

	PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE <i>SALMONELLA</i> EN JAMÓN COCIDO P-SA-JC-01	Fecha revisión:	25/10/2019
		No revisión:	1
		Fecha emisión:	
		Página	1

1. OBJETIVO: Determinar la calidad microbiológica (*Salmonella*) en jamón cocido en base a la normatividad vigente.

2. JUSTIFICACIÓN: El presente procedimiento es necesario para analizar y determinar la presencia de *Salmonella*, para fundamentar la calidad microbiológica con la que se elaboró el jamón cocido.

3. MÉTODOS UTILIZADOS: NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

esquema general que consiste de 5 pasos básicos:

1. Pre enriquecimiento, es el paso donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas a una condición fisiológica estable.
2. Enriquecimiento selectivo, empleado con el propósito de incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros organismos presentes en la muestra.
3. Selección en medios sólidos, en este paso se utilizan medios selectivos que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y permite el reconocimiento visual de colonias sospechosas.
4. Identificación bioquímica, este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

5. ENCARGADO DE ANALISIS: Técnico Laboratorista

6. REGLAS DE SEGURIDAD

Entrar con bata blanca, cofia y cubre bocas, zapatos cerrados (cuero).

Esterilizar zona de trabajo

Mantener el lugar de trabajo limpio y ordenado

Tomar las precauciones necesarias para evitar accidentes

ELABORÓ	REVISÓ CONTENIDO	AUTORIZÓ
TSU Natalia J. González Castro. TSU Guadalupe Daniela Gutierrez Garnica. TSU Wendy Janet Contreras	TSU Natalia Judith González Castro	M.C. Carlos A. Reynoso Ocampo



**PROCEDIMIENTO PARA LA
DETERMINACIÓN DE SALMONELLA
EN JAMÓN COCIDO
P-SA-JC-01**

Fecha revisión:	25/10/2019
No revisión:	1
Fecha emisión:	
Página	2

7. MATERIALES, EQUIPO Y REACTIVOS

CANTIDAD	MATERIAL
5	Tubos de ensaye de vidrio 25x150 mm.
1	Gradilla
8	Cajas Petri estériles
1	Matraz Erlenmeyer de 500 mL.
2	Matraces Erlenmeyer de 250 ml.
10	Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml.
1	Balanza Granataria
1	Mechero Buncen
1	Tela de asbesto y Tripie
3	Vidrios de reloj
3	Espátulas
2	Probeta de 100 y 500 ml.
1	Guantes de asbesto

EQUIPO

Horno para esterilizar que alcance los 180°C
Incubadora con termostato para evitar variaciones mayores de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ y termómetro
Autoclave con termómetro o manómetro, probado con termómetro de máximas
Baño maría con termostato y termómetro

REACTIVOS

Todos los reactivos utilizados son grado reactivo analítico a menos que se indique otro grado.
El agua utilizada es agua destilada que debe cumplir con las especificaciones requeridas por control de calidad de la misma.

Solución amortiguadora de pH 4.0 (caldo lauril sulfato de sodio o caldo lactosado)
Solución amortiguadora de pH 9.0
Agar caldo base de tetrationato

ELABORÓ	REVISÓ CONTENIDO	AUTORIZÓ
TSU Natalia J. González Castro. TSU Guadalupe Daniela Gutierrez Garnica. TSU Wendy Janet Contreras	TSU Natalia Judith González Castro	M.C. Carlos A. Reynoso Ocampo



**PROCEDIMIENTO PARA LA
DETERMINACIÓN DE SALMONELLA
EN JAMÓN COCIDO
P-SA-JC-01**

Fecha revisión:	25/10/2019
No revisión:	1
Fecha emisión:	
Página	3

8. METODOLOGIA

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Pesar asépticamente 25 g de la muestra en un vaso estéril de licuadora o en bolsa estéril para trabajar en homogeneizador peristáltico (stomacher).
2. Adicionar 225 ml del medio de preenriquecimiento estéril (generalmente caldo lactosado, a menos que se indique otro) y licuar si es necesario durante un min.
3. Transferir asépticamente la mezcla homogeneizada a un recipiente estéril de boca ancha con tapón de rosca y dejar reposar por 60 min a temperatura ambiente con la tapa bien enroscada.
4. Mezclar bien y determinar el pH aproximado con papel pH. Ajustar, si es necesario, a un pH $6,8 \pm 0,2$ con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico 1N estériles.
5. Incubar 24 ± 2 h a 35°C .

ASLAMIENTO DE SALMONELLA

- Transferir respectivamente 1 ml de la mezcla de preenriquecimiento a un tubo que contenga 10 ml de caldo tetrationato y a otro con 10 ml de caldo selenito cistina. Como alternativa, en sustitución del caldo tetrationato puede emplearse el medio Vassiliadis-Rappaport.
2. Incubar de 18 a 24 h a 35°C o, para alimentos fuertemente contaminados a 42°C por el mismo periodo. Estriar los productos que fueron directamente enriquecidos en medios selectivos: Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), agar verde brillante (VB) y una tercera caja con cualquiera de los medios selectivos adicionales (agar entérico Hektoen, agar Sulfito de Bismuto o Agar SS).
 3. Incubar las placas 24 ± 2 h a 35°C .
 4. Examinar las placas para investigar la presencia de colonias típicas de Salmonella, de acuerdo con las siguientes características:
 - Agar XLD: colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
 - Agar VB: colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas.
 - Agar entérico Hektoen: colonias verdes o azulverdes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
 - Agar Sulfito de Bismuto: las colonias típicas de Salmonella pueden ser cafés, grises o negras; con o sin brillo metálico. Generalmente el medio circundante (halo) es café, tornándose posteriormente negro. Algunas cepas producen colonias verdes sin la formación del halo oscuro. Si las placas no muestran colonias típicas o no se observa crecimiento, incubar 24 h adicionales.
 - Agar SS: colonias translúcidas, ocasionalmente opacas. Algunas colonias dan centro negro. Las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas.
 5. Lectura de resultados mediante F-SA-JC-01.

ELABORÓ	REVISÓ CONTENIDO	AUTORIZÓ
TSU Natalia J. González Castro. TSU Guadalupe Daniela Gutierrez Garnica. Wendy Janet Contreras	TSU Natalia Judith González Castro.	M.C. Carlos A. Reynoso Ocampo