

T
664.001576
T 568

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Escuela de Tecnología Alimentos



D-6395

Prácticas realizadas en la sección

MICROBIOLOGIA

del

INSTITUTO NACIONAL DE PESCA

Informe de Actividades

Previa a la obtención del Título de

TECNOLOGO DE ALIMENTOS

Presentado por:

Reinaldo Vicente Tigreros Valdez

Profesor guía: Q. F. Gloria Bajaña

Guayaquil – Ecuador

1985

CALIFICACION



La Nota de

Equivalente a

Rectora

Profesora

Fecha

Guayaquil, Octubre 10 de 1985

Ingeniero

Luis Miranda Sánchez

Coordinador

Escuela de Tecnología de Alimentos.

Ciudad.

De mis consideraciones:

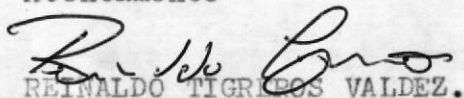
Asunto: Presentación de Informe.

Adjunto a la presente envío a usted, el Informe de la práctica profesional, requisito necesario para la obtención del título de TECNÓLOGO en ALIMENTOS.

Prácticas que fueron realizadas en el INSTITUTO NACIONAL de PESCA, ubicado en las calles Letamendi N° 102 y la Ría, por un lapso de tiempo de seis meses, entre Abril 1 y Septiembre 30 del presente año. El área de trabajo fue en el Laboratorio de MICROBIOLOGIA en calidad de analista.

Acompaña a la presente el certificado extendido por la Institución antes mencionada, como testigo de lo anteriormente dicho, al mismo tiempo que me pongo a su disposición para la disertación de este trabajo.

Atentamente


REINALDO TIGRES VALDEZ.



BIBLIOTECA

Mis practicas en el labora-
torio estuvieron dirigidas por el
Dr. Francisco García Rangel, quien
me ayudo a obtener los conocimientos
en el análisis microbiológico
de los alimentos y sus productos,
a el mis agradecimientos.

Genova

I N D I C E

	Pag
Resumen.	A
Introducción.	B
Detalle de Tecnología Desarrollada.	
Cultivo de Microorganismos.	1
Determinación de Salmonella.	3
Técnica general.	16
Contaje de microorganismos viables.	18
Enumeración de Staphylococcus aureus.	21
Enumeración de coliformes total y fecal.	28
Generalidades.	36
Aspecto General de la Empresa.	
Aspecto General del I.N.P.	40
Mercado.	43
Tamaño.	43
Financiero.	47
Conclusiones y Recomendaciones.	53
Bibliografía.	55
Glosario.	56
Anexos.	57





BIBLIOTECA

RESUMEN

El Informe siguiente esta dividido en tres capítulos los cuales son:

Detalle de Tecnología Desarrollada, que posee en gran parte los distintos métodos para determinar la cantidad o presencia de microorganismos en un alimento, además los estándares permitidos en los productos analizados, la forma como deben de prepararse los distintos medios y reactivos que se utilizan y los cuidados que deben de tomarse al estar en un laboratorio de Microbiología.

Aspecto General de la Empresa, el cual comprende una breve información del Instituto Nacional de Pesca, la organización de la entidad, objetivos y finalidad para la que fue creado, la capacidad del laboratorio donde realicé mis prácticas, los equipos que el posee, los costos, tanto de equipos, aparatos, materiales, medios, reactivos y análisis.

La última parte del Informe contiene las conclusiones y recomendaciones a las que he llegado al finalizar mis prácticas, tanto en el aspecto de las nuevas técnicas aprendidas como en el de la carrera, finalizando luego con la Bibliografía que se recomienda utilizar para ampliar la información que hay aquí.



BIBLIOTECA

INTRODUCCION

El Informe siguiente contiene gran parte de los conocimientos adquiridos durante estos seis meses, al realizar las prácticas profesionales en el Instituto Nacional de Pesca, domiciliado en la ciudad de Guayaquil en las calles Letamendi N^o 102 y la Ría. Entidad de derecho público, adscrita al Ministerio de Recursos Naturales y Energéticos.

El Instituto Nacional de Pesca tiene como objetivos:

- 1- Realizar la investigación científica y tecnológica de los recursos bioacuáticos.
- 2- Prestar asistencia científica y técnica.

El Instituto Nacional de Pesca formado por distintos departamentos, de los cuales está el de Productos Pesqueros, sud-dividido en secciones, entre las cuales esta el de Microbiología el que realiza funciones de: analizar, extender certificados luego de los análisis correspondiente y realizar investigaciones.

En el laboratorio de Microbiología realice labores como analista, aprendiendo las técnicas que se deben seguir para determinar la calidad microbiológica de los productos alimenticios marinos, y principalmente a la harina de pescado y al camarón congelado, técnicas tales como:

- a.- Determinación de Salmonella
- b.- Contaje de microorganismos viables.
- c.- Enumeración de Stafilococcus.
- d.- Enumeración de coliformes total y fecal.

DETALLE DE TECNOLOGIA DESARROLLADA

EN EL

INSTITUTO NACIONAL DE PESCA

EN LA

SECCION :

MICROBIOLOGIA



BIBLIOTECA

CULTIVO DE MICROORGANISMOS.

El cultivo de microorganismos en el laboratorio involucra muchos factores. Es necesario tener un amplio surtido de medios de cultivo que deben contener las sustancias químicas precisas y la correcta concentración de hidrogeniones que los microorganismos precisan para su crecimiento y reproducción. Los requerimientos de temperatura, oxígeno y humedad deben obtenerse cuidadosamente. Algunos organismos son capaces de crecer fácilmente en un medio simple que no cumpla con rigor las condiciones habitualmente requeridas, pero otros son más exigentes y necesitan factores adicionales de crecimiento y condiciones óptimas. Actualmente muchos laboratorios preparan sus medios de cultivo con productos secos o deshidratados, que pueden obtenerse de firmas comerciales. Estos productos dan resultados excelentes y son muy empleados. A pesar de ello un técnico debe conocer la preparación de los medios y el empleo de determinados reactivos.

En el caso de bacterias patógenas la energía deriva de la desintegración oxidativo de proteínas e hidratos de carbono. Los productos de hidrólisis de estas sustancias, esto es, aminoácidos, alcoholes, etc., logrados por los sistemas enzimáticos del organismo, se utilizan en la síntesis de un nuevo protoplasma por la célula.

Los materiales utilizados en la preparación de los medios de cultivo están, generalmente, en la forma que más perfectamente asimila la bacteria. Por ejemplo, la fuente de nitrógeno es invariablemente la peptona, que se obtiene por digestión péptica -

de proteínas, y consiste en una mezcla de proteasas, polipeptidos y aminoácidos. Es fácilmente soluble y se incorpora bien por los medios de cultivo. El carbono se obtiene mediante una degradación enzimática de los hidratos de carbono.

Las sales minerales son esenciales para el crecimiento de las bacterias y entre ellas se incluyen iones de fosfato y magnesio. Estos últimos también actúan como catalizadores para muchos enzimas. El potasio ha demostrado que tiene un papel en la glucolisis, el de los iones de calcio es esencial en ciertas reacciones enzimáticas.

Las bacterias más exigentes pueden necesitar factores de crecimiento adicionales, por ejemplo, el Haemophilus influenzae precisa dos factores, ambos presentes en la sangre: el factor V y el factor X.



BIBLIOTECA

DETERMINACION DE SALMONELLA

1.A Introducción.

Salmonella.- El grupo salmonella está constituido por microorganismos móviles, Gram-negativos que no fermentan la lactosa y que están estrechamente relacionados antigénicamente, fermentan la glucosa y el manitol, la mayoría con producción de gas. Son bacterias patógenas para el hombre y habitualmente aisladas en las heces, orina o sangre y ocasionalmente del pus. Las variedades del tipo salmonella son responsables de las fiebres intestinales, intoxicación alimenticias y septicemia e invariablemente de cualquier infección causada por microorganismos que entran en el cuerpo por vía oral.

Las salmonellas se clasifican mediante las pruebas de aglutinación con suero absorbido en:

S. typhi., es el organismo causante de la fiebre tifoidea. Es uno de los pocos salmonellas que jamás producen gas en los azúcares con agua de peptona. Es un organismo monofásico móvil.

S. typhimuriun. es el salmonella más frecuente causante de intoxicación alimenticias. Es un patógeno natural de las ratas y el ratón. Es un organismo móvil difásico.

2.A Fundamento.

Los métodos para el aislamiento e identificación de salmonella en los alimentos, pueden considerarse divididos en cinco etapas sucesivas.

- 2.A.1 Pre-enriquecimiento (enriquecimiento no selectivo)
- 2.A.2 Enriquecimiento selectivo.
- 2.A.3 Siembra en placa de medios sólidos selectivos y diferenciales.
- 2.A.4 Estudio de las características bioquímicas de las colonias sospechosas, en los medios adecuados.
- 2.A.5 Análisis antigénico, empleo del antisuero polivalente O y H.

3.A Material y Aparatos.

- a. Homogenizador mecánico (Stomacher)
- b. Fundas estériles de plástico
- c. Balanza analítica sensible al 0,1 g.
- d. Espátula y mechero.
- e. Estufa a 37 y 43°C.
- f. Baño de agua circulante a 43°C.
- g. Placas de petri (vidrio o plásticas), estéril.
- h. Autoclave.
- i. Tubos de ensayo.
- j. Pipetas graduadas, estériles.
- k. Asas de inoculación.
- l. Medios de cultivo (líquidos o sólidos.).

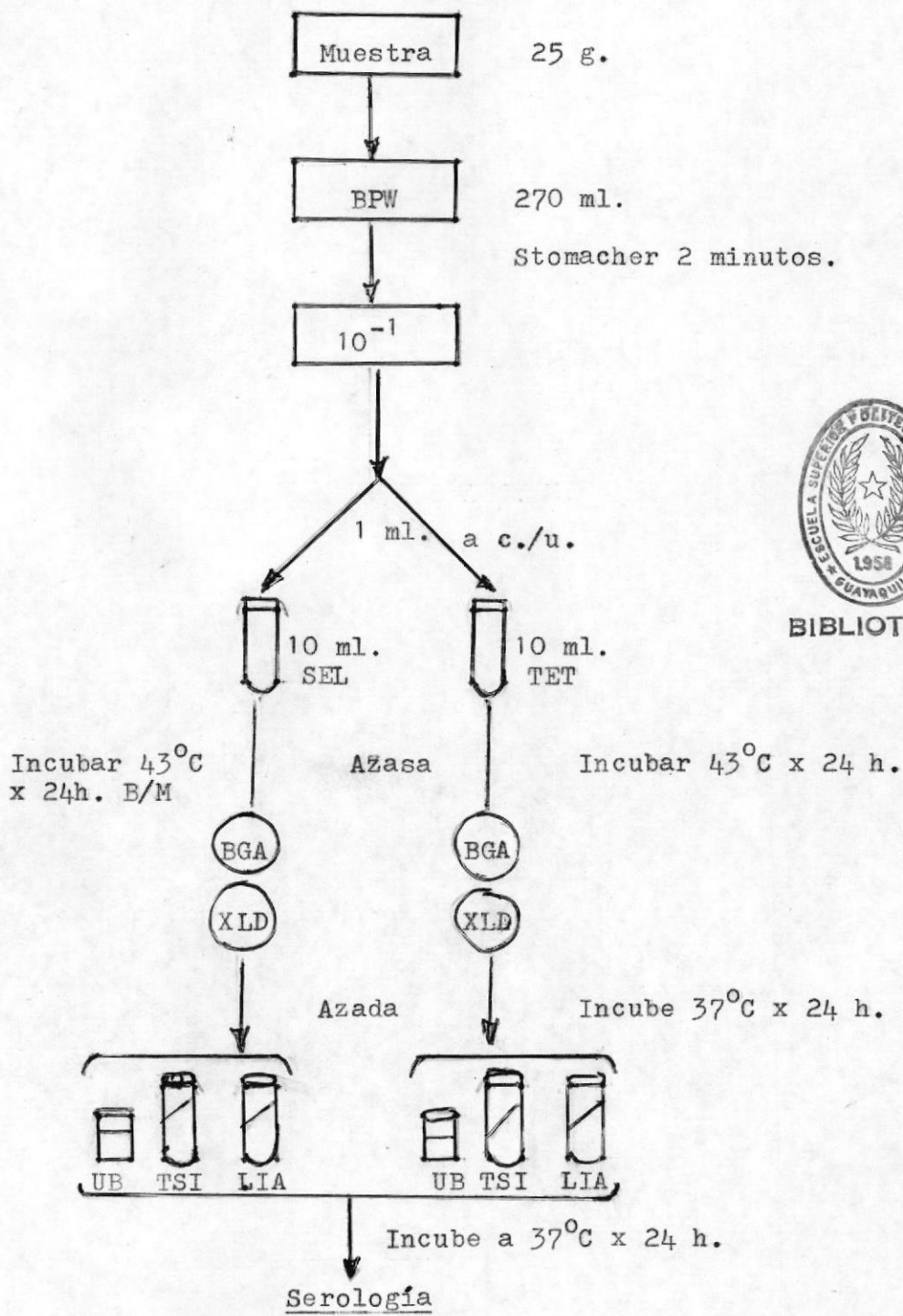
4.A Procedimiento.

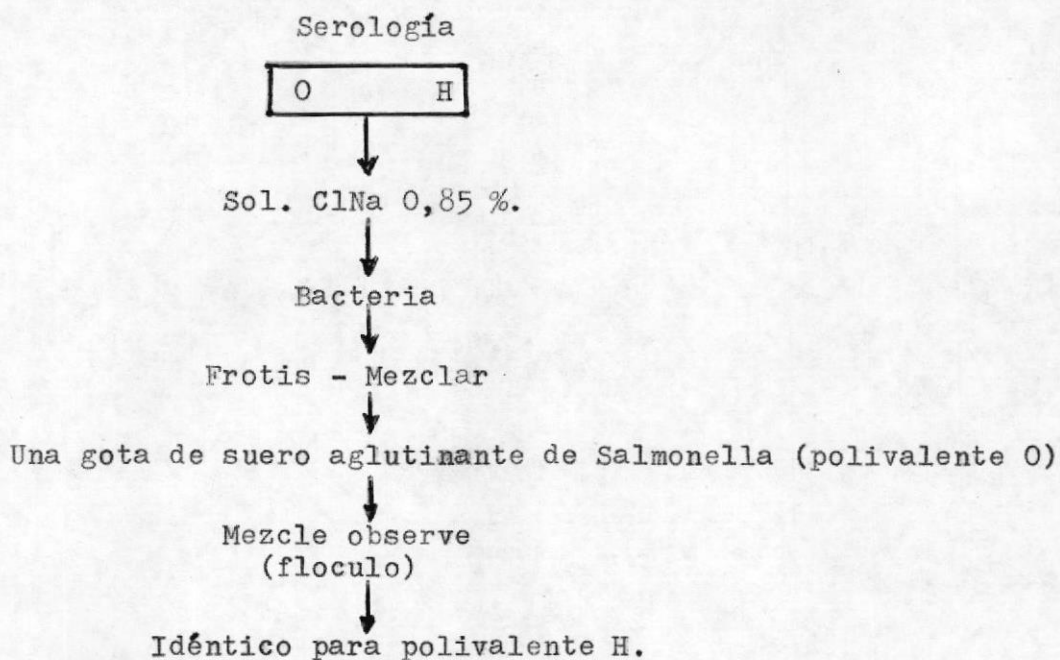
4.A.1 Diagrama del análisis.

Simbolos del diagrama.

- BPW = Agua de peptona bufferada.
- SEL = Caldo selenito cistina
- TET = Caldo base de tetracionato.
- BGA = Agar verde brillante.
- XLD = Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato.

- TSI = Agar hierro triple azúcar.
- LIA = Agar hierro lisina.
- UB = Caldo de Urea.
- B/M = Baño maría.





4.A.2 Técnica.

4.A.2.1 Pre-enriquecimiento.

a.- Pesar 25 g. (en ambiente aséptico) de muestra previamente homogenizada, y con una espátula o pinza flameada se introduce en la funda estéril.

b.- Mezcle los 25 g. de muestra con 225 ml. de BPW (Agua de peptona buferada). Si la muestra no es soluble en el medio de enriquecimiento previo, póngalo en el Stomacher por dos minutos.

c.- Incube el medio de enriquecimiento previo (agua de peptona bufferada) durante 18 - 24 horas a 37°C.

4.A.2.2 Enriquecimiento selectivo.

a.- Del medio (BPW) despues de la incubación se toma 1 ml. con una pipeta graduada estéril y se inocula en

tubo que contenga 10 ml. de caldo selenito cistina. Incube en un baño de agua regulable a 43°C . durante 24 horas.

b.- Hacer lo mismo que se indica en 4.A.2.2.a. pero en esta ocasión el tubo debe contener caldo de tetrati onato e incube en la estufa a 43°C . durante 24 horas.

4.A.2.3 Siembras en placas en medios de agar selectivo.

a.- Pasar un azada de cada uno de los medios de enriquecimiento selectivo a la superficie de una placa de cada uno de los medios de agar selectivo señalados a continuación y extender de tal manera que se obtengan colonias aisladas (siembra por agotamiento).

b.- Incubar las placas en posición invertida; a 37°C . durante 24 horas e interpretar las placas del medio de BGA y XLD según las indicaciones señaladas a continuación

Las colonias de salmonella en Agar verde brillante se presentan de color rojas rodeadas de un halo brillante.

En Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) las salmonellas se presentan en forma de colonias rojas con el centro negro.

4.A.2.4 Estudio de las características bioquímicas de las colonias sospechosas (presuntivas)

a.- Tomar con un aguja de inoculación estéril una de las colonias de cada tipo que se consideran sospechosas,

del agar XLD o BGA, se pasan (las colonias) al agar hierro tres azúcares (TSI) y al agar hierro lisina (LIA) en tubos inclinados. Inocule los medios mediante siembra en estrías y a continuación, por picadura en la columna del agar, inocule primero un medio, sin flamear tome de la misma forma - descrita anteriormente, inocule el otro medio, luego tome - más muestra de la colonia e introduzca en el caldo de urea.

b.- Incubar los tubos en caso de ser *S. typhi* o *S. typhimuriun*, muestran en agar de TSI las reacciones siguientes.

	Fondo	Pendiente	SH ₂
<i>S. typhi</i>	A	NC o ALC	+
<i>S. typhimuriun</i>	AG	NC o ALC	+

A = ácido (amarillo)

AG = ácido (amarillo) y formación de gas.

NC = sin cambio

ALC = alcalino (rojo)

+ = negro.

En agar de LIA la reacción es la siguiente:

Cultivo	Fondo	Pendiente	SH ₂
Salmonella	Alcalino	Alcalino	+

Alcalino = purpura.

En el caldo de urea la reacción debe de ser negativa, no debe de cambiar de su color original (amarillo).

4.A.2.5 Prueba serologica (análisis antigénico)

Material y aparatos.

- a.- Portaobjetos de vidrio
- b.- asas de inoculación.
- c.- Pipetas bacteriológicas.
- d.- ClNa en solución acuosa al 0,85 %.
- e.- Antisuero salmonella, polivalente O y H.
- f.- Cultivo de la presuntas salmonellas typhi o typhimuriun en tubos de agar TSI.

Técnica.

a. Colocar una gota de solución salina al 0,85% (estéril) en los extremos de un porta-objeto limpio. De un tubo de agar TSI conteniéndo un cultivo de salmonella, tomar una cantidad de este cultivo con un asa y hacer una suspención a cada una de las gotas de solución salina. Agregar una gota de antisuero "O" a una de las suspensiones usando un asa, mezcle bien.

Mover el porta-objetos por 15 - 30 segundos, mezcle bi en . Comparar la aparienciade las dos suspensiones, una - prueba positiva para salmonella se va a ver claramente la aglutinación en el término de un minuto a la gota que se le agrego el antisuero.

b. Hacer lo mismo utilizando el polivalente "H".

El principio de la identificación serológica de salmonella, implica la mezcla íntima de una suspensión del organismo (el antígeno) con el inmuno suero (el anticuerpo). Si

el suero contiene aglutininas por la presencia del antígeno en el organismo, se dará una rápida y completa deformación (aglutinación) del organismo. Esto se conoce como una reacción homóloga.

La reacción homóloga se caracteriza por la rapidez y avidez de la misma.

5.A Resultados.

5.A.1 Tabla de límites de tolerancia.

Microorganismo	N	C	límite x g.	
			m	M
Salmonella	5	0	0	0

N = Número de muestras tomadas.

C = Cantidad de muestras toleradas entre m y M

m = Límite mínimo.

M = Límite máximo.

5.A.2 Interpretación de los resultados.

El análisis anterior no es una prueba cuantitativa si no cualitativa, la simple presencia de salmonella hace que este alimento analizado sea rechazado y se debe de realizar un remuestreo del alimento contaminado para ser nuevamente investigado. Si sale positivo luego del remuestreo, este alimento debe de ser destruido (incinerado).

Preparación de los medios y reactivos.Agua de peptona bufferada (BPW).

Fórmula	en g. por litro.
Peptona	10,0
Cloruro de sodio	5,0
Fosfato disódico	3,5
Fosfato monopotásico.	1,5
pH 7,2 (aproximado)	

Instrucciones.- Se añaden 20 gr. a un litro de agua destilada. Se mezcla bien y se distribuye en los recipientes definitivos. Se esteriliza en el autoclave a 121°C. durante 15 minutos.

Caldo de Selenito Cistina.

Fórmula:	en g. por litro.
Triptona	5,0
Lactosa	4,0
Fosfato de sodio monohidrogenado	10,0
Selenito ácido de sodio	4,0
L-cystina	0,01
pH 7,0 ± 0,2	

**BIBLIOTECA**

Instrucciones.- Para rehidratar el medio se suspenden 23 g. en un litro de agua destilada y se calienta hasta la ebullición. Se distribuye en tubos estériles de cultivo para dar al medio una profundidad de un mínimo de 60 mm. Se debe evitar el calentar de un modo excesivo. No se debe esterilizar en el autoclave.

Caldo de tetracionato de Muller-Kaufman.

Fórmula :	en g. por litro.
Triptona	7,0

Peptona de soja	2,3
Cloruro de sodio	2,3
Carbonato de calcio	25,0
Thiosulfato de sodio	40,7
Bilis de buey	4,75

pH 7,2 (aproximado)

Instrucciones.- Se suspenden 82 g. en un litro de agua destilada y se calienta hasta que hierva. Se enfria por debajo de 45^o C., y se añaden inmediatamente antes de utilización, 20 ml. de una solución de yodo y 2 ml. de una solución de verde brillante al 0,5 %. Se mezcla bien y se vierte en tubos estériles (10 ml. por tubo)

Solución de Yodo.

Yodo	20 g.
Yoduro de potasio	25 g.
Agua destilada	100 ml.

Preparación.- Se disuelve el yoduro de potasio en 5 ml. de agua destilada, se añade el yodo y la solución se calienta suavemente hasta disolverlo completamente. Se completa con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

Solución de verde brillante.

Verde brillante	0,5 g..
Agua destilada	100 ml.

Preparación.- Se añade verde brillante al agua destilada y se agita hasta disolver el colorante. Se calienta la solución a 100^oC. durante 30 minutos y se agita de vez en cuando mientras se agita de vez en cuando mientras se enfria para asegurar que el colorante se disuelva completamente. Se almacena en un frasco de vidrio pardo o preservado de la luz.

Agar de verde brillante. (modificado).

Fórmula. :	en g. por litro.
Lab-lenco en polvo	5,0
Peptona bacteriológica	10,0
Polvo de extracto de levadura	3,0
Fosfato disódico	1,0
Fosfato monosódico	0,6
Lactosa	10,0
Sacarosa	10,0
Rojo de fenol	0,09
Verde brillante	0,0047
Agar	12,0

pH 6,9 (aproximado).

Instrucciones.- Se suspenden 52 g. en un litro de agua destilada, se hierve hasta disolver el medio por completo. No se debe autoclavar. Se enfría a 50°C., se mezcla bien y se distribuye en placas de petri.

Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato.

Fórmula	en g. por litro.
Extracto de levadura en polvo	3,0
Clorhidrato de L-lisina	5,0
Xilosa	3,75
Lactosa	7,5
Desoxicolato de sodio	7,5
Cloruro de sodio	1,0
Thiosulfato de sodio	5,0
Citrato ferrico amónico	6,8
Rojo de fenol	0,08
Agar	12,5

Instrucciones.- Se suspenden 53 g. en un litro de agua destilada, se calienta con agitación frecuente hasta que el medio hierve. No se debe sobre calentar ni autoclavar. Se transfiere inmediatamente a un baño a 50°C. Tan pronto como se haya enfriado el medio, se vierte en placas, el pH final del medio sera de 7,4.

Agar de hierro tres azúcares.

Fórmula :	en g. por litro.
Lab-lenco en polvo	3,0
Extracto de levadura	3,0
Peptona	20,0
Cloruro de sodio	5,0
Lactosa	10,0
Sacarosa	10,0
Dextrosa	1,0
Citrato ferrico	0,3
Thiosulfato de sodio	0,3
Rojo de fenol	0,024
Agar	12,0

pH 7,4 (aproximado).

Instrucciones.- Se suspenden 65 g. en un litro de agua des_ tilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se mezc_ la bien y se distribuye 8 ml. por tubos. Se esteriliza en el autocl_ ave a 121°C. durante 15 minutos. Se deja solidificar el medio en posición inclinada.

Agar de Hierro lisina.

Fórmula :	en g. por litro.
Peptona bacteriologica	5,0
Extracto de levadura	3,0
Dextrosa	1,0
L-lisina	10,0
Citrato ferrico amónico	0,5
Thiosulfato de sodio	0,04
Purpura de bromocresol	0,02
Agar	14,5

pH 6,7 (aproximado)

Instrucciones.- Se suspenden 34 g. en un litro de agua des_ tilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se distri_ buye en tubos de 8 - 10 ml., de medio y se esteriliza en el auto- clave a 121°C durante 15 minutos. Los tubos se enfrían en posición inclinada para formar pendiente con fondo profundo,



BIBLIOTECA

Caldo base de Urea

Fórmula:	en g	por litro
Peptona	1,0	
Dextrosa	1,2	
Fosfato bisodico	0,8	
Fosfato de potasio	1,2	
ClNa	5,0	
Rojo de fenol	0,004	

pH 6,8 (aproximado)

Instrucciones.- Se añaden 0,9 g a 95 ml de agua destilada. Se esteriliza en el autoclave a 115°C durante 20 minutos. Se enfria a 55°C y se introduce asépticamente 5 ml de una solución estéril al 40 %. Se mezcla bien y se distribuye en cantidades de 4 ml en recipientes estériles.

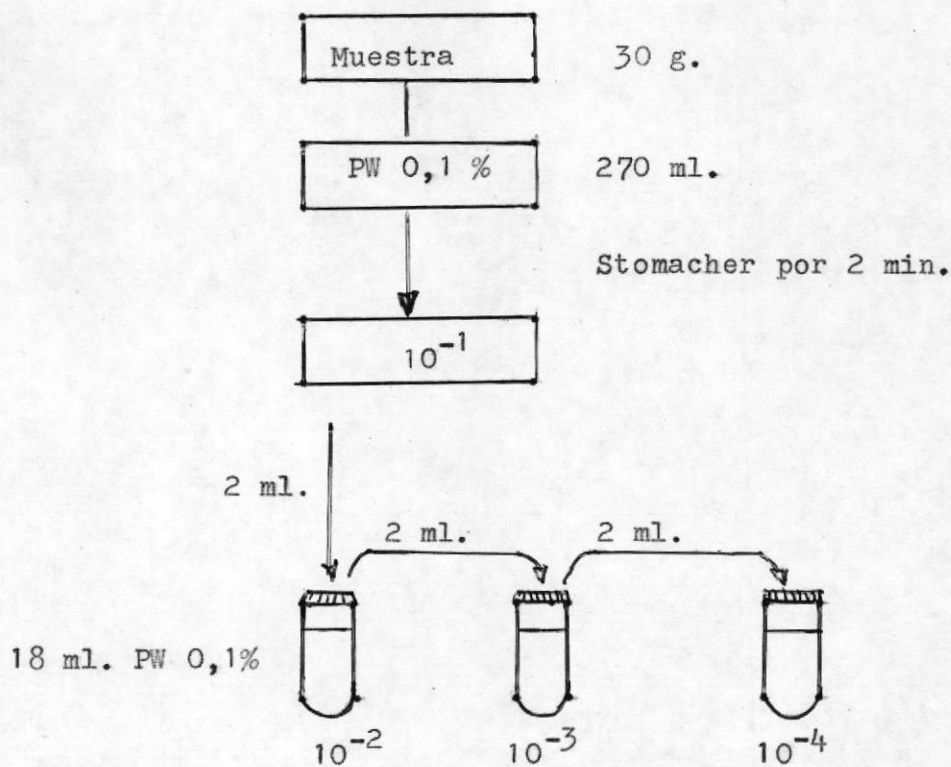
B. Técnica General.

1.B. Materiales y aparatos.

- a. Homogenizador mecánico (Stomacher).
- b. Pipetas estériles.
- c. Tubos de ensayos con tapa rosca.
- d. Medios de dilución.
- e. Muestra a analizar.

2.B Técnica.

2.B.1 Diagrama del análisis.



PW 0,1% = Agua de peptona al 0,1%

2.B.2 Técnica.

Pesar 30 g. de muestra homogénea a analizar, agregamos 270 ml. de diluyente estéril (PW 0,1%) y homogenizar la

muestra en el stomacher por dos minutos, dandonos una diluci_ón de 10^{-1} .

Utilizando una pipeta estéril se transfieren 2 ml. de la dilución obtenida a un tubo conteniendo 18 ml. de diluyen_ te estéril (PW 0,1%) agitamos y esto nos proporciona una dilu_ ción de 10^{-2} . Repetir el proceso y se preparan diluciones de 10^{-3} y 10^{-4} . etc..

Preparación del diluyente estéril.

Agua de peptona 0,1%.

Fórmula	en g. por litro
Peptona	10,0
Cloruro de sodio	5,0

Instrucciones.- Se añade 1 g. a un litro de agua destilada Se mezcla bien y se distribuye en los recipiente definitivos. Se esteriliza en el autoclave a 121°C durante 15 minutos. ✕



BIBLIOTECA

CONTAJE DE MICROORGANISMOS VIABLES A 25° C.

1.C Introducción.

Los métodos para llevar a cabo el recuento del número de microorganismos aerobios (recuento en placa) encontrados en alimentos ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad de los alimentos más comúnmente utilizados.

2.C Fundamento.

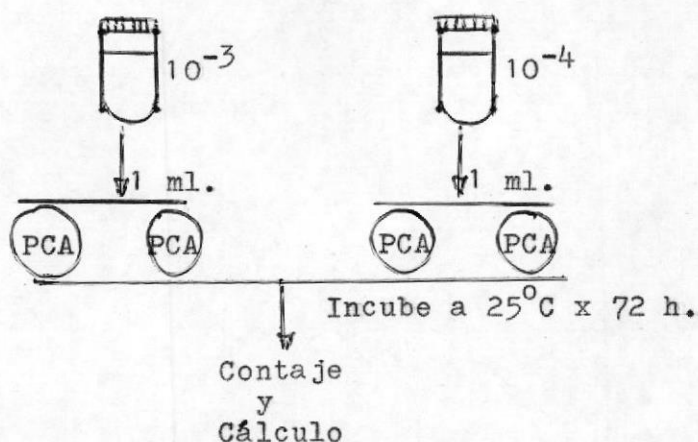
El método se basa en colocar la muestra en un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de microorganismo en condiciones adecuadas y enumeración de las colonias presentes.

3.C Materiales y aparatos.

- a. Estufa a 25°C.
- b. Placas petri (estéril)
- c. Pipetas graduadas (estéril)
- d. Diluciones de 10^{-3} y 10^{-4} .

4.C Método.

4.C.1 Diagrama del análisis.



4.C.2 Técnica.

a.- Transferir 1 ml. de alícuota de muestra diluida de 10^{-3} y 10^{-4} a placas de petri marcadas por duplicado. Agregar 15 ml. de medio (PCA= Agar para el recuento de placas), - el cual ha sido licuado a una temperatura de $45^{\circ}\text{C}.$, mezcle la muestra y el agar, dejar enfriar hasta completa coagulación - del agar.

b.- Transferir las placas de petri a la incubadora asegurándose antes que estén bien secas. Incubar en forma invertida a 25°C por 72 horas.

c.- Realizar la enumeración de las colonias de microorganismos presentes, esto se hace con la ayuda de un contador de colonias (Quebec).

5.C Cálculos.5.C.1 Contaje a $25^{\circ}\text{C}.$

10^3	10^4	Unid./g.
A	c	
B	d	

$$\text{Unid./g.} = \frac{A + B + c + d}{2,2}$$

5.C.2 Tabla de límite de tolerancia.

Microorganismos	N	C	límite x g.	
			m	M
Contaje estandar de placa	5	3	10^6	10^7

5.C.3 Ejemplo.

Muestra	10^3	10^4	Unid./g.
1	Inct. Inct.	179 181	$1,8 \times 10^6$
2	35 39	2 3	$3,6 \times 10^4$
3	Inct. Inct.	Inct. Inct.	$> 10^7$
4	198 205	29 21	$2,1 \times 10^5$
5	Inct. Inct.	Inct. 295	$> 10^7$

Preparación del medio.Agar para recuento en placas (PCA).

Fórmula: en g. por litro.

Extracto de levadura en polvo	2,5
Digerido pancreático de caseína	5,0
Glucosa	1,0
Agar	15,0

pH 7,0 (aproximado).

Instrucciones.- Se suspenden 23,5 g. en un litro de agua destilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se distribuye en frascos y se esteriliza en el autoclave a 121°C . por 15 minutos.



BIBLIOTECA

RECUESTO DE STAFILOCOCCUS AUREUS

1.D Introducción.

El género stafilococcus comprende tres especies: St. aureus, St. epidermis, St. saprophyticus. De ésta el St. aureus es el más importante para la microbiología de los alimentos, la intoxicación alimentaria estafilocócica es un síndrome caracterizado por náuseas, vómitos, diarreas, malestar y debilidad general. Los síntomas comienzan a partir de las seis horas después de consumido el alimento. Aunque la enfermedad raramente es mortal, los casos graves pueden complicarse, presentándose a veces deshidratación y Schock. El enfermo suele reponerse en unas 24 horas, aunque en algún caso la recuperación puede durar varios días.

En alimentos cocinado o procesados, los stafilococcus son buenos indicadores de la higiene personal de los trabajadores de la industria donde fueron elaborados.

Los manipuladores de alimentos pueden dar origen a contaminación por stafilococcus, que llegan a los productos como consecuencia de infecciones respiratorias, lesiones supuradas (forúnculos, cortes infectados, abrasiones, etc.), a partir de los orificios nasales de "portadores" (generalmente por vía manual), o por la tos, estornudos y expectoraciones, en los casos de infecciones de la garganta y bronquios, secuelas éstas del resfrío común. Los stafilococcus tienden a ser resistentes a la desecación y, por lo tanto, tiene cierto valor para evaluar la validez de los procedimientos de desinfección de superficies utilizadas en las fábricas de alimentos. Para productos de fábricas concretas,

el contenido en stafilococcus de los platos precocidos congelados constituye un buen indicador del nivel de higiene y de la eficacia de los métodos de limpieza y desinfección.

El stafilococcus aureus es el de mayor poder patógeno del grupo stafilococcus. Produce una sustancia (casi con seguridad una enzima) llamada coagulasa, que in vitro, es capaz de formar coágulo en el plasma citratado u oxalatado, e in vivo deposita fibrina sobre la superficie del estafilococcus, haciendolo mucho menos susceptible a la fagocitosis.

2.D Fundamento.

Recuento de stafilococcus aureus (stafilococcus coagulasa positiva) utilizando un medio específico, que contienen concentración elevadas de cloruro de sodio.

3.D Materiales y aparatos.

- a. Placas de petri (estéril)
- b. Pipetas graduadas (estéril)
- c. Estufa de incubación, 37°C
- d. Cabina de flujo laminar o estufa de desecación para secar la superficie del medio contenido en las placas.
- f. Medios de cultivo
- e. Varilla de vidrio en forma de bastón de hockey
- g. Muestra diluida de 10^{-2} y 10^{-3} .



BIBLIOTECA

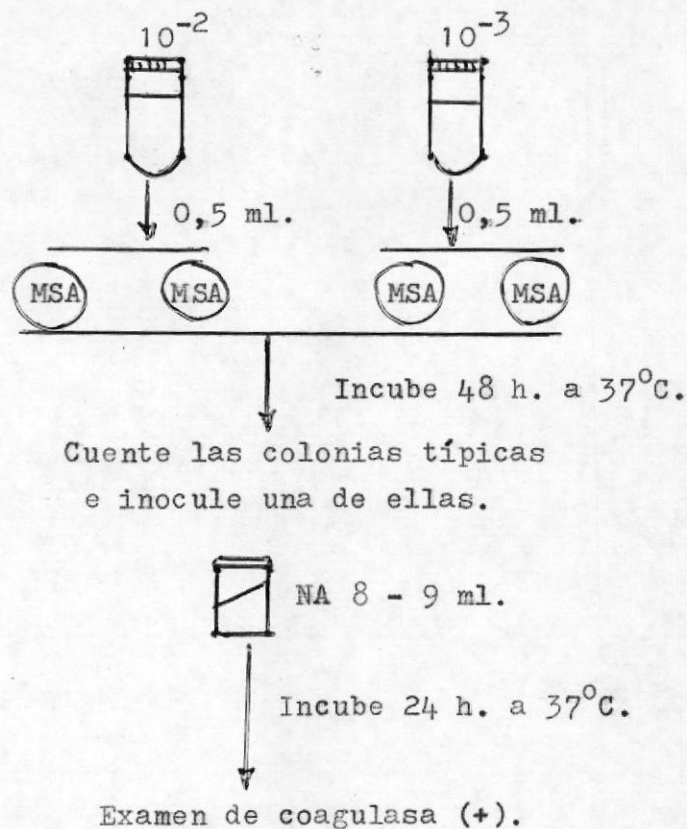
4.D Técnica.

4.D.1 Diagrama del análisis.

Simbología del diagrama

MSA = Agar salado de manitol

NA = Agar nutritivo.



4.D.2 Método.

Conteo directo en placas.

A.- Preparar la muestra de alimento como se describe en la sección de técnicas generales.

B.- Preparar placas petri de agar de sal y manitol, dejelas solidificar y secar por 20 minutos en la cabina de flujo laminar.

C.- Transferir 0,5 ml. de sus diluciones 10^{-2} y 10^{-3} a la superficie del medio contenido en las placas independientes y extender el inóculo con ayuda de la varilla de vidrio, hasta que sean absorbidas por el medio. Para cada dilución deben prepararse placas por duplicado.

D.- Incubar las placas en posición invertida a 37°C durante 48 horas.

E.- Una vez finalizado el período de incubación, contar todas las colonias que sean amarillas brillantes con zonas amarillas.

F.- Escoja un mínimo de tres colonias de cada placa y realice la prueba de producción de coagulasa.

G.- Obtenga el total de número de colonias amarillas que producen zonas brillantes después de 48 horas y saque la proporción de las que sean positivas y coagulasa después de la prueba de coagulasa: calcule el número de St. aureus por g. de muestra.

4.D.3 Prueba de la coagulasa.

4.D.3.1 Material y Aparatos.

- a Pipetas bacteriológicas.
- b Asa de inoculación.
- c Porta-objetos de vidrio.
- d Estufa, 37°C.
- e Agar nutritivo repartido en volúmenes de 8-9 ml., en tubos, en forma inclinada.
- f Plasma de conejo reconstituido.
- g Colonias sospechosas.

4.D.3.2 Técnica de la plaquilla.

A. Re-inocule colonias sospechosas en agar nutritivo e incube hasta el día siguiente a 37°C.



BIBLIOTECA

B. Ponga una gota de agua destilada estéril en una lamina porta-objetos.

c. Emulsifique la colonia que se desea probar.

D. Agregue una gota de plasma reconstituido de corjo y mezcle perfectamente.

E. La coagulación en 10 segundos indica la presencia de stafilococcus aureus que producen la coagulasa y se reporta como positivo.

5.D Resultados.

Ejemplo y explicación.

10^2	10^3
A	B

A = Suma de las colonias típicas de la dilución 10^{-2}

B = Suma de las colonias típicas de la dilución 10^{-3} .

Si de las placas de MSA de la dilución 10^{-2} se contarón 10 y 9 colonias en cada caja, el total de stafilococcus aureus presuntivos sera la suma de 9 y 10 por la inversa de la dilución.

$$10 + 9 = 19 \times 10^2$$

Lo mismo ocurre para el contaje de la dilución 10^{-3} .

Luego cuando realizamos la prueba de la coagulasa, como se tomarón un mínimo de tres colonias típicas del total encontradas. Si de estas las tres salieron positivas en la

prueba de la coagulasa, la cantidad de colonias por gramo de muestra sera el contado originalmente, por-ejemplo 19×10^2 .

Pero si salen una o dos positivas, dividimos para tres y sumamos las que salieron positivas.

Ejemplo:

$$\frac{19 \times 10^2}{3} = 6,3 \times 10^2 \text{ Cuando sale una positiva.}$$

$$\frac{19 \times 10^2}{3} = 6,3 \times 10^2 \times \underline{2} = 12,7 \times 10^2 \text{ Cuando salen dos positivas.}$$

Si ninguna sale positiva la muestra no posee *St. aureus* y no se toma cuenta el anterior contaje en el informe del análisis realizado.

5.D.2 Tabla de límites de tolerancia.

Microorganismo	N	C	Limitexx g. m M
Stafilococcus	5	3	$10^3 - 2 \times 10^3$

Nota:

N = Número de muestra tomada.

C = Cantidad de muestra toleradas entre m y M.

m = Límite mínimo.

M = Límite máximo.

Preparación de los mediosAgar de sal y manitol (MSA).

Fórmula	en g. por litro
Lab-lenco en polvo	1,0
Peptona	10,0
Manitol	10,0
Cloruro de sodio	75,0
Rojo de fenol	0,025
Agar	15,0

pH 7,5 (aproximado)

Instrucciones.- Se suspenden 111 g. en un litro de agua destilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se esteriliza en el autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agar nutritivo (MA).

Fórmula	en g. por litro.
Lab-lenco en polvo	1,0
Extracto de levadura	2,0
Peptona	5,0
Cloruro de sodio	5,0
Agar	15,0

pH 7,4 (aproximado)

Instrucciones.- Se suspenden 28 g. en un litro de agua destilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se distribuye en frascos universales de 8 - 9 ml. Se esteriliza en el autoclave a 121°C. durante 15 minutos. Se deja solidificar el medio en posición inclinada.



BIBLIOTECA

ENUMERACION DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES.

1.E Introducción.

La *Escherichia coli* es un germen cuyo habitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E. coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos. La enumeración de *E. coli* en el agua constituye una medida de la cuantía de la polución, mientras que los niveles detectados en los alimentos pueden estar influenciados por otros factores, tales como la multiplicación de microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a la partícula del alimento. Con todas cifras sustanciales de *E. coli* en un alimento sugiere una falta general de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado. La presencia de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente.

2.E Fundamento.

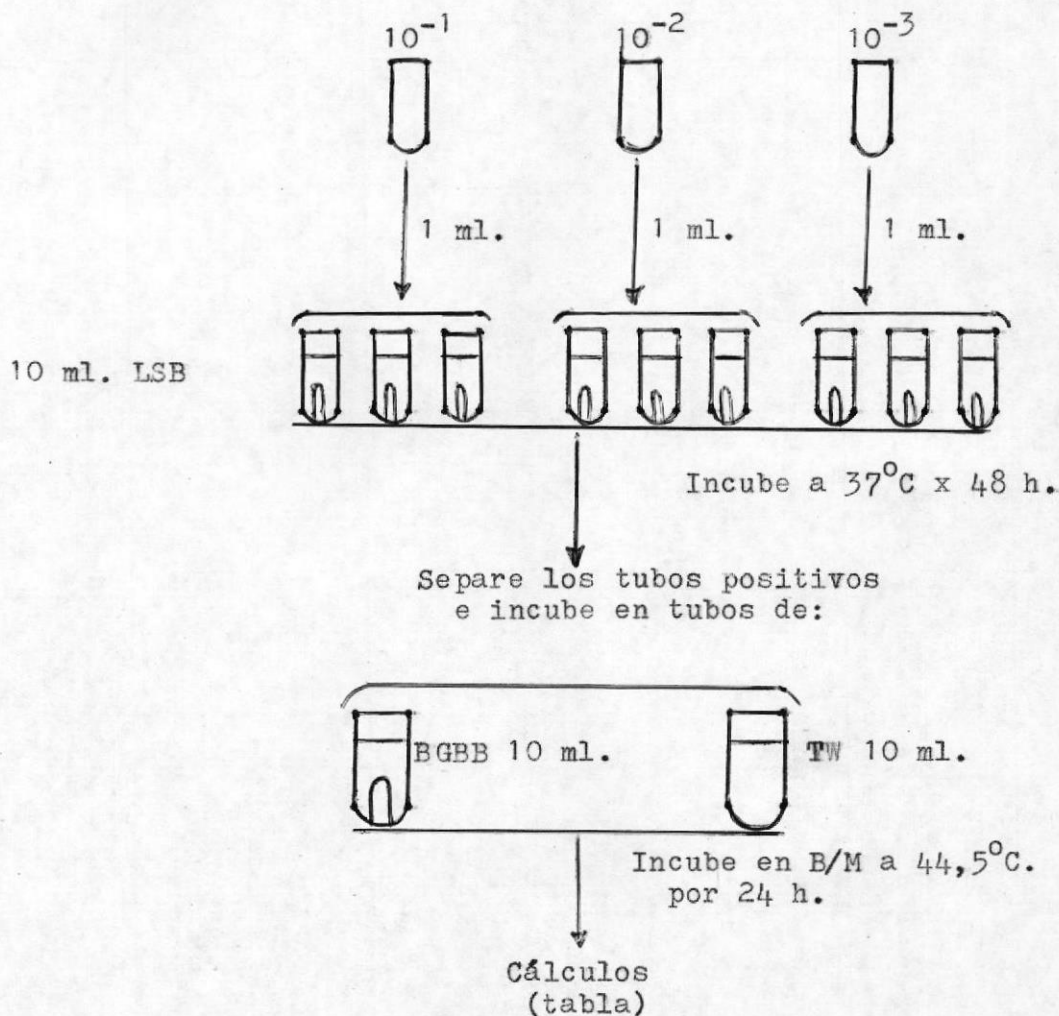
Los coliformes fecales comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales (44,5°C.).

3.E Materiales y aparatos.

- a.- Pipetas graduadas (estéril).
- b.- Tubos de ensayo.
- c.- Tubos de Durhan.
- d.- Estufa a 37°C.
- e.- Baño circulante de agua a 44,5°C.
- f.- Dilución de la muestra (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}).
- g.- Medios y reactivos.

4.E Método.4.E.1 Diagrama del análisis.

BIBLIOTECA



4.E.2 Técnica.

Recuento de coliformes: totales y fecales.

Técnica del Número Más Probable (NMP).

a. Preparar la muestra de alimentos (técnica general) y obtener la dilución del alimento homogenizado 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .

b. Pipetear 1 ml. de cada una de las diluciones en tubos de caldo lauril sulfato, utilizando tres tubos por cada dilución, los tubos de lauril deben poseer tubos de fermentación de Durhan.

c. Incubar los tubos a 37°C durante 48 horas.

d. Pasadas las 48 horas, anotar los tubos que muestren producción de gas y turbidez.

e. Anotar el número de tubos confirmados como positivos de organismos coliformes (totales) en cada dilución.

f. Confirmar que los tubos de caldo lauril sulfato, seleccionados son positivos para coliformes de origen fecal (procedentes del intestino de los animales de sangre caliente)

g. Inocule una azada de cada uno de los cultivos seleccionados en tubos de caldo de verde brillante y bilis (2%) volúmenes de 10 ml. en tubos de 150x15 mm., conteniendo tubos de fermentación de Durhan invertidos, y agua de triptona.

h. Incube los tubos en baño de agua a $44,5^{\circ}\text{C}$. y ver si son positivos de formación de gas en el caldo de verde brillante y bilis (2%) a las 24 horas.

i. Si se produce esto, añadir 0,5 - 1 ml de reactivo de Kovacs a los tubos de agua de triptona.

j. Esperar y observar los resultados. Si aparece un color rojo en la superficie, la prueba es positiva.

k. Anotar los tubos confirmados como positivos y obtener el NMP, viendo la tabla de NMP de tres tubos por cada dilución.

5.E Resultados.

6.E.1 Ejemplos.

M	10^1	10^2	10^3	NMP
	A B	A B	A B	
1	2 0	0 0	0 0	<3
2	3 2	1 0	0 0	9,1
3	2 2	3 2	1 1	28
4	1 0	0 0	0 0	<3
5	0 0	0 0	0 0	<3

M = Muestra

A = Tubos de coliformes totales.

B = Tubos para coliformes fecales.

6.E.2 Tabla de límites de tolerancia.

Microorganismo	N	C	límite x g. m M
Coliformes fecal	5	3	4 - 400



BIBLIOTECA

6.E.3 Tabla.

Número más probable (NMP) de coliformes fecales;
tres tubos por cada dilución.

Número de tubos positivos en cada dilución			NMP por gramo
10^1	10^2	10^3	
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	40
3	1	0	40
3	1	1	70
3	2	0	90
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	200
3	3	1	500
3	3	2	1100

6.E.4 Forma de leer la tabla.

Si dé la dilución más alta en la que aparecen tres tubos positivos es la 10^1 y en la 10^2 hay un tubo positivo y en la 10^3 ninguno, el resultado se anotara del siguiente modo: dilución $10^1 = 3$, dilución $10^2 = 1$ y dilución $10^3 = 0$. Estos resultados corresponden en la tabla de NMP para la series de tres tubos de un NMP de 40.

Para calcular el NMP de organismos coliformes totales por gramo de alimentos se multiplica el valor que figura en la tabla por 10 (en este ejemplo: $40 \times 10 = 400$ por gramo).

Preparación de reactivos y medios.Caldo lauril sulfato. (LSB)

Fórmula :	en g. por litro.
Triptona	20,0
Lactosa	5,0
Cloruro de sodio	5,0
Fosfato dipotásico	2,75
Fosfato monopotásico	2,75
Sulfato sódico de lauril	0,1

pH 6,8 ± 0,2

Instrucciones.- Se disuelven 35,6 gr. en un litro de agua destilada. Se distribuye 10 ml. en los recipientes definitivos y se insertan tubos de Durhan invertidos, se esteriliza en el autoclave durante 15 minutos a 121°C.

Caldo de verde brillante y bilis (2%). (BGBB)

Fórmula :	en g. por litro.
Peptona	10,0
Lactosa	10,0
Bilis de buey (purificada)	20,0
Verde brillante	0,0133

pH 7,4 (aproximado).

Instrucciones.- Se suspenden 40 g. en un litro de agua destilada. Se mezcla bien, se distribuye en los recipientes equipados con los tubos de Durhan y se esteriliza en el autoclave a 121°C. durante 15 minutos.

Agua de triptona (TW)

Fórmula	en g. por litro.
Triptona	10,0
Cloruro de sodio.	5,0

Instrucciones.- Se añaden 15 g. en un litro de agua desti_lada. Se mezcla bien se distribuye en los recipientes definitivos y se esteriliza en el autoclave a 121°C durante 15 minutos, el pH final es de 7,5 (aproximadamente).

Reactivo de Kovacs.

Fórmula

Para-dimetil-amino-benzaldehido	5 g.
Alcohol iso-amílico	75 ml.
Acido clorhidrico concentrado	25 ml.

Instrucciones.- Disolver el aldehido en el alcohol por ca_lentamiento suave en baño de agua a 50°C . Enfriar y agregar el á_cido. Conservar en frascos oscuros a 4°C .



BIBLIOTECA

Generalidades.

Preparación de los medios de cultivo.

La cantidad pesada del medio de cultivo seco se añade a una pequeña cantidad de agua destilada o desmineralizada fría y se distribuye uniformemente por agitación.

Seguidamente se añade la cantidad restante de agua y se va balanceando el recipiente de vidrio hasta la completa homogenización del gránulo o del polvo.

Se dejan reposar durante 10 - 15 minutos a temperatura ambiente. Los medios de cultivo que contienen el agar para que este pueda hincharse. Para disolver completamente el medio de cultivo debe de calentarse en baño maría a más de 95°C.

Estérilización.

Los medios de cultivo disueltos se esterilizan en autoclave la duración del calentamiento no debe ser excesiva para así evitar una disminución de la calidad.

El azúcar se carameliza en un calentamiento prolongado y da color pardo al substrato. En caso de substratos que contengan bilirubina natural puede producirse un cambio de color, transformándose los pigmentos biliares en sus productos de oxidación amarillos. - Los glicoproteidos aparecen como precipitados blanco. Ciertas sustancias químicas tienden a evaporarse o destruirse en un calentamiento prolongado.

Estas modificaciones pueden evitarse observando estrictamente las instrucciones de empleo.

Ajuste del pH.

Los medios de cultivo deshidratados están normalmente ajustados de tal manera que no es necesario corregir el pH.

En caso de conservación inadecuada, en particular de substratos con un contenido elevado en hidrato de carbono, puede disminuir el pH. El pH debe ajustarse en este caso con NaOH 2N o ClH 2N.

Para ciertos medios de cultivo se recomienda la utilización de carbonato sódico, de ácido cítrico, de ácido tartárico o de ácido láctico en solución al 10%.

El pH debe medirse antes de la esterilización. Esta medida, realizada después de la esterilización, exige procedimientos operativos acépticos suplementarios.

Preparación de las placas de Agar.

Después de la esterilización, el medio agarificado, todavía líquido o de nuevo licuado, se vierte a una temperatura de 50 - 60 grados C. en las cápsulas de petri estériles.

La capa de la placa debe tener un espesor entre 3 y 4 mm, es decir, que 15 ml de substrato son suficientes para cápsulas de petri de 9 cm. de diametro.

Para la preparación de agar inclinado, el medio agarificado líquido se inclina en los tubos de ensayo.



BIBLIOTECA

Conservación de los medios de cultivo listo para el uso.

La estabilidad de los medios de cultivo listo para el uso es limitada. Si no se pueden utilizar inmediatamente, lo mejor es — conservarlos a 4 - 10°C. a uscuras (pej. en un refrigerador).

Ciertos medios de cultivo, p.ej. los que contienen tioglicolato, se conservan mejor a temperatura ambiente.

Los medios de cultivo deben sacarse del refrigerador unas horas antes de su empleo.

Métodos de Esterilización.

Los métodos comunes de esterilización incluyen el uso del calor, la filtración y la irradiación.

Para el material como las pipetas y placas petri, se usa la esterilización con calor seco. Se mantiene la temperatura a 170°C. durante una hora, mientras el material está dentro del estérilizador el aire calienta (horno).

Para la mayor parte de los medios, ropa, goma y otros materiales que se destruyen con el calor seco, se utiliza la esterilización con vapor a presión. Estos materiales se esterilizan en el autoclave a 121°C 15 - 30 minutos, usando vapor a una atmosfera de presión. El tiempo necesario para completar la esterilización varía algo, de acuerdo con la clase y cantidad de material.

Muchos materiales, por ejemplo ciertos azúcares y los sueros sanguíneos, se destruyen al calentarlos a las temperaturas utilizadas normalmente para la esterilización. Para esterilizar ta

les materiales termolábiles, que son líquidos o sustancias en solu
ción, pueden usarse la filtración. Los filtros, en este método, e
liminan las bacteriás por dos caminos: mediante la acción mecánica
de colador, ejercida por los pequeñísimos poros, y por la absorción
de los microbiós al filtro, debido a la diferencias entre sus
cargas electricas.

Un filtro ampliamente utilizado en microbiología, es el fil
tro de membrana. Consta de una menbrana de celulosa o de plástico
con un tamaño de poro suficientemente pequeño (generalmente 0,45
micras) como para tapar, y de esta manera eliminar las bacterias
de un líquido. <

ASPECTOS GENERALES DEL:

INSTITUTO NACIONAL DE PESCA

MERCADO

TAMAÑO

FINANCIERO.

ASPECTO GENERALES DE LA EMPRESA.

El Instituto Nacional de Pesca (INP) es una Entidad de derecho público, de carácter científico técnico, dedicada a la investigación de los recursos bioacuáticos y sus actividades conexas, con personería jurídica, patrimonio y recursos propios, adscrito al Ministerio de Recursos Naturales y Energéticos y con domicilio en la ciudad de Guayaquil en las calles de Letamendi N^o 102 y la Ría.

Los objetivos para el que fue creado el Instituto son los siguientes:

a) Realizar la investigación científica y tecnológica de los recursos bioacuáticos, basada en el conocimiento del medio ambiente y de los organismos que el lo habitan con la finalidad de evaluar su potencial, diversificar la producción, propender al desarrollo de la actividad pesquera y lograr su óptima y racional utilización: y,

b) Prestar asistencia científica y técnica en las actividades relacionadas con la investigación de los recursos bioacuáticos y sus actividades conexas.

El Instituto Nacional de Pesca, para el cumplimiento de sus objetivos y funciones, está integrada por los siguientes niveles administrativos.

- a) Ejecutivo;
- b) Asesor;
- c) Auxiliar de servicios; y,
- d) Operativo.

El nivel Operativo es aquel que cumple directamente con los objetivos y finalidades del Instituto Nacional de Pesca, ejecuta los programas de trabajo-técnico y las políticas impartidas por el Nivel Ejecutivo, está conformado por las siguientes unidades;

- 1.) Departamento de Investigación Básica.
- 2.) Departamento de Tecnología Extractiva.
- 3.) Departamento de Recursos Pesqueros.
- 4.) Departamento de Productos Pesqueros.

El departamento de productos pesqueros tiene como función de:

a-) Realizar investigaciones que permitan ampliar el conocimiento sobre materia orgánica de origen marino, como base para el desarrollo de procesos tecnológicos de aprovechamiento de los recursos pesqueros;

b-) Desarrollar tecnología para un aprovechamiento integral de los recursos de origen marino y de aguas continentales, contribuyendo así, a mejorar el aporte de alimentos para consumo humano y animal, y productos para uso industrial.

c-) Desarrollar normas y procedimientos de control de calidad y extender los certificados de calidad de los productos pesqueros nacionales, de acuerdo a los requerimientos de comercialización; y,

d-) Sugerir criterios técnicos y prestar asesorías al sector pesquero industrial y artesanal, sobre procesos de elaboración y control de calidad.

El departamento de Productos pesqueros esta dividido en secciones entre la que estan:

- a) Química;
- b) Control de calidad;
- c) Investigación de Productos Pesqueros; y,
- d) Microbiología.

La sección de Microbiología tiene como funciones de:

- a.- Extender certificados de calidad, luego de los análisis correspondientes;
- b.- Mantener actualizados las técnicas de análisis microbiológicas, de acuerdo con los requerimientos nacionales o internacionales de comercialización.
- c.- Coordinar con el Departamento Administrativo y Financiero para el cobro correspondiente de análisis realizados y extensión de certificados de calidad de productos pesqueros;
- d.- Realizar investigaciones tendientes a obtener normas de calidad microbiológica de los productos pesqueros; y,
- e.- Sugerir criterios técnicos y asesorar a los sectores industrial y artesanal, en lo concerniente al control de calidad microbiológica en las distintas fases de la actividad pesquera.



BIBLIOTECA

MERCADO

El laboratorio de Microbiología presta sus servicios a la Industria de Productos Pesqueros y afines. Tanto para los productos de exportación, de consumo interno y los nuevos lanzados al mercado.

Controlando así las normas de calidad microbiológicas que deben poseer todos los productos alimenticios antes de ser comercializados.

Si estos alimentos no cumplen con los patrones o normas establecidas en microbiología, se evitará que estos sean expendidos ya sea a nivel nacional o internacional.

TAMAÑO.

El laboratorio de Microbiología tiene una área aproximada de 77 m² (14 m de largo x 5,5 m de ancho), ocupando del tercer piso del edificio del Instituto Nacional de Pesca, ubicado en las calles Letamendi N^o 102 y la Ria, dicho laboratorio fue construido y acondicionado en el área mencionada a comienzos del presente año.

La capacidad que posee este nuevo laboratorio es para realizar análisis semanalmente a un máximo de 10 empresas, usualmente el I.N.P. realiza control a ocho empresas.

De dichas empresas se toman cinco muestra por lote como mínimo a cada empresa, realizándoles cinco análisis individuales.

Entre los análisis que se realizan tenemos: Contaje total de microorganismos a 25°C, contaje de stafilococcus aureus coagulasa positivo, coliformes totales, coliformes fecales y presencia de salmonella. Lo que totalizan 200 análisis para las ocho empresas empacadoras de camarón.

Ademas de los análisis que se realizan a los camarones, se hacen generalmente unas 15 a 20 determinaciones de salmonellas a las harinas de pescado que llegan semanalmente. Con lo que totalizan unos 220 análisis que se realizan semana a semana.

La capacidad del laboratorio es para que laboren cinco personas ubicadas de la siguiente forma:

Jefe de laboratorio	1
Análistas	2
Personal de limpieza de materiales.	1
Personal encargado de la toma de muestra	1
	<hr/>
TOTAL	5



BIBLIOTECA

FINANCIERO1. Maquinaria, Equipos y Accesorios.

<u>Denominación</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo.</u>
- Autoclave	1	750.000
- Incubador (37°C)	2	448.000
- Incubador (25°C)	1	441.000
- Incubadora (43°C)	1	150.000
- Incubadora (37°C)	1	150.000
- Stomacher (homogenizador)	1	100.000
- Contador de Quedec	1	84.000
- Estérilizador (horno)	1	150.000
- Baño circulante de agua termorregulable	1	240.000
- Estufa (65°)	1	60.000
- Cabina de flujo laminar	1	200.000
- Agitadores y calentadores	3	75.000
- pH-metro.	1	177.000
- Refrigerador y congelador	1	250.000
- Acondicionador de aire	2	200.000
- Bomba de vacío	1	30.000
- Mechero	1	1.280
- Mechero de alcohol	1	730
		<hr/>
	<u>TOTAL</u>	<u>3'507.010,00</u>



BIBLIOTECA

2. Materiales directos.

<u>Denominación</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo</u>	
		<u>Unitario</u>	<u>Total</u>
- Placas petri (estéril) (☒)	2.500	40	100.000
- Tubos de ensayo (150x16)	1.800	15	27.000
- Tubos de ensayos (150x18)	400	16,5	6.600
- Tubos de Durhan	800	25	20.000
- Pipetas pasteur	Cajas con 100 u./		1.750
- Pipetas: 1 ml	10	190	1.900
2 ml	10	190	1.900
5 ml	120	190	22.800
10 ml	120	190	22.800
- Beakers: 5000 ml	4	1850	7.400
1.000 ml	7	655	4.585
600 ml	6	355	2.130
100 ml	5	200	1.000
- Beakers de acero inoxi- dable de 5.000 ml	5	2.500	12.500
- Cilindros graduados: 25 ml	1	900	900
100 ml	1	1.150	1.150
250 ml	3	1.550	4.650
500 ml	2	1.850	3.700
1.000 ml	2	2.500	5.000
- Botellas: 500 ml	100	40	4.000
300 ml	100	28	2.800
- Tuberas: 75	4	400	1.600
40	4	380	1.520
24	10	313	3.130
- Mangos de asas	6	500	3.000
- Asas.	6	6.250	37.500
- Espatulas: acanaladas	2	350	700
planas	4	390	1.560
- Agitadores (vidrio)	8	80	640
- Barras magneticas.	5	1.064	5.320

<u>Denominación</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo</u>	
		<u>Unitario</u>	<u>Total</u>
- Fundas plasticas (estéril) (*)	2.500	3	7.500
- Tapas	3.000	21	63.000
- Tacho de agua destilada	3	7.000	21.000
			<hr/>
	<u>TOTAL</u>		<u>401.035</u>

(*) = Gasto mensual.



BIBLIOTECA

3. Materiales Indirectos.

<u>Denominación</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo</u>	
		<u>Unitario</u>	<u>Total</u>
- Marcadores	8	200	1.600
- Guantes desechables (estéril)	1.000		190
- Guantes de cuero	3 pares	1.400	4.200
- Desinfectante (jabón líquido)	5 litros		1.000
- Detergente	2 kilos		315
- Reloj	1		4.000
- Mandil	3	1.500	4.500
- Fundas para basura	1.000		3.060
- Termómetros	3	2.050	6.150
- Picetas plasticas	4	685	2.740
			<hr/>
	TOTAL		27.755,00



BIBLIOTECA

4. Mados y Reactivos.

<u>Denominación</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo</u>
- Agua de peptona	500 g	2.600
- Agua de peptona bufferada	500 g	3.500
- Agua de triptona	500 g	2.000
- Agar nutritivo.	500 g	6.050
- Caldo lauril sulfato	500 g	3.400
- Caldo Selenito cistina	500 g	4.240
- Caldo base de tetracionato	500 g	3.200
- Caldo bilis (2%) verde brillante	500 g	4.600
- Agar verde brillante	500 g	6.471
- Agar hierro tres azúcares	500 g	4.350
- Agar XLD	500 g	6.590
- Agar hierro lisina	500 g	4.200
- Agar salado de manitol	500 g	5.450
- Agar para el contaje de placas	500 g	5.080
- Etanol absoluto	500 ml	1.750
- Cloruro de sodio	2,5 Kg	4.300
- Otros		20.000

Trimestralmente se gastan cerca de 200.000 sucres, debido a la gran cantidad de análisis que se realizan y por ende se tiene que gastar muchos reactivos.



BIBLIOTECA

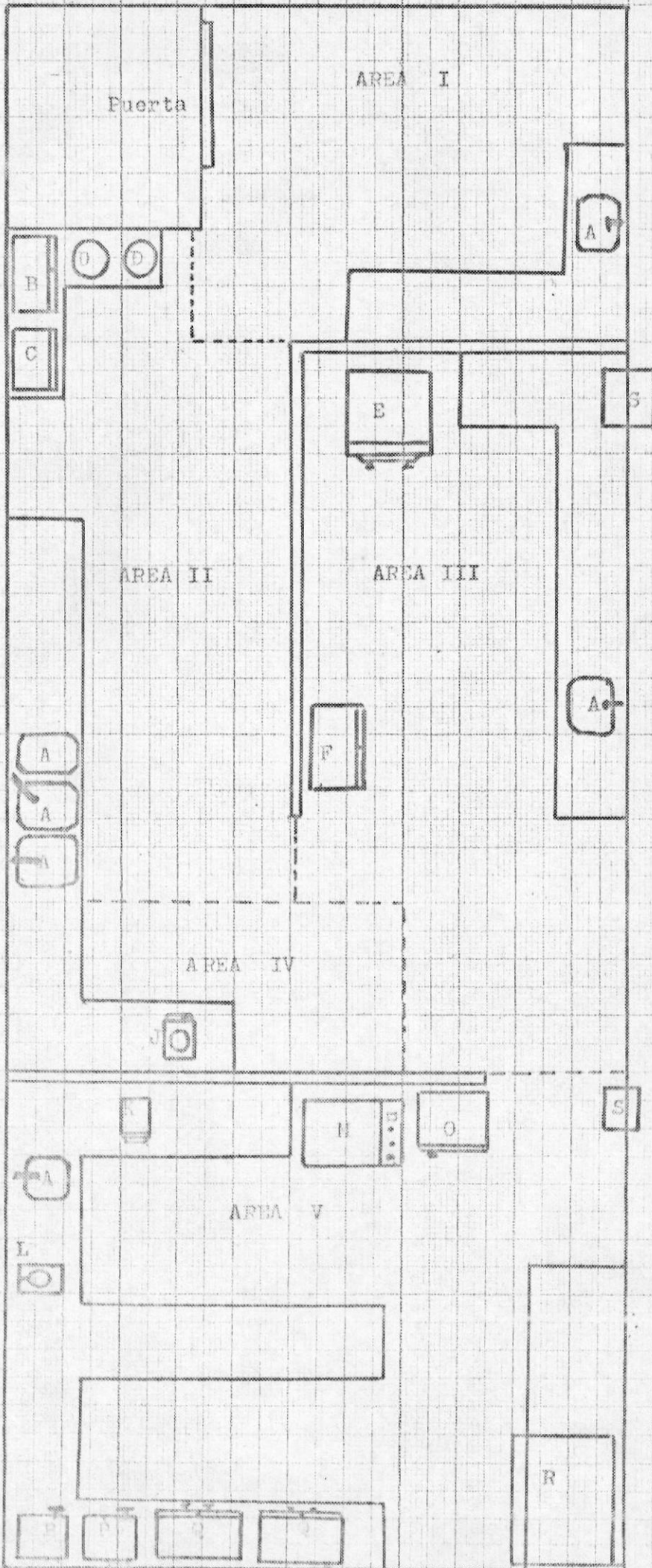
5. Costo de Análisis.

<u>Análisis.</u>	<u>Valor.</u>
a.) Harina de Pescado	
Salmonella	500
b.) Camarón (x)	
1- Salmonella	500
2- Coliformes (total y fecal)	650
3- Stafilococcus	900
4- Contaje de 25°C	600
5- Pseudomonas	350
6- Hongos	600
	<hr/>
	3.600

(x) = Producto terminado de cámara, cada tres meses aproximadamente por empresa.



BIBLIOTECA



SIMBOLOS

- AREA I Recepción de muestra
AREA II Limpieza de materiales
AREA III Preparación de medios y reactivos
AREA IV Pesado de muestra
AREA V Cultivo

- A Lavaderos
B Estérilizador (horno)
C Estufa
D Tachos de agua destilada
E Autoclave
F Refrigerador y congelador
J Balanza
K Homogenizador (Stomacher)
L Contador de colonias
M Baño de agua termorregulable
P Incubador 43°C
O Incubador 25°C
Q Incubador 37°C
R Cabina de flujo laminar
S Acondicionador de aire.



BIBLIOTECA

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFIA

GLOSARIO

ANEXO



BIBLIOTECA

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Los microorganismos presentes en el pescado y en productos de la pesca se dividen en dos categorías amplias: organismos de deterioro, que en general se encuentran en grandes cantidades, y organismos que influyen en la salud pública (patógenos) que, aunque por lo general no aparecen en grandes cantidades, son peligrosos y por ende, la preocupación primordial del control microbiológico de calidad

Las pruebas microbiológicas de rutina miden la cantidad total de bacterias o la presencia/ausencia de agentes patógenos específicos. Para ambos métodos, se homogeniza la muestra en un líquido adecuado, se la diluye y se la estira en forma de plancha; luego se incuban las placas. Se recuenta el número de bacterias. Para el conteo de placas, se usa un medio nutritivo (agar); para los agentes patógenos, se usan medios especiales que fomentan el crecimiento de grupos particulares de organismos.

Todos los materiales deben estar en orden y completamente limpios. Los medios y reactivos deben mantenerse en un ambiente adecuado para evitar que se alteren y produzcan errores en los análisis y como consecuencia resultados incorrectos.

Es importante el mantenimiento que se le debe dar a un laboratorio de Microbiología, ya que algunas veces por falta de éste se deterioran los equipos que terminan inservibles y cuyo costo actualmente es elevado.

Los métodos microbiológicos son bastante complejos, y en general son sólo las grandes compañías, laboratorios públicos, etc., que cuentan con las instalaciones necesarias para poderlo realizar, es de mucha importancia que un técnico de Alimentos conozca de estos métodos de determinación microbiológica, por esto recomiendo que en el pensum de estudio académico se aumente la materia de Microbiología II, en la que se de todo lo relacionado a los métodos de determinación de microorganismos en los alimentos, tanto en teoría como en la práctica que es de suma importancia.



BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFIA.

- Bacteriología (principios y practicas)
A. H. Bryan, CH. A. Bryan & CH. G. Bryan.
C.E.C.S.A.

- Diagnostico Micológicos.
Medios de cultivo MERCK

- DIFCO
Manual de bacteriología (Recopilación técnica)

- Manual de Técnica bacteriológica
F. J. Baker.
Editorial Acríbia Zaragoza - España
Segunda Edición.

- Manual OXOID
Cuarta edición en Español
OXOID Limited.

- Medios de cultivo MERK
Criterios de calidad.

- Métodos para el análisis microbiológico de los alimentos
Depto. de Tecnología de Alimentos.
Chihuahua, CHIH - Mexico.

- Microorganismos de los Alimentos Vol. I y II.
I.C.M.F.S. (the International Comisión on Microbiological
Specifications for Foods).
Editorial Acríbia Zaragoza - España

Glosario.

- N = Número de unidades de muestra de un lote de alimento que de
ben analizarse para satisfacer las exigencias de un determin
nado programa de muestreo
- C = Número máximo de unidades de muestra rechazables. Cuando se
encuentran un número superior a C se rechaza el lote.
- m = Criterio microbiológico que, en un programa de dos clases,
separa la calidad aceptable de la rechazable o, en uno de
tres clases supera la calidad aceptable de la aceptable prov
visionalmente. En general, m representa un nivel aceptable
y los valores por encima de él son aceptables provisional--
mente o inaceptable.
- M = Criterio microbiológico que, en un programa de tres clases,
separa la calidad aceptable provisionalmente de la rechazal
ble. Los valores iguales a, o por encima de M no son acept
tables.
- NPM = Número estimado (por ml. ó por 100 ml.) de un determinado
microorganismo en una muestra, basada en su presencia o aus
sencia en unidades de muestra con replicas preparadas por
dilución decimal.

