UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



CALIDAD SANITARIA DEL CEVICHE DE PESCADO QUE SE EXPENDE EN LA CIUDAD DE GUADALAJARA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

NINFA BRIANO POSADA

GUADALAJARA, JAL.

1989



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente 1237/88 Número ...

SRITA. NINFA BRIANO POSADA PRESENTE . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "CALIDAD SANITARIA DEL CEVICHE DE PESCADO QUE SE EXPENDE EN LA CIUDAD DE GUADALAJARA" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptada . como Directora de dicha Tesis la Q.F.B. Rosa María Puebla Pérez.

> ATENTAMENTE "AÑO ENRIQUE DIAZ DE LEON" "PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., Octubre 19 de 1988

EL DIRECTOR

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIZ

ING. ADOLFO ESTING LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. La Q.F.B. Rosa María Puebla Pérez, Directora de Tesis.-Pte.

c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd.

Guadalajara, Jal., Abril 3 de 1989.

C. Dr. Carlos Astengo Osuna Director de la Facultad de Ciencias Universidad de Guadalajara PRESENTE.

Me permito comunicar a usted de la manera más atenta que a la C. NINFA BRIANO POSADA, ex-alumna de la Facultad a su muy digno cargo, me ha presentado originales de su trabajo de Tesis titulado "CALIDAD SANITARIA - DEL CEVICHE DE PESCADO QUE SE EXPENDE EN LA CIUDAD DE GUADALAJARA.", El cual considero, salvo su muy autorizada opinión, ha sido terminado.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un sa ludo cordial.

ATENTAMENTE

Q. F. B. ROSA MARIA PUEBLA PEREZ

Trabajo efectuado en el Laboratorio de Microbiología Sanitaria de la Facultad de Ciencias Químicas de la-Universidad de Guadalajara, bajo la asesoría de la-Q.F.B., Ma. del Refugio Torres Vitela.

A mi Madre:

Por sus esfuerzos y sacrificios que realizó durante todos estos años que pasé dedicada al estudio con el fin de lograr un --- objetivo que contribuirá a mi - superación profesional.

A mis Hermanos:

Con todo cariño dedico este trabajo el cual sin su valiosa ayuda no hubiera podido llevar a cabo.

A mis maestros por su ayuda, dedicación y amistad que me brindaron en el transcurso de mi estudio profesional.

CONTENIDO

| | Página |
|------------------------|--------|
| INTRODUCCION | 1 |
| GENERALIDADES | 6 |
| HIPOTESIS | 12 |
| OBJETIVOS | 13 |
| MATERIAL Y METODOS | 14 |
| RESULTADOS Y DISCUSION | 29 |
| RESUMEN | 53 |
| CONCLUSIONES | 54 |
| BIBLIOGRAFIA | 56 |

State of the second of the sec

The first term of the supplier of the second of the second of the second of

Control of the second of the second

the production of the state of

化精制 医外胚性 医自己性

Section 1

INTRODUCCION

El tejido del pescado es más perecedero que el de otros animales,aun manejado a bajas temperaturas. La calidad de éste empieza a cambiar
en el momento en que se retira del agua, y el pescado "fresco" que se considera muy aceptable desde el punto de vista comercial, no es lo que
era ya en el momento de la captura. Aunque la carne de los peces se encuentra prácticamente estéril, existe un gran número de bacterias de di
ferentes tipos en la superficie y sistema digestivo del animal vivo. -Cuando el pez muere estas bacterias atacan rápidamente los componentesde los tejidos, presentándose alteraciones que disminuyen su aceptabili
dad por parte del consumidor. Estos procesos ocasionan pérdidas muy --cuantiosas en el renglón económico (16).

La flora microbiana del pez y los métodos de manipulación para unlargo alcance, determinan la vida de anaquel del pez cuando es distri-buído en estado fresco. El deterioro químico y microbiológico del pez de aguas templadas o frías ha sido extensamente estudiado. Investigacio
nes sobre deterioro de peces de aguas tropicales se han hecho usualmente con peces almacenados en hielo. Estos peces mientras se encuentranen hielo parecen tener un mayor potencial o vida de anaquel que los peces de aguas frías (6). Investigaciones hechas por De León y Marth (6)muestran la presencia de coliformes y enterococos en pez fresco, mas no
detectaron S. aureus.

Después de un determinado tiempo de almacenaje del pez los principales géneros de Gram negativos que se encontraron fueron los siguientes: Pseudomonas, Moraxella y Alcaligenes.

La fuente primaria del agente etiológico que ocasiona enfermedadespor peces y mariscos puede ser debido a:

- a) agentes naturalmente presentes en hábitats acuáticos,
- b) contaminación de aguas de hábitats acuáticos y
- c) contaminación de trabajadores, equipo o medio ambiente del procesamiento de comida o establecimientos de comida. Algunas enfermedades de cualquier forma, tienen multiples fuentes de contaminación. (4)

Los moluscos y crustáceos pueden adquirir toxinas o patógenos de su hábitat acuático, al igual que los peces. Algunos de estos patógenos --- son: Vibrio parahemolyticus de origen marino, Clostridium botulinum Tipo E comunmente aislado del pez, aqua de mar y del lodo. (4)

Del mismo modo se reconoce que tanto los peces de agua dulce comomarina pueden exhibir Salmonella a la captura solo cuando existen descar gas de aguas negras sobre su medio ambiente. (15) Ya en el comercio o en las plantas al iniciarse su industrialización, la frecuencia de positividad se incrementa por la variedad de fuentes de contaminación a lasque se encontrarán expuestas. De esta manera el pescado crudo en el comercio se puede constituir en un vehículo de diseminación del microorganismo. (7)

Los parámetros de evaluación microbiológica en productos terminados indican que la contaminación bacteriana ocurre principalmente por exposi

ción del medio ambiente o por contaminación cruzada durante el manejo,transporte o procesamiento. (7) Números mayores de 10 coliformes fecales por gramo y 10² de <u>S. aureus</u> por gramo son considerados como resul
tado de una mala manipulación del pez. (6)

Los hábitos alimenticios suelen ser un factor decisivo en la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de alimentos. Así tenemos -que en Estados Unidos, durante el período de 1970-1978, aproximadamenteel 11% de las enfermedades vehiculizadas por alimentos fueron ocasiona-das por peces, moluscos y crustáceos marinos. (4)

La mayoría de las víctimas de los mariscos venenosos son turistasy excursionistas quienes recogen mariscos para su propio consumo. Comercialmente la cosecha de mariscos ha sido rara vez involucrada en los Estados Unidos. (4) De hecho el consumo de productos marinos ha tenido repercusiones de mucho tiempo atrás en la salud pública, por considerarsevehículos de infecciones e intoxicaciones. (3 y 17)

Es importante subrayar la gran cantidad de monitoreos para la detección de Salmonella que se están registrando en el crecimiento del comercio de mariscos usando una rápida pero delicada medotología. (14) No obsequente varios estudios han mostrado que las salmonellas son contaminantes potenciales del pescado, especialmente el obtenido de aguas contaminadas por desechos humanos e industriales. (13) De igual forma la frescura — del pez destinado al consumo humano es importante debido a que es nutritivo e ingerido por muchas gentes en el mundo. (15)

Los patógenos que causan la fiebre tifoidea, hepatitis A y cólera, también pueden ser adquiridos como resultado de la contaminación de lacomida marina. Otros patógenos que algunas veces son adquiridos como resultado de la manipulación y mal trato de alimentos pueden causar intoxicación estafilocóccica, shigellosis, salmonelosis y gastroenteritis por Clostridium perfringens. También se ha observado el estallido de estas enfermedades cuando se ha ingerido mariscos crudos o impropiamente-cocinados cosechados de las aguas contaminadas por aguas domésticas sucias. (4) Incluso los alimentos contaminados son algunas veces mantenidos a temperatura ambiente o impropiamente refrigerados, dentro del rango de crecimiento para la Salmonlella. (18)

Trabajos efectuados en México arrojan cifras de 6.6% de portadores de <u>Salmonella</u> en habitantes de la capital; el 7.4% de éstos corresponde a empleados de restorantes. (5)

En la ciudad de Guadalajara, el ceviche de pescado es consideradoun alimento de amplio consumo popular y se expende tanto en estableci-mientos fijos como ambulantes, siendo objeto durante su comercializa--ción, de abuso de temperatura y manejo higiénico deficiente. Este pro-ducto alimenticio se prepara con carne de pescado crudo y molido, adi-cionado de limón, cebolla, jitomate y cilantro.

En el Laboratorio de Microbiología Sanitaria de la Facultad de --Ciencias Químicas de la Universidad de Guadalajara, llevamos a cabo unestudio tendiente a:

1. Determinar la microbiología e incidencia de Salmonella en cevi-

che de pescado de muestras obtenidas de expendios fijos y ambu-

2. Conocer la relación entre el nitrógeno volátil total (NVT) y la carga microbiana con la frescura del ceviche de pescado en venta directa al público.

order of the way

Attifut Book your Loss part of the side of the

Burning and a make of the

many the first of the state of the state of the state of

GENERALIDADES

La flora microbiana de un alimento está fuertemente condicionada por la tecnología utilizada en su fabricación y por la protección que se le confiera contra el ingreso de microorganismos y su multiplicación.

La abundancia y distribución de esos microorganismos en el medio ambien
te a su vez se encuentra muy afectada por las condiciones que en él imperen y aún por los hábitos de las comunidades (fecalismo al aire li--bre, por ejemplo).

Tres grandes grupos de microorganismos llenan el campo de acciónde la microbiología sanitaria:

- 1) Los que afectan las características organolépticas de los ali-mentos, con los cuales se estudian los tipos de procesos que -tienen lugar, las causas primarias y secundarias que los propician y desencadenan y los medios para evitarlos y controlarlos;
- El grupo de patógenos a través de los cuales se entra en estrecha vinculación con la microbiología médica; y
- 3) Microorganismos que se agrupan (al márgen de las rígidas líneas taxonómicas en función de ciertas características morfológicas, fisiológicas y ecológicas a través de los cuales adquieren un significado especial; forman los llamados grupos indicadores, sea de fuentes de contaminación indeseables o de otro tipo de accidentes que sugieren la comisión de malas prácticas de trabajo o durante el manejo de aguas y de alimentos. (7)

El conocimiento y distribución de bacterias enteropatógenas en el-

medio ambiente y de su incidencia en los alimentos, es fundamental para el establecimiento de estrategias que conduzcan al control epidemiológico de los padecimientos a los que dan lugar. Asimismo, permite planear-con mejores perspectivas, los programas de vigilancia y control sanitario de los alimentos, de acuerdo con prioridades que se destacan por el nivel de contaminación que cada uno de ellos exhiba. (8)

El desarrollo de las salmonellas en una gran variedad de alimentos ha sido motivo de muchos estudios, sobre todo en aquellos que más se -- asocian a casos de gastroenteritis o que potencialmente pueden hacerlo. Con frecuencia se intenta valorar el efecto de uno o más componentes -- del producto y de las condiciones en que se conservan, las cuales pudie ran favorecer o impedir el desarrollo del gérmen. (7)

La salmonelosis es un padecimiento de alta incidencia en nuestro - país y de distribución mundial. Por tratarse de una típica zoonosis, ad quiere especial relevancia conocer la incidencia del agente etiológico- en los alimentos de origen animal a los que suele parasitar. De tal forma que continúa siendo muy importante o quizá la más importante causa - de enfermedades ocasionadas por alimentos en el mundo entero. (8 y 18)

Las comidas de origen animal son el vehículo primario para los brotes de salmonelosis. La mayoría de los brotes de salmonelosis en los Estados Unidos durante 1973-1976 ocurrieron como resultado de una mala manipulación tanto de la casa como en establecimientos de comida. (18)

Los alimentos contaminados son algunas veces mantenidos a tempera-

tura ambiente o impropiamente refrigerados, dentro del rango de crecimiento para la <u>Salmonella</u>. Otro hecho que ha causado la salmonelosis es el consumo de mariscos crudos contaminados de aguas sucias contamina--- das. (18)

La enfermedad causada por <u>Salmonella</u> es poco reportada debido a -que es una limitación propia de gastroenteritis la cual puede diagnosti
carse como influenza intestinal por el paciente o por el doctor como -consecuencia, cálculos de incidencia verdadera de enfermedades están ba
sados en hipótesis derivadas de evidencias epidemiológicas. (18)

El interés mundial por llegar a un control efectivo de la salmonelosis se refleja en el número de estudios que constantemente se llevana cabo, para conocer la incidencia del germen en los alimentos que se preparan, importan o consumen en cada país. Los porcientos de contamina
ción que se obtienen varían con el tipo de alimento en cuestión, con las condiciones sanitarias que se manejan y desde luego, con la calidad
del trabajo del laboratorio desarrollado. (7)

Es pertinente señalar que el desarrollo de las salmonellas en losalimentos hasta alcanzar cifras muy elevadas, como para provocar una -respuesta clínica, no suele acompañarse de alteraciones visibles o apre
ciables a los sentidos. Así se explica el consumo de alimentos sin reti
cencia por parte de las víctimas en los casos de gastroenteritis, no -obstante el elevado número de bacterias que llegan a contener. (7)

El recuento de colonias bacterianas; en medios de cultivo con un -

adecuado soporte nutricional y libres de agentes inhibidores es ampliamente utilizado con diversos propósitos en el análisis de alimentos, perecederos o nó, equipo y otros productos.

Al grupo de bacterias mesofílicas aerobias pertenece una variedadde microorganismos. La falta de homogeneidad resulta de las escasas limitaciones que la definición del grupo impone para incluirlos: el carác
ter de aerobio y la capacidad para proliferar entre los 20 y 37° que -son los extremos de las temperaturas a las cuales puede realizarse este
recuento. La cuenta de bacterias mesofílicas aerobias se ha propuesto o
se utiliza en la microbiología sanitaria con los siguientes objetivos:

- a) Como indicador de la posible presencia de gérmenes patógenos.
- b) Como indicador del valor comercial de un alimento.
- c) Como indicador de las condiciones higiénicas en que ha sido mam nejado un producto.
- d) Como indicador de la idoneidad de un ingrediente crudo que se va a incorporar a un alimento.
- e) Para perseguir eficiencia de un proceso germicida o de preservación.
- f) Para predecir la vida de anaquel de un alimento.

El empleo de organismos coliformes como indicadores de contamina-ción fecal en el agua se fundamenta (para fines de control sanitario),en las siguientes consideraciones:

- a) Estos microorganismos existen de manera constante en la materia fecal.
- b) Sólo una proporción discreta de las bacterias que satisfacen --

la definición de organismos coliformes no son huéspedes norma-les del intestino.

- c) No se multiplican en aguas limpias o relativamente limpias.
- d) En el agua expuesta a contaminación fecal existen siempre en -una proporción miles de veces superior a la de las bacterias pa
 tógenas que eventualmente pudieran estar presentes.
- e) Tienden a morir en el agua a un ritmo semejante al de las bacterias patógenas intestinales.
- f) Su recuento en el laboratorio es de fácil ejecución y no requiere de equipo y material sofisticado.

En los alimentos los organismos coliformes adquieren un significado totalmente distinto al que reciben en el agua. La presencia de organismos coliformes no guarda relación cualitativa ni cuantitativa con la contaminación fecal. El hallazgo de coliformes en cualquier cantidad no implica necesariamente un previo contacto inmediato con materia fecal.

La presencia y recuento de los organismos coliformes en los alimentos, sin embargo, adquiere cierto significado o es del todo intrascendente, dependiendo de cada caso particular. Pueden mencionarse las siquientes posibilidades:

- a) Son indicativos de prácticas sanitarias objetables en el márgen o fabricación de un alimento: leche pasteurizada, relleno de -pasteles.
- b) Explican la calidad microbiológica de un producto, lo que no ne cesariamente implica un riesgo sanitario; carne cruda.
- c) Revelan la eficiencia de un proceso descontaminante o germici--

da: tratamiento de agua

d) Su presencia y número es algo fortuito: no guarda relación conla metodología y condiciones de operación aplicadas en la obtención y conservación del alimento: chorizo, jugo de naranja congelado.

Definir el significado de un determinado grupo microbiano en un -alimento implica información, no solo sobre su ecología y características propias de ese grupo, inclusive su comportamiento en el producto, sino de la composición y condiciones de fabricación y almacenamiento de
este último. Como se ha mencionado ya, que el grupo microbiano en cuestión puede carecer de significado sanitario, esto es, su presencia o -abundancia no guarda relación con los riesgos que pudieran derivarse de
algún patógeno simultáneamente presente. (7)

HIPOTESIS

En la ciudad de Guadalajara, el ceviche de pescado es consideradoun alimento de amplio consumo popular y se expende tanto en expendios fijos como ambulantes, siendo objeto durante su comercialización de abu
so de temperatura y manejo higiénico deficiente. Por lo que en el presente trabajo se trató de determinar la fuente primaria del agente etio
lógico, que ocasiona enfermedades por la ingesta de pescado crudo en for
ma de ceviche, como pueden ser agentes naturalmente presentes en hábitats acuáticos, contaminación de aguas de hábitats acuáticos y contaminación de trabajadores, equipo o medio ambiente del procesamiento de co
mida o establecimientos de comida.

OBJETIVOS

- Determinar la microbiología e incidencia de <u>Salmonella</u> en cevi che de pescado de muestras obtenidas de expendios fijos y ambulantes.
- 2. Conocer la relación entre el nitrógeno volátil total (NVT) y la carga microbiana con la frescura del ceviche de pescado enventa directa al público.

MATERIAL Y METODOS

- Mortero
- Mechero de bunsen y fisher
- Papel filtro
- Vaso de precipitado de 25 ml.
- Embudo
- Tubo de ensaye
- Cajas de conway
- Cajas de petri estériles
- Pipetas estériles de 1, 2, 5 y 10 ml.
- Abatelenguas estériles
- Baño maría con termostato a 43°C
- Balanza granataria con sensibilidad de 0.1g
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.0001g
- Baño maría con termostato
- Incubadora a 35°C
- Autoclave olla de presión con manómetro
- Termómetro
- Cuenta colonias Quebec
- Potenciómetro
- Frascos botella de 200ml con tapón de rosca
- Cajas de petri 100x15mm
- -Tubos de ensaye 16x150 y de 13x100
- Asas de platino
- Bolsas de polietileno
- Gradillas metálicas

SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO

- Solución saturada de carbonato de potasio (K₂CO₃)
 (agente sellador)
- Solución saturada de fosfato de sodio (Na₃PO₄) e hidróxido de potasio
 (KOH) (agente liberador)
- Acido trocloroacético
- Acido bórico 3.1%
- Indicador de conway: 0.33% verde de bromocresol y 0.66% de rojo de metilo en alcohol al 97%. (agente atrapante)
- Acido sulfúrico (H₂SO₄) 0.025N.

Agar cuenta estántar (ACE)

Fórmula

Pesar los ingredientes sólidos y adicionar el agua destilada. Hervir agitando constantemente hasta disolución total. Enfriar a unos 50°C. Distribuir en tubos o frascos, según se requiera y autoclavear a 121°C durante 15 min.

Agar bilis rojo violeta (ABRV)

Fórmula

| Extracto de levadura | ī |
|------------------------------------------------------------------|-------------|
| Peptona o gelisato 7.0 | Į |
| Cloruro de sodio | ĵ |
| Sales biliares | ĵ |
| Lactosa | ĵ |
| Rojo neutro | J -7 |
| Cristal violeta | J |
| Agar | ĵ |
| Agua destilada | _ |
| Preparación | |
| Disolver los ingredientes en el agua mediante ebullición y agita | |
| ción contínua. Dejar hervir durante 2 minutos. Dejar enfriar a | |
| unos 50°C. | |
| | |
| Agar verde brillante sulfa. (VBS) | |
| Fórmula | |
| Extracto de levadura | J |
| Proteosa peptona núm. 3 o polipeptona 10.0 | ĵ |
| Cloruro de sodio | J |
| Lactosa | J |
| Sacarosa | Į. |
| Rojo de fenol | J |
| Verde brillante 0.25% | J |
| Agar | 3 |
| Agua destilada | L |

Preparación

Disolver los ingredientes en el agua por ebullición y agitación -- contínua. Enfriar a unos 50°C. Esterilizar a 121°C durante 12 min.

Agar sulfito bismuto (SB)

Fórmula

| Peptona | | | |
|--------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| Extracto de carne 5.0 g | | | |
| Dextrosa | | | |
| Fosfato disódico | | | |
| Sulfato ferroso | | | |
| Citrato de amonio y bismuto | | | |
| Sulfito de sodio 6.15 g | | | |
| Agar | | | |
| Verde brillante 0.025g | | | |
| Agua destilada | | | |
| Preparación | | | |
| Disolver los ingredientes en el agua por ebullición y agitación | | | |
| contínua durante 1 min. Vaciar en las cajas. No usar después de 48 | | | |
| hrs. de su preparación. | | | |
| | | | |

Agar hierro lisina (LIA)

Fórmula

| Peptona | 0.5 g |
|----------------------|-------|
| Extracto de levadura | 0.3 g |
| Glucosa | _ |
| L-lisina | |

| Citrato Férrico amoniacal |
|--------------------------------------------------------------------|
| Tiosulfato de Sodio |
| Púrpura de bromocresol 0.02 g |
| Agar |
| Agua destilada |
| Preparación |
| Disolver los ingredientes en el agua por ebullición y agitación |
| contínua. Dejar enfriar a unos 50°C. Ajustar el pH a 6.7+0.2. Dis- |
| tribuir en tubos de 13x100mm y esterilizar a 121°C durante 12 minu |
| tos. Inclinar los tubos de manera que el fondo sea pronunciado (3- |
| cm) y corte el área para la estría. |
| |
| Agar TSI |
| Fórmula |
| Polipeptona |
| Lactosa |
| Sacarosa 10.0 g |

| Polipeptona 20.0 | g |
|--------------------------------------------------|-----|
| Lactosa | g |
| Sacarosa | g |
| Glucosa | g |
| Cloruro de sodio | g |
| Sulfato férrico amoniacal 6 H ₂ O 0.2 | g |
| Tiosulfato de sodio | g |
| Rojo de fenol | 25g |
| Agar | g |
| Agua destilada | ml |
| Preparación | |

Disolver los ingredientes en el agua por ebullición y agitación -- contínua. Dejar enfriar a unos 50°C. Ajustar el pH a 7.4+0.1. Dis-

tribuir en tubos de 13x100mm y esterilizar a 121°C durante 12 minu tos. Inclinar los tubos procurando un fondo de 2 cm. para la picadura.

Caldo selenito cistina (CSC)

Fórmula

| Tormara |
|----------------------------------------------------------------|
| Triptona |
| Lactosa |
| Fosfato disódico |
| Selenito de sodio 4.0 g |
| Cistina |
| Agua destilada |
| Preparación |
| Disolver los ingredientes por ebullición y agitación constante |
| Utilizarlo mismo día de su preparación. |
| |
| Caldo tetrationato verde brillante (CTT) |
| Fórmula |
| Polipeptona, proteosa peptona o triptosa 5.0 g |
| Sales biliares |
| Carbonato de calcio |
| Tiosulfato de sodio |
| Agua destilada |
| Preparación |

Agregar los ingredientes al agua y calentar a ebullición con agita ción constante. Añadir 10ml. de solución al 1:1000 de verde brillan te, agitar y distribuir en frascos o tubos según se requiera. Este

rilizar a 121°C durante 12 minutos. Antes de inocular la muestra - adicionar 2 ml. de solución de yodo por cada 100 ml del medio base.

METODOLOGIA

Se adquirieron un total de 95 muestras de ceviche de pescado a lolargo de 6 meses tal como se expende al público, 43 de las cuales se -obtuvieron de expendios fijos y 52 de ambulantes. Se muestreó en dife-rentes puntos de la ciudad y áreas de los municipios de Zapopan y Tla-quepaque.

Las muestras fueron adquiridas en bolsas de polietileno y transportadas al laboratorio para su análisis inmediato.

Una vez en el laboratorio las muestras se sometieron a las siguientes determinaciones:

- a) Exámen sensorial.
- b) Prueba del nitrógeno volátil total (NVT).
- c) Recuento de bacterias mesofilicas aerobias (BMA).
- d) Recuento de organismos coliformes (OC) .
- e) Investigación de Salmonella.
- f) Medición de pH.

PRUEBAS DE LABORATORIO

| Determi nación | Técnica | Medios de cultivo | Temperatura de incubación | Tiempo de incubación | |
|-------------------|----------------------------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------|--|
| ВМА | Vaciado en placa | ACE | 35°C | 48 hrs. | |
| oc | Vaciado en placa | ABRV | 35°C | 24 hrs. | |
| | Enriquec <u>i</u> miento directo | CTT CSC | 43°C 43°C | 24 hrs. 24 hrs. | |
| SALMO- NELLA | | VBS SB | 35°C | 24 hrs. | |
| рН | potenciométrico | | | | |
| NVT | microdifusión de conway | | | | |

BMA = bacterias mesofilicas aerobias

OC = organismos coliformes

ACE = agar cuenta estándar

ABRV = agar bilis rojo violeta

VBS = agar verde brillante sulfadiazina

SB = agar sulfito bismuto

CTT = caldo tetrationato

CSC = caldo selenito cistina

VNT = nitrógeno volátil total.

PROCEDIMIENTO

EXAMEN SENSORIAL

El examen sensorial se efectuó con la participación de un grupo de catadores integrado por 4 personas. Dicho exámen se aplicó a 10 g de - muestra contenida en un frasco estéril protegido con tapa no hermética- y mantenido a temperatura ambiente. Mediante una aspiración profunda se guida de aspiraciones cortas con interrupciones de 5 minutos entre persona y persona, se procedió a la valoración mediante la siguiente escala hedónica:

- ++++ aceptable
- +++ marginalmente aceptable
- ++ descompuesto
- + nauseabundo

Fue consignada para cada muestra la media (\overline{X}) de la apreciación de los cuatro catadores.

PRUEBA DEL NITROGENO VOLATIL TOTAL (NVT)

Pesar 6 g. de la muestra y colocarlos en un mortero con 12 ml. deácido tricloroacético. Macerar la muestra y enseguida filtrar. Colocarel extracto en un tubo de ensaye y centrifugar durante 15 minutos y proceder de la siguiente manera: utilizar las cajas de conway, las cualesconstan de tres compartimientos (esquema 1). En el compartimiento periférico agregar 2.5 ml. de carbonato de potasio (agente sellador); en el

24

intermedio, por un lado, 1 ml de solución saturada de fosfato de sodio-

(Na₃PO₄) e hidróxido de potasio (KOH) (agente liberador), en el lado --

opuesto, 1 ml de la muestra; en el central 1 ml de una solución compues

ta de ácido bórico e indicador de conway. Al concluir estos pasos, se--

llar la caja y homogeneizar con movimientos rotatorios de manera que se

mezclen la muestra y la solución. Dejar reposar durante 2 hrs. y proce-

der a titular con ácido sulfúrico 0.025N.

De acuerdo a los mililitros gastados de ácido sulfúrito, nos da--

mos cuenta de la cantidad de NVT contenido en la muestra analizada por-

medio de la siguiente fórmula:

 $H_2SO_4xO.025x14.01x100x2.7x1.3 = NVT (mg N/100g). (20)$

RECUENTO DE BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS

Medio utilizado: ACE

Homogeneizar 10 g de la muestra con 90 ml. de diluyente de peptona.

.1% y efectuar diluciones decimales e inocular 1 ml en cajas petri. Va-

ciar 15 ml. aproximadamente del medio de cultivo estéril fundido y man-

tenido en baño maría a 45°C+1. Dejar solidificar.

Incubar a 35°C durante 48 hrs.

Efectuar recuentos.

RECUENTO DE ORGANISMOS COLIFORMES

Medio utilizado: ABRV

Homogeneizar 10 g. de la muestra con 90 ml. de diluyente de pepto-

na 0.1% y efectuar diluciones decimales e inocular 1 ml. en cajas petrà.

Vaciar 15 ml. aproximadamente del medio de cultivo estéril fundido y - mantenido en baño maría a 45°C+1. Dejar solidificar y colocar una sobre capa del mismo medio de cultivo.

Incubar a 35°C durante 24 hrs.

Efectuar recuentos.

INVESTIGACION DE SALMONELLA

Por la vía del anriquecimiento directo (Cuadro 1).

Transferir 10 g. de la muestra en 90 ml. de CSC. Proceder de igual forma con el CTT.

Incubar a 43°C durante 24 hrs.

Concluído el tiempo de incubación inocular a par-tir de caldo selenito y de caldo tetrationato una placa de agar verde -brillante y otra de sulfito bismuto.

Incubar a 35°C durante 24 hrs. el VBS y prolongar hasta 48 hrs. -- las placas de SB cuando éstas lo ameriten.

Seleccionar colonias típicas y/o sospechosas de cada placa e inocular por picadura y estría un tubo con agar TSI y otro con agar LIA.

Incubar a 35°C durante 24 hrs.

Seleccionar tubos con reacciones típicas de Salmonella.

Realizar la identificación hasta serotipificación.

CARACTERISTICAS DE COLONIAS DE SALMONELLA.

En SB son de color café, negras, algunas veces con brillo metálico, el medio que les rodea es usualmente café al principio, tornándose ne--

gro conforme se prolonga la incubación. Si dentro de las primeras 24 --hrs. de incubación no aparecen las colonias sospechosas de <u>Salmonella</u> -en este medio, se continúa la incubación 24 hrs. más.

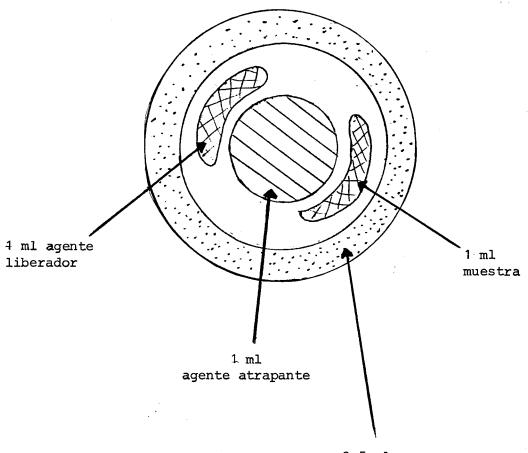
En agar VBS las colonias son incoloras, rojas traslúcidas, rodea--das de un halo que va de rosa a rojo.

En agar LIA este microorganismo produce ácido sulfúrico y descarbo xilación de lisina, provocando una reacción alcalina, el indicador del-medio vira a color púrpura.

En agar TSI esta bacteria fermenta la glucosa produciendo cambio- de color en el indicador de rojo a amarillo en el fondo del tubo, con - producción de $\rm H_2S$ y gas.

ESQUEMA 1

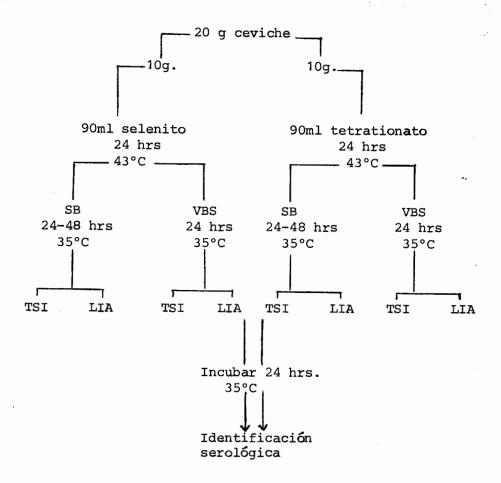
CAJA DE CONWAY



2.5 ml. agente sellador

(Cuadro 1)

TECNICA PARA SALMONELLA



DETERMINACION DE PH

Pesar 10g. de la muestra en un vaso de precipitado y suspender en-30 ml de agua destilada hervida durante 5 min. y enfriada sin agitación. Homogeneizar y medir el pH potenciométricamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

La investigación de gérmenes patógenos y de microorganismos indicadores se incluyen dentro del estudio de la microbiología del cevichede pescado con fines sanitarios.

En el presente trabajo se incluyó la investigación de <u>Salmonella</u> y el recuento de grupos microbianos como las bacterias mesofílicas aerobias (B.M.A.), y los organismos coliformes (O.C.).

Parámetros de frescura no microbianos como es la determinación del nitrógeno volátil total (NVT) y el pH se han sugerido como un medio exploratorio del grado de frescura de muchas especies de pescado. En conjunto los grupos microbianos, las pruebas sensoriales y las químicas — aportan información práctica para estimar el grado de frescura del alimento. Los grupos microbianos por su lentitud e inespecificidad no suelen ser utilizados para este propósito.

En las tablas 1 y 2 se ilustra el contenido de bacterias mesofilicas aerobias en muestras de ceviche obtenidas de expendios fijos y ambulantes, en ambos casos más del 50% de las muestras examinadas presentamás de un millón de bacterias mesofilicas aerobias/g de ceviche. En latabla 3 se observa una marcada diferencia en el contenido de B.M.A. según el tipo de establecimiento, revelando cifras de >10⁷ en casi el --30% de las muestras obtenidas de expendios ambulantes y tan sólo en 5%-en las de expendios fijos.

Aunque en la mayoría de los alimentos un número elevado de bacterias puede estimarse en lo general como objetable existen hechos y consideraciones que obligan a manejar con prudencia esta generalización, - ya que cuentas viables reducidas en un alimento no aseguran la ausencia de bacterias patógenas. Hobbs y Col (7) encontraron Salmonella en carnes (de res, de pollo y otras) que exhibía cifras muy bajas de bacterias viables en ausencia de gérmenes fecales.

Al parecer los recuentos de organismos coliformes en ceviche sí — muestran diferencias entre las muestras adquiridas de expendios fijos y las obtenidas de expendios ambulantes. De 43 muestras correspondientes— a establecimientos fijos, aproximadamente el 35% contenían más de 10,000— colif/g de ceviche (Tabla 4), en tanto que de las 52 muestras correspondientes a establecimientos ambulantes más del 50% las contenían (Tabla—5). La contaminación por organismos coliformes en el alimento que nos— ocupa se puede explicar entre otras cosas por la contaminación de ori— gen de la carne de pescado, el abuso de temperatura y un mal manejo seguido de una preparación en condiciones sanitarias precarias, situación en la cual la contaminación prevalece por ser un alimento que no se somete a ningún tratamiento depurador (tabla 6).

Al clasificar los resultados en relación con la diferente época — del año durante la cual se llevó a cabo la encuesta (Tabla 7 y 8) no se observan diferencias importantes en cuanto a la carga de bacterias meso fílicas aerobias y organismos coliformes en la época fría y calurosa. — Esto hace pensar que contribuye de manera importante la calidad de la — materia prima (carne cruda molida de pescado), la cual contiene cargas—

microbianas relativamente altas, dejando poco márgen a la preparación - de un ceviche de buena calidad sanitaria.

Hobbs (1954) opina que el pescado fresco ha sido raramente involucrado como vehículo de infecciones entéricas, considerando que éste podría ser uno de los productos más sanos de nuestra dieta. Su opinión se
basó en experiencias del Reino Unido donde la mayoría del pez destinado
a la venta provenía de agua de río no contaminado o de la pesca de --aguas de mar muy profundas, aunque esto no es válido para todos los paí
ses. (13)

Apoyándonos en parámetros de frescura no microbianos como lo es la determinación de nitrógeno volátil total encontramos una muestra que -- presenta valores de 15 mg/100 de NVT (Tabla 9) esta cifra se aproxima - en mucho a lo que se considera un pescado con frescura aceptable. La cifra más alta de NVT fue 38 mg/100 (Tabla 10) pudiéndose intrepretar mediante esta prueba como alimento falto de frescura. En la literatura se registran valores de NVT para los diferentes grados de frescura del pez: pez fresco recién capturado, < 12 mg; ligeramente descompuesto y de bue na calidad, 12 a < 20; comestible, 20 a < 25: descompuesto, > 25 mg de NVT/100 g de tejido (15).

La carga microbiana en todas las muestras analizadas fue de 10⁶ a10⁸ BMA/g, sin guardar una clara relación con las titulaciones de NVT y
valores de pH (Tablas 9 y 10). La información anterior ilustra una falta de correlación entre los parámetros estudiados. Un parámetro no puede sustituir al otro debido a que aportan distinta información, pero de

manera conjunta pueden ayudarnos a establecer un criterio más sólido sobre la frescura del alimento.

Aunque valores de NVT de 38 mg/100 serían imputables a un pescadoorganolépticamente rechazable, no parece ser el caso del ceviche el --cual a la vista era aceptable, como se ilustra en las tablas 9 y 10. No es posible establecer conclusiones consistentes en función de los resul tados obtenidos con las muestras analizadas, debido fundamentalmente ala falta de información sobre la homogeneidad del alimento preparado en cada establecimiento. Es posible el uso incontrolado de porciones de -pescado muy fresco mezclado con otras de variado grado de deterioro. --Aunque antes de retirar las alicuotas para su análisis se homogeneizaba el producto, puede ser que coexistan pequeñas porciones con un grado de descomposición muy avanzado que al ser probadas se califiquen de dete-rioradas, con grandes porciones de producto fresco, de las cuales se re tira la alícuota para determinar el NVT. Por otra parte, el recuento de bacterias oxidasa positiva pudiera ser un buen recurso microbiológico para ser asociado a la frescura del alimento por estar principalmente conformado de microorganismos deterioradores. En las tablas 9 y 10 se incluyen las cifras de bacterias oxidasa positiva obtenidas en 25 muestras de ceviche, encontrando tanto para establecimientos fijos como ambulantes, valores que constituían casi el total del recuento de bacte-rias mesofilicas aerobias con cantidaddes de NVT entre 15 y 38 mg/100.

En el presente trabajo el pH mínimo registrado en las muestras que resultaron positivas a <u>Salmonella</u> fue de 3.9 y el máximo de 5.1 con -- una media de 4.6. La mayoría de las muestras positivas al patógeno (13-

de 15) registraron un pH entre 4 y 5 (tabla 11). Quizá en el ceviche el pH bajo sea una de las más viables explicaciones por lo cual la incidencia de Salmonella no sea mayor, no obstante se han obtenido hallazgos in sólitos de ésta en agua fresca de limón adquirida del comercio con pH de 2.8 (10).

La literatura registra que cuando el pH del sustrato se aproxima ala neutralidad, el gérmen se multiplica más activamente. Así el óptimo para Salmonella varía entre 6.5 y 7.5. El pH mínimo para el desarrollo bacteriano no es fácil de definir porque se encuentra muy influído por una variedad de factores. Estos incluyen, entre los más prominentes al serotipo, la temperatura de incubación y la composición química del sus
trato. (7)

Las 12 muestras que resultaron positivas a Salmonella de expendiosambulantes contenían cifras de organismos coliformes que oscilaban entre
menos de 100 hasta más de un millón, por lo que no parece existir una -franca correlación entre el número de coliformes y la presencia del pató
geno (tablas 12 y 13). La investigación de organismos coliformes en algunos casos puede carecer de significado sanitario, de tal forma que su -presencia o abundancia no guarda relación con los riesgos que pudieran -derivarse de algún patógeno simultáneamente presente. (7)

Al estudiar la posible influencia de la variación estacional en laincidencia de <u>Salmonella</u> en muestras de ceviche encontramos que ésta esmuy elevada en la época calurosa con un 30 y 17% en expendios ambulantes
y fijos respectivamente, contrastando con 3 y 0% en la época fría. Una -

posible explicación a esta situación puede ser el abuso de temperaturade que es objeto el alimento durante su comercialización, propiciando mediante el factor tiempo/temperatura una participación activa del pató
geno con una mayor posibilidad de hallazgo con el consecuente riesgo ala salud. (tabla 14)

Del total de muestras analizadas el 20% de positivas a <u>Salmonella-</u>corresponden a expendios fijos y el 80% a los ambulantes (tabla 15), — era de esperar que las muestras adquiridas de expendios ambulantes mostraron una contaminación mayor del gérmen propiciada por las condiciones tan precarias desde el punto de vista sanitario durante su comercia lización en condiciones de abuso de temperatura.

Al analizar los hallazgos positivos a <u>Salmonella</u> a través de la metodología utilizada en el presente trabajo encontramos que alrededor de un 75% de falsos negativos por CTT sí fueron recuperados por el CSC. <u>Só</u> lo en 3 casos (20%) se recuperó el patógeno por la ruta de CTT exclusivamente (tabla 16). En este estudio el medio de enriquecimiento que mos tró mayor efectividad para el aislamiento del gérmen resultó ser el CSC que no siempre suele ser el más efectivo para recuperación del patógeno. Esto es que el CTT, en otros estudios, ha mostrado ser más eficaz que el CSC. Ejemplo de esto son estudios realizados en chorizos (1) y - carnes crudas. (11)

El problema para detectar <u>Salmonella</u>, usando técnicas de cultivo - convencionales, a menudo es complicado debido a la presencia de organis mos Gram negativos que compiten contra ella. Los caldos selenito y te--

trationato son los medios de enriquecimiento selectivos para el patógeno que nos ocupa, en la mayoría de los procedimientos oficiales. Hobbs(1962) como otros aboga por el uso de ambos caldos para obtener el mayor número de aislamiento en <u>Salmonella</u> en alimentos (12). Es bien reco
nocido que el uso de más de un caldo selectivo incrementará la proporción de recuperación del microorganismo. (19) Lo más conveniente sería
usar siempre las 2 vías de enriquecimiento para el patógeno: CSC y CTT.
Ante cualquier simplificación de la técnica como sería el limitarse a uno de los dos caldos existe el riesgo de llegar a falsos negativos. -(9)

En la tabla 17 se ilustra la variedad de serotipos identificados - en el presente trabajo. El serotipo predominante fue el derby, coinci-- diendo este hallazgo con los obtenidos a partir de otros alimentos se-- gún datos obtenidos del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropica- les donde se reporta como el serotipo más frecuente aislado de alimen-- tos durante el período de 1974 a 1981. (2)

BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS EN 43 MUESTRAS DE CEVICHE DE PESCADO DE ESTABLECIMIENTOS FIJOS.

TABLA 1

| | B MA /g | Frec. | Frec. Acumul. | % Frec. Acumul. | |
|---|---------------------------------|-------|------------------|--------------------|---|
| | 2 x 10 ³ | 1 | . 1 | 2.3 | |
| > | $5x10^4 - 5x10^5$ | 11 | 12 | 27.9 | |
| > | $5x10^5 - 1x10^6$ | 5 | 17 | 39.5 | |
| > | $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ | 15 | 32 | 74.4 | |
| > | $5x10^6 - 1x10^7$ | 6 | 38 | 88.4 | |
| > | $1x10^{7} - 5x10^{7}$ | 3 | 41 | 95.3 | į |
| > | 5 x 10 ⁷ · | 2 | 43 | 100.0 | |
| | TOTAL | 43 | 43 | 100.0 | |

BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS EN 52 MUESTRAS DE CEVICHE DE PESCADO DE ESTABLECIMIENTOS AMBULANTES

TABLA 2

| B MA /g | Frec. | Frec. Acumul. | % Frec. Acumul. |
|----------------------------------------|-------|------------------|--------------------|
| >5x10 ⁴ - 5x10 ⁵ | 14 | 14 | 26.9 |
| >5x10 ⁵ - 1x10 ⁶ | 5 | 19 | 36.5 |
| >1x10 ⁶ - 5x10 ⁶ | 15 | 34 | 65.4 |
| $> 5 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ | 4 | 38 | 73.0 |
| $>1 \times 10^7 - 5 \times 10^7$ | 14 | 52 | 100.0 |
| TOTAL | 52 | 52 | 100.0 |
| | | | |

TABLA 3

BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS EN 95 MUESTRAS DE CEVICHE SEGUN TIPO DE EXPENDIO

| B MA /g | % Frec. acum. expendios fi jos | % Frec. Acum. expendios am- bulantes |
|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|
| 2x10 ³ | 2.3 | 0 |
| 5x10 ⁴ - 5x10 ⁵ | 27.9 | 26.9 |
| $>5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ | 39.5 | 36.5 |
| $> 1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ | 74.4 | 65.4 |
| $> 5 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ | 88.4 | 73.0 |
| $> 1 \times 10^5 - 5 \times 10^7$ | 95.3 | 100.0 |
| > 5x10 ⁷ | 100.0 | |

TABLA 4

ORGANISMOS COLIFORMES EN 42 MUESTRAS DE CEVICHE DE PESCADO DE ESTABLECIMIENTOS FIJOS

| OC/g | Frec. | Frec. Acumul. | % Frec. Acumul. |
|----------------------------------|-------|------------------|--------------------|
| 1x10 ² | 2 | 2 | 4.8 |
| $>1\times10^2 - 1\times10^3$ | 7 | 9 | 21.4 |
| $>1\times10^3 - 5\times10^3$ | 13 | 22 | 52.4 |
| $>5 \times 10^3 - 1 \times 10^4$ | 6 | 28 | 66.7 |
| $>1 \times 10^4 - 5 \times 10^4$ | 7 | 34 | 80.9 |
| $>5 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ | 2 . | 37 | 80.1 |
| $>1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ | 4 | 41 | 97.6 |
| >1x10 ⁶ | 1 | 42 | 100.0 |
| TOTAL | 42 | 42 | 100.0 |

TABLA 5

ORGANISMOS COLIFORMES EN 52 MUESTRAS DE CEVICHE
DE ESTABLECIMIENTOS AMBULANTES

| 1 11 | 1 | 1.8 |
|---------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11 | | |
| | 12 | 22.6 |
| 6 | 18 | 32.1 |
| 5 | 23 | 41.5 |
| 13 | 36 | 71.7 |
| 5 | 41 | 81.8 |
| 7 | 48 | 92.4 |
| 4 | 52 | 100.0 |
| 52 | 52 | 100.0 |
| | 5 13 5 7 4 | 5 13 36 5 41 7 48 4 52 |

TABLA 6

ORGANISMOS COLIFORMES EN 94 MUESTRAS DE CEVICHE
SEGUN TIPO DE EXPENDIO

| OC/g | Expendios fijos | Expendios ambulantes |
|----------------------------------------|--------------------|-------------------------|
| 1x10 ² | 2 | 1 |
| $>1\times10^2 - 1\times10^3$ | 7 | 11 |
| $>1\times10^3 - 5\times10^3$ | 13 | 6 |
| $>5x10^3 - 1x10^4$ | 6 | 5 |
| $>1 \times 10^4 - 5 \times 10^4$ | 6 | 13 |
| >5x10 ⁴ - 1x10 ⁵ | 3 | 5 |
| >1x10 ⁵ - 1x10 ⁶ | 4 | 7 |
| >1x10 ⁶ | 1 | 4 |
| TOTAL | 42 | 52 |

TABLA 7

BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS EN 95 MUESTRAS DE CEVICHE SEGUN EPOCA DEL AÑO.

| BMA/g | Frec. Acum. época fría | Frec. Acum. época calurosa |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| 2x10 ³ | 1 | 0 |
| $>2x10^3 - 5x10^5$ | 12 | 12 |
| >5x10 ⁵ - 1x10 ⁶ | 16 | 17 |
| >1x10 ⁶ - 5x10 ⁶ | 30 | 33 |
| >5x10 ⁶ - 1x10 ⁷ | 31 | 42 |
| >1x10 ⁷ - 5x10 ⁷ | 40 | 50 |
| >5x10 ⁷ | 40 | 55 |
| | | |

Epoca fría = Enero-marzo

Epoca calurosa = Abril-julio

TABLA 8

ORGANISMOS COLIFORMES EN 95 MUESTRAS DE CEVICHE
SEGUN EPOCAS DEL AÑO

| OC/g | Frec. Acum. época fría | Frec. Acum. época calurosa |
|----------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| 1x10 ² | 3 | 0 |
| $>1\times10^2 - 1\times10^3$ | 19 | 2 |
| $>1 \times 10^3 - 5 \times 10^3$ | 29 | 10 |
| $>5x10^3 - 1x10^4$ | 36 | 16 |
| >1x10 ⁴ - 5x10 ⁴ | 48 | 20 |
| >5x10 ⁴ - 1x10 ⁵ | 49 | 27 |
| >1x10 ⁵ - 1x10 ⁶ | 51 | 39 |
| >1x10 ⁶ | 54 | 41 |
| | | |

TABLA 9

MUESTRAS DE CEVICHE DE PESCADO OBTENIDO DE ESTABLECIMIENTOS AMBULANTES

| <u></u> | | <u>.</u> | | |
|---------------------|---------------|----------|-----------------------------|------|
| B MA /g | mg/100 NVT | рН | Oxidasa positiva | olor |
| 1.1x10 ⁶ | 15.3 | 4.5 | 2.2x10 ⁵ | ++++ |
| 1.2x10 ⁶ | 25.9 | 4.2 | 5.6x10 ⁵ | +++ |
| 1.8x10 ⁶ | 29.5 | 5.1 | 1.7x10 ⁵ | ++ |
| 6.6x10 ⁶ | 16.5 | 4.6 | 3.0x10 ⁶ | +++ |
| 6.8x10 ⁶ | 22.4 | 4.3 | 4.0×10^{5} | ++ |
| 1.2x10 ⁷ | 16.5 | 4.8 | < 10 ⁵ | ++ |
| 1.2x10 ⁷ | 21.2 | 4.8 | 2.4x10 ⁶ | +++ |
| 1.8x10 ⁷ | 18.9 | 4.6 | 9.4x10 ⁶ | +++ |
| 2.1x10 ⁷ | 17.7 | 4.5 | 1.8x10 ⁶ | ++ |
| 2.5x10 ⁷ | 23.0 | 4.4 | 2.0x10 ⁶ | ++ |
| 4.3x10 ⁷ | 17.7 | 4.5 | 3.5x10 ⁷ | ++ |
| 6.9x10 ⁷ | 20.0 | 4.6 | 6.9x10 ⁷ | ++ |
| 1.0x10 ⁸ | 21.2 | 4.65 | <10 ⁵ | ++ |
| 1.1x10 ⁸ | 18.3 | 4.35 | <10 ⁴ | +++ |
| 2.3x10 ⁸ | 21.2 | 4.7 | 6.0x10 ⁶ | +++ |
| | | | | |

TABLA 10

MUESTRAS DE CEVICHE DE PESCADO OBTENIDO DE ESTABLE
CIMIENTOS FIJOS

| B MA /g | mg/100 NVT | рH | Oxidasa positiva | Olor |
|------------------------------|---------------|-----|---------------------|------|
| 9.0 x 10 ⁵ | 18.9 | 4.3 | 1.3x10 ⁵ | +++ |
| 1.0 x 10 ⁶ | 37.7 | 4.2 | 4.7x10 ⁵ | +++ |
| 1.3 x 10 ⁶ | 27.1 | 4.4 | 1.6x10 ⁵ | ++ |
| 1.4 x 10 ⁶ | 24.1 | 4.7 | 1.0x10 ⁵ | ++ |
| 1.6 x 10 ⁶ | 20.1 | 4.4 | 5.8x10 ⁵ | +++ |
| 4.5 x 10 ⁶ | 20.1 | 4.3 | 2.1x10 ⁶ | +++ |
| 5.6 x 10 ⁶ | 17.7 | 5.0 | 1.2x10 ⁶ | +++ |
| 5.7 x 10 ⁶ | 23.6 | 5.0 | 1.6x10 ⁶ | ++ |
| 7.8 x 10 ⁶ | 18.9 | 4.4 | 9.0x10 ⁵ | +++ |
| 2.0x10 ⁸ | 23.6 | 4.8 | 6.0x10 ⁵ | ++ |

⁺⁺⁺⁺ aceptable

⁺⁺⁺ marginalmente aceptable

⁺⁺ descompuesto

⁺ nauseabundo

TABLA 11

PH Y SALMONELLA EN 95 MUESTRAS DE CEVICHE

| рН | No. mues- tras | + a Salm. | 8 |
|---------------------------|-------------------|--------------|------|
| 4.0 | 2 | 1 | 6.7 |
| 4. 0 - 4. 5 | 28 | 5 | 33.3 |
| 4.5 5.0 | 59 | 8 | 53.3 |
| > 5.0 - 5.5 | 6 | 1 | 6.7 |
| >5.5 | 1 | 0 | 0 |
| TOTAL | 95 | 15 | 100 |

POSITIVIDAD A SALMONELLA SEGUN CONTENIDO DE ORGANISMOS COLIFORMES EN 52 MUESTRAS DE CEVICHE DE ESTABLECIMIENTOS AMBULANTES

| No. mues- tras | + a Salm. |
|-------------------|--------------------------------|
| 1 | 1 |
| 11 | 4 |
| 6 | . 1 |
| 5 | .1 |
| 13 | 2 |
| 5 | 1 |
| 7 | 1 |
| 4 | 1 |
| 52 | 12 |
| | tras 1 11 6 5 13 5 7 4 |

TABLA 13

POSITIVIDAD A SALMONELLA SEGUN CONTENIDO DE ORGANISMOS COLIFORMES EN 42 MUESTRAS DE CEVICHE DE ES
TABLECIMIENTOS FIJOS

| OC/g | No. muestras | + a Salm. |
|----------------------------------------|--------------|-----------|
| 1x10 ² | 2 | 0 |
| $1 \times 10^2 - 1 \times 10^3$ | 7 | 0 |
| $1 \times 10^3 - 5 \times 10^3$ | 13 | 1 |
| $>5x10^3 - 1x10^4$ | 6 | 1 |
| >1x10 ⁴ - 5x10 ⁴ | 7 | 1 |
| >5x10 ⁴ - 1x10 ⁵ | 2 | 0 |
| >1x10 ⁵ - 1x10 ⁶ | 4 | 0 |
| >1x10 ⁶ | | 0 |
| TOTAL | 4 2 | 3 |
| | | |

TABLA 14

POSITIVIDAD A <u>SALMONELLA</u> SEGUN EPOCA DEL AÑO

| No. mues- | Establ <u>e</u> cimiento | Epoca del Año | No. m | + a | 8 |
|-----------|-----------------------------|------------------|-------|-------|------|
| tras | CIMIENTO | AHO | anal. | Salm. | |
| | | fría | 10 | 0 | 0 |
| 28 | fijos | | | | |
| | · | calurosa | 18 | 3 | 17.0 |
| | | fría | 30 | 1 | 3.0 |
| 67 | ambulantes | | | | |
| | | calurosa | 37 | 11 | 30.0 |
| | | TOTAL | 95 | 15 | 16.0 |
| | | | | | |

TABLA 15

POSITIVIDAD A <u>SALMONELLA</u> SEGUN TIPO DE ESTABLECIMIENTO.

| Establec. | No. est <u>a</u> blec. | Muestras anal | + a Salm. | 8 |
|------------|---------------------------|------------------|--------------|------|
| Fijos | 30 | 43 | 3 | 7.0 |
| Ambulantes | 33 | 52 | 12 | 23.0 |
| TOTAL | 63 | 95 | 15 | 16.0 |
| | | | | |

TABLA 16

POSITIVIDAD A SALMONELLA SEGUN VIA DE AISLAMIENTO

| C | sc | C | TT | : | |
|----|-------------|-----|-----|-------|-------|
| SB | V BS | SB | VSB | Frec. | ક |
| _ | + | - | - | 5 | 33.3 |
| + | + | ••• | - | 4 | 26.6 |
| + | . - | - | _ | 2 | 13.3 |
| - | + . | _ | + | 2 | 13.3 |
| - | - | - | + | 1 | 6.6 |
| - | - | + | + | 1 | 6.6 |
| | тот | AL | | 15 | 100.0 |

TABLA 17

SEROTIPOS DE <u>SALMONELLA</u> EN 15 MUES TRAS DE CEVICHE DE PESCADO

| S. derby | 9 |
|------------------------|---|
| S. agona | 7 |
| S. bovismorbificans | 2 |
| S. infantis | 2 |
| S. senftenberg | 2 |
| S. oranienburg | 1 |
| G ₁ inmóvil | 1 |

RESUMEN

Se estudiaron 95 muestras de ceviche obtenidas de establecimientos fijos y ambulantes con el propósito de conocer su calidad sanitaria mediante las siguientes determinaciones: recuento de bacterias mesofílicas aerobias; organismos coliformes; oxidasas positivas; prueba del NVT y determinación de pH y Salmonella. Se analizaron 43 muestras de expendios fijos y 53 de expendios ambulantes con una incidencia de Salmonedla de 7 y 23% respectivamente.

La media de los valores en los recuentos microbianos, valores de - pH y NVT fue:

| BMA | 6.5x10 ⁶ |
|-----|------------------------------|
| ос | 1.5 x 10 ⁵ |
| рН | 4.6 |
| NVT | 21.5 mg/100 |

con una positividad global a Salmonella de 16%.

Los resultados obtenidos en muestras de ceviche de pescado, lo -exhiben como un alimento de riesgo a la salud. Constituyéndose estos ha
llazgos en una herramienta epidemiológica que debiera ser utilizada por
las autoridades sanitarias para planear con mejores perspectivas los -programas de control sanitario de los alimentos tendientes a disminuirel riesgo a la salud asociado a su consumo.

CONCLUSIONES

 No existen diferencias importantes en la calidad del ceviche obtenido de expendios fijos y ambulantes en cuanto a los niveles de cargamicrobiana y límites de frescura.

La media en cada caso fue:

| NVT | | | BMA | OC | |
|-------------------------|--------|--------------|------------------------------|---------------------|--|
| \overrightarrow{x} | Fijos | 23.18 mg/100 | 5.2x10 ⁶ | 1.1x10 ⁵ | |
| $\overline{\mathbf{x}}$ | Ambul. | 20.35 mg/100 | 7.8 x 10 ⁶ | 1.2x10 ⁵ | |

- 2. Incidencia global de <u>Salmonella</u> en las 95 muestras analizadas fue de 16%. Resultó más alta en los establecimientos ambulantes (13%) que en los fijos (3%). Los hallazgos positivos se obtuvieron en límitesde pH de 4 y 5.
- 3. No existe una correlación directa entre los valores de NVT, la cuenta total de bacterias y la presencia del patógeno en muestras de ceviche.
- 4. Se presenta una incidencia mayor de <u>Salmonella</u> en muestras de cevi---che analizadas durante la época calurosa con respecto a las analizadas durante la época fría (25% y 2.5% respectivamente).
- 5. La calidad sanitaria en muestras de ceviche de acuerdo con las ci--fras de NVT, O.C., B.M.A. y la incidencia de Salmonella lo ubican -como alimento no muy fresco y de riesgo a la salud.

Los hallazgos de este estudio constituyen una herramienta epidemio-

lógica que debiera ser utilizada por las autoridades sanitarias para planear con mejores perspectivas los programas de control sanitario de losalimentos tendientes a disminuir el riesgo a la salud asociado a su consumo.

า คารก สินใช มีชื่อ กา

204

- . N. 1713-1

1966 - 1969 - 1969 1964 - 1966 - 1966 1965 - 1966 - 1966

1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1.

1. 12.

A CARLON CONTRACTOR OF THE STATE OF THE STAT

San James

o de la compansión de la La compansión de la compa

BIBLIOGRAFIA

- Abarca Mateos C., Barlandas Rendón R.E., Incidencia de <u>Salmonella</u> en chorizos que se expenden en mercados y supermercados de <u>la ciudad</u> ypuerto Acapulco. V Reunión Anual. Microbiología Sanitaria. Agua y --Alimentos. Guadalajara, Jal., 1988.
- 2. Bessudo, D. Serotipos de <u>Salmonella</u> identificados en <u>México</u> entre -- 1979 y 1981. Comunicación personal.
- 3. Brown, L.D. and Dorn, C.R. 1977, Fish, Shellfish and Human Health. J. Food Prot. 40:712-717. Cit. en ref. 9.
- 4. Bryan, F.L. 1980. Epidemiology of foodborne diseases transmitted by-fish, shellfish and marine crustaceans in the United States, 1970--1978. Journal of Food Prot. 43:(11)859-876.
- 5. Delaat Adrián N. Microbiología Second Edition 182-184.
- 6. De León Fajardo Luis Roberto and E.H. Marth. Bacterial Flora of fish tropical sea water. Journal of Foods Protection. Vol. 42(9):724-728.
- 7. Fernández Escartín E. 1981. Microbiología Sanitaria. Agua y Alimentos, Vol. 1:690-700.
- 8. Fernández Escartín E., Saldaña Lozano y C. Mireles Hernández. Incidencia de Salmonella en carnes crudas. Influencia del enriquecimiento en la recuperación del microorganismo. Rev. Lat-amer. Microbiología. 25:263-269.
- 9. Fernández Escartín, E., Castillo Ayala, A. y Torres Vitela R. Incidencia de Salmonella y Staphylococcus aureus en quesos frescos no pasteurizados. Rev. Lat-amer.

 Microbiología 24:83-88. 1982.
- 10. Fernández Escartín, E., Castillo Ayala. Evidencias bacterianas de -contaminación fecal en aguas frescas y licuados con leche. XIV Con-greso Nacional de Microbiología. Chihuahua, Chih., 1983.
- 11. Fernández Escartín, E., J. Saldaña Lozano y C. Hernández Mireles. -Efecto del enriquecimiento a 43° en el aislamiento de <u>Salmonella</u> a -partir de carnes crudas.

 XIII Congreso Nacional de Microbiología. Asociación Mexicana de Mi-crobiología, Guanajuato, Gto., 1982.
- 12.Greenwood D.E. Swaminathan B., and Morse E.V.

 Two Selective Enrichment Media for the isolation of Salmonella in raw frozen meats. Can. J. Microbiol. 20:813-816.

- 13. Gulasekharam J., Velaudapillai T. and Niles G.R. 1956.

 The isolation of Salmonella organisms from fresh fish sold in Co-lombo fish market. J. Hyg. 54:581-584.
- 14. J.D'Aoust Gelinas R. and Maishment'C. Presence of indicator organisms and recovery of Salmonella in fish and shellfish. Journal of-Food Protection,
 Vol. 43 (9):679-682.
- 15. Lannelongue, G. Finne, M.O. Hanna, R. Nickelson II, and C. Vander-zant. Microbiological and chemical changes during storage of sword-fish (Xiphias Gladius) steaks in retail packages containing CO₂-enriched atmospheres.
 Journal of Food Protection, Vol. 45(13):1197-1203. 1982.
- Potter, N. 1973. La ciencia de los alimentos. México, D.F. Edutex. Cap. 15:469-478.
- 17. Raj. H. and Liston, J. 1961. Survival of bacteria of public health-significance in frozen sea foods. Food Technol. 15:429-434. Cit. en ref. 9.
- 18. Russel S. Flowers, pH. D. Scientific status summary 1988. Bacteria-associated with foodborne diseases. Food Technology. Vol. 42(4): --181-200.
- 19. Silliker J.H. and Gabis D.A. ICMF Methods studies V. The influence-of selective enrichment media and incubation temperatures on the detection of Salmonella in raw frozen meats. Can. J. Microbiol. Vol. 20:813-816.
- 20. Somaatmadja Dardjo, Powers John J., and Pratt Dan E. Chemical me--thods for the determination of the freshness of fish. Department of
 Food Technology, University of Georgia, Athens, Georgia.