

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ANALISIS BACTERIOLOGICO DE ALIMENTOS PROCESADOS:
MORTADELA Y JAMON

MARÍA ROSARIO CRUZ CANDELARIO

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA



SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA, AGOSTO DE 1985.-

T
576.163
C957a

UES BIBLIOTECA CENTRAL

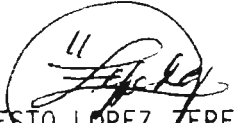
INVENTARIO: 10120710


1
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

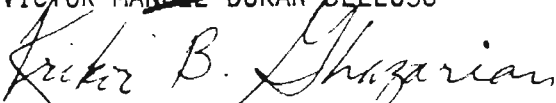
"ANALISIS BACTERIOLOGICO DE ALIMENTOS PROCESADOS: MORTADELA Y JAMON"

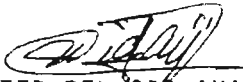
MARIA ROSARIO CRUZ CANDELARIO
TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA


1 9 8 5


DECANO : 
ERNESTO LOPEZ ZEPEDA

DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO: 
VICTOR MANUEL DURAN BELLOSO

ASESOR : 
KRIKOR BARSEGH GHAZARIAN

JURADO EXAMINADOR: 
JOSE WESTER DEL CID AYALA


MARINA ESTELA CONTRERAS DE TOBAR


JUDITH DOLORES TOLEDO ASCENCIO

DEDICATORIA

A mis padres :

Dominga Cruz de Candelario

Rosalfo Candelario Torrez

A mi esposo :

José Alfredo López

A mis hijas :

Claudia Patricia.

Cristina Eugenia, y

Rosario Elizabeth

A mis hermanos :

Juan Antonio,

Rosalfo Emilio,

Miguel Angel,

Miguel Henriquez

Jesús Beatriz.

A mis amigos :

José Wester Del Cid

Martha Lilian Ramos

AGRADECIMIENTOS

Al Lic. José Wester del Cid por la asesoría y la redacción de este manuscrito ; al Lic. José Antonio Arias por su estímulo y colaboración en el término de este trabajo; al Lic. Krikor B. Ghazarian por su orientación en el desarrollo de éste; a la srta. Martha Lilian Ramos por el interés y esmero puesto en la mecanografía. A los respetables Miembros del Jurado por las oportunas sugerencias y observaciones hechas, que mejoran el contenido del Trabajo, y al técnico en redes Rosalío Emilio Cruz por su valiosa ayuda en la elaboración de cuadros.

INDICE

<u>CONTENIDO</u>	<u>PAGINA</u>
INTRODUCCION.	1
REVISION DE LITERATURA.	8
MATERIALES Y METODOS.	9
1. ANALISIS PARA COLIFORMES.	10
1.1 Análisis cualitativo para coliformes.....	10
1.1.1 Prueba presuntiva.....	10
1.1.2 Prueba confirmada.....	11
1.1.3 Prueba completa.....	11
1.1.4 Ensayo diferencial.....	12
1.2 Análisis cuantitativo.....	13
1.1.2 Recuento total bacteriano.....	13
1.1.3 Número mas probable.....	14
2. ANALISIS PARA CLOSTRIDIUM.....	14
3. ANALISIS PARA STAPHYLOCOCCUS.....	15
4. ANALISIS PARA <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u>	15
4.1 Preparación de caldos.....	15
4.2 Prueba bioquímica.	16
RESULTADOS.	18
DISCUSION.	32
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
LITERATURA CITADA.	38

LISTA DE CUADROS

CUADRO NUMERO

- 1 Resultados del análisis bacteriológico en jamón tratado y no tratado térmicamente, para la determinación de la presencia de microorganismos del grupo coliforme, mediante la técnica de tubos múltiples de fermentación, y RTB⁻ por gramo y el NMP.....
- 2 Resultado del análisis bacteriológico en mortadela, tratada y no tratada térmicamente, para la demostración de la presencia de microorganismos del grupo coliformes, mediante la técnica de tubos múltiples de fermentación, el NMP y RTB⁺ por gramo.....
- 3 Resultado de la prueba completa y ensayo diferencial de -IMVIC, para la determinación de coliformes, tinción de --gram y para esporas, en jamón y mortadela no tratada térmicamente.....
- 4 Resultado del análisis microbiológico para determinar la presencia de Staphylococcus aureus, con su respectiva prueba de la coagulasa y tinción de gram en mortadela tratada y no tratada térmicamente.....
- 5 Resultado del análisis microbiológico para determinar la presencia de Clostridium botulinum y presencia de esporas en - mortadela tratada y no tratada térmicamente.....
- 6 Resultado del análisis microbiológico para determinar la presencia de Staphylococcus aureus, con su respectiva de la coagulasa y tinción de gram, en jamón tratado y no tratado térmicamente.....
- 7 Resultado del análisis microbiológico para determinar la presencia de Clostridium botulinum y presencia de esporas en jamón tratado y no tratado térmicamente.....
- 8 Resultado en la identificación de especies de Salmonella y Shigella en jamón tratado y no tratado térmicamente, por medio de la prueba bioquímica en TSI inclinado.....
- 9 Resultado en la identificación de especies de Salmonella y Shigella en mortadela tratada y no tratada térmicamente por medio de la prueba bioquímica en TSI inclinado.....

LISTA DE GRAFICAS

GRAFICA NUMERO

- 1 Representación logarítmica del recuento total bacteriano, para cada una de las muestras de mortadela tratada y no tratada térmicamente, y el límite establecido.
- 2 Representación logarítmica del recuento total bacteriano, para cada una de las muestras analizadas de jamón tratado y no tratado térmicamente y el límite establecido.

RESUMEN

Este Trabajo fue realizado con la finalidad de determinar la calidad sanitaria de productos alimenticios en forma de embutidos, se efectuaron 24 ensayos sobre análisis bacteriológico en productos de carne : mortadela y jamón. Los productos se clasificaron de la siguiente manera: 12 muestras de mortadela, 6 tratadas y 6 no tratadas térmicamente, y 12 muestras de jamón tratadas de la misma manera.

Los productos de diferentes marcas comerciales y obtenidos en diversos supermercados de San Salvador, se sometieron a los análisis siguientes : coliformes y para los géneros : Staphylococcus, Clostridium, --- Salmonella y Shigella.

Los resultados de los análisis positivos para los siguientes microorganismos fueron : Escherichia coli, Escherichia freundii, Aerobacter aerogenes, Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Salmonella -- spp. y Shigella spp.

Respecto a las muestras tratadas térmicamente, se obtuvo resultados positivos en los análisis para Staphylococcus aureus, Salmonella - y Shigella. El recuento total bacteriano sobrepasó los límites establecidos. De lo expuesto se concluye que los productos de mortadela y jamón no reúnen las condiciones higiénicas para el consumo humano.

INTRODUCCION

La mayoría de los alimentos, crudos o cocidos, dependiendo de las condiciones en que se encuentran, pueden contener bacterias, mohos y levaduras, que son microorganismos que intervienen en la descomposición - del producto en mayor o menos grado, dependiendo de la constitución física o química del alimento, pero si las condiciones del medio son favorables para todos los microorganismos mencionados anteriormente, la proporción relativa de desarrollo será mayor para las bacterias (Frosbisher, 1972).

Los alimentos procesados de mortadela y jamón, ya sea por su aspecto apetitoso o por la facilidad de su preparación, poseen un índice de consumo muy alto en nuestro país, y, aunque haya supervisión sanitaria, siempre existe el riesgo de ingerirlos contaminados con gérmenes, riesgo que se incrementa cuando dicho alimento se consume sin cocción, ocasionando alteraciones gastrointestinales (Sarles, 1963). La contaminación puede ocurrir en los procesos de elaboración, por medio del equipo utilizado o por el uso de carnes provenientes de animales no sanos, etc.

La mortadela y el jamón son embutidos que tienen una cubierta fina, procesados a una temperatura que no llega a los 100°C y que deben - de elaborarse usando carnes provenientes de animales sanos, sacrificados bajo inspección sanitaria. En su procesamiento se tolera la adición de pequeñas cantidades de agua y harina, pero no se permite el empleo - de colorantes dentro del productos, sino sólo para colorear la envoltura, no obstante son utilizados para colorear el embutido (Frazier, 1970).

Entre las características físicas y químicas que estos alimentos deben presentar están : reacciones negativas al amoníaco, carencias de

vestigios de gas sulfhídrico, y poseer un valor de pH poco ácido -- (Gebhardt, 1972).

Las enfermedades alimenticias causadas por contaminación microbiana pueden ser: intoxicación, causada por ingerir alimentos que contienen las toxinas e infecciones determinadas por invasión, multiplicación y alteraciones tisulares del huésped, producidos por los gérmenes transportados en los alimentos.

Las intoxicaciones alimentarias que producen las bacterias se dividen en dos grupos: botulismo, determinado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por Clostridium botulinum; e intoxicación estafilocócica, producida por la toxina de Staphylococcus aureus ---- (Gebhardt, 1972).

Las infecciones alimentarias también son de dos tipos: aquellas en que el patógeno no se multiplica de ordinario en el alimento, sino que es transmitido por él, por ejemplo, la fiebre tifoidea, paratifoidea, disentería, etc. y enfermedades en que el patógeno se multiplica en el alimento, alcanzando un número muy grande, antes de ser ingerido; por ejemplo, la gastroenteritis y diarreas, las cuales son producidas por especies de Salmonella y Shigella (Burrows, 1969).

Los microorganismos pertenecientes al grupo coliformes, considerados como indicadores de contaminación fecal, se clasifican en dos géneros y seis especies, y sólo uno de ellos, Escherichia coli pueden llamarse verdaderamente forma intestinal (Gebhardt, 1972). Algunas cepas de Escherichia coli, producen infecciones intestinales graves y a veces mortales, otras, ampliamente distribuidas en la naturaleza, se observan como parte de la flora normal del hombre y de animales (Carpenter, 1969).

No es fácil determinar cuando un alimento está en buenas condiciones para su consumo. Solo mediante el control de calidad se determinará el grado de contaminación aceptable (Burdon, 1971).

Con el propósito de conocer el grado de confiabilidad sanitaria y sugerir las medidas posibles de prevención de las enfermedades gastro--intestinales se consideró de importancia realizar los análisis bacteriológicos de mortadela y jamón, para identificar algunos contaminantes --bacteriológicos de dichos productos, y determinar la influencia del tratamiento térmico en la disminución o eliminación de microorganismos presentes en los alimentos.

REVISION DE LITERATURA

En los productos alimenticios los factores que determinan la presencia de microorganismos son: humedad, cantidad de oxígeno, concentración de productos nitrogenados, concentración en minerales, etc. son factores que convierten a los alimentos procesados en un medio ideal para el desarrollo de numerosos microorganismos que pueden causar fermentación o putrefacción.

Los llamados "embutidos" pueden presentar desde color pálido a un color rojo hasta tomar un aspecto de gris yesoso, por la influencia del oxígeno y de la luz, pero más por las bacterias presentes. También se presenta un enverdecimiento debido a la producción de peróxidos por gérmenes heterofermentativos como Lactobacillus y Leuconostoc (Petit & Moizke, -- 1966).

Las bacterias determinan coloración anormal en los alimentos o un aspecto mucilaginoso, dependiendo en gran medida de la temperatura y la humedad en las cuales se conservan (Burrows, 1973).

Daves y colaboradores (1977), establecieron que la carne molida es deteriorada por las bacterias que se encuentran en su superficie. las cuales se van distribuyendo hacia el interior de la masa molida; naturalmente entre más "picada" sea la carne hay mayor superficie de contacto y más abundantes son las bacterias.

Los posibles contaminantes de los alimentos pueden ser: agua, pañales, estiércol, cuchillos, aire, manos, ropas de uso personal, vehículos de transporte, cajones u otros recipientes (Frazier, 1972).

Algunos caracteres que hacen importantes a las bacterias colifor--

mes en la alteración de los alimentos son: capacidad para crecer bien en numerosos sustratos, capacidad de utilizar como fuente de energía hidratos de carbono y como fuente de nitrógeno compuestos nitrogenados, capacidad de síntesis de la mayoría de las vitaminas que necesitan; posibilidad de crecer a temperaturas comprendidas dentro de un amplio margen; capacidad de producir a partir de los azúcares cantidades considerables de ácido y gas (Frazier, 1972).

Las bacterias de los géneros Escherichia coli y Aerobacter aerogenes, incluidas en el grupo de los coliformes, son bacilos cortos, aerobios y anaerobios facultativos, gram negativos, que no forman esporas y fermentan lactosa con formación de gas. Las especies de Aerobacter aerogenes y Aerobacter cloacae, son encontradas en las heces del hombre y animales pero, Aerobacter aerogenes abunda más en el suelo (Barziza & Soto, 1963). A Escherichia coli, no se le daba la importancia como agente etiológico de enfermedades. pero se sabe que es la causa mas importante de pielitis, pielonefritis, septicemias, meningitis, endocarditis. Cierta tipo de estas bacterias producen en los niños diarreas epidémicas graves y a veces mortales (Smith, 1971). La academia nacional de Ciencias del Uruguay, afirma que la presencia de Escherichia coli en los alimentos denota una contaminación directa o fecal (Suley & Demarck, 1973).

Las enfermedades gastrointestinales son producidas en su mayoría por especies de los géneros Salmonella y Shigella, estas bacterias se encuentran en las heces de animales de sangre caliente. y la contaminación de los alimentos se debe a la manipulación realizada. Entre las es

pecies de Salmonella la mas importante es tiphymurium. que producen la -- fiebre tifoidea las demás especies producen disenterías y diarreas crónicas (Potter, 1972).

Daves et al (1971), reportan que los alimentos que se consumen crudos deben de seleccionarse con mucno cuidado, en especial los húmedos que son medio adecuado para el crecimiento de dichos microorganismos, tambien establecen que el jamón cocido, ahumado está comprendido en los alimentos no sometidos a tratamientos térmicos que asegure su esterilidad. Trabajos realizados en Estados Unidos y Europa muestran que los alimentos de jamón, carnes comprimidas, mortadela y otros alimentos ricos en proteínas, son los mas contaminados por las siguientes bacterias : Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Aerobacter aerogenes y Shigella spp. (Frosbisher, 1975).

Jawetz (1975), reporta que en Inglaterra especies de Salmonella -- causan a menudo enfermedades gastrointestinales; que Clostridium botulinum y Staphylococcus aureus producen intoxicación alimenticia en menor frecuencia. En Dinamarca, Noruega, Holanda, Suecia y Finlandia la mayoría de enfermedades gastrointestinales son causadas por especies de -- Salmonella y Shigella.

En El Salvador tambien se han reportado enfermedades gastrointestinales causadas por especies de Salmonella y Shigella.

Las autoridades de Salud Pública de los Estados Unidos establecen más de un millón de casos de envenenamiento por Staphylococcus aureus y Clostridium botulinum por año, causados por las toxinas producidas por ellas (Carpenter, 1969).

Las intoxicaciones alimentarias causadas por Staphylococcus aureus son consecuencia de la ingestión de las toxinas preformadas, las cuales son intensamente hemolíticas en agar sangre y dan positiva la reacción de la coagulación (Burrows, 1966). El período medio de incubación de la intoxicación alimentaria, después de consumir el alimento que contenga la enterotoxina, es más o menos de 2 horas. Las enterotoxinas resisten temperaturas de 100°C durante 30 minutos o más, por lo que un alimento que contenga la toxina, si sólo se calienta no la destruirá por la resistencia que posee (Satles, 1973).

Staphylococcus aureus suele llegar al alimento elaborado a través de la manipulación de la atmósfera dependiendo de las condiciones de salud en que se encuentre el que lo elabore (Payne & Brown, 1979).

Witton (1972), establece que un millón de Staphylococcus aureus -- por ml o por gramo de alimento se puede inactivar si se le aplica una temperatura de 65°C durante 30 minutos o por 60°C durante 76-86 minutos, variando la resistencia al calor según el alimento.

El botulismo se observó por primera vez en Alemania en el año 1895 y lo descubrieron al consumir carnes preparadas, las cuales contenían el bacilo que produce la intoxicación: el Clostridium botulinum (Gawetz, -- 1975). El hábitat de estas bacterias es esencialmente el suelo, y la contaminación de los alimentos pueden ser debido a la manipulación de que sean objeto. Las esporas de estas bacterias pueden resistir temperaturas de 67-90°C durante 10 minutos, debido a esto, al consumir un alimento recalentado, es mejor que sea hervido para evitar la proliferación de esporas (Brock, 1973). Las toxinas de estas bacterias son las más potentes -

que se conocen, son producidas en el alimento antes de que sea consumido, el producto de estas bacterias es absorbido por la membrana de la mucosa gástrica y de la parte alta del intestino: experimentos realizados en animales indican que la dosis de 0.01 mg de toxina a cifras mayores pueden ser mortales para un adulto. Su período de incubación es menor que 24 horas (Elliot & Michineri, 1977). Todos los brotes de botulismo se han atribuido a alimentos húmedos, curtidos, enlatados, procesados, a los que se ha dejado reposar durante un tiempo y después de ello se han ingerido con insuficiente cocción (Carpenter, 1969).

Para que se desarrolle Clostridium botulinum son necesarias condiciones anaeróbicas y un período de incubación. Cuando esté presente en los alimentos causan en ellos un aspecto mucilaginoso y el mal olor a huevo en descomposición (Frazier, 1972).

El tipo más frecuente de intoxicación alimentaria, puede calificarse de origen estafilocócico o "staf" y comprende el 90% de brotes, referente a las bacterias que producen toxinas, los alimentos que más a menudo guardan relación con las intoxicaciones alimentarias estafilococicas son los productos de carne procesados, en los cuales se desarrollan más rápidamente dichos microorganismos por su tolerancia a la sal (Witton, 1972).

El problema sanitario de los alimentos constituye un problema no solo de la comunidad sino también del distribuidor y del vendedor.

En general el público no ingiere alimentos visiblemente descompuestos, pero en ocasiones si el aspecto y el sabor son casi normales, tienden a comer el producto, no obstante son causantes de enfermedades gastrointestinales (Pelczar, 1972).

MATERIALES Y METODOS

La obtención de las muestras de mortadela y jamón se realizó en los supermercados de San Salvador teniendo en cuenta las siguientes condiciones: tipo de envoltura, fecha de llevar el producto al supermercado y fecha de elaboración. En total se colectaron 24 muestras en un período -- comprendido entre el mes de julio de 1978 y el mes de enero de 1979. De las 24 muestras obtenidas; 12 fueron de jamón y 12 de mortadela, identificándose por una numeración del 1-12, tanto para las muestras de jamón como para mortadela, fue objeto de los siguientes análisis microbiológicos :

- 1- Análisis para coliformes
- 2- Análisis para Clostridium
- 3- Análisis para Staphylococcus
- 4- Análisis para Salmonella y Shigella

De las 24 muestras colectadas : 6 de jamón y 6 de mortadela fueron tratadas térmicamente : las otras doce de los mismos productos no fueron tratadas térmicamente.

Las muestras tratadas térmicamente, se colocaron en una caja de petri y se sometieron a una temperatura de 100°C durante 90 minutos, concluido el tiempo se extrajo la muestra se dejó enfriar y se les realizó los análisis microbiológicos anteriormente mencionados, referente a las no tratadas se analizaron así como se obtuvieron.

Los medios de cultivo se prepararon con los materiales esterilizados, siguiendo las indicaciones de los fabricantes de medios de cultivo.

El inóculo se preparó de la siguiente manera : se pasaron 50 gr. de

la muestra a analizar. se colocaron en un vaso de licuadora previamente esterilizado, se le agregaron 450 ml de Buffer fosfato y 0.25 gramos de ácido etilendiaminotetraacético. Se homogenizó por 2 minutos obteniéndose una dilución equivalente a 10^{-1} p/v. Este homogenizado se trasladó por medio de pipetas estériles a tubos rotulados A, B, C y D, etc. en los que se colocaron concentraciones decrecientes en submúltiplos de 10, partiendo de una concentración base de 10^{-1} 0.2% hasta obtener las diluciones necesarias para realizar los siguientes análisis:

1. Análisis para Coliformes :

Este análisis se realiza en dos fases :

1.1 Análisis cuantitativo para coliformes, el cual consiste en realizar las siguientes pruebas :

1.1.1 Prueba presuntiva (Técnica de tubos múltiples de fermentación),.

Se realizó de la forma siguiente :

Se utilizaron diez tubos de ensayo. cada uno con un tubo invertido de Durham (tubos de fermentación) y diez ml. de caldo de Lauril Sulfato de Bouillon (LSB), se formaron grupos de 3 tubos de ensayo rotulados con sus respectivas diluciones; se inocularon los primeros 3 tubos con el homogenizado correspondiente a una concentración de 10^{-1} : el otro grupo se inoculó con la dilución del primer tubo rotulado anteriormente con "A" correspondiente a la dilución de 10^{-2} y el último grupo se inoculó con la dilución del tubo rotulado "B" correspondiente a la dilución 10^{-3} . se dejó el décimo tubo

como testigo. Se agito cada tubo y se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 día. Concluido este período se tomó como resultado positivo los tubos que presentaron gas dentro de los tubos de fermentación.

1.1.2 Prueba Confirmada :

Se prepararon cuatro tubos con caldo de Verde Brillante de Biliis-Lactosa (BRILLA) y cuatro tubos conteniendo caldo de Ec Medium, cada uno con un tubo de Durham, se inocularon con los resultados positivos de menor dilución obtenidos anteriormente.

Después de inoculados, los tubos de BRILLA se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 2 días y los de Ec Medium en baño de maría a $44 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 día. La fermentación y la formación de gas en cualquier medio se tomó como prueba positiva.

De los resultados positivos obtenidos se inocularon en forma de estría 7 cajas de petri con medio de agar eosina-azul-de metileno (EMB). Se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 2 días, pasado este tiempo se clasificaron las colonias en típicas y atípicas, según presentaron núcleos, brillo metálico, borde y forma definida o bien sin núcleo, opacas y mucoides.

1.1.3 Prueba Completa :

De las colonias típicas seleccionadas anteriormente, se inocularon 2 tubos con cada colonia, uno con agar nutritivo inclinado y el segundo con caldo lactosado, se incubaron a una tempe-

ratura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 2 ó 3 días, respectivamente, se consideró como prueba positiva de los primeros tubos, un crecimiento de colonias en la superficie y en los segundos, formación de gas.

1.1.4 Ensayo diferencial :

Con los tubos positivos de agar nutritivo inclinado (1.1.3) se inocularon los medios utilizados para el ensayo de IMVIC, que comprenda las siguientes pruebas: Indol (I); Rojo de Metilo (RM), Voges--Proskauer (VP) y Citrato (C), (APHA, 1976).

1.1.4.1 Prueba de Indol:

A partir de los resultados positivos de agar nutritivo inclinado, se inocularon tubos con 5 ml de caldo de triptófano. Se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 día, después de este período se le agregó a cada tubo de -- 0.2 a 0.3 ml de reactivo de indol, preparado con anterioridad. Se tomó como prueba positiva la aparición de un anillo de color rojo oscuro en la capa superficial.

1.1.4.2 Rojo de Metilo:

De los mismos tubos de agar nutritivo inclinado se inocularon tubos con 5.0 ml de caldo de medio de MR-VP; se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ días, se tomó 1 ml del medio de cultivo y se depositó en otro tubo de ensayo, al cual se le agregó 5 gotas de rojo de metilo. Se consideró como prueba positiva la presencia de un color rojo intenso.

1.1.4.3 Voges-Proskauer:

De los resultados de agar, se inocularon tubos conteniendo

"metil-Voges-Proskauer" (MRVP). Se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 2 días. concluido el tiempo se tomó 1 ml y se colocó en otro tubo de ensayo, al cual se le agregó 0.2 ml de KOH (Hidroxido de Potasio) y 0.9 ml de solución de Naftol. El resultado se observó durante 4 horas, tomándose como prueba positiva la formación de un color rojo intenso.

1.1.1.4 Prueba de citrato:

Del mismo medio de agar nutritivo inclinado, se inocuaron tubos conteniendo agar-citrato-inclinado, se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 6 días, pasado este tiempo se tomó como reacción positiva un cambio de color verde a azul. Para la clasificación de los resultados anteriores se aplicó la interpretación de la reacción de IMVIC dada por Caballero (1963).

1.2 Análisis Cuantitativo :

Este análisis consiste en realizar el recuento total bacteriano (RTB) y el número más probable de bacterias por gramo (NMP).

1.2.1. Recuento Total Bacteriano:

Se preparó 150 ml del medio para recuento total bacteriano (Plate Count Agar, PCA, Difco). se rotularon cajas de petri en duplicado de acuerdo a las concentraciones de 10^{-3} a 10^{-6} , seguidamente se inocularon con el medio preparado de la licuadora de concentración 10^{-1} , y a continuación se agregó 20 ml de (PCA) a cada caja de petri. se mezcló en forma rotati-

va, y cuando el medio solidificó se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 3 días, pasado este tiempo se contaron las colonias con el contador de colonias Quebec, seleccionándose las cajas que contenían de 30 a 300 colonias, se determinaron valores logarítmicos para graficar los resultados (Gráficas No. 1 y 2).

1.2.2 Número más probable :

A partir de los datos de la prueba presuntiva (técnica de tubos múltiples), se determina el número más probable de Coliformes donde se inoculan e incuban series de 3 tubos a 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} . Se expresan los resultados en forma de fracción donde el numerador indica las veces que se obtuvo el resultado positivo y el denominador, el número de tubos inoculados, comparados mediante la tabla del NMP y límites de confianza del 95% para las diversas combinaciones de resultados positivos - (apéndice, cuadro 5) (APHA, 1963).

2. Análisis Para Clostridium:

Se prepararon 150 ml de "Agar Anaerobio de Brewer" (BAA), Difco y 12 cajas de petri rotuladas de 10^1 a 10^{-6} por duplicado. Se inocularon con el medio preparado de la licuadora y se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 3 días, en una campana de vidrio, para producir el medio anaeróbico. Los resultados se identificaron al descubrir las cajas de petri, las cuales desprendían o no olores característicos a huevo en descomposición, producido por H_2S . Para reforzar los datos se realizó Tinción de esporas.

3. Análisis para Staphylococcus:

Se prepararon 150 ml de "Agar Vogel Johnson" (VJA), al cual se le agregaron 3 ml de telurito de potasio al 1%, se vertió en las cajas de petri que se rotularon de 10^{-1} a 10^{-6} , por duplicado. Solidificado al medio. Solidificado al medio, **Se** inocularon con el homogenizado (A), se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 3 días, concluido este período, se identificaron las colonias positivas por las características de centro negro, con halo amarillo, resultados que se reforzaron con la Tinción de Gram (APHA, 1963).

4. Análisis para Salmonella y Shigella:

4.1 Preparación de los Caldos :

Se prepararon los siguientes caldos : 225 ml de caldo de selenito-cistina (SC, Difco, 1953), 225 ml de caldo de verde brillante de tetratoato y 240 ml de caldo de enriquecimiento de gram negativo. Se pesaron 25 gramos de la muestra a utilizar (mortadela o jamón), se homogenizaron por 2 minutos con el primer caldo de (selenito-cistina) se le agregaron 0.22 gramos de EDTA, se transfirió a un erlenmeyer y se incubó a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 día. Se pesaron otros 25 gramos de la muestra y se homogenizaron con el segundo caldo (Verde Brillante de Tetratoato) procediendo de la misma manera anteriormente descrita. también se pesaron 10 gramos de la muestra y se licuó con el tercer caldo operando de igual forma.

4.2 Preparación de los medios selectivos:

Se prepararon 100 ml de cada uno de los siguientes medios selec-

tivos: Agar Verde Brillante (BG, Agar, Difco, 1953), Agar Sulfito de Bismuto (BS, Agar, Difco, 1963), Agar Salmonella y Shigella -- (SS, Agar, Difco, 1963), Agar Xilosa-Lisina-Dexosicolato (XLD, Agar, Difco, 1963) y Agar Eosina Azul de Metileno (EiMB, Agar, Difco).

Para cada medio selectivo se utilizaron 5 cajas de petri en las -- que se vaciaron 20 ml por cada caja. Una caja se utilizó como tes-tigo. Del caldo de enriquecimiento SC incubado, se inocularon en - duplicado los siguientes medios BG Agar; XLD Agar; DC Agar; y EiMB Agar. Se realizaron 2 inoculaciones: en la primera, se utilizó un asa de 3 mm de diámetro y para la segunda, se utilizó una pipeta, tomando el inóculo directamente del medio incubado.

Con el caldo de verde brillante de tetracionato se inocularon de - la misma manera anterior, los siguientes medios: BG Agar, SS Agar y BS Agar, del último caldo y de la misma forma se inocularon los siguientes medios: XLD Agar, DC Agar y EiMB Agar. Se incubaron a - una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ todas las cajas de petri, durante 1 día excepto las de XLD y BS Agar que se incubaron durante 2 días. Para la interpretación de los datos se tomó los parámetros estipu- lados por Merck (1965).

4.3 Prueba Bioquímica :

Se prepararon 30 tubos de ensayo con Agar-Hierro-Tres Azucres -- (TSl, Difco).

De los medios selectivos anteriores, se escogieron colonias que - reunían las características de Salmonella y Shigella y se inocula

ron los tubos de TSI, luego se incubaron a una temperatura de $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 día, concluido el tiempo, se hizo la interpretación de los datos según Merck (1965).

RESULTADOS

El procedimiento seguido en los análisis bacteriológico y químicos - realizados a cada uno de los alimentos en estudio se realizó según normas y metodologías establecidas por organismos internacionales, para la identificación de contaminantes bacteriológicos que determinan la calidad higiénica de los productos procesados (jamón y mortadela). Así, se determinó que las muestras no tratadas térmicamente resultaron positivas en contaminación bacteriana en todos los ensayos realizados y las muestras tratadas térmicamente resultaron negativas en la mayoría.

En los cuadros 1 y 2 se presentan los resultados obtenidos en la -- prueba presuntiva y confirmada de las muestras de mortadela y jamón, tratadas y no tratadas térmicamente, resultando positivas en todos los ensayos las muestras no tratadas térmicamente, y las tratadas térmicamente resultaron positivas sólo en el Recuento Total Bacteriano (RTB). Referente al número más probable NMP, todas las muestras sobrepasan los límites de seguridad establecidos.

Los datos del recuento total bacteriano de las muestras de mortadela y jamón se presentan en forma logarítmica (gráficas 1 y 2). En ambas gráficas se establecen los límites permitidos por Elliot & Michineri (1977), los cuales concuerdan con los establecidos por Gebhardt (1972) y Frobi--sher (1972). Los resultados obtenidos en las muestras de mortadela y jamón sobrepasan los límites establecidos en su mayoría.

En el cuadro número 3 se presentan los resultados de las mismas -- muestras anteriores en la prueba completa y diferenciación de microorganismos, resultando positivos sólo para las muestras no tratadas térmicamente, estos resultados se reforzaron con la coloración del gram, enconu

trándose los géneros siguientes : Escherichia freundy, Escherichia coli y Aerobacter aerogenes.

En el cuadro número 4 se presentan los resultados obtenidos con las muestras de mortadela tratada y no tratada térmicamente, en los análisis para la determinación de Staphylococcus aureus, resultando las muestras no tratadas térmicamente positivas en todas sus diluciones; en las muestras tratadas térmicamente, resultaron positivas las muestras 1, 2 y 3 en todas sus diluciones; estos resultados se confirmaron con la reacción de Gram y la de la coagulación.

En el cuadro número 5 se presentan los resultados obtenidos con la muestra de mortadela tratada y no tratada térmicamente en los análisis para Clostridium botulinum. Referente a las no tratadas térmicamente resultó positiva la muestra número 1, en todas sus diluciones, resultado que se reforzó con la tinción para la presencia de esporas y por el olor que desprendió la caja de petri al ser destapada. En las tratadas térmicamente resultaron datos negativos.

En el cuadro número 6 se presentan los resultados obtenidos con las muestras de jamón, tratado y no tratado térmicamente, en los análisis para la determinación de Staphylococcus aureus, resultando positivas todas las muestras en todas sus diluciones, en las no tratadas térmicamente. Referente a las tratadas térmicamente resultaron positivas las muestras 1, 2 y 3 en todas sus diluciones. estos datos se confirmaron con la reacción de Gram y la reacción de la coagulasa.

En el cuadro No. 7 se presentan los resultados obtenidos con las muestras de jamón tratado y no tratado térmicamente en los análisis para

la determinación de Clostridium botulinum, tanto en las muestras tratadas y no tratadas térmicamente se obtuvieron resultados negativos.

En el cuadro número 8 se presentan los resultados obtenidos con las muestras de jamón tratado y no tratado térmicamente en los análisis para la determinación de especies de Salmonella y Shigella, tanto para las tratadas como las no tratadas térmicamente se obtuvieron resultados positivos.

En el cuadro número 9 se presentan los resultados obtenidos con las muestras de mortadela tratada y no tratada térmicamente en los análisis - para la determinación de especies Salmonella y Shigella, en ambos ensayos se obtuvieron resultados positivos.

Nº DE MUESTRA	PRUEBA - PRESUNTIVA		PRUEBA CONFIRMADA										RTB POR GRAMO		
	NÚMERO DE TUBOS POSITIVOS DE CAL LAURIL SULFATO (L.S.S.)/(TOTAL DE TUBOS DE CALDO DE EC.		NÚMERO DE TUBOS POSITIVOS DEL CALDO DE BRILLO												
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		APARTIR DEL CALDO DE EC	APARTIR DEL CALDO DE BRILLO
1	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	9.4 x 10 ⁷
2	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	8.7 x 10 ⁸
3	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	3.5 x 10 ⁷
4	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	3.5 x 10 ⁷
5	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	1.8 x 10 ⁸
6	3/3	3/3	>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	+	+	1.3 x 10 ⁸

TRATADAS TERMICAMENTE															
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.8 x 10 ⁶
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.9 x 10 ⁶
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.9 x 10 ⁶
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.9 x 10 ⁷
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5 x 10 ⁷
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.8 x 10 ⁶

CUADRO 1. RESULTADO DEL ANALISIS BACTERIOLOGICO EN JAMON TRATADO Y NO TRATADO TERMICAMENTE, PARA LA DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS DEL GRUPO COLIFORME, MEDIANTE LA TECNICA DE TUBOS MULTIPLES DE FERMENTACION, EL NMP Y RTB POR GRAMO DE MUESTRA. ABREVIATURA UTILIZADA: T CON BM = TÍPICO CON BRILLO METALICO, RTB = RECUESTO TOTAL BACTERIANO, NMP = NUMERO MAS PROBABLE.

		JAMON NO TRATADO TERMICAMENTE													
		PRUEBA COMPLETA						DIFERENCIACION DE MICROORGANISMOS							
Nº DE MUESTRAS	CALDO LACTOSADO	AGAR NUTRITIVO INCLINADO	TINCION DE GRAM	PRESENCIA DE ESPORAS	PRUEBA DE IMVIC						ESPECIES IDENTIFICADAS				
					CALDO DE EC			CALDO DE BRILLA							
					I	RM	VD	C	I	RM			VD	C	
1	+	+	-	-	+	+	-	+						Escherichia fraundii	
2	+	+	-	-	+	+	-	+						Escherichia coli	
3	+	+	-	-						-	+	+		Aerobacter aerogenes	
4	+	+	-	-	+	+	-	-						Escherichia coli	
5	+	+	-	-	+	+	-	-						Escherichia coli	
6	+	+	-	-						+	+	+		Escherichia fraundii	
MORTADELA NO TRATADA TERMICAMENTE															
1	+	+	-	-	+	+	-	+						Escherichia fraundii	
2	+	+	-	-	+	+	-	-						Escherichia coli	
3	+	+	-	-	+	+	-	-						Escherichia coli	
4	+	+	-	-						+	+	+		Escherichia fraundii	
5	+	+	-	-						-	+	+		Aerobacter aerogenes	
6	+	+	-	-						+	+	+		Escherichia coli	

CUADRO 3 Prueba completa y ensayo diferencial de IMVIC, para la determinación de COLIFORMES. Tincion de gram y para esporas, en jamon y mortadela no tratada termicamente

NUMERO DE MUESTRAS	VOGEL JOHNSON AGAR (VJA)						REACCION DE LA COAGULASA	TINCION DE GRAM
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶		
1	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+
NO TRATADAS TERMICAMENTE								
1	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+
TRATADAS TERMICAMENTE								

CUADRO 4 RESULTADO DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* CON SU RESPECTIVA PRUEBA DE LA COAGULASA Y TINCION DE GRAM EN MORTA DE LA TRATADA Y NO TRATADA TERMICAMENTE.

TRATADAS TERMICAMENTE	NUMERO DE MUESTRAS	BREWER ANAEROBIC AGAR (BAA)					PRESENCIA DE ESPORAS
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
NO TRATADAS TERMICAMENTE	1	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-
TRATADAS TERMICAMENTE	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-

CUADRO 3 RESULTADO DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Clostridium botulinum* Y PRESENCIA DE ESPORAS, EN MORTAUELA TRATADA Y NO TRATADA TERMICAMENTE

NUMERO DE MUESTRAS	VOGEL JOHNSON AGAR (V.J.A.)						REACCION DE LA COAGULASA		TINCION DE GRAM
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	S AUREUS		
1	+	+	+	+	+	+	+		+
2	+	+	+	+	+	+	+		+
3	+	+	+	+	+	+	+		+
4	+	+	+	+	+	+	+		+
5	+	+	+	+	+	+	+		+
6	+	+	+	+	+	+	+		+
NO TRATADAS TERMICAMENTE									
1	+	+	+	+	+	+	+		+
2	+	+	+	+	+	+	+		+
3	+	+	+	+	+	+	+		+
4	+	+	+	+	+	+	+		+
5	+	+	+	+	+	+	+		+
6	+	+	+	+	+	+	+		+
TRATADAS TERMICAMENTE									

CUADRO 6 RESULTADO DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* CON SU RESPECTIVA PRUEBA DE LA COAGULASA Y TINCION DE GRAM, EN JAMON TRATADO Y NO TRATADO TERMICAMENTE

NUMERO DE MUESTRAS	BREWER ANAEROBIC AGAR (BAA)						PRESENCIA DE ESPORAS
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—	—

NO TRATADAS TERMICAMENTE

TRATADAS TERMICAMENTE

CUADRO 7 RESULTADO DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE *Clostridium botulinum* Y PRESENCIA DE ESPORAS, EN JAMÓN TRATADO Y NO TRATADO TERMICAMENTE.

NO TRATADAS TERMICAMENTE					
Nº DE MUESTRAS	ZONA COLUMNAR	SUPERFICIE INCLINADA	FORMACION DE H ₂ S	ESPECIE IDENTIFICADA	ESPECIE IDENTIFICADA
1	A	OAL	-	<u>Shigella</u> <u>disenteriae</u>	<u>Shigella</u> <u>disenteriae</u>
2	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>pullorum</u>	<u>Salmonella</u> <u>pullorum</u>
3	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>
4	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>enteritidis</u>	<u>Salmonella</u> <u>enteritidis</u>
5	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>
6	A	OAL	±	<u>Shigella</u> <u>flexneri</u>	<u>Shigella</u> <u>flexneri</u>
TRATADO TERMICAMENTE					
1	A	OAL	-	<u>Shigella</u> <u>disenteriae</u>	<u>Shigella</u> <u>disenteriae</u>
2	A	OAL	-	<u>Shigella</u> <u>flexneri</u>	<u>Shigella</u> <u>flexneri</u>
3	AG	OAL	-	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>	<u>Salmonella</u> <u>tiphymurium</u>
4	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>paratyphi</u>	<u>Salmonella</u> <u>paratyphi</u>
5	AG	OAL	±	<u>Salmonella</u> <u>pullorum</u>	<u>Salmonella</u> <u>pullorum</u>
6	AG	OAL	+	<u>Salmonella</u> <u>enteritidis</u>	<u>Salmonella</u> <u>enteritidis</u>

CUADRO 8 Especies identificadas de Salmonella y Shigella, en jamón tratado y no tratado termicamente, por medio de la prueba bioquímica en TSI Inclinado

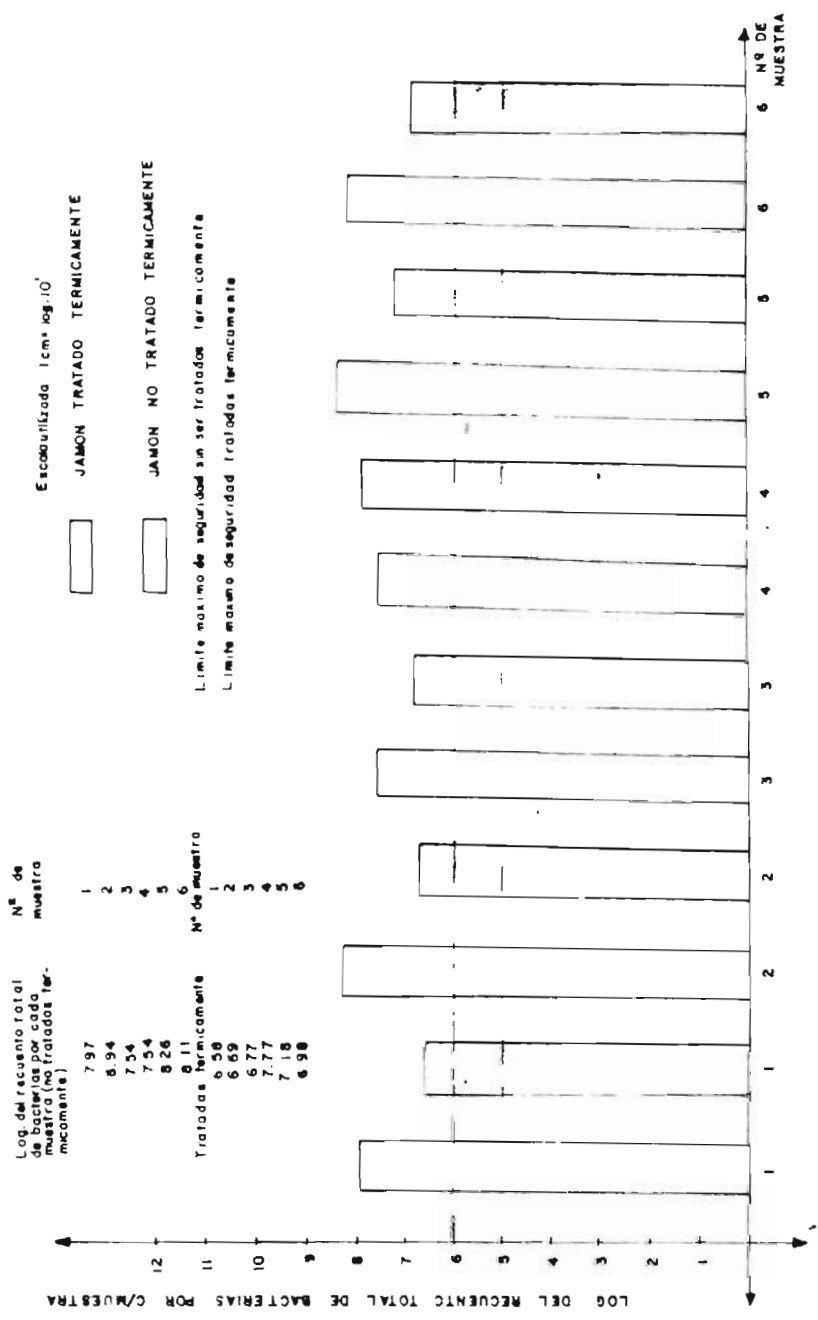
ABREVIATURA UTILIZADA: TSI: Agar hierro tres azúcares; A: Acido; AG: Formación de ácido producción de gas; OAL: Sin alteración del color rojo original del medio de cultivo.

Nº DE MUESTRAS	NO TRATADAS TERMICAMENTE			FORMACION DE H ₂ S	ESPECIE IDENTIFICADA
	ZONA COLUMNAR	SUPERFICIE INCLINADA			
1	A	OAL			<i>Shigella dysenteriae</i>
2	AG	OAL	+		<i>Salmonella gallinarum</i>
3	AG	OAL	+		<i>Salmonella typhimurium</i>
4	AG	OAL	+		<i>Salmonella galgallidis</i>
5	AG	OAL	+		<i>Salmonella typhimurium</i>
6	A	OAL	±		<i>Shigella flexneri</i>
TRATADAS TERMICAMENTE					
1	A	OAL		-	<i>Shigella dysenteriae</i>
2	A	OAL		-	<i>Shigella flexneri</i>
3	AG	OAL		-	<i>Salmonella typhimurium</i>
4	AG	OAL		+	<i>Salmonella paratyphi</i>
5	AG	OAL		±	<i>Salmonella gallinarum</i>
6	AG	OAL		+	<i>Salmonella enteritidis</i>

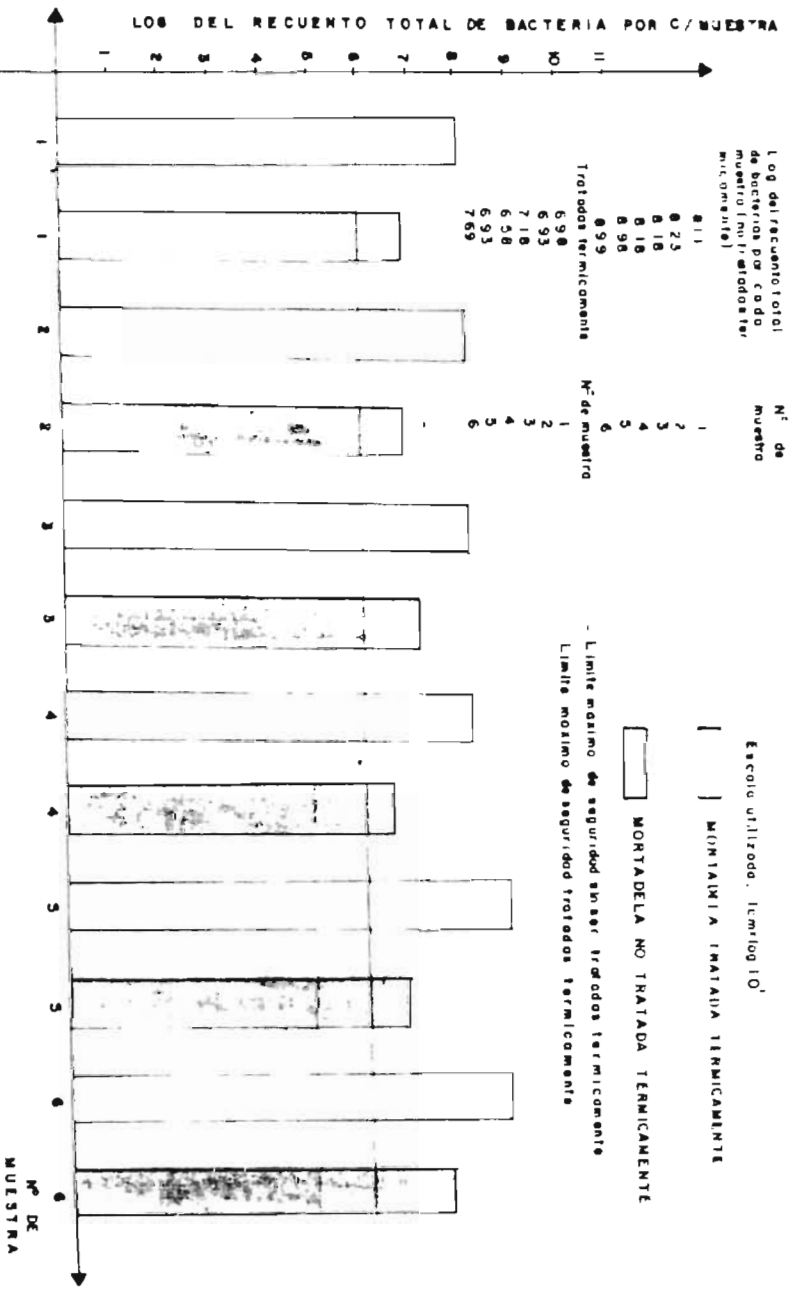
CUADRO 9 Especies identificadas de *Salmonella* y *Shigella*, en mortadela tratada y no tratada termicamente, por medio de la prueba bioquímica en ISI inclinado

ABREVIATURA UTILIZADA: I-SI-Agar hierro tres azúcares; A-Acido; AG-Formación de ácido y producción de gas;

OAL Sin alteración del color rojo original del medio de cultivo.



GRAFICA 1 Representación logarítmica del recuento total de bacterias (RTB), para cada una de las muestras de jamón tratado y no tratado termicamente, estableciendo su límite máximo de seguridad de bacterias



GRAFICA 2 Representación logarítmica del recuento total de bacterias (RTB), para cada uno de las muestras de montaña tratada y no tratada termicamente, estableciendo su límite máximo de seguridad de bacterias

DISCUSION

Uno de los factores en los problemas microbiológicos relacionados con estos alimentos es la composición química de ellos por el contenido proteínico y la humedad que poseen.

En base a estos resultados se puede decir que la calidad higiénica de estos productos, no tratados térmicamente, es altamente inadecuado para el consumo humano, pues indica contaminación fecal reciente de animales de sangre caliente, siendo más confiable para consumir las muestras tratadas térmicamente, ya que sus resultados fueron en algunos ensayos negativos.

Trabajos realizados por Suley & Demarck (1973), establecen que cuando se trata de productos sometidos a temperaturas suficientemente altas para destruir bacterias, su presencia denota un inadecuado calentamiento o contaminación durante o posterior al proceso. La epidermia de microorganismos patógenos o no patógenos pueden ser difundido por medio del agua. Para evitar tal contaminación hay que investigar el agua antes de usarla y si el análisis resultara positivo para Escherichia coli se puede establecer que ha habido contaminación por aguas residuales.

Escherichia coli se considera como no patógeno, pero a pesar de esto se han encontrado cepas asociadas a diarreas infantiles, infecciones crónicas y agudas del aparato urogenital, de la vesícula biliar, colecistitis, apendicitis, peritonitis, pielitis (Payne & Brow, 1979).

Carpenter (1969), sostiene que los coliformes son indicadores biológicos y éstos a la vez, marcadores de la presencia de Helminetos, Platelminetos, Protozoarios, nuevos de Nematodos. Trematodos, que no se analiza-

ron en este trabajo, pero no obstante, se transmiten por este tipo de alimento. Referente a las posibles fuentes de contaminación de estos alimentos, se tienen las siguientes : personas que manipulan los alimentos, -- utensilios, maquinarias, el agua, el cual es considerado como compuesto químico necesario para el crecimiento de las bacterias y es parte de la estructura física del alimento, comparando lo dicho por Carpenter con los resultados obtenidos en los cuadros 1, 2 al 9 se establece que no se siguen técnicas asépticas para evitar lo mas posible tal contaminación en -- los alimentos.

Jawetz, Melnick & Delbery (1975), establecen que en aquellos materiales donde se deja oxígeno, favorece el desarrollo de bacterias, especialmente Escherichia coli, y estos microorganismos dan sabores extraños a los productos, además de mucosidad y putrefacción, esto se comprobó -- "Durante la realización de los ensayos cuando se dejaron por un día muestras de mortadela y jamón, expuestas al medio ambiente, se observaron -- cambios en la coloración de los alimentos del color rojo original que -- presenta a una coloración verdosa", ésto es debido a la oxidación que -- realizan las bacterias (Senez, 1979; Barziza & Soto, 1963).

Respecto a los resultados del NMP en las muestras de mortadela y jamón no tratados térmicamente se hizo uso de la **tabla** de NMP dada por (Bacteriological Analytical Manual (1969)), donde establecen los datos en gramos y para poderlos relacionar con los obtenidos se estableció que 1 ml es igual a un gramo de la muestra analizada, y así, dependiendo del número de tubos inoculados y positivos que resultaron se calculó el NMP, para cada muestra analizada, observándose que sobrepasaron los 11-

mites de > 1100 NMP por ml. Se establecen otros datos reportados por --- Sherwood & Thompson (1953), los cuales proponen para el NMP de coliformes las siguientes normas: grado 1 menos de 6 coliformes por ml de tejido analizado, se considera carne limpia y segura; grado 2, de 6 a 15 coliformes por ml considerada carne de pureza dudosa; grado 3 más de 15 coliformes - por ml de tejido analizado, carne altamente contaminada. Comparando estos datos con los obtenidos y estableciendo la misma relación anterior que 1 ml es igual a 1 gramo, se consideran productos altamente contaminados de microorganismos de coliformes.

En los resultados del RTB de las muestras de mortadela y jamón tratados y no tratados térmicamente, se observó al comparar los datos reportados por Gebhardt (1972) Froshisher (1973) y Elliot & Micheneri (1977), quienes establecen que en los alimentos procesados, el número de bacte-- rias es tan elevado que se considera como límite máximo de seguridad el valor de 1×10^6 /gr y éstos al ser tratados por el calor el límite estándar está comprendido entre 1×10^5 /gr a 1×10^6 /gr., cantidades superiores esta- blecen que el alimento es considerado sospechoso), que las muestras de - mortadela y jamón tratada y no tratada térmicamente sobrepasan los lími- tes establecidos y por lo tanto se consideran como alimentos muy contaminados.

Referente a los resultados de los análisis de Staphylococcus aureus fueron positivas las muestras de mortadela y jamón no tratadas térmica-- mente, y estas mismas al ser tratadas térmicamente. dieron positivas las muestras 1, 2 y 3 en todas sus diluciones (cuadros 4 y 6). Trabajos rea- lizados por Sarles (1972) & Witton (1972), establecen que más de un mi-- llón de bacterias de Staphylococcus aureus por ml o por gramo puede inacu

tivarse al aplicarles una temperatura de 66°C durante 70-80 minutos. Según estas experiencias la resistencia al calor varía según el tipo de alimento. Haciendo una comparación de los datos obtenidos se puede decir que las muestras de mortadela y jamón, necesitaban que se les tuviera más tiempo en la estufa para poder eliminar la mayoría de microorganismos, puesto que las muestras 4, 5 y 6 resultaron negativas en todas sus diluciones. De acuerdo con los resultados anteriores se establece que se determina la positividad de la reacción de la coagulasa en ambos productos (mortadela y jamón), que es un dato más confiable para la determinación de la presencia de Staphylococcus aureus, que es un microorganismo muy perjudicial para la salud del consumidor. En relación a las muestras tratadas térmicamente bajó el grado de contaminación y se dice que el calor en parte destruyó dichos microorganismos; resultados similares obtuvo Elliot & Micheneri (1977).

En los análisis de Clostridium botulinum, resultó positiva la muestra número 1 de mortadela no tratada térmicamente. Respecto al análisis térmico en jamón y mortadela se obtuvieron datos negativos, teniéndose en cuenta la falta de equipo apropiado para la realización de este ensayo, pero debe de considerarse que el habitat de estos microorganismos es el suelo, y el manejo y la elaboración inadecuada del alimento puede permitir la contaminación, y no debe de eliminarse la posibilidad de que es ten presentes en el resto de las muestras. Collins (1969), establece que para que se desarrolle Clostridium botulinum, es necesario condiciones anaeróbicas y un período de incubación, pasos que se establecieron en este ensayo pero en forma inadecuada por la carencia de equipo.

Gebhardt (1973), afirma que las toxinas de Clostridium botulinum se destruyen con el calor, por lo tanto los alimentos recién cocidos no la poseen. refiriéndose a los datos obtenidos, se puede decir que la temperatura que se les aplicó a los alimentos fue lo suficiente para inactivar las toxinas y por esto se tuvieron valores negativos en la mayoría de las muestras.

En los análisis de Salmonella y Shigella, tanto en las muestras tratadas por el calor se obtuvieron datos positivos (cuadros 8 y 9), de estos resultados se puede decir que con seguridad existe una contaminación fecal, pues estas bacterias son aisladas de heces de animales de sangre caliente. Todas las Salmonellas y Shigellas se consideran patógenas para el individuo que consume alimentos que las contienen. éstas pueden hallarse en el alimento en gran número, sin alterar el producto.

Como puede observarse en forma general, los problemas relacionados con el comportamiento de los microorganismos en los alimentos son variados, numerosos y complejos, la mortadela y el jamón son utilizados en la dieta, pero algunas veces su uso ocasiona peligros y problemas para la salud, debido a la presencia de los microorganismos antes mencionados, para evitar ésto se requiere una cocción de tales alimentos superior a los 100°C durante 5 a 10 minutos, para llevar el producto a un nivel microbiológico aceptable y prevenir las enfermedades que producen estas bacterias.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados en mortadela y jamón tratados y no tratados térmicamente se puede concluir : que las muestras anteriores están altamente contaminadas por Escherichia coli, Escherichia freundii, Aerobacter aerogenes, -- Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Salmonella y Shigella.

Tomando en cuenta los límites establecidos de microorganismos que pueden tener los alimentos procesados, tratados y no tratados por el calor, se establece que los productos estudiados son de mala calidad higiénica, por lo tanto no son aptos para el consumo humano sin un tratamiento adecuado. Debido a lo anterior, se recomienda :

- 1) Eliminar los factores que contribuyen a la contaminación de estos productos, porque el consumo de éstos es alto, lo cual sería una medida tendiente a evitar enfermedades gastrointestinales en nuestro país.
- 2) Se deben de implementar programas educativos para las personas que manipulan los alimentos, para garantizar el proceso de selección y preparación de los alimentos.
- 3) Realizar otros trabajos, para determinar la forma, la temperatura y tiempo que se necesite para eliminar la mayor parte o totalidad de estos microorganismos, sin disminuir su valor nutritivo.

LITERATURA CITADA

- APHA, AWWA, WPEP. 1970. Métodos estandar para el examen de aguas y aguas de desechos. Editorial Interamericana. México. 609 pp.
- ALEGRIA, J.R. 1978. Análisis bacteriológico de muestras de "conchas" o "curiles" Anagara tuberculosa Sowerby colectadas en la bahía de Cuicuilco. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura), 97 pp.
- BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL. 1969. División de Microbiología. -- Washington.
- BARZIZA, C.M. & SOTO, M.A. 1963. Microbiología. 5a. Ed. Editorial Argentina. 700 pp.
- BROOK, H.A. 1973. Microbiología. Editorial Cultural, S.A. México. 700 pp.
- BURDON, K.L. 1971. Microbiología. 3a. Ed. Editorial Publicaciones, S. A. México. 520 pp.
- BURROWS, P. 1966. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 800 pp.
- _____. 1969. Microbiología. 3a. Ed. Editorial Interamericana, S. A. México. 972 pp.
- _____. 1973. Microbiología. 3a. Ed. Editorial Interamericana, S. A. México. 900 pp.
- CABALLERO, M.A. 1963. Métodos Microbiológicos. 6a. Ed. Editorial Interamericana, S.A. México. 520 pp.
- CARPENTER, P. 1969. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 421 pp.

- COLLINS, C. 1969. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia, España. 243 pp.
- DAVIS, B.; DULBECCO, R.; EISEN, H.A.; GEINSBERG, H.S. & WOOD, W. 1971. Microbiología. 2a. Ed. 690 pp.
-
- _____. 1977. Microbiología. 3a. Ed. 700 pp.
- DIFCO. 1960. Manual de Laboratorio. 9a. Ed. 708 pp.
- ELLIOT, P.R. & MICHELERI, D.H. 1977. Microbiología Standard and handling - Codes for chilled and frozen foods. Rev. 51-123-125 pp.
- FRAZIER, W. 1970. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. España. 500 pp.
- _____. 1972. Microbiología de los alimentos. Editorial Interamericana, S.A. México. 700 pp.
- FROBISHER, M. 1972. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 700 pp.
- _____. 1975. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 800 pp.
- GEBHARDT, L. 1972. Microbiología. 6a. Ed. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México. 380 pp.
- _____. 1973. Microbiología. 7a. Ed. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México. 765 pp.
- GARCIA, W.B.; MENDEZ, C.; NIEVES, H. & BASTATO, G. 1971. Microbiología de Carnes y derivados de estudios microbiológicos de carnes y jamones. Rev. Lat. Amer. Microb. 13:246-257 pp.

- JANETZ, E.; MELNICK, D. & DELBERG, A. 1975. Manual de Microbiología Médica. 6a. Ed. 500 pp.
- MERCK, E. 1975. Manual de Microbiología. Otros Productos para Microbiología. Alemania.
- NAVARRO, H. & RUBIO. 1971. Estadísticas de Salmonella y Shigella en niños. 100 pp.
- PAYNE, L. & BROWN, M. 1979. Microbiología. 2a. Ed. Editorial Argentina, Argentina. 338 pp.
- PELCZAR, J.; MICHAEL, C. & ROGERO, R. 1971. Microbiología. 2a. Ed. Editorial Castillo, España. 664 pp.
- PETIT, B. & MOLZKE, B.A. 1966. Microbiología. 4a. Ed. Editorial Acribia Zaragoza, España. 589 pp.
- POTTER, N. 1972. La Ciencia de los Alimentos. 2a. Ed. Editorial Acribia Zaragoza, España. 450 pp.
- SARLES, W.B.; FRAZIER, C.W.; JOE, B.W. & STANLEY, C.N. 1973. Microbiología de los alimentos. 11a. Ed. Editorial Dutex. México. 664 pp.
-
- . 1972. Microbiología de los alimentos. 12a. Ed. Editorial Dutex. México. 876 pp.
- SENEZ, H. J. 1979. Microbiología. 4a. Ed. Editorial Argentina, Argentina. 876 pp.
- SMITH, K.L. 1971. Microbiología. 3a. Ed. Editorial Acribia Zaragoza. España. 987 pp.
- SULEY, W.H. & DEMARCK, J.P. Microbiología en acción. 1a. Ed. Editorial Blume, España. 780 pp.

SHERWOOD & THOMSON. 1953. Bacteriological Examination of Sea Fish as a Basic for Sanitary Control. Monthly Bull of the Minist of Health and the Public Health Lab. Ser. 103-111 pp.

WITTON, C.C. 1972. Microbiología de los alimentos. 5a. Ed. Editorial -- Continental. México, S.A. 700 pp.

A P E N D I C E

No de Muestras	Fecha	Productos
1	4 de Julio /78	mortadela cruda
2	12 de Julio /78	mortadela cocida
3	20 de Julio /78	mortadela cruda
4	28 de Julio /78	mortadela cocida
5	6 de Agos./78	jamón crudo
6	14 de Agos./ 78	jamón cocido
7	22 de Agos./ 78	jamón crudo
8	30 de Agos./ 78	jamón cocido
9	7 de SEPT./ 78	mortadela cruda
10	16 de SEPT./ 78	mortadela cocida
11	24 de SEPT./ 78	mortadela cruda
12	3 de Oct./ 78	mortadela cocida
13	10 de Oct./ 78	jamón crudo
14	18 de Oct./ 78	jamón cocido
15	26 de Oct./ 78	jamón crudo
16	9 de Nov./ 78	jamón cocido
17	18 de Nov./ 78	mortadela cruda
18	22 de Nov./ 78	mortadela cocida
19	30 de Nov./ 78	mortadela cruda
20	8 de Dic./ 78	mortadela cocida
21	14 de Dic./ 78	jamón crudo
22	7 de ENERO/ 79	jamón cocido
23	14 de Ene./79	jamón crudo
24	23 de Ene./ 79	jamón cocido

Cuadro 1. Fecha de obtención de 24 muestras de mortadela y jamón

Organismos	I	NI	VF	C
<u>E. coli</u>				
Varietal I	+	+	-	-
Varietal II	-	+	-	-
<u>E. freundii</u> (intermedios)				
Varietal I	-	+	-	+
Varietal II	+	+	-	+
<u>Parabacter</u> <u>aerogenes</u>				
Varietal I	-	-	+	+
Varietal II	+	-	+	-

Cuadro 2. Reacciones de diferentes bacterias Coliformas a las pruebas de EMVIC (APHA, 1970). (Cabeleiro, 1963).

Medio de cultivo	Características de la colonia	Microorganismos
Agar Verde Brillante (BG Agar)	Colonia rosa con halo rojo	Lactosa negativo, <u>Salmonella</u>
Agar Salmonella-Shigella (SS Agar)	Incoloras, transparentes Transparentes con centro negro.	<u>Shigella</u> y la mayoría <u>Salmonella</u> . <u>Proteus</u> y algunas <u>Salmonellas</u> .
Agar Sulfato de Fierro. (BS Agar)	Colonias con centro negro, borde claro, con brillo metálico alrededor de ellas (ojo de conejo o de pez).	<u>Salmonellas</u> con excepción de <u>S. paratyphi</u> A y <u>S. gallinarum</u> .
Agar Xilosa - Lissina-Desoxicolato (XLD)	Con el color del medio de cultivo, transparente, a veces con el centro negro. Con el color del medio de cultivo, transparente. Anaranjado ligeramente opaco	<u>Salmonellas</u> <u>Shigella</u> <u>S. flexneri</u>
Agar Desoxicolato Lactosa. (DC Agar)	Colonias incoloras	Lactosa negativo <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> .
Agar de Eosina - Azul de Metileno (EE)	Colonias transparentes, anaranjadas.	<u>Salmonellas</u> y <u>Shigella</u>

Cuadro 3. Características morfológicas de colonias de Salmonella y Shigella en medios de cultivo selectivos (Merck, 1975).

Número de tubos positivos de :			NMP por Grado	Número de tubos positivos de :			NMP por Grado
0.1 ml.	0.01 ml.	0.001 ml.		0.1 ml.	0.01 ml.	0.001 ml.	
0	0	0	0.0	1	0	0	0.1
0	0	1	3.0	2	0	1	14.0
0	0	2	6.0	2	0	2	20.0
0	0	3	9.0	2	0	3	26.0
0	1	0	3.0	2	1	0	15.0
0	1	1	6.1	2	1	1	20.0
0	1	2	9.2	2	1	2	26.0
0	1	3	12.0	2	1	3	31.0
0	2	0	6.0	2	2	0	21.0
0	2	1	9.3	2	2	1	28.0
0	2	2	12.0	2	2	2	35.0
0	2	3	15.0	2	2	3	42.0
0	3	0	9.0	2	3	0	26.0
0	3	1	13.0	2	3	1	36.0
0	3	2	16.0	2	3	2	44.0
0	3	3	19.0	2	3	3	52.0
1	0	0	3.0	3	0	0	13.0
1	0	1	7.2	3	0	1	30.0
1	0	2	11.0	3	0	2	37.0
1	0	3	15.0	3	0	3	45.0
1	1	0	7.3	3	1	0	27.0
1	1	1	11.0	3	1	1	36.0
1	1	2	15.0	3	1	2	44.0
1	1	3	19.0	3	1	3	52.0
1	2	0	11.0	3	2	0	36.0
1	2	1	15.0	3	2	1	45.0
1	2	2	19.0	3	2	2	54.0
1	2	3	24.0	3	2	3	63.0
1	3	0	16.0	3	3	0	42.0
1	3	1	20.0	3	3	1	52.0
1	3	2	24.0	3	3	2	63.0
1	3	3	29.0	3	3	3	75.0

CUADRO 5. Tabla del NMP por grado de muestra analizada, para diferentes combinaciones de resultados positivos, cuando se usan tres tubos de cada dilución con volúmenes de 0.1, 0.01 y 0.001 ml. Si en lugar de las porciones anteriores, se usan de 1.0, 0.1 y 0.01 ml. el NMP se calcula y se registra dividiendo entre 10 la cifra correspondiente del NMP de esta tabla; si se usan porciones de 0.01, 0.001 y 0.0001 ml. las cifras del NMP de la tabla se multiplican por 10 (fuente: Bacteriological Analytical Manual, Jan. 1969).

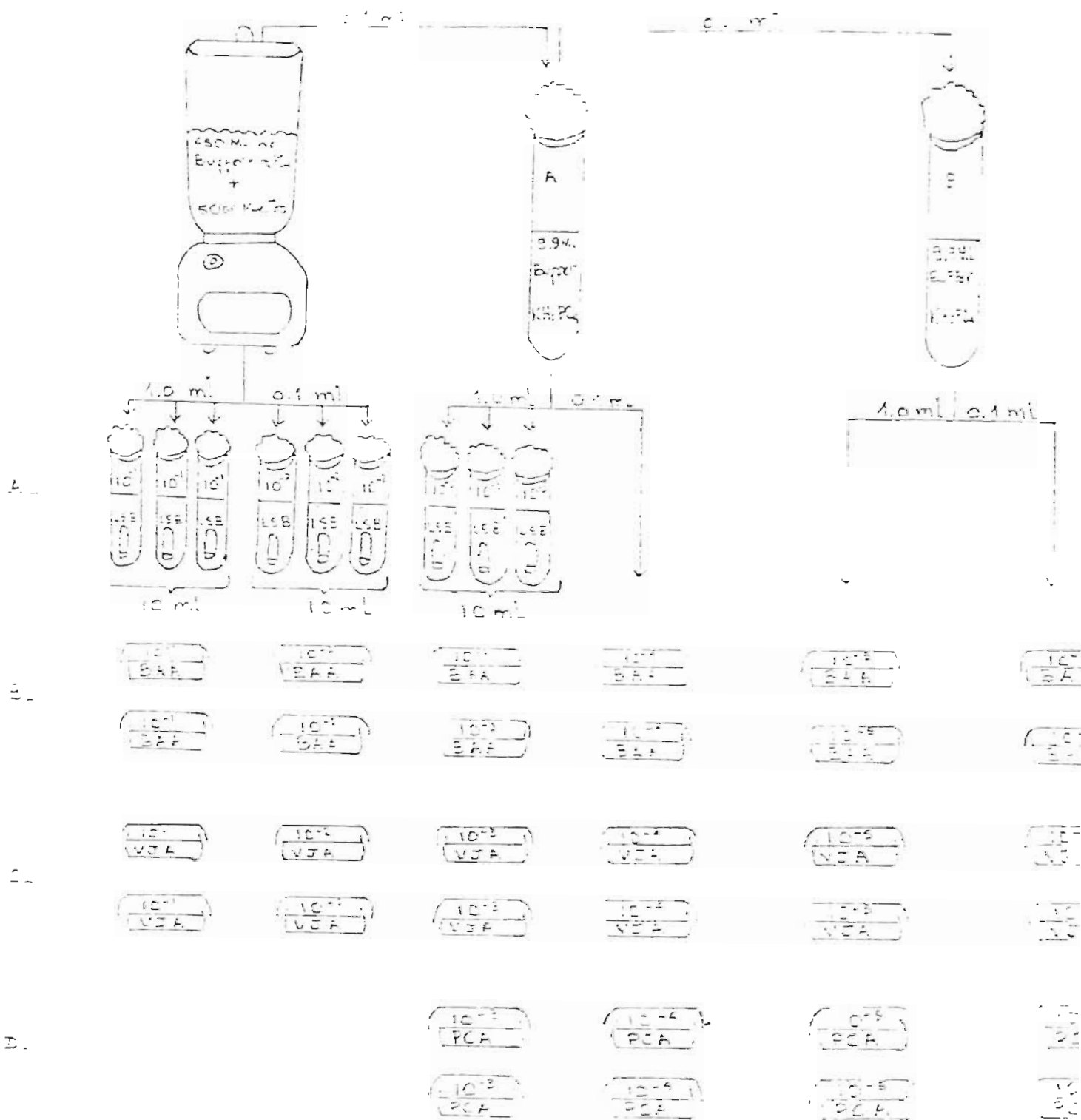


Fig. —1. Diferentes análisis realizados a una muestra de un producto alimenticio procesado: A.- Prueba Presuntiva para análisis de Coliformes (Método de tubos múltiples), B.- Análisis de Clostridium, C.- Análisis de Staphylococcus, coagulasa positiva, D.- Análisis de Recuento Total (Alegría, 1978).

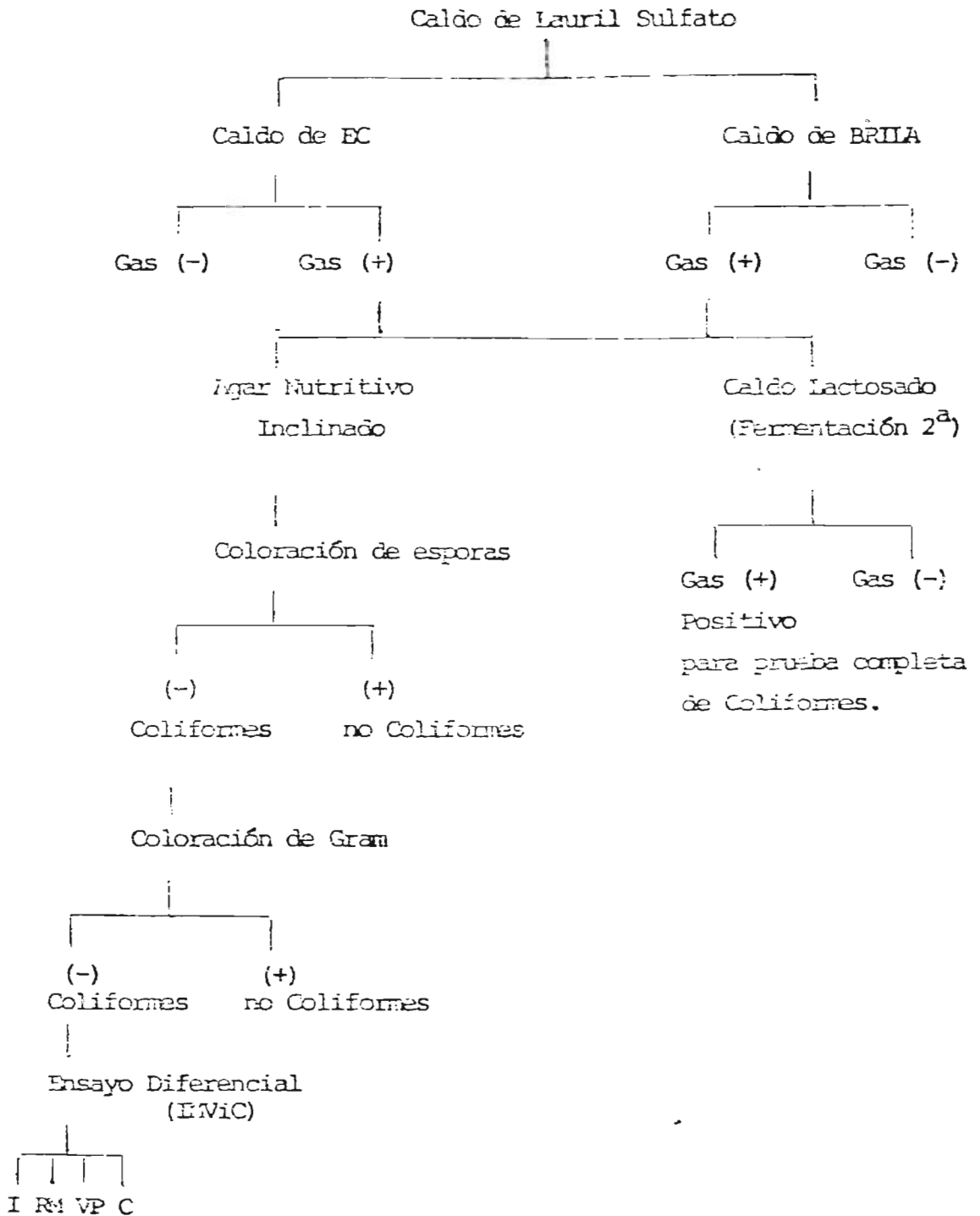


Fig. -2 Marcha en la determinación de Coliformes.

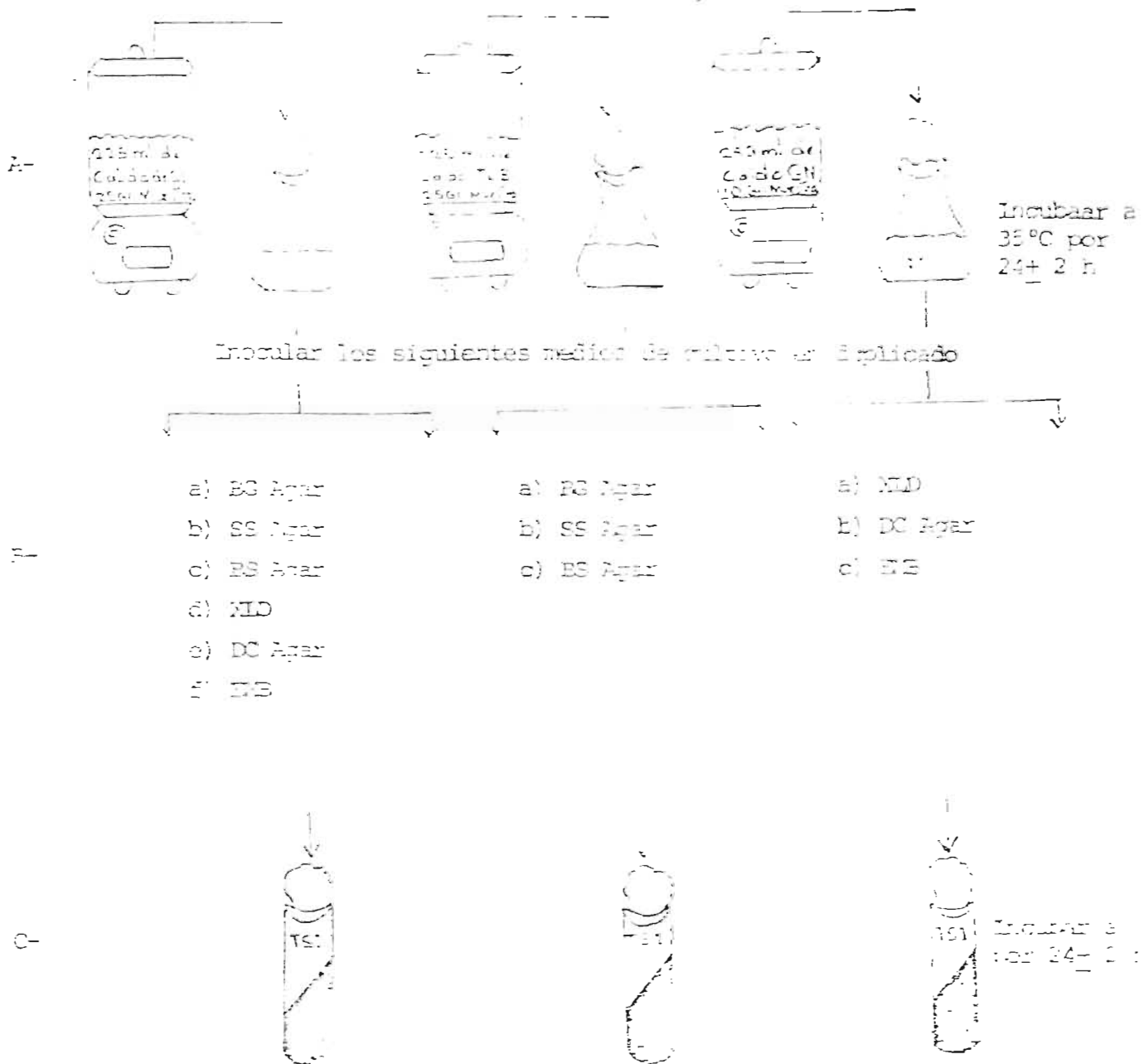


Fig. -3. Esquema para Análisis de Salmonella y Shigella: A- Se licúa la muestra con su caldo selectivo, B- Se divide en los respectivos ambientes, se incuban a 35°C por 24-2h, C- Se inoculan en medios de cultivo y se incuban a 35°C durante 24-2h excepto los de ES y MLD que será por 48-2 h, C- Colonias TS: (par se inoculan en TS de TS inclinado, se incuban a 35°C por 24-2h.