus aureus. Agriculture, Food and Analytical Bacteriology 2: 187-194.
- 4) Greig J. D, Todd E. C. D, Bartleson C. A, & Michaels, B. S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 1. Description of the problem, methods, and agents involved. Journal of Food Protection, 70: 1752–1761.
- 5) MacDougall L, Majowicz S, Doré K, Flint J, Thomas K, Kovacs S, & Sockett P (2008). Under-reporting of infectious gastrointestinal illness in British Columbia, Canada: Who is counted in provincial communicable disease statistics? Epidemiology and Infection, 136: 248–256.
- 6) Organización Mundial de la Salud, (2016) Enfermedades de transmisión alimentaria.
http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/
Consultado: 30/8/2018.
- 7) Organización Mundial de la Salud, (2016) Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria.
http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/es/
Consultado: 1/9/2018.
- 8) Organización Mundial de la Salud, (2013) Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria.
http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fergreport/es/
Consultado: 12/10/2018.

- 9) Scallan E, & Ângulo F. J (2007). Surveillance for foodborne diseases. In N. M. M'ikanatha, R. Lynfield, C. A. V. Beneden, & H. Valk (Eds.), *Infectious disease surveillance* (pp. 57–70). New Jersey: Blackwell Publishing.
- 10) Scott E (2003). Food safety and foodborne disease in 21st century homes. *Canadian Journal of Infectious Disease and Medical Microbiology*, 14: 277–280.
- 11) Rincón D. P., Ramírez R. Y., Vargas, J. C. (2011). Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Rev. la Univ. Ind. Santander. Salud.* 43: 167–177.

CAPÍTULO II

DIAGNÓSTICO SANITARIO DE LAS ÁREAS DE SACRIFICIO Y VENTA Y CARNE DE RES EN UN MUNICIPIO DE TABASCO

Luis Fernando Mendoza Salazar¹; Hilario Becerril Hernández¹; Juan Manuel Zaldívar Cruz^{1*}

1.Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. Km. 3.5 Periférico Carlos A. Molina S/N. H. Cárdenas, Tabasco. CP 86500. México.

*Autor de Correspondencia: Zaldivar@colpos.mx

RESUMEN

Objetivo: Analizar la situación actual de los procesos sanitarios para el comercio al por menor de la carne Bovina en H. Cárdenas, Tabasco.

Diseño/metodología/aproximación: Se aplicaron entrevistas con un diseño completamente al azar, a los comercios que expenden la carne de bovino considerando elementos de sanidad en todos los niveles, hasta el mostrador de este producto. Los resultados se compararon en su seguimiento la NOM-251-SSA-2009.

Resultados: Existen problemas sanitarios en todos los niveles de la cadena de carne bovina para consumo humano, el 14.3% de los establecimientos entrevistados no cuenta con un piso sanitario, el 42.1% no cuenta con paredes con material autorizado para este tipo de expendios, el 71% no cuenta con mostradores refrigeradores, el 28.6% cuentan con pozo profundo para el uso de agua para uso de la sanidad general de los establecimientos y el 100% no cuentan con contenedores de residuos con tapa y el 64% no utiliza. Bolsas plásticas para el retiro de estos.

Hallazgos/conclusiones: Implementación del sistema HACCP en todo el proceso desde el origen de la carne hasta la sección de beneficio y mostrador al consumidor.

Palabras clave: ETA'S, Salmonella, Inocuidad, HACCP

ABSTRACT

Objective: To analyze the current situation of the sanitary processes for the retail trade of Bovine meat in H. Cardenas, Tabasco.

Design / methodology / approach: Interviews with a completely random design were applied to the businesses that sell beef, considering elements of health at all levels, up to the counter of this product. The results were compared in its follow-up to NOM-251-SSA-2009.

Results: There are sanitary problems at all levels of the chain of beef for human consumption, 14.3% of the establishments interviewed do not have a sanitary floor, 42.1% do not have walls with authorized material for this type of outlets, the 71% do not have refrigerating counters, 28.6% have a deep well for the use of water for general sanitation in the establishments and 100% do not have lidded waste containers and 64% do not use. Plastic bags for the removal of these.

Limitations of the study / implications: There was no access to more establishments due to doubts about their involvement.

Findings / conclusions: Implementation of the HACCP system throughout the process from the origin of the meat to the benefit section and counter to the consumer.

Keywords: ETA´S, Salmonella, Safety, HACCP

2.1 INTRODUCCIÓN

Debido a numerosas enfermedades y a otros agentes contaminantes que se pueden dar en la carne de bovino y que se derivan de una infección intravital en el animal o de una contaminación secundaria por los seres humanos o el medio ambiente, resulta esencial establecer un proceso de manejo de la sanidad en la carne a lo largo de todas las etapas de producción hasta su venta final (Guzmán & Rubio, 2020). Este proceso de inocuidad debe comenzar donde tiene su origen en la cría del ganado hasta su procesamiento en los rastros ganaderos, su elaboración y distribución final a través de las carnicerías locales y supermercados al consumidor final (Feliciano, Díaz, & Terán, 2018). De ello se deduce que una parte esencial de este proceso de sanidad es la necesidad de establecer un estricto control de la manipulación y condiciones ambientales en todas las etapas del proceso. Este control, debido a la susceptibilidad de la carne a la contaminación microbiológica a partir del aire, las manos de los trabajadores, el equipo y la ropa, etc., debe intensificarse en atmósferas cálidas y húmedas o contaminadas y abarcar la temperatura y la humedad.

Este factor adquiere también mayor importancia y alcance con el aumento de la producción. Por consiguiente, independientemente de otros factores como la economía de la producción, la utilidad o la estética, el diseño del matadero debe siempre satisfacer las exigencias de higiene prescritas por el país respectivo. Los principios generales del diseño deben atenerse a los siguientes parámetros.

- Consideraciones humanas en el sacrificio de animales;
- Elaboración y almacenamiento higiénicos de la carne y los subproductos comestibles;
- Recuperación de subproductos no comestibles;

- Esparcimiento y recreo de los empleados.
- Instalaciones para el ganado

Aparte de las consideraciones humanas anteriores a la matanza, el cuidado del ganado afecta el estado y la calidad de mantenimiento de la carne de las reses muertas y, se considera como una exigencia legal esencial e invariable, que la empresa, dependencia municipal, o persona encargada de preparar la carne de bovino para el comercio al detalle en las zonas de mercadeo local, antes de su sacrificio y después del traslado del animal desde el área ganadera hasta el área de sacrificio, considerando que el traslado impacta las condiciones fisiológicas del animal por el estrés del traslado (Miranda-de la Lama, 2013), lo que disminuye la calidad de carne, debiendo tener un área cubierta o no cubierta para que los animales, al llegar al lugar de proceso, pueda disminuir su estado de estrés para su posterior sacrificio (FAO, 2009; NOM, 2004).

En México existen muchas variantes en las condiciones sanitarias de la carne de res; estas condiciones son dependientes del desarrollo económico de la industria en las diversas regiones geográficas del país. La región norte de México, que incluye los estados de Chihuahua y Nuevo León, ha mostrado tener un gran desarrollo económico e industrial en comparación con los estados localizados en el centro y sur. Este desarrollo ha tenido como consecuencia un impacto en las condiciones higiénicas de los rastros y de los puntos de venta y, por lo tanto, en la presencia y desarrollo de patógenos en la carne.

La carne, (principalmente la cruda), además de ser altamente susceptible a deterioro, también puede constituir un vehículo para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare *et al.*, 2007). Durante el sacrificio y procesamiento, todos los tejidos potencialmente comestibles pueden estar sujetos a contaminación por

diversas fuentes, ya sea interna o externa al animal. En animales vivos, las superficies en contacto con el medio ambiente albergan diversos microorganismos, por lo que en muchas ocasiones los contaminantes que derivan de la piel del animal, o directamente de sus heces. Sin embargo, se ha determinado que las carnes procesadas son más susceptibles a contaminarse con microorganismos patógenos durante las diferentes etapas de su procesamiento (Datta et al., 2012). En México, se ha informado con anterioridad de la presencia de bacterias como: *Listeria*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Staphylococcus*, entre otros agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, en donde la carne y sus derivados actúan como vehículos potenciales para la transmisión de estos patógenos (Castañeda et al., 2001; Estrada et al., 2001; Rivera et al., 2004). Estos microorganismos se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en el tracto gastrointestinal de los mamíferos domésticos y salvajes, los reptiles, las aves y los insectos (Rincon et al., 2011). Se ha encontrado que algunos de los patógenos presentes en carne (por ejemplo *Campylobacter spp* y *Salmonella spp*) pueden ser más eficientemente controlados por los principales procesos de intervención aplicados en la producción primaria combinados con la optimización de la higiene durante el sacrificio del animal (Narrung et al., 2009). De acuerdo a los registros del Sistema de Notificación de Casos Nuevos de Enfermedades del año 2013 y la Población General en donde se obtienen las tasas de incidencia por cada 100 000 habitantes se reporta que de las cinco principales causas de morbilidad en México, en segundo lugar están las infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas con 4 473.28 casos; en Tabasco estas también ocupan el segundo lugar dentro de las causas de morbilidad con 4 809.09 casos (Romero, 2014).

2.1.1 ETAs

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen el problema de salud pública más extendido en el mundo actual y, al mismo tiempo, una de las razones que influyen negativamente en la economía de países y empresas por afectaciones en la productividad (WHO, 2012) también la familiar, por concepto de ingresos hospitalarios y tratamientos (Osterholm, 2011; Ritter, A.C. y Tondo, E.C., 2014). Para tratar de determinar la calidad microbiológica de la carne en los rastros, frecuentemente se utiliza la búsqueda y cuantificación de microorganismos indicadores, los cuales, aunque pueden no ser patógenos, su presencia indica la probabilidad de que también pueden estar presentes microorganismos patógenos (Wollffs, P. y Radstrom, P., 2006).

2.1.2 Inocuidad de los alimentos

Es de suma importancia, para lograr un control adecuado de microorganismos, deteriorantes y patógenos, la higiene, así como el conocimiento de aquellos factores que pudieran permitir el establecimiento o desarrollo de los microorganismos. Se han desarrollado métodos no térmicos de control o preservación que han sido efectivos, tales como altas presiones hidrostáticas, radiación, uso de compuestos naturales, empaques activos e inteligentes, pulsos eléctricos de alta intensidad, campos magnéticos oscilantes, ultrasonido, entre otros (Chen *et al*, 2012).

Se tiene que asegurar que el producto final del proceso de obtención de la carne a consumir dará como resultado, un producto inocuo, es decir, “que no cause daño” a la salud de los consumidores. Ya que en la actualidad los mercados nacional e internacional demandan que los alimentos de origen cárnico no causen daño a la salud, por ello es de suma importancia establecer políticas y acciones que aseguren la

inocuidad de los alimentos que garanticen su calidad higiénica para el beneficio de los consumidores. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar las condiciones en la que se encuentran los establecimientos dedicados al sacrificio de ganado vacuno; al igual que los establecimientos dedicados a la comercialización de carne de bovino destinada al consumo humano en el municipio de Cárdenas, del Estado de Tabasco, México.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Área de Estudio

Carnicerías y Rastros de la Ciudad de H. Cárdenas, Tabasco, México

2.2.2 Unidad de análisis

La unidad de análisis en la sección de prebeneficio comprendió los componentes de sacrificio y transporte de la carne, correspondiente al rastro municipal. El componente de beneficio estuvo constituido por carnicerías locales pertenecientes a la unión de ganaderos del municipio de Cárdenas Tabasco.

En primera instancia se realizó una lista de verificación basado en el sistema HACCP el cual consiste en 7 principios para identificar posibles fuentes y peligros en los establecimientos dedicados al expendio de carne de res.

2.2.3 Aplicación de los principios del sistema

Se identificaron los peligros, cada unidad de análisis fue sometida a estudio para la identificación de los peligros biológicos, físicos y químicos de cualquier fuente que pudieran estar contaminando, el producto o sus equipos y materias primas, que tuvieran la oportunidad de alcanzar niveles peligrosos y prevalecer hasta la llegada al consumidor final.

El sistema HACCP comprende los siguientes siete principios (Pierson, 1995; Perfetti, 1996; Puerta y Escobar, 1995)

Principio 1.

Análisis de peligros asociados a lo largo de todas las etapas que el alimento sufra hasta llegar al consumidor final.

Principio 2.

Determinación de los puntos críticos de control (PCC) para controlar los peligros identificados, estos deben establecerse donde pueda efectuarse control y que de no efectuarse este puede implicar un riesgo sanitario inaceptable. Los PCC estarán localizados en cualquier etapa del proceso, donde los agentes biológicos, químicos o físicos deben ser destruidos (PCC 1) o minimizados (PCC 2).

Principio 3.

Establecimiento de los límites críticos (rangos o tolerancias) requeridos para asegurar que un PCC sea controlado.

Principio 4.

Establecimiento de procedimientos de monitorización de los PCC. Es la observación sistemática de un PCC y sus LC, es decir, la comprobación práctica de que los LC están bajo control.

Principio 5.

Establecimiento de las medidas correctivas que se deban tomar cuando se detecta una desviación durante el monitoreo de los LC en los PCC.

Principio 6.

Establecimiento de un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y registros y su aplicación, y que a su vez documenten el plan HACCP.

Principio 7.

Establecimiento de los procedimientos de verificación (aplicación de métodos para determinar el cumplimiento del plan HACCP) y validación (obtención de evidencia de que los elementos del Plan son efectivos) para confirmar que el sistema HACCP funciona eficazmente.

2.2.4 Entrevistas

Entrevistas y conversaciones con preguntas cerradas, flexibles y taxativas a personas responsables del nivel administrativo y operativo que permitieron conocer detalles acerca de procedimientos, manejo de materias primas y productos. También que permitan confrontar los niveles de conocimiento y de responsabilidad con la que se asumen las labores de la producción.

2.2.4 Observación de procesos

Para la elaboración del diagrama de flujo del proceso y sus etapas de producción, se lleva a cabo observaciones de las actividades y procedimientos realizados rutinariamente.

Previamente a la observación, se generan diagramas de flujo teóricos en los cuales se contempla toda la secuencia de etapas consideradas como parte del proceso. Posteriormente, los diagramas de flujo teóricos se verifican y comparan con los hallazgos y la información obtenida por medio de la observación de campo, con lo cual se ajustan a las condiciones reales del proceso.

2.2.5 Revisión de información documental disponible.

Se revisaran las fuentes de datos disponibles recopiladas por cualquier medio que

dieran las etapas que siempre se realizan en el proceso: inventarios, registros productivos y reproductivos, mapas, programas de computador y libretas de notas.

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos de las entrevistas realizadas para la captación de la información fueron procesados a través de una base de datos aplicándose herramientas básicas de estadística obteniéndose las siguientes gráficas:

En las Figuras 1 y 2, se observa la construcción de los establecimientos, específicamente en lo que son los pisos y paredes, áreas en donde si no se tiene una construcción detallada, puede ser almacén y fuente de microorganismos. En la figura 1. Se observa que 7.1% de los locales cuentan con pisos de cemento rustico y otro 7.2% con cemento pulido.

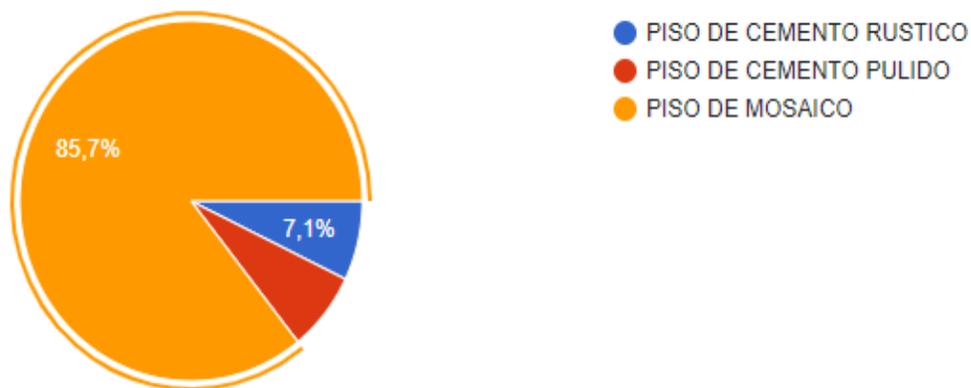


Figura 1. Tipos de piso en los puntos de venta.

En la Figura 2 se muestran las diferentes condiciones en las que se encuentran las paredes, de las cuales el 57.1% cumple con las condiciones especificadas en la norma.

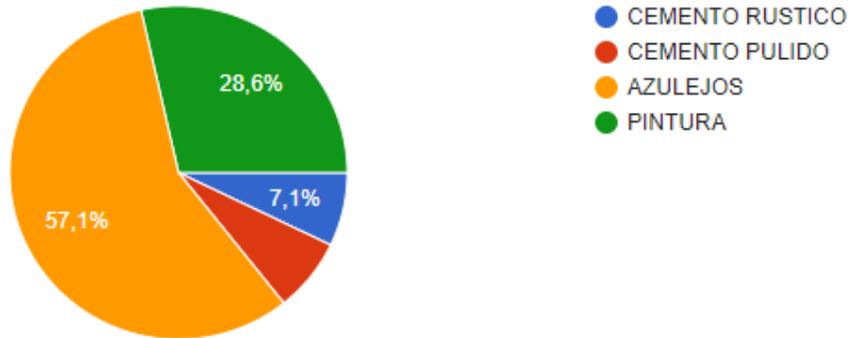


Figura 2. Tipos de paredes en los puntos de ventana

En la Figura 3 se observa que 10 de los 14 establecimientos no cuentan con sus mostradores refrigerados, siendo apenas de 4 de ellos que controlan la temperatura de sus productos.

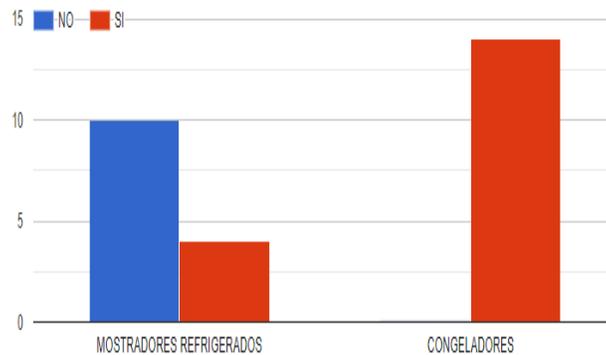


Figura 3. Mostradores refrigeradores

La Figura 4 Muestra las fuentes identificadas de agua usada en los puntos de venta de carne de res de las cuales por falta del vital líquido, el 28.6% cuenta con pozo profundo de los cuales no sobrepasan los 15 metros de profundidad anuado a esto muchos mantienen el agua en galones sin tapa y expuestos a la intemperie.

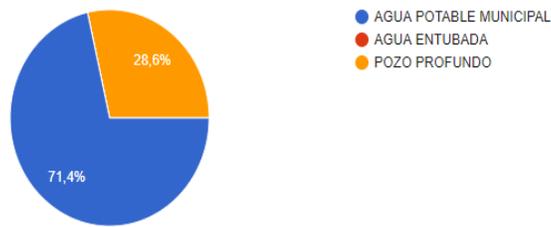


Figura 4. Procedencia de agua usada en los establecimientos

Punto crítico de los contenedores de residuos de los cuales el 100% no cuenta con contenedores con tapa y de los cuales 9 de los 14 no procura el uso de bolsas plásticas.

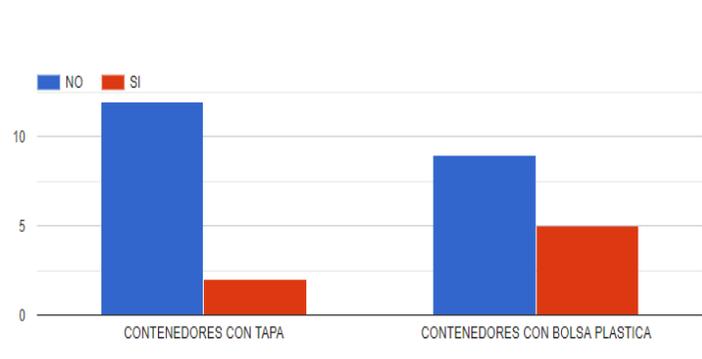


Figura 5. Contenedores de residuos

En la Figura 6 se tiene el reporte de las áreas de limpieza de cada establecimiento muestreado. En forma general aquí se calcula la estimación del riesgo microbiológico, para el producto y para su consumo, ya que en su mayoría no cuenta con gel antibacterial

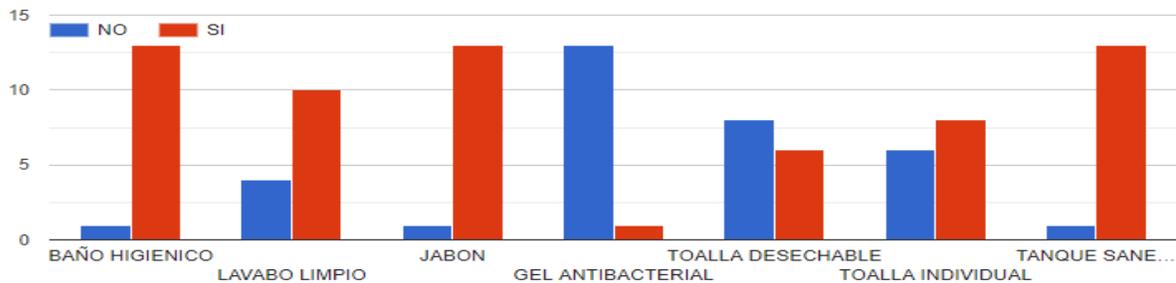


Figura 6. Área de limpieza del trabajador

La aplicación de la “Lista de Verificación de cumplimiento” permitió la identificación y representación del proceso y sus etapas constitutivas (véanse Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7), igualmente arrojó la identificación de los peligros y algunas medidas preventivas para cada peligro instauradas o sugeridas en las carnicerías o en el rastreo.

2.4 CONCLUSIONES

El diseño de la “Lista de Verificación de cumplimiento” para el proceso de producción de carne bovina y para su consumo representa un componente importante en la gestión del aseguramiento de la inocuidad de la carne y por consiguiente de la protección de la salud de los consumidores. De acuerdo a esta conclusión, se recomienda la implementación del sistema HACCP para el proceso de producción que inicia en las empresas ganaderas que posteriormente dan origen a la carne en la sección de beneficio.

Para implementar el sistema HACCP, es necesario contar con el diseño, documentación e implementación de prerrequisitos como dentro de las cuales es prioritaria la utilización adecuada de plaguicidas y medicamentos veterinarios, y las BPM, que deben incluir los planes y programas prioritarios: plan de saneamiento,

(programa de limpieza y desinfección, programa de control de plagas y roedores, programa de manejo y disposición de residuos sólidos y líquidos) y un plan de capacitación. Sobre este aspecto se recomienda que se implementen los procesos de diseño e implementación de los planes y programas enmarcados dentro de las BPA y las BPM.

2.5 REFERENCIAS

- Bhandare, S. S. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 854-858.
- Bhandare, S.G., Sherikar, A., Paturkar, A., Waskar, V., Zende, R., (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control* 18: 854-858.
- Castaneda, PE., Diaz, AE., Hernandez, AL., Jaramillo, ACJ. (2001). Identification and typing of *Yersinia enterocolitica* biotypes and serotypes isolated. *Rev Saude Publica*;35: 380- 384.
- Chen, J., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W.S., Yuk, H.G. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11: 119-132.
- Datta, S., Akter, A., Shan, I., Fatema, K., Islam, T., Bandiopadhyay, A., Khan, Z., Biswasl, D. (2012). Microbiological quality Assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated *Staphylococcus aureus*. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology* 2: 187-194.
- Estrada, GT., López, SC., Zamarripa, AB., Thompson, MR., Gutiérrez, CL., Mancera, MA., Escobar, GA. (2004). Prevalence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in

street-vended food of open markets (tianguis) and general hygienic and trading practices in Mexico City. *Epidemiol Infect.* 132: 1181-1184.

FAO (2009) Estructura y funcionamiento de mataderos medianos en países en desarrollo <http://www.fao.org/3/i0680s/i0680S.pdf> Consultado 5/5/2019

FAO (2016). Consumo de Carne

Feliciano, G., Díaz, M., & Terán, O. (2018). Comercialización de cecina en Tepetlixpa, Estado de México. *REVISTA GESTION*, 3(2), 81-92.

Guzmán, R. J., & Rubio, L. (1 de 11 de 2020). Prácticas actuales que amenazan la inocuidad de la carne de bovino en México. *Nacameh*, 14(2), 79-98.

<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html> Consultado: 2/9/2018

Miranda-de la Lama, G. C. (2013). Transporte y logística pre-sacrificio: principios y tendencias en bienestar animal y su relación con la calidad de la carne. *Veterinaria México*, 31-56.

Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.

https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=661587&fecha=18/09/2004

Consultado 25/11/21

Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>.

Consultado 25/11/21

- Norrung, B., Andersen, J.K., Buncic, S. (2009). Main concerns of pathogenic microorganisms in meat. En: Safety of meat and processed meat, pp. 3-29: Springer
- Osterholm, MT. (2011). Foodborne Disease in 2011.The Rest of the Story. N Engl J Med; 364:889-891.
- Perfetti, J. J. Nuevas tendencias en la comercialización de productos cárnicos: de la tradicional inspección al aseguramiento de la calidad En: ACP, FNP Memorias del VIII congreso nacional de porcicultura, Medellín, Colombia, noviembre 1996 p. 65-74
- Pierson, M. An Overview of HACCP and its application to animal production food safety. En: Proceedings of the National Symposium in Association with the 75th Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases, Chicago, 1995.
- Podpecan, B., Pengov, A., Vadjal, S. (2007). The source of contamination of ground meat for production of meat products with bacteria Staphylococcus aureus. Slovenian Veterinary Research. 44: 25-30.
- Puerta, H., Escobar, MB. Contaminación y ecología microbiana de los alimentos. En: Facultad Nacional de Salud Pública. Memorias Seminario-Taller protección de alimentos por medio del sistema HACCP, Medellín, Colombia 1995; 61p.
- RAE (2016). Inocuo <https://www.rae.es/dpd/inocua> Consultado: 23/8/2018
- Rincón, D.P., Ramírez, R.Y., Vargas, J.C. (2011). Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Rev. la Univ. Ind. Santander. Salud. 43: 167–177.

- Ritter, A.C., Tondo, E.C. (2014). Foodborne illnesses in Brazil: control measures for 2014 FIFA World Cup travellers. Review Article. *J Infect Dev Ctries*; 8: 254-257.
- Rivera, B.M., Shackelford, S.D., Arthur, T.M., Westmoreland, K.E., Bellinger, G., Rossman, M., Reagan, J.O., Koohmaraie, M. (2004). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J Food Prot*; 67: 295-302.
- Romero, A. (2014). Perfil epidemiológico de salud y enfermedad en Tabasco. *Salud en Tabasco*, 20: 35-36.
- Wollffs, P., Radstrom, P. (2006). Real-time PCR for the detection of pathogens in meat. Capítulo 6, En: *Advanced Technologies for Meat Processing*, L.M.L. Nollet y F.Toldrá, Ed., Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker, 18: 131-154.
- World Health Organization. (WHO 2012). Reducing foodborne diseases by educating consumers. Geneva: World Health Organization. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/en/>. Consultado: 15/04/ 2019

CAPITULO III

“IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ÁREAS DE VENTA Y ÁREAS DE SACRIFICIO Y CARNE DE RES EN CÁRDENAS TABASCO”

¹Mendoza-Salazar LF, ¹Zaldivar-Cruz JM, ¹Becerril-Hernandez H, ¹Vargas-Villamil LM,
²Velazquez-Camaal JH.

¹Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, H. Cárdenas Tabasco México
²Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Champotón Campeche México

Resumen

Objetivo: Detectar la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *E. coli* en carne, agua y superficie, de los establecimientos dedicados a la comercialización de carne de res.

Materiales y Metodos: Se seleccionaron 13 expendios ubicados en la zona urbana y 1 rastro municipal ubicado en la zona rural del municipio de Cárdenas Tabasco. Para la toma de muestras se colectaron 250 g de carne de res, 1000 mL de agua y muestra de superficie, posteriormente fueron transportadas en condiciones de frio al Laboratorio de Alimentos del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, para su análisis según los procedimientos estipulados en la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014.

Resultados y discusión: Se evaluaron un total de 14 muestras de carne de res de los comercios y el rastro de la zona urbana del municipio de Cárdenas, Tabasco, al igual que el agua con la que hacen la limpieza de los locales y se tomaron muestrad de las superficies usando la metodología indicada en la Norma. Un alto índice del total de las muestras resultó positivo. La presencia de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *E. coli* puede deberse a un manejo inadecuado de la carne y la falta de contenedores con tapa para el almacenamiento de agua lo que indica un posible riesgo de salud para los consumidores que adquieren este tipo de producto.

Palabras clave: ETA´S, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. *E. coli*, Inocuidad

ABSTRACT

Objective: To detect the presence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *E. coli* in meat, water and surface from butchers in Cardenas, Tabasco.

Materials and Methods. We selected 13 butchers located in the urban area and 1 municipal trail located in the rural area of the municipality of Cárdenas, Tabasco. For the sampling 250 g of beef, 1000 mL of water and surface sample were collected, then transported under cold conditions to the Food Laboratory of the Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, for analysis according to the procedures stipulated in the Official Mexican Standard NOM-210-SSA1-2014.

Results and discusión. A total of 14 samples of beef from the butchers and the trail of the urban area of the municipality of Cárdenas were evaluated, as well as the water used to clean the premises and samples of the surfaces were taken using the methodology indicated in the Official Mexican Standard NOM-210-SSA1-2014. A high index of the total samples was positive. The presence of *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *E. coli* may be due to improper handling of the meat and the lack of lid containers for water storage indicating a possible health risk for consumers purchasing this type of product.

Key words: ETA S, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. *E. coli*, Food Safety

3.1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen el problema de salud pública más extendido en el mundo actual y, al mismo tiempo, una de las razones que influyen negativamente en la economía de países y empresas por afectaciones en la productividad (Ritter y Tondo 2014). En México las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública. Estas pueden ser transmitidas por alimentos o agua contaminada al igual que por vía fecal-oral. Afectando principalmente a personas inmunocomprometidas como mujeres embarazadas o niños; Los agentes patógenos involucrados son virus, parásitos y bacterias. Las bacterias de interés clínico son: *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*.

La carne es una matriz con muy buenas cualidades para el crecimiento y multiplicación de muchos microorganismos, especialmente las bacterias (Vasut *et al.*, 2009).

La carne de res es una matriz rica en nutrientes que proporciona un entorno adecuado para la proliferación y propagación de diversos microorganismos, deteriorantes y patógenos. Dentro de estos últimos se encuentra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli*. Por otro lado, la creciente demanda de productos “similares a los frescos” con calidad sanitaria, organoléptica y nutricional ha impulsado el desarrollo de tecnologías alternativas con el objetivo de suplir a las tradicionales para garantizar de esta forma lo que el consumidor solicita.

3.1.1 Inocuidad de los alimentos

La falta de salubridad en los alimentos es un problema de salud que se ha presentado para el ser humano desde los inicios de la civilización. Es por ello que la inocuidad de los alimentos debe de ser una cuestión fundamental de salud pública y un asunto de alta prioridad para todos los actores involucrados en la cadena de producción y hasta su consumo, esto es, productores, vendedores, consumidores, e incluso el gobierno. Entonces, producir alimentos inocuos, siendo éstos, carnes, frutas, verduras, u hortalizas, es un verdadero reto, ya que “la inocuidad de los alimentos está asociada a todos los riesgos, debido a la presencia en ellos de patógenos microbianos, biotoxinas y

contaminantes químicos o físicos, de allí que la obtención y garantía de la inocuidad debe de ser un objetivo no negociable” como si pudiesen serlo, el precio, o el sabor. Y puesto que todos los consumidores dan por hecho que cualquier alimento que adquieren cumple con la característica de inocuidad, se les debe asegurar el “derecho de acceder a alimentos nutricionalmente adecuados e inocuos, con garantía de que los mismos no le causarán daño a la salud.” (Arispe y Tapia 2007).

Se tiene que asegurar que, durante el proceso de obtención de la carne, se obtenga como resultado un producto inocuo, es decir, “que no cause daño” a la salud de los consumidores. (RAE 2018)

En México se han realizado estudios de enfermedades transmitidas por patógenos, por ejemplo, en el estado de Querétaro para la detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, específicamente *Salmonella* (Martínez 2016); también la determinación e identificación de microorganismos patógenos en carne fresca y carne congelada en el estado de Jalisco (Rojas y González 2006; Solis 2012). Se realizó un estudio para detección de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *Yersinia enterocolitica* en tres estados del país, uno de la cuales fue Tabasco (específicamente en la ciudad de Villahermosa), encontrándose presencia de los tres microorganismos (Rubio 2013). Siendo pocos los estudios microbiológicos realizados en los puntos donde se expende la carne que se consume en Cárdenas Tabasco, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de microorganismos patógenos en los posibles puntos de contaminación de la carne expedida en el municipio de Cárdenas.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Toma de muestras

Las muestras de carne de bovino fueron recolectadas de carnicerías locales ubicadas en el municipio de Cárdenas del estado de Tabasco. La selección de los puntos de muestreo se realizó mediante un diseño completamente al azar, tomando en cuenta únicamente las carnicerías registradas en el Padrón Municipal, en el cual se encuentran registradas 68 carnicerías. Se seleccionaron 13 expendios ubicados en la zona urbana

y 1 rastro municipal ubicado en la zona rural del municipio para la toma de muestras. Se colectaron 250 g de carne de res, 1000 mL de agua y muestra de superficie, posteriormente fueron transportadas en condiciones de frío al Laboratorio de Alimentos del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, para su análisis.

3.2.2 Procedimiento analítico

Para la identificación de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* se utilizaron los procedimientos especificados en la Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos el cual divide el procedimiento en los siguientes pasos:

3.2.3 Salmonella spp.

Para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp., se empleó el siguiente procedimiento:

Etapas de pre-enriquecimiento

Para la etapa de preenriquecimiento se pesaron en condiciones asépticas, 25 g de muestra, se agregaron 225 ml de agua peptonada amortiguada estéril y se licuó por 2 minutos y se incubó durante 24 h a 36°C.

Enriquecimiento selectivo

Para el enriquecimiento selectivo se transfirió 0.1 mL del cultivo de preenriquecimiento a un tubo con 10 mL de caldo RVS RVS (Medio de Rappaport-Vassiliadis con soya) y 1 mL a un tubo conteniendo 10 mL de caldo MKTTn (Caldo de Muller-Kauffmann tetracionato novobiocina) y se incubó durante 24 h a 36°C.

Aislamiento en medios de cultivos selectivos

El aislamiento selectivo se llevó a cabo a partir de los tubos de enriquecimiento inoculando a en tres medios de cultivo en placa, XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato), ASB (Agar Sulfito de Bismuto) y VB (Agar Verde Brillante) y se incubó por 24 h a 36°C.

Aislamiento en medios Diferenciales

Después de ese periodo, para su diferenciación, se seleccionaron al menos 1 colonia considerada como típica de cada agar selectivo y se inoculó en Agar SS (Agar Salmonella-Shigella) durante 24 h a 36°C. De estas placas se tomaron colonias consideradas como típicas para su confirmación bioquímica.

Identificación bioquímica

Para la confirmación bioquímica a partir del agar nutritivo, con un asa recta estéril se inoculó en tubos de agar inclinado de TSI (Tres Azúcares o Triple Azúcares y Hierro) y LIA (Lisina Hierro Agar). Se sembró por picadura en el fondo y estría en la superficie inclinada. Debido a que la reacción de descarboxilación de la lisina es estrictamente anaerobia, el fondo del medio de LIA, debe medir 4 cm y el bisel de al menos 2.5 cm, también se inocularon los medios MIO (Movilidad, Indol, Ornitina), (Citrato de Simons), y Caldo Urea.

Se incubaron los tubos a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$. Se dejaron los tapones flojos de los tubos para mantener condiciones de aerobiosis mientras se incuban evitando excesiva producción de H_2S . Se interpretaron los cambios de color como se describe a continuación:

Agar Triple Azúcar Hierro (TSI)

Las colonias típicas de *Salmonella spp.* producen alcalinidad (color rojo) en la parte inclinada del medio y ácido (color amarillo) en el fondo; con producción de gas y cerca del 90% de los casos producen H_2S (ennegrecimiento del agar). Cuando alguna *Salmonella spp.* lactosa positiva es aislada, el agar de TSI se torna completamente amarillo.

Agar Lisina Hierro (LIA)

En LIA, *Salmonella spp.* produce reacción alcalina (color púrpura) se consideraron como negativos los cultivos que produjeron claramente un color amarillo en el fondo del tubo. La mayoría de los cultivos de *Salmonella spp.* producen H_2S en LIA.

Todos los cultivos que dieron reacción alcalina en el fondo del medio de LIA, independientemente de la reacción que hayan dado en TSI, presuntivos de *Salmonella spp.*

Agar Caldo Urea (Urea)

Con un asa estéril se inocularon los tubos de agar caldo urea. Debido a que algunas veces los tubos de agar urea sin inocular, pueden virar a rojo púrpura (prueba positiva), debe incluirse, un tubo de este agar sin inocular como control en una prueba negativa. Para *Salmonella spp.* no se produce cambio en la coloración (amarillo anaranjado). Se incubaron a 24 h \pm 2 h a 36°C \pm 1°C.

Agar Movilidad Indol Ornitina (MIO)

Algunas bacterias poseen flagelos y otras carecen de ellos. Este medio ayuda a diferenciar las móviles de las no móviles.

3.2.2.11 Citrato de Simons:

Determina la capacidad de un microorganismo de utilizar el citrato como única fuente de carbono.

3.2.4 Listeria monocytogenes.

3.2.4.1 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.

Enriquecimiento Primario:

Al preparar la suspensión inicial, se tomaron diferentes porciones del alimento las cuales se transfirieron al Caldo Fraser medio, a fin de obtener una relación 1:10. Se Pesaron 25 g de carne y 25 mL de agua respectivamente a frascos de dilución con 225 mL del Caldo Fraser, para obtener una dilución 1:10 (masa-volumen o volumen-volumen). Incubar la suspensión inicial a 30 °C \pm 1 °C por 24h \pm 2h.

Enriquecimiento Secundario:

Posteriormente se transfirieron 0.1 mL del enriquecimiento primario, después de la incubación inicial por 24 h \pm 2 h, a un tubo conteniendo 10 mL del Caldo Fraser.

Incubar el medio inoculado a 48 h \pm 2 h a 36 °C \pm 1 °C.

Siembra en medios selectivos e identificación.

Del enriquecimiento primario, después de las 24 h \pm 2 h de incubación, se inocularon 2 placas de agar Oxford y 2 placas de PALCAM por estría cruzada.

Del enriquecimiento secundario incubado a 36 °C \pm 1 °C por 48 h \pm 2 h, inocular 2 placas con agar Oxford y 2 placas con PALCAM por estría cruzada.

Invertir las placas e incubar un juego de agar Oxford y PALCAM a 30 °C \pm 1 °C y el otro a 36 °C \pm 1 °C.

Después de la incubación por 24 h; si se observa un crecimiento pobre o si no se observan colonias; volver a incubar por 18 h a 24 h. Observar las placas para detectar la presencia de colonias presuntivas de *Listeria monocytogenes*

Colonias típicas de *Listeria monocytogenes* en agar Oxford; por lo general crecen a las 24 h se observan pequeñas (1 mm), grisáceas, rodeadas por un halo oscuro. Después de las 48 h de incubación, las colonias se tornan oscuras con posible brillo verdoso de aproximadamente 2mm de diámetro, con halos negros y centros hundidos.

Colonias típicas de *Listeria monocytogenes* en agar PALCAM; para placas incubadas en anaerobiosis dejarlas expuestas al aire por 1 h, para que recuperen su color de rosa a púrpura. Después de 24h se observa a *Listeria* spp. como colonias muy pequeñas, grisáceas o un verde olivo de aproximadamente 1.5 mm a 2 mm de diámetro, a veces con centros negros, pero siempre con halos oscuros. Después de 48 h las colonias de *Listeria* spp. se observan de color verde de aproximadamente 1.5 mm a 2 mm de diámetro, con el centro hundido y rodeadas de un halo negro.

Pruebas Auxiliares Confirmatorias de *Listeria monocytogenes*.

Selección de Colonias para su confirmación: Tomar de cada placa de agares selectivos, 5 colonias sospechosas de *Listeria* spp. Si alguna de las placas tiene menos de 5 colonias presuntivas, tomar para su confirmación todas las colonias que hayan crecido.

Aislamiento

Sembrar por estría cruzada, para obtener colonias aisladas en cajas con ASTEL. Incubar estas placas a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18h a 24h o hasta que el crecimiento sea satisfactorio (no más de 72h).

Las colonias típicas se observan de 1mm a 2mm de diámetro, convexas, incoloras y opacas con borde entero. Si no se obtiene un buen aislamiento, proceder a sembrar nuevamente otra colonia sospechosa de los medios selectivos.

Luz de Henry

Esta prueba tiene carácter informativo. Examinar las placas de ASTEL con colonias típicas, con el sistema óptico de Henry se trata de hacer incidir luz transmitida oblicuamente con una lámpara de luz blanca lo suficientemente potente como para iluminar la placa en un ángulo de 45 ° . Las colonias aparecen de color azul-gris a azul. Se recomienda el uso de cepas (positivo y negativo). La placa puede ser observada a simple vista pero es preferible el uso de un microscopio de disección o lupa.

Reacción de Catalasa

Tomar una colonia aislada y suspenderla en una gota de solución de peróxido de hidrógeno. La inmediata formación de burbujas indica una reacción positiva.

Precaución: la agitación del reactivo con la suspensión del microorganismo debe hacerse con un asa de plástico o palillo de madera estéril, evitando el contacto con el reactivo.

Tinción de Gram

Realizar la tinción de Gram a 1 colonia aislada obtenida en ASTEL, se deberán observar bacilos cortos Gram Positivos.

Prueba de Movilidad

Tomar 1 colonia aislada de ASTEL, y suspenderla en un tubo conteniendo CST con extracto de levadura. Incubar a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 8h a 24h o hasta que se observe el medio turbio. Depositar una gota de este cultivo entre un portaobjetos y cubreobjetos y examinar en el microscopio. *Listeria* spp se observa como bacilos cortos con un movimiento giratorio (trumbling). Cultivos incubados a la temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ pueden ser falsos positivos al exhibir dicho movimiento: se recomienda siempre comparar el cultivo de prueba con cepas conocidas de cocos, bacilos largos o cortos con una movilidad rápida de nado y que no es característico de *Listeria monocytogenes*.

Prueba alternativa de movilidad:

Utilizando un asa recta, inocular agar de movilidad picando 1 colonia obtenida en ASTEL. Incubar por 48h a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Examinar el crecimiento alrededor de la picadura. Debido al típico movimiento de *Listeria* spp como resultado un crecimiento característico en forma de sombrilla. Si el crecimiento no es suficiente, incubar por 5 días adicionales y observar la picadura al término de ese tiempo.

Confirmación de *L. monocytogenes*.

Prueba de hemólisis

Si las características morfológicas y fisiológicas, así como la catalasa son indicativos de *Listeria* spp, inocular una placa con agar sangre de carnero al 5% para determinar la actividad hemolítica. Las placas de agar sangre no deben presentar agua de condensación en la superficie del medio. Dibujar una cuadrícula de 20 a 25 espacios en el anverso de la placa de agar sangre de carnero al 5%. Tomar 1 colonia aislada

obtenida en ASTEL e inocular por picadura un cuadro por cada cultivo a probar. Simultáneamente utilizar cepas control positiva (*L. monocytogenes*) y negativas (*L. innocua*). Después de la incubación a $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$, examinar las cepas de prueba y los controles. *L. monocytogenes* produce una zona ligeramente clara alrededor del punto de la picadura (b-hemólisis); *L. innocua* no muestra una zona clara alrededor de la picadura. *L. ivanovii* usualmente se observa una zona ancha, clara y delimitada de b-hemólisis. Examinar las placas con una luz brillante para poder comparar las cepas de prueba con los controles.

Utilización de Carbohidratos (ramnosa y xilosa)

Utilizando una asa bacteriológica, inocular cada uno de los caldos de carbohidratos a probar usando colonias aisladas en ASTEL. Incubar a $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 5 días. Una reacción positiva se caracteriza por la producción de ácido y cambio de color a amarillo cuando se utiliza base caldo purpura de bromocresol adicionado con cada uno de los carbohidratos, que ocurre dentro de las primeras 24h a 48h, si después de 48h de incubación no se observa una reacción positiva clara, dejar incubar hasta 5 días (alternativamente pueden utilizarse sistemas de bioquímicas miniaturizadas o métodos de biología molecular).

Prueba de CAMP

En una placa de agar sangre de carnero al 5% sembrar una estría de la cepa de *S. aureus* y otra línea paralela de *R. equi*, de tal forma que queden paralelas y diametralmente opuestas para que entre estas pueda estriarse la cepa sospechosa de *Listeria*, sin que lleguen a tocarse entre sí, (Ver figura C.1). Simultáneamente probar cepas control: *L. monocytogenes*, *L. innocua* y/o *L. ivanovii*. Incubar las placas a $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 12h a 18h. Observar el sinergismo entre las hemólisis de *S. aureus*, *R. equi* y *Listeria* que se manifiesta como una zona hemolítica intensa. La figura C.1 muestra la disposición de las estrías de los cultivos en una placa de la prueba de CAMP. La hemólisis de *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* se incrementa cerca de la estría de *S. aureus* y la hemólisis de *L. ivanovii* se aumenta cerca de la estría de *R. equi*. Las especies restantes de *Listeria* no son hemolíticas en esta prueba

3.2.5 *Escherichia coli*

3.2.5.1 Procedimiento Analítico

Prueba confirmativa para *E. coli* (por identificación bioquímica). Calcular el NMP de *E. coli* basada en la confirmación de tubos en las tres diluciones consecutivas.

Procedimiento para Alimentos.

Prueba Presuntiva. Pesar 25g del alimento en 225mL de regulador de fosfatos o diluyente de peptona y moler por 2 min en vaso de licuadora u homogeneizador peristáltico, el volumen total en el vaso debe cubrir totalmente las aspas. Las muestras congeladas deben mantenerse en refrigeración (2 °C-5 °C) un máximo de 18h antes de su análisis, sin llegar a la descongelación. En caso de que la cantidad de muestra disponible sea menor a 25g y el análisis necesite ser efectuado (por denuncia o queja ante la autoridad), utilizar una cantidad de muestra que represente una proporción 1:10.

Utilizar como medio de enriquecimiento caldo lauril triptosa, una vez inoculados incubar a 35 °C ± 0.5 °C. Examinar los tubos a las 24h y observar si hay formación de gas. Anotar los resultados. Si la formación de gas no se observa, incubar 24h más y anotar los resultados.

Prueba Confirmatoria, considerando que si la formación de gas no se observa, continuar la incubación 24h más.

Prueba confirmativa. De cada tubo que muestre formación de gas, tomar una asada y sembrar en un número igual de tubos de Caldo EC para la prueba confirmativa; inocular en tubos de EC un control positivo de *E. coli* y un control negativo de *Enterobacter aerogenes* e incubar con las muestras.

Prueba complementaria.

Esta es una prueba optativa de calidad para todas las muestras de agua que tiene como objetivo confirmar el 10% de los tubos positivos de coliformes totales en caldo verde brillante. Tomar una asada de cada uno de los tubos positivos de caldo verde brillante y sembrar por estría cruzada en agar Mc Conkey. Incubar a 35 °C ± 0.5 °C por

24h ± 2h. Observar las colonias típicas fermentadoras de color rosa intenso que pueden estar rodeadas de un halo opaco de precipitación de las sales biliares.

Seleccionar 1 o más colonias aisladas con las características anteriores o lo más parecido a esta descripción e inocular igual número de tubos de fermentación con caldo lauril triptosa y a tubos con agar nutritivo inclinado. Incubar a 35 °C ± 0.5 °C examinar los tubos a las 24h y observar si hay formación de gas. Anotar los resultados. Si la formación de gas no se observa, incubar 24h más y anotar los resultados.

Realizar tinción de Gram a partir del crecimiento en el agar nutritivo para observación de la morfología microscópica de las colonias.

La formación de gas en los tubos de caldo lauril sulfato dentro de las 48h ± 3h y la observación de bacterias Gram negativas, en forma de bacilos no esporulados constituyen una prueba positiva a la presencia del grupo coliforme.

Prueba confirmativa para *E. coli* (por identificación bioquímica).

Prueba presuntiva.

Tomar una asada de cada uno de los tubos positivos de caldo EC y/o Caldo A-1 y sembrar por estría cruzada en agar EMB-L para su aislamiento. Incubar las placas invertidas a 35 °C ± 1 °C por 18 °C - 24h. Seleccionar 2 colonias de cada placa con la morfología colonial típica: colonias con centro negro, planas con o sin brillo metálico y sembrarlas en agar cuenta estándar (placa o agar inclinado), para realizar las pruebas de morfología microscópica y pruebas bioquímicas. Incubar las placas o tubos a 35 °C ± 1 °C por 18h -a 24h.

Si no hay colonias con morfología típica, probar 1 o más colonias lo más parecido a *E. coli* de cada placa. Realizar un frotis y teñirlo por Gram. Observar al microscopio la presencia de bacilos cortos Gram negativos.

Pruebas bioquímicas: Indol, Rojo de metilo, VP, citrato.

Producción de indol. Inocular un tubo con caldo triptona e incubarlo a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$. Adicionar 0.2mL a 0.3mL de reactivo de Kovac, dejando caer las gotas del reactivo por las paredes del tubo y no agitar los tubos para observación del anillo rojo en la superficie. La presencia de una coloración roja en la superficie del tubo se considera una prueba positiva.

Inocular un tubo con caldo MR-VP e incubar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $48\text{h} \pm 2\text{h}$. Transferir 1mL a un tubo de 13mm x 100mm. Adicionar 0.6mL de solución \pm -naftol y 0.2mL de KOH al 40% y agitar. Cuando se desarrolla un color de rosa a rojo en 15min a 30min, se considera una prueba positiva.

Rojo de metilo.

A la otra parte del caldo MR-VP inocular adicionar cinco gotas de solución de rojo de metilo. Se considera una prueba positiva cuando se desarrolla un color rojo. Un color amarillo definido es una prueba negativa.

Citrato.

Sembrar con inóculo ligero un tubo con caldo citrato de Koser, evitar turbiedad en el tubo. Incubar a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 96h. Una reacción positiva se observa mediante el desarrollo de turbiedad detectable. Se puede utilizar como alternativa citrato de Simmon el cual se debe inocular por estría. Incubar $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48h. Una prueba positiva se observa mediante crecimiento y/o cambio a una coloración azul; la ausencia de crecimiento se considera una prueba negativa.

3.3 Resultados

Presencia de *Salmonella spp.*

A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante la identificación microbiológica para *Salmonella* realizadas a las muestras de carne de res, agua y superficies de las carnicerías, en la ciudad de Cárdenas, Tabasco.

Muestras de agua.

En el Cuadro 1 se muestra el crecimiento obtenido en cada uno de los diferentes medios de cultivo para las 14 muestras de agua, indicando con (+) la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella*, mismas que se seleccionaron para su posterior análisis bioquímico. Las muestras 1 y 7 de agua, dieron positivas para colonias compatibles con la morfología de *Salmonella* luego de sembrar las muestras en medios selectivos (SS, BS, XLD y VB) y los agares de aislamiento (TSI y LIA).

Cuadro 1. Crecimiento bacteriano en agares selectivos para muestras de agua.

AGARES				
	Salmonella Shigella	Sulfito de Bismuto	Xilosa, Lisina, Desoxicolato	Verde Brillante.
Características de colonias típicas de <i>Salmonella SPP</i>	Incoloro, generalmente con centro de color negro.	Negras rodeadas por una zona negra o parduzca, con brillo metálico.	Colonias con centro de color negro.	Colonias entre blancas y rojas, rodeadas de zonas rojas.
Muestras de Agua	Salmonella Shigella (SS)	Sulfito de Bismuto (SB)	Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD)	Verde Brillante (VB)
1	(+)	(+)	(+)	(+)
2	(+)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(+)
4	(+)	(-)	(+)	(-)
5	(-)	(-)	(-)	(-)
6	(-)	(-)	(+)	(-)
7	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(-)	(-)	(+)	(+)
9	(-)	(-)	(-)	(-)
10	(-)	(+)	(+)	(-)
11	(-)	(-)	(-)	(-)
12	(-)	(+)	(+)	(+)
13	(-)	(+)	(+)	(+)
14	(+)	(-)	(+)	(+)

Muestras de carne.

El Cuadro 2 muestra el crecimiento obtenido en cada uno de los diferentes medios de cultivo para las 14 muestras de carne, indicando con (+) la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella*, mismas que se seleccionaron para su posterior análisis

bioquímico. Las muestras 7, 11 y 12, dieron positivas para colonias compatibles con la morfología de *Salmonella* luego de sembrar las muestras en medios selectivos (SS, BS, XLD y VB) y los agares de aislamiento (TSI y LIA).

Cuadro 2. Crecimiento bacteriano en agares selectivos para muestras de carne.

AGARES				
	Salmonella Shigella	Sulfito de Bismuto	Xilosa, Lisina, Desoxicolato	Verde Brillante.
Características de colonias típicas de <i>Salmonella SPP</i>	Incoloro, generalmente con centro de color negro.	Negras rodeadas por una zona negra o parduzca, con brillo metálico.	Colonias con centro de color negro.	Colonias entre blancas y rojas, rodeadas de zonas rojas.
Muestras de Carne (250 g)	Salmonella Shigella (SS)	Sulfito de Bismuto (SB)	Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD)	Verde Brillante (VB)
1	(+)	(+)	(-)	(-)
2	(+)	(+)	(-)	(-)
3	(-)	(+)	(+)	(+)
4	(-)	(-)	(+)	(-)
5	(+)	(-)	(-)	(+)
6	(-)	(+)	(+)	(+)
7	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(+)	(-)	(+)	(+)
9	(+)	(+)	(+)	(-)
10	(+)	(+)	(+)	(-)
11	(+)	(+)	(+)	(+)
12	(+)	(+)	(+)	(+)
13	(+)	(-)	(-)	(-)
14	(+)	(-)	(+)	(+)

Muestras tomadas de superficies.

El Cuadro 3 muestra el crecimiento obtenido en cada uno de los diferentes medios de cultivo para las 14 muestras tomadas en las superficies de las diferentes carnicerías, indicando con (+) la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella*, mismas que se seleccionaron para su posterior análisis bioquímico. Las muestras 7, 11 y 12, fueron positivas para colonias compatibles con la morfología de *Salmonella* luego de sembrar las muestras en medios selectivos (SS, BS, XLD y VB) y los agares de aislamiento (TSI y LIA).

Cuadro 3. Crecimiento bacteriano en agares selectivos para muestras de superficie.

AGARES				
	Salmonella Shigella	Sulfito de Bismuto	Xilosa, Lisina, Desoxicolato	Verde Brillante.
Características de colonias típicas de <i>Salmonella SPP</i>	Incoloro, generalmente con centro de color negro.	Negras rodeadas por una zona negra o parduzca, con brillo metálico.	Colonias con centro de color negro.	Colonias entre blancas y rojas, rodeadas de zonas rojas.
Muestras de superficie	Salmonella Shigella	Sulfito de Bismuto	Xilosa, Lisina, Desoxicolato	Verde Brillante.
1	(+)	(+)	(-)	(-)
2	(+)	(+)	(-)	(-)
3	(-)	(+)	(+)	(+)
4	(-)	(-)	(+)	(-)
5	(+)	(-)	(-)	(+)
6	(-)	(+)	(+)	(+)
7	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(+)	(-)	(+)	(+)
9	(+)	(+)	(+)	(-)
10	(+)	(+)	(+)	(-)
11	(+)	(+)	(+)	(+)
12	(+)	(+)	(+)	(+)
13	(+)	(-)	(-)	(-)
14	(+)	(-)	(+)	(+)

Pruebas bioquímicas.

Para el análisis bioquímico se tomaron colonias típicas presuntivas según los manuales de los medios de cultivo para *Salmonella*.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados y las reacciones obtenidas en las pruebas bioquímicas para las muestras analizadas. Siendo las muestras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 y 12 las que dieron positivo para colonias de *Salmonella spp.*

Cuadro 4. Resultados de las pruebas bioquímicas para *Salmonella spp.*

N° de muestra	Medio TSI	Medio MIO	Medio Citrato de Simons	Medio Caldo Urea	Medio LIA	DETERMINACIÓN
Control	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	
1	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
2	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
3	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
4	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
5	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
6	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
7	A/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	+	
8	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
9	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
10	K/A+ H ₂ S	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
11	A/A+G	- (-) +	-	+		
12	K/A+ H ₂ S+G	+ (-) +	+	-	K/A (+)	<i>Salmonella spp.</i>
13	A/A+G	- (-) +	-	+		
14	A/A+G	- (-) +	-	+		

Presencia de *Listeria monocytogenes*.

Se logró aislar 22 colonias con características similares a las del género *Listeria*. Encontrándose 5 en muestras de agua, 7 en muestras de carne y en 10 muestras de las superficies de las carnicerías (Cuadro 5). Las pruebas confirmatorias evidenciaron que todas esas muestras presentaban características compatibles con *L. monocytogenes* (Cuadro 6, Foto 1, Paneles A y B).

Cuadro 5. Presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de agua, carne y superficies de las carnicerías de la ciudad de Cárdenas, Tabasco.

No. de Muestra	Presencia en muestra de agua	Presencia en muestra de carne	Presencia en muestra de superficie
C1	-	-	-
C2	-	-	+
C3	+	+	+
C4	+	+	-
C5	-	-	+
C6	-	-	-
C7	-	+	-
C8	-	+	+
C9	-	+	+
C10	+	-	+
C11	-	+	+
C12	+	+	+
C13	-	-	+
C14	+	-	+

Cuadro 6. Interpretación de resultados positivos de *Listeria*

Especies	Hemolisis	Producción de ácido		Prueba de CAMP	
		Ramnosa	Xilosa	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	-	-
<i>L. ivanonii</i>	(+)	-	+	-	+
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	(+)	-
<i>L. Welshimeri</i>	(+)	V	+	-	-
<i>L. grayi subsp. Gryi</i>	-	-	-	-	-
<i>L. grayi subs. murrayi</i>	-	V	+	-	+

V: reacción variable
 (+): relación débil
 +: > 90% de reacción positiva
 -: sin reacción

Nota: Existen cepas extrañas de *L. monocytogenes* las cuales no muestran hemolisis o una reacción positiva a la Prueba de CAMP, bajo las condiciones descritas en el presente apéndice normativo C.

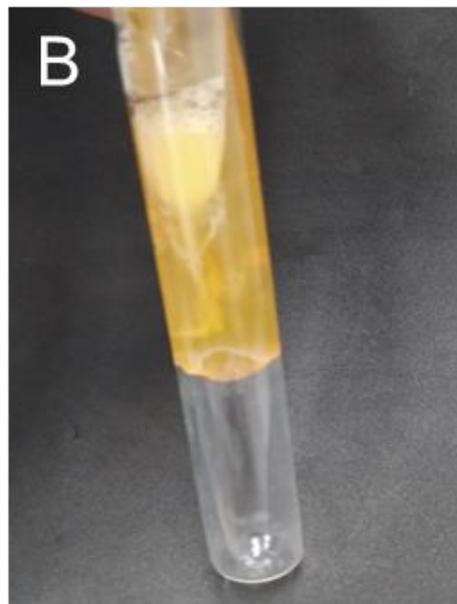


Foto 1. Pruebas adicionales para la determinación de *Listeria monocytogenes*. **Panel A.** Positivo para la reacción de catalasa. **Panel B.** Positivo para ramnosa y xilosa.

Presencia de *Escherichia coli*.

En la información presentada en el Cuadro 7 y Foto 2, el análisis microbiológico de las 14 muestras de agua, 14 muestras de carne de res y 14 muestras de superficies de las carnicerías de la ciudad de Cárdenas, Tabasco indicó que el 67% (42 muestras) resultó contaminado con *E. coli*, considerándose con calidad microbiana deficiente, lo cual es preocupante debido a que la contaminación del producto puede ocasionar riesgo a la salud de las personas que consumen este tipo de alimento.

Cuadro 7. Presencia de *Escherichia coli* en muestras de agua, carne y superficies de las carnicerías de la ciudad de Cárdenas, Tabasco.

No. de Muestra	Presencia en muestra de agua	Presencia en muestra de carne	Presencia en muestra de superficie
C1	+	+	+
C2	-	+	+
C3	+	-	-
C4	+	+	+
C5	+	-	+
C6	+	+	+
C7	-	+	+
C8	+	-	+
C9	+	+	+
C10	-	+	-
C11	-	-	-
C12	+	-	+
C13	+	-	+
C14	+	-	+

Cuadro 8. Interpretación de resultados de las pruebas bioquímicas para *E. coli*

Todos los cultivos que fermenten la lactosa con producción de gas dentro de las 48h a 35 °C, sean bacilos o bacilos cortos Gram negativos no esporulados y se obtengan las siguientes combinaciones para el IMViC:

Pruebas	Biotipo 1*	Biotipo 2*
Indol	(+)	(-)
RM	(+)	(+)
VP	(-)	(-)
Citrato	(-)	(-)

*Son consideradas como *E.coli*

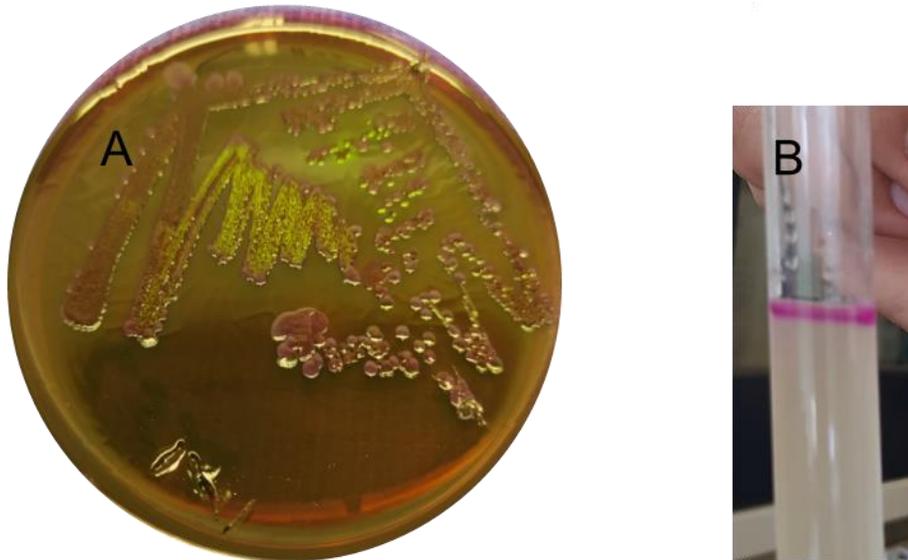


Foto 2. Panel A. Colonias presuntivas. Panel B. Positivo para la prueba de Indol.

3.4 DISCUSIÓN.

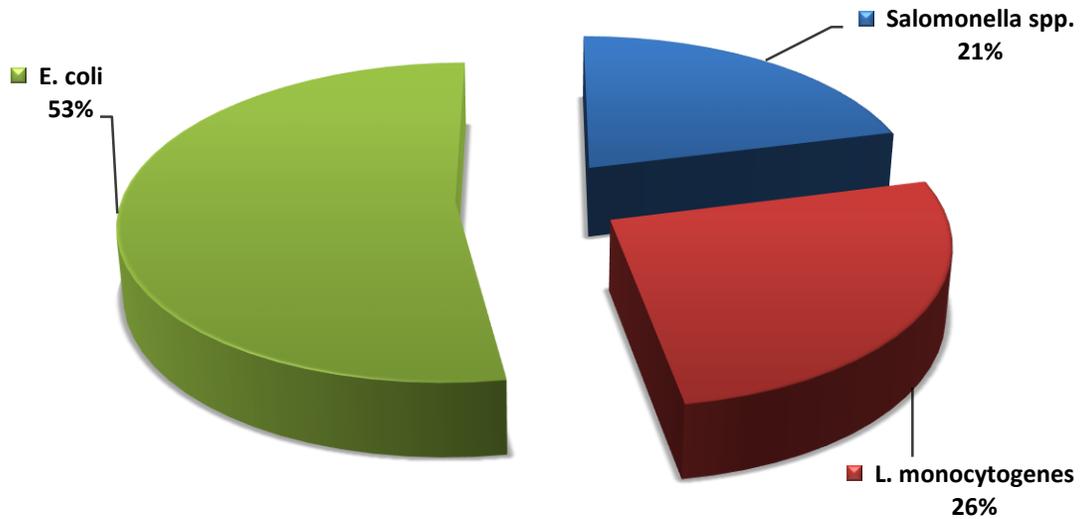
Los resultados obtenidos para la identificación de las tres bacterias (*E. coli*, *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.*) en muestras de agua, carne y superficies de las carnicerías indican que del total de muestras que dieron positivo, 53% (Agua), 27% (Carne) y 36% (Superficie) correspondieron a *E. coli* (Grafica 1, 2, 3 y 4, respectivamente); mientras que el 21% (Agua), 46% (Carne) y 32% (Superficies) a *Salmonella spp.* (Grafica 1, 2, 3 y 4, respectivamente) y el 26% (Agua), 27% (Carne) y 32% (Superficies) lo fueron para *L. monocytogenes* (Grafica 1, 2, 3 y 4, respectivamente). La incidencia de *Salmonella* es mayor en muestras de carne, seguida de *L. monocytogenes* en muestras de superficie y, por último, de *E. coli* en muestras de agua.

Estos resultados son similares a los reportados por Rubio *et al.*, (2013), quienes realizaron un estudio similar en Villahermosa, la capital del estado de Tabasco y reportaron la presencia de *Listeria* y *Salmonella*. Por otro lado, Heredia y colaboradores (2001) analizaron microbiológicamente 88 muestras de carne molida de res en carnicerías de la zona urbana de Monterrey y encontraron los mismos microorganismos que los reportados en este estudio. Mientras que en el 2013, Cabrera-Díaz y col., reportaron la presencia de *Salmonella* en el 56.7% de las muestras de carne molida adquirida en carnicerías de tres municipios de Jalisco

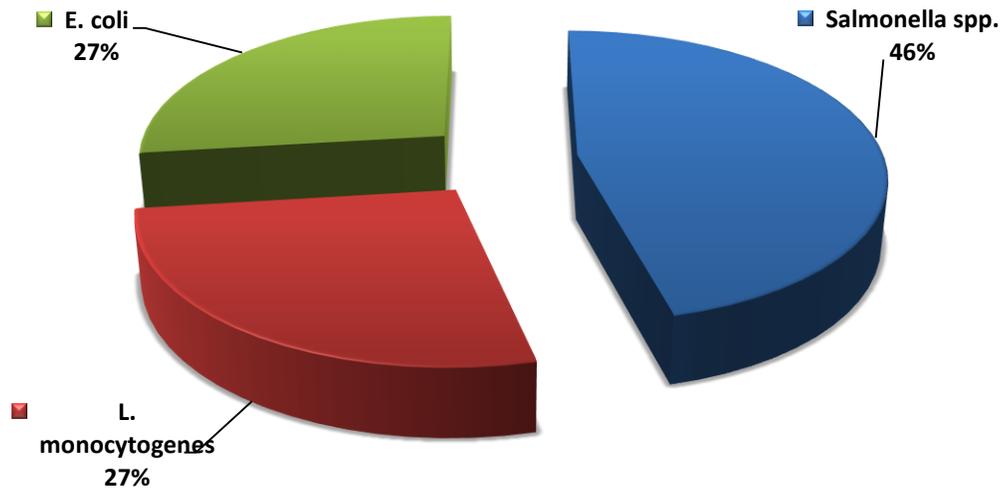
Durante la presente investigación, se confirmó que la mayoría de las carnicerías visitadas no cumplían con el requisito de tener implementado las Buenas Prácticas de Manufactura. Otro hecho es la pobre higiene y la contaminación cruzada dentro del establecimiento, lo que incrementa el riesgo de contaminación para el producto y los consumidores.

Los resultados obtenidos en este estudio, demuestran que la presencia de microorganismos como son *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *E. coli* en la carne consumida en la zona urbana de Cárdenas, Tabasco no cumple con los parámetros que marca la norma vigente, lo que muestra una falta de inocuidad y una deficiente desinfección del producto, al igual que de los establecimientos y accesorios para su

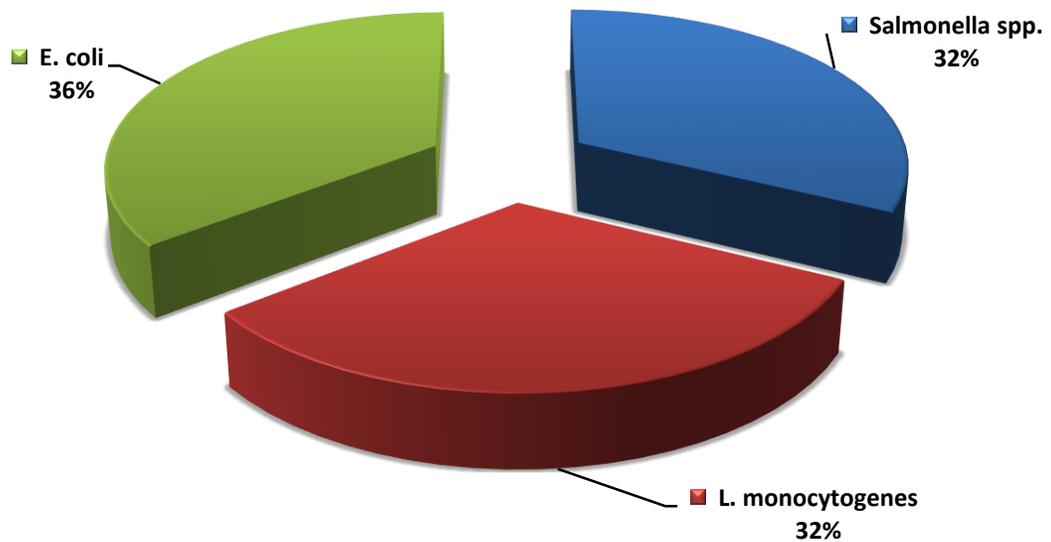
manipulación, por lo tanto esto podría ocasionar enfermedades gastrointestinales, por lo que se hace necesario incrementar la vigilancia epidemiológica por las instituciones correspondientes para garantizar la calidad de los alimentos consumidos.



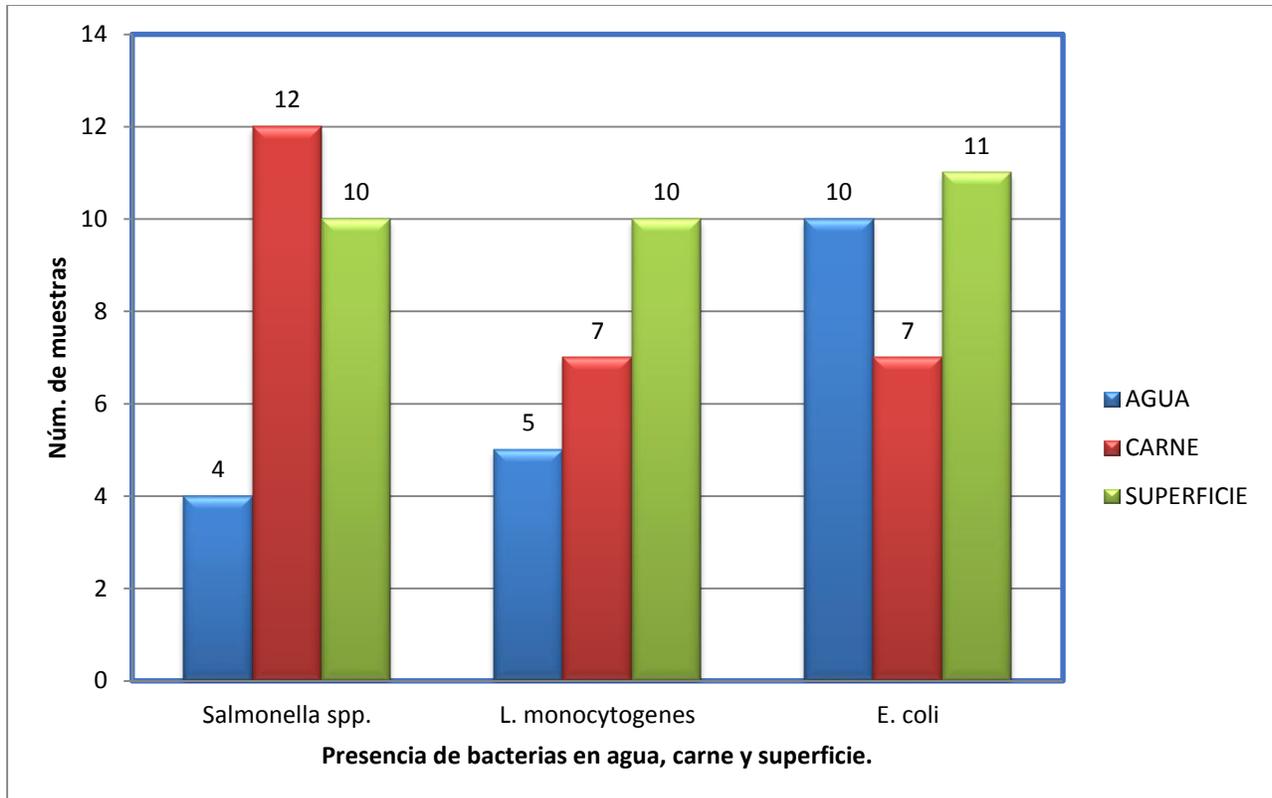
Grafica 1. Presencia de tres diferentes bacterias en muestras de Agua.



Grafica 2. Presencia de tres diferentes bacterias en muestras de carne.



Grafica 3. Presencia de tres diferentes bacterias en muestras de superficies en carnicerías de la Ciudad de Cárdenas, Tabasco.



Grafica 4. Muestras positivas para *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en agua, carne y superficies de las carnicerías.

Del presente estudio se sugiere la intensificación de las medidas higiénicas en el procesamiento de los alimentos lo cual podría ser la clave para disminuir su contaminación.

3.5 Literatura Citada

- 1) Arispe, I; Tapia, M. S. (2007) Inocuidad y calidad: Requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores. *Agroalimentaria*. 13(24): 105-117
- 2) Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

- 3) Martínez-Ríos F. J., Pérez Urquiza M., Campos Guillén J., Briones Caloca R., Jarro Castañeda A. E., Medina Lezama S. E. y Cruz Hernández A. (2016) Métodos moleculares para el estudio de enfermedades transmitidas por patógenos; el caso de salmonella. Digital Ciencia@UAQRO PP: 01-12
- 4) Real Academia Española, (2019) Definición de Inocuo <https://dle.rae.es/inocuo?m=form> consultado 11/08/2019
- 5) Ritter A.C., Tondo, E.C. (2014). Foodborne illnesses in Brazil: control measures for 2014 FIFA World Cup travellers. Review Article. J Infect Dev Ctries; 8: 254-257
- 6) Rojas, R. A. y Gonzales, T, (2006) Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa, *Bioquímica* 31 (2) 69-76.
- 7) Rubio, L.M.S., B.J.F. Martinez, C.R. Hernandez, C.C. Bonilla, M.R. Danilo, J.F. Medina, E. Nuñez, A. Echeverryb, y M.B. Mindy. 2013. Detección de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *Yersinia enterocolitica* en carne de res en puntos de venta en México. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 4(1): 107-115
- 8) Solís, E. B. México. (2012) Determinación e identificación de Microorganismos Patógenos en carne fresca y carne congelada. Tesis. De Lic. Ingeniero en Alimentos. Facultad de ciencias Agroalimentarias. Costa Rica.
- 9) Vasut R.G.; Dima Robeci, M., (2009). Food contamination with psychrophilic bacteria, *Lucrări științifice medicină veterinară*, 12(2), 325-330.

