NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PREPARACION Y DILUCION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANALISIS MICROBIOLOGICO.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y

CONSIDERANDO

Que con fecha 28 de abril de 1994, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 15 de agosto de 1994, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana a efecto que dentro de los siguientes noventa días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que en fecha previa, fueron publicadas en el Diario Oficial de la Federación las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PREPARACION Y DILUCION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANALISIS MICROBIOLOGICO.

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

INDUSTRIAS VINICOLAS PEDRO DOMECQ, S.A. DE C.V.

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A. DE C.V. LICONSA

SIGMA ALIMENTOS, S.A. DE C.V.

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.

NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION
1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. FUNDAMENTO
3. REFERENCIAS
4. DEFINICIONES
5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
6. REACTIVOS Y MATERIALES
7. APARATOS E INSTRUMENTOS
8. PROCEDIMIENTO

9. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
10. BIBLIOGRAFIA
11. OBSERVANCIA DE LA NORMA
12. VIGENCIA

0. Introducción

Esta norma está orientada a proporcionar las guías generales para la preparación de diluciones para el examen microbiológico de alimentos. En vista de la gran cantidad de productos en este campo de aplicación, estas guías pueden ser inapropiadas para todos ellos en forma detallada y para otros requerirse otros métodos diferentes. Sin embargo, en todos los casos donde sea posible se recomienda apegarse a estas guías y modificarse únicamente cuando sea necesario.

La dilución primaria tiene por objeto obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos contenidos en la muestra destinada para el análisis.

La preparación de diluciones decimales adicionales, si son necesarias, tiene como objetivo reducir el número de microorganismos por unidad de volumen, para permitir, después de la incubación, la observación de la prueba en el caso de tubos o matraces y la cuenta de colonias en el caso de placas.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para la preparación de diluciones para el análisis microbiológico de productos alimenticios.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dedican a efectuar este método en alimentos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Fundamento

Se basa en la preparación de diluciones primarias, para obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos presentes en la porción de muestra.

3. Referencias

Esta norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

4. Definiciones

Para fines de esta norma se entiende por:

4.1 Dilución primaria, es la solución, suspensión o emulsión obtenida después de pesar o medir una cantidad del producto bajo examen y mezclarla con una cantidad de nueve veces en proporción de diluyente.

4.2 Diluciones decimales adicionales, las suspensiones o soluciones obtenidas al mezclar un determinado volumen de la dilución primaria con un volumen de nueve veces un diluyente y que por repetición de esta operación con cada dilución así preparada, se obtiene la serie de diluciones decimales adecuadas para la inoculación de medios de cultivo.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

cm	centímetro
mm	milímetro
g	gramos
ml	mililitro
l	litro
pH	potencial de hidrógeno
N	normal
°C	grado Celsius
%	por ciento
h	hora

6. Reactivos y materiales

6.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico. Cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

6.1.1 Preparación de reactivos

6.1.1.1 Solución de hidróxido de sodio 1,0 N

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Hidróxido de sodio	4,0 g
Agua	100,0 ml

Preparación:

Disolver el hidróxido de sodio y llevar a 100 ml con agua.

6.1.1.2 Soluciones diluyentes

6.1.1.2.1 Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada).

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Fosfato de sodio monobásico	34,0 g
Agua	1,0 l

Preparación:

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1,0 N.

Llevar a un litro con agua.

Esterilizar durante 15 minutos a 121° ± 1,0°C.

Conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a un litro con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a 121° ± 1,0°C durante 15 minutos.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deberán ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2.2 Agua peptonada

FORMULA

INGREDIENTES	CANTIDADES
Peptona	1,0 g
Cloruro de sodio	8,5 g
Agua	1,0 l

Preparación:

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a 7 ± 0,1 con hidróxido de sodio 1,0 N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml o en cualquier volumen múltiplo de nueve según se requiera.

Esterilizar a 121 ± 1,0°C durante 15 minutos.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deberán ser iguales a los iniciales.

Si este diluyente no es usado inmediatamente, almacenar en lugar oscuro a una temperatura entre 0 a 5°C por un tiempo no mayor de un mes, en condiciones tales que no alteren su volumen o composición.

6.2 Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 1 ml y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio deberán esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h a 170 a 175°C o 1 h a 180°C o

Autoclave, durante 15 minutos como mínimo a 121 ± 1,0°C.

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por esterilización repetida y éste debe ser químicamente inerte.

7. Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de 0,1°C y que mantenga la temperatura a 45 ± 0,5°C.

Licuadora de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher).

Vasos para licuadora con tapa esterilizables o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico.

Balanza granataria con sensibilidad de 0,1 g.

8. Procedimiento

8.1 Preparación de la dilución primaria.

8.1.1 A partir de muestras líquidas:

Para muestras líquidas no viscosas (agua, leche, refrescos, etc.) en las cuales la distribución de microorganismos es homogénea o fácilmente homogeneizable por medios mecánicos (agitación, etc.).

Para muestras congeladas de un alimento originalmente líquido o licuable, fundir por completo en baño de agua de 40 a 45°C un tiempo máximo de 15 minutos y homogeneizar agitando vigorosamente.

Para la parte líquida de una muestra heterogénea la cual sea considerada suficientemente representativa de la muestra total (por ejemplo la fase acuosa de grasas animales y vegetales).

8.1.1.1 Agitar la muestra manualmente con 25 movimientos de arriba a abajo en un arco de 30 cm efectuados en un tiempo de 7 segundos. Tomar 1 ml de la muestra y diluir con 9 ml del diluyente el cual debe encontrarse a una temperatura similar a ésta, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

8.1.1.2 Siempre que la cantidad de muestra lo permita, tomar alícuotas mayores, por ejemplo volúmenes de 10 u 11 ml, diluidos con 90 o 99 ml, de la misma forma que se describió anteriormente

8.1.2 A partir de muestras sólidas o semisólidas.

Las muestras sólidas y semisólidas congeladas, deben descongelarse en refrigeración de 4 a 8ºC durante 18 horas y no más de 24 horas antes de proceder a su análisis.

8.1.2.1 Pesar una cantidad de 10 u 11 g de la muestra por analizar en un recipiente o bolsa plástica estériles de tamaño adecuado.

8.1.2.2 Adicionar un volumen de 90 a 99 ml del diluyente llevado a una temperatura similar a la de la muestra.

8.1.2.3 Operar la licuadora o el homogeneizador peristáltico de 1 a 2 minutos hasta obtener una suspensión completa y homogénea según se indique en la técnica correspondiente para cada alimento. Aún en los equipos más lentos, este tiempo no debe exceder de 2,5 minutos.

8.1.2.4 Permitir que las partículas grandes se sedimenten, y transferir la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión.

Cuando la dilución primaria es muy viscosa o pegajosa, adicionar más diluyente, lo cual debe tomarse en cuenta para las operaciones subsecuentes o expresión de resultados.

El homogeneizador peristáltico (Stomacher) puede no ser adecuado para algunos productos (por ejemplo, aquellos con partículas agudas o constituyentes que no se dispersen fácilmente). Debe ser utilizado sólo cuando exista evidencia (publicada o por ensayos comparativos) de que los resultados obtenidos no difieren significativamente con aquellos obtenidos con licuadora.

8.2 Preparación de las diluciones decimales adicionales.

8.2.1 Transferir 1 ml o un múltiplo, por ejemplo, 10 u 11 ml de la dilución primaria 1 + 9 (10-1), en otro recipiente conteniendo nueve veces el volumen del diluyente estéril a la temperatura apropiada, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

8.2.2 Mezclar cuidadosamente cada botella de diluyente siempre de la misma manera que se describe en 8.1.1.1.

8.2.3 La selección de las diluciones que se vayan a preparar y de aquellas que se van a inocular, dependen del número esperado de microorganismos en la muestra, con base a los resultados de análisis previos y de la información que se obtenga del personal de inspección que la haya colectado. En ausencia total de información, trabajar con las diluciones de la primera a la sexta.

8.2.4 Utilizar pipetas diferentes para cada dilución inoculando simultáneamente las cajas que se hayan seleccionado. El volumen que se transfiera nunca debe ser menor al 10% de la capacidad total de la pipeta.
8.2.5 Si la pipeta es terminal y se transfiere un volumen de líquido equivalente a su capacidad total, escurrir aplicando la punta de la pipeta una sola vez en una área de la caja Petri sin líquido.
8.2.6 Mientras se afora el líquido de la pipeta, la punta de ésta debe apoyarse en el interior del cuello del frasco y mantenerla en posición vertical, para lo cual este último debe inclinarse lo necesario.
En estudios donde se busca la presencia o ausencia de una determinada especie de microorganismos en 0,1 ml o 0,1 g, no es necesario preparar diluciones mayores.
El criterio para seleccionar las diluciones a preparar de acuerdo con el número de microorganismos esperado es:
Para la técnica del número más probable utilizar tres tubos: donde sea posible demostrar el microorganismo en 10 ml de la dilución más alta.
Para la técnica de cuenta en placa, considerar aquellas en las que se puedan contar de 25 a 250 colonias en un mínimo de una de tres diluciones en el método de cuenta de bacterias aerobias en placa. En el caso de otros grupos microbianos, considerar el número especificado de colonias en la Norma Oficial Mexicana correspondiente.
8.3 Duración del procedimiento.
En general, las diluciones de la muestra deben ser preparadas inmediatamente antes del análisis y éstas deben ser usadas para inocular el medio de cultivo dentro de los 20 minutos posteriores a su preparación.
9. Concordancia con normas internacionales
Esta norma es técnicamente equivalente a la Norma ISO 6887-1983 (E) Microbiology General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.
10. Bibliografía
10.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.
10.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.
10.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.
10.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-008-SCFI-1993. Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.
10.5 Norma ISO 6887-1983 (E). Microbiology General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.
10.6 NORMA-Z-013/02. 1981. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas. (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.)
10.7 Bacteriological Analitycal Manual. 1984. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. 6a. Ed. Washington, D.C.
10.8 Vanderzant F., Carland S., y Don F. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. Washington, D.C.
11. Observancia de la norma
La vigilancia del cumplimiento de la presente norma corresponde a la Secretaría de Salud.
12. Vigencia
La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatorio a los 30 días siguientes a partir de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.
Sufragio Efectivo. No Reelección.
México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.