

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



***“Evaluación de la Contaminación Microbiológica
e Identificación de Salmonella en Carne de Pollo
Comercial en el Area de San Salvador”***

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

***Milady del Carmen Araniba Trejo
Francisca del Rosario Carrillo Funes***



PARA OPTAR AL TITULO DE:

LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

T
576.163
A662e

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

5.1
UES BIBLIOTECA CENTRAL

INVENTARIO: 10122989

RECTOR

Dr. MIGUEL ANGEL PARADA

SECRETARIO GENERAL

Dra. ANA GLORIA CASTANEDA DE MONTOYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

Dra. AMELIA RODRIGUEZ DE CORTEZ

SECRETARIO

Dra. AMINTA ACEITUNO DE KAFIE

ASESOR

Dra. MERCEDES RAMOS VELASQUEZ

JURADO CALIFICADOR

LIC. ANGELICA ODILIA VIDES DE VELASCO

LIC. EVA MAGDALENA DE MONTERROSA

LIC. CRISTELA TURCIOS DE SALINAS

LUGAR DE PRACTICAS

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

AGRADECIMIENTO

- A la Dra. Mercedes Ramos Velasquez por su acertada dirección en el desarrollo de este trabajo.

- A el Jurado Calificador por su interes y colaboración en la revisión de este trabajo.

- A los Señores Laboratoristas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de el Salvador.

- Y a todas aquellas personas que nos brindaron su ayuda desinteresadamente.

DEDICATORIA

- A Dios Todopoderoso
- A Mi Madre
- A Mi Esposo
- A Mis Hijos
- A Mi Hermana y Esposo
- A La Demás Familia
- A Los Docentes y Amigos que en una u otra forma me ayudaron a seguir adelante.

MILADY

- A Dios Todopoderoso
- A Mis Padres
- A Mi Hija y Esposo
- A Mi Compañera Milady
- A Mi Familia Amigos y Docentes.

PAQUITA

INDICE

	PAGINA
Capítulo I	
Introducción	2
Capítulo II	
Objetivos	5
Capítulo III	
Revisión Bibliográfica	7
A- Generalidades	7
B- Peligros Potenciales	9
C- Contaminación Microbiana de la carne de pollo .	10
D- Control de la Salmonelosis	15
Capítulo IV	
Parte Experimental	19
A- Metodología	19
B- Material y Equipo	22
C- Procedimiento	25
1. Recolección y Preparación de la muestra	25
2. Recuento Total de Bacterias	26
3. Recuento Total de Hongos y Levaduras	27

Pruebas Bioquímicas	29
D- Cálculos	35
1- Cálculo de fracción de gramo de muestra por alicuota . tomada (1 y 0.1 ml)	35
2- Recuento Total de Bacterias	36
Esquemas	39
Esquema N ^o 1	40
Esquema N ^o 2	41
Esquema N ^o 3	42
Esquema N ^o 4	43
Esquema N ^o 5	44
Capítulo V	
Resultados	46
Cuadro N ^o 1		
Recuento Total de Bacterias en Mercados Municipales		46
Cuadro N ^o 2		
Recuento Total de Bacterias en Supermercados		46
Cuadro N ^o 3		
Recuento Total de Bacterias en Granjas		47
Cuadro N ^o 4		

Recuento Total de Hongos y Levaduras	47
Cuadro N ^o 5	
Contaminación con Salmonella	48
Capítulo VI	
Discusión	50
Capítulo VII	
Conclusiones	54
Capítulo VIII	
Recomendaciones	57
Capítulo IX	
Bibliografía	60

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

Una de las fuentes de alimentación con alto contenido protéico es la carne de origen aviar especialmente la de pollo. Pero en los últimos años con el aumento de la población las demandas de alimento han aumentado por lo que la crianza de animales a nivel doméstico ya no es suficiente para el mercado nacional, por consiguiente se hace necesario la crianza de aves en una forma más técnica, para suplir las necesidades de la población.

En la granja, en una forma técnica, se encargan de la crianza, engorde, sacrificio y eviscerado; luego es enfriado a una temperatura de 25 °C bajo cero con una humedad relativa del 10%; luego es pesado y empacado para su distribución; sin embargo, a pesar de esta tecnología las aves sufren contaminación por los microorganismos que poseen en la piel, patas, plumas; y por los que se encuentran en el tubo digestivo que forman parte de su flora normal.

En el transporte y el manipuleo sufre una contaminación adicional por el uso de cuchillos, machetes y tablas de picar en condiciones higiénicas inadecuadas.

Los portadores asintomáticos también contribuyen a la contaminación de la carne por microorganismos patógenos desde su sacrificio hasta el momento de su consumo.

Los microorganismos contaminantes más frecuentes en la carne de pollo pueden ser :

Bacterias de los géneros : Pseudomonas , Achromobacter , Micrococcus , Streptococcus , Flavobacterium , Salmonellas, Proteus , Clostridium y Escherichia .

Mohos de los géneros : Cladosporium, Sporotrichum , Penicillium , Mucor , Alternaria y Monilia.

Levaduras de los géneros : Trichosporium , Torulopsis , Cándida y Rhodotorula.

Desde el punto de vista de Salud Pública nos interesa : El Recuento total de Bacterias , Recuento Total de Hongos y Levaduras y los microorganismos patógenos que puedan producir infecciones u ocasionar intoxicaciones alimentarias al consumidor a causa de las toxinas que producen al multiplicarse en los alimentos.

La evaluación microbiológica del contenido total de microorganismas en la carne de pollo nos refleja su calidad , la cual está íntimamente relacionada con el grado de contaminación.

CAPITULO II

O B J E T I V O S

El siguiente trabajo pretende :

Determinar la calidad microbiológica de la carne de pollo.

Evaluar la contaminación total microbiológica de la carne de pollo.

Aislar e Identificar Salmonella Sp en carne de pollo.

Establecer un método específico y funcional para se aplicado en el control microbiológico de la carne de pollo en nuestro país.

C À P I T U L O III

REVISION BIBLIOGRAFICA

A- Generalidades.

Todas las bacterias pertenecientes al género *Salmonella* son patógenas para el hombre y los animales en mayor o menor grado. Por lo tanto, todo aislamiento que haga de cualquiera de estos serotipos tiene que ser considerado como una fuente de infección.

A pesar de los numerosos experimentos y de los costosos programas para su control existente a la fecha aproximadamente 2000 serotipos de *Salmonella* y constantemente son reportados otros nuevos. Alrededor de 200 de estos serotipos han sido aislados de las aves. Por el motivo, éstas tienen que ser vistas como un reservorio muy importante, representando por ello una fuente de contaminación para el hombre y los animales. Especial significado tienen las gallinas y sus productos, huevos y carne, como fuente de infección.

En las incubadoras, en las granjas productoras comerciales, así como en las fábricas elaboradoras de alimentos, se han tomado cuidadosas e innumerables medidas de higiene y sanidad, no obstante, nuevos serotipos en todos estos renglones productivos son aislados en creciente medida.

Las pérdidas económicas más significativas comprenden :

- Elevada mortalidad de aves
- Mala conversión alimenticia
- Rechazos y decomisos en los rastros
- Costos de producción elevados. (Medicamentos extras, diagnóstico de laboratorio, asesoría adicional del profesional especializado etc.) (20)

Las Salmonellas son bacilos móviles gram negativos aerobios de la familia Enterobacteriaceae, cuyas características más importantes son :
no fermentar la lactosa, son patógenas para el hombre y los animales, por vía oral.
Las diferentes especies están relacionadas antigénicamente (5, 6, 12, 13, 16, 22).

Las especies de Salmonella son fácilmente destruidas por cloración y por gran parte de los desinfectantes comunmente usados. El calentamiento a 55 °C es letal para éstos microorganismos, sin embargo resisten la congelación y sobreviven bien en alimentos enfriados y congelados.

Por otra parte, toleran concentraciones elevadas de sales y sobreviven en el agua de mar, así como en agua dulce, durante muchos días. Resisten notablemente la desecación y pueden permanecer vivas en aguas negras desecadas durante varias semanas.
(5.)

Las enfermedades causadas por los miembros del género *Salmonella* son similares y se incluyen en tres grupos principales :

1. Fiebres Entéricas, caracterizadas por septicemia y enteritis, producidas casi siempre por *Salmonella thyphi* y algunas cepas de *Salmonella enteritidis*.
- 2 - Septicemia sola, causa más a menudo por *Salmonella choleraesuis*.
- 3 - Gastroenteritis , depende de cualquiera de los 1400 serotipos de *Salmonella enteritidis*.

Salmonella thyphi es la causa principal de fiebre tifoidea , la cual se transmite más frecuentemente por el consumo de alimentos contaminados. (5,25).

B - Peligros: Potenciales.

La presencia en los alimentos de cualquier serotipo de *Salmonella* es potencialmente peligrosa como fuente de enfermedad para el hombre, adquirida de modo directo por el consumo de estos alimentos, o indirectamente mediante la contaminación secundaria por medio de utensilios, equipo para el tratamiento e industrialización de los alimentos, o de otros alimentos . Existe aún un riesgo más , derivado de la contaminación por *Salmonella* en los alimentos a causa de los manipuladores, convirtiéndose éstos en portadores de dicho microorganismo.

Aunque algunos serotipos de Salmonella tales como Salmonella Pullorum y Salmonella gallinarum, son poco virulentos para el hombre, de hecho se han registrado brotes humanos causados por estos agentes de procedencia aviar.

En el estado actual sobre los conocimientos de Salmonellosis, todos los serotipos de Salmonella deben considerarse como potencialmente infectivos para el hombre,
(24)

C- Contaminación Microbiana de la Carne de Pollo.

La carne es un alimento rico en pr6tidos por excelencia, despu6s del pan, es en el adulto el alimento esencial y de uso m6s general. La noci6n de su valor nutritivo es muy antiguo habi6ndosele considerado como el alimento que proporciona m6s vigor.

En los an6lisis de la carne de pollo se ha demostrado que contiene : 58% de agua, 27% de pr6tidos, 12% de l6pidos, 0 gl6cidos, 12% de sustancias no nitrogenas y 0.9% de sales minerales (1,7). Pero la carne, al igual que los restantes alimentos tambien sirven para satisfacer las necesidades nutritivas de los microorganismos contaminantes.

Los microorganismos que alteran la carne llegan a ella por infecci6n del animal vivo (contaminaci6n end6gena) o por invasi6n post-mortem (contaminaci6n exo-
gena).

Aunque ambas tienen importancia , la alteración de la carne a consecuencia de la contaminación exógena suele ser más frecuente. A veces el hombre sufre graves infecciones por consumo de carnes de animales aparentemente sanos.

La carne de aves de corral contiene una abundante y variada flora superficial e interna, tanto en animales sanos como en enfermos, a la que se le puede agregar otra a través del manipuleo posterior a su sacrificio.

Contaminación Endógena: Es aquella que el animal adquiere antes de su sacrificio, es decir, es una contaminación propia, cuyos contaminantes son organismos productores de enfermedades infecciosas en los animales que son transmitidas al hombre, tales como: bacterias, virus, hongos, helmintos y protozoos.

Contaminación Exógena : Es la contaminación que sufren los animales después del sacrificio, es decir que estos contaminantes se sumaron posteriormente al animal (14, 15, 25).

Fuentes y Naturaleza de la Contaminación Externa.

La carne se halla expuesta a la contaminación microbiana desde el momento que se desangra el animal hasta su consumo.

Entre las fuentes de contaminación podemos citar las siguientes :

1. Piel, Patas y Plumas.

Estos lugares tienen una flora natural la cual contribuye a la contaminación del animal .

2. Eviscerado.

Es otro factor que contribuye a aumentar la contaminación porque el contenido gastrointestinal forma parte también de la flora normal microbiana.

El eviscerado debe hacerse en cuarto frío reservado para ese fin, esta operación incluye la inspección de la vísceras por un veterinario u otra persona bajo su supervisión.

3. Enfriamiento.

Las aves lavadas se enfrían reduciendo su temperatura de unos 32 °C, aproximadamente a 2 °C, para prevenir la descomposición bacteriana y conservar la calidad. El enfriamiento se logra por medio de hielo picado del que la aves absorben una pequeña cantidad de humedad, lo cual las hace más succulentas después del empaquetado. (21)

4. Agua.

Forma parte de uno de los factores de contaminación más importantes, ya que se utiliza no solo para el lavado de la carne sino también para lavar los utensilios, maquinaria, envases; por lo que se debe tener especial cuidado al -

hacer uso de ella. Deberá cumplir con los requisitos para agua potable.

5. Troceado.

Es una operación en la cual los diferentes utensilios (cuchillos, sierras, tablas de picar, etc) pueden ayudar al aumento de la carga microbiana si éstos están contaminados, o no han sido tratados higiénicamente.

6. Equipo.

El equipo utilizado durante el proceso puede llegar a contaminarse con facilidad (agua, aire, personal, etc) por lo que es de suma importancia usar equipo fácil de lavar y desinfectar.

7. Aire.

Contribuye a la contaminación ya que sirve de transpote para muchas bacterias patógenas a través de partículas de polvo, las cuales pueden acumularse en cualquier lugar si no hay una adecuada limpieza.

8. Personal.

Constituye uno de los mayores riesgos de contaminación si éste es un portador asintomático, por lo que debe de entrenarse y darle una educación sanitaria adecuada, indicándole la importancia que tiene el lavado de las manos, baño diario, uso de ropa especial y limpia para trabajar dentro de las instalaciones;

además deben realizarse controles microbiológicos periódicos .

9. Empaque .

También puede ser un factor de contaminación por lo que debe ser sometido a una adecuada limpieza antes de su uso .

Las aves ya clasificadas se pueden empaquetar como aves frescas en cajas rodeadas de hielo picado , en este caso hay que mantenerlos a una temperatura menor de 5°C y llevarlas rápidamente a los distribuidores al menudeo ya que se podrán conservar solamente unos días .

El tiempo de conservación dependerá de la cantidad de bacteria que lleve, si ésta fuera de 10.000 microorganismos/cm² se desarrolla olor desagradable y lama en unos 6 días a 5°C (21).

La protección sanitaria en el empaque significa protección contra la introducción de microorganismos y suciedad . También comprende la resistencia a la penetración de insectos que perforan algunos materiales y a los dientes filosos de los roedores.

10. Almacenamiento .

Cada especie bacteriana crece solamente a una temperatura limitada y tiene, para su desarrollo , una temperatura óptima , por lo que la temperatura de almacenamiento influye en la alteración de los alimentos.

Debe hacerse en cuartos fríos en los cuales la temperatura es de 25°C bajo cero y tener buenas condiciones higiénicas .

II. Humedad Relativa .

La humedad del ambiente interviene en el desarrollo de los microorganismos en la superficie del alimento y varía en función de la temperatura . Los alimentos que tienden a cubrirse de mohos o levaduras se conservan mejor en baja humedad relativa.

12. Expendios .

Juegan un papel determinante en la contaminación microbiana . En el mercado esta contaminación es más factible por las malas condiciones de venta al por menor , ya que están expuestos en su mayoría al aire libre , fuera de mostradores refrigerantes, refrigeradores, congeladores y además por la falta de educación sanitaria de los vendedores que los sacan de su empaque original para mostrarlos mejor al público.

En el supermercado las condiciones higiénicas son más aceptables , pero siempre hay factores que contribuyen a la contaminación (utensilios, troceado, personal , etc).

.D. Control de la Salmonellosis .

Esto plantea problemas importantes . No disponemos de ninguna vacuna eficaz.

Procede conceder atención muy especial a los métodos de conservación y preparación de los alimentos y procurar por todos los medios el saneamiento adecuado de mataderos, plantas de elaboración de alimentos y restaurantes .

Es imposible determinar con exactitud la frecuencia de las Salmonellosis, ya que la mayor parte de los casos son leves y muchos no son comunicados a las autoridades sanitarias. En los Estados Unidos de Norte América probablemente se informa tan solo un caso entre cada 10 a 20, sin embargo el número de casos comunicados ha aumentado en forma espectacular durante la última década, lo cual refleja un incremento en la frecuencia así como mayores índices en cuanto al descubrimiento y comunicación de los casos. Pueden depender en parte este aumento del uso creciente de ciertos alimentos elaborados que pueden albergar este tipo de bacterias. Nos hallamos todavía lejos del control de la Salmonellosis, la cual persistirá como un problema importante de salud pública durante el futuro previsible

Se descubren a menudo especies de Salmonella en los alimentos . como por ejemplo en aves y huevos, ya que se encuentran en el tubo gastrointestinal de los animales. Estos microorganismos pueden sobrevivir a los métodos usados con frecuencia para la conservación de productos alimenticios como la congelación. Así pues los pollos y pavos congelados, y otros tipos de alimentos contienen a menudo bacterias de este grupo que pueden multiplicarse durante la preparación de alimentos, a menos de que se tomen las debidas precauciones; de lo contrario estos alimentos pueden producir Salmonellosis.

Un ejemplo frecuente al respecto es el pavo congelado que requiere mucho tiempo para su deshielo . Muchos cocineros recurren al peligroso método abreviado del deshielo del pavo a la temperatura ambiente lo que propicia la multiplicación de estas bacterias en la superficie del animal y en las cavidades corporales. Cuando se asa un pavo parcialmente congelado, la temperatura en el interior de las cavidades quizá no se eleve lo suficiente para matar los microorganismos . (5).

CAPITULO IV

P A R T E E X P E R I M E N T A L

A- Metodología

Experimentalmente para la evaluación de la contaminación de la carne de pollo se hicieron los siguientes análisis bacteriológicos :

- Recuento Total de Bacterias.
- Recuento Total de Hongos y Levaduras.
- Aislamiento e Identificación de Salmonella.

Método de Recuento Total en Placa para Bacterias. Hongos y Levaduras.

Resumen del Método.

El recuento Total en Placas se hizo para bacterias, hongos y levaduras, para lo cual se tomó una muestra de las diferentes partes del pollo (pechuga, ala, muslo, pierna y vísceras), y se suspendió en caldo peptonado de donde se tomó la alícuota correspondiente para hacer diluciones de 5×10^{-3} a 5×10^{-4} . De esta última dilución se tomó 1 y 0.1 ml y se colocó en placas de petri estériles, adicionando inmediatamente 20 - 25 ml de medio de cultivo estéril, fundido y enfriado a una temperatura de 45 - 50 °C; se rotó las placas para permitir una buena homogenización del medio con la muestra. Se dejó solidificar el medio y se incubó en forma invertida a 37 °C por 24 horas.

Para bacterias se usó como medio de cultivo Agar Nutritivo.

Parahongos y levadura se usó Agar Papa Dextrosa (acidificado con ácido tartárico al 10%); La incubación se hizo a temperatura ambiente por 5 días protegidos de la luz.

Aislamiento e Identificación de Salmonella.

El aislamiento de Salmonella se efectuó mediante tres fases fundamentales :

1. Enriquecimiento .

Se tomó una muestra representativa y se suspendió en caldo peptonado, de donde se tomó la alícuota correspondiente para hacer las diluciones respectivas.

De la dilución 5×10^{-4} se tomó 1 y 0.1 ml y se colocó en tubos que contenían Caldo de Tetraciónato. Se incubó a 35 °C por 12 - 18 horas. Una turbidez en el tubo después del período de incubación nos indicó crecimiento microbiano.

El caldo de Tetratinato es un medio de enriquecimiento selectivo empleado en el aislamiento de Salmonella porque inhibe o mata el crecimiento de los organismos coliformes y permite que los organismos del género Salmonella se desarrollen .

2. Aislamiento.

De los tubos de Tetraciónato, positivos se inoculó por el método de estrías

en placas de Agar MacConkey y se incubó a 35 °C durante 24 horas. Después de este tiempo se observó el crecimiento en las placas y la morfología de las colonias, las cuales se clasificaron como lactosa positiva y lactosa negativa.

El medio de Agar MacConkey es empleado para diferenciar las cepas de *Salmonella* de los miembros del grupo Coliformes, da una diferenciación más definida entre estos patógenos entéricos y el grupo coliforme.

Las bacterias de Colonias coliformes son de color rojo y pueden estar rodeadas de una zona de bilis precipitada. Esta reacción es debida a la acción de los ácidos, producidos por la fermentación de la lactosa (lactosa positiva) sobre las sales biliares y la subsiguiente absorción de rojo neutro.

Los bacilos del tifus, paratífus y de disentería no fermentan la lactosa (lactosa negativa) y no alteran mucho la apariencia del medio. En realidad, estas colonias que dan una reacción alcalina, son incoloras y transparentes.

De las colonias lactosa negativa se resembró por el método de estrías, en Agar Sulfito Bismuto. Se observó colonias de color negro con brillo metálico café amarronadas y verdes.

El medio de Agar Sulfito Bismuto es un medio muy selectivo empleado especialmente para el aislamiento de *Salmonella typhosa*. También resulta satisfactorio para el aislamiento de otros miembros del grupo *Salmonella*, particularmente después

del enriquecimiento preliminar en caldo con Tetrationato.

En este medio las colonias correspondientes a *Salmonella typhi* son negras, con brillo metálico. Las colonias que no sean de tifus se desarrollan frondosamente formando colonias verdes, planas o ligeramente abultadas (*S. paratyphi*, *S. typhimurium* y *S. choleraesuis*).

3. Identificación.

De las colonias que presentaron características correspondientes al género *Salmonella* a partir del Agar Sulfito Bismuto, se realizaron las pruebas bioquímicas siguientes: IMVIC (Indol, Rojo de Metilo, Voges - Proskauer, Citrato), TSI, Urea, Movilidad y fermentación de Azúcares.

B- Material y Equipo

1- Material

Bolsas plásticas estériles

Cuchillos

Hielera

Tubos de ensayo con tapón de rosca 16 x 125 mm

Tubos de ensayo con tapón de rosca 13 x 100 mm

Erlenmeyers 1000, 500 y 250 ml

Probetas 100 y 500 ml

Pipeta morh de 1.5 y 10 ml

Placas de petri

2- Equipo

Autoclave Boekel

Horno Telco

Estufa Fischer

Refrigerador Cetron

Contador de Colonias Darkfield Quebec modelo 3325

Equipo para filtración por membrana

Baño de María

Balanza granotaria

Hot plate

Bandeja de disección

3- Medios de Cultivo

Agar Nutritivo

Agar Papa Dextrosa

Agar Sulfito Bismuto

Agar MacConkey

Caldo Peptonado

Medio de movilidad

Caldo de Tetratiionato

Medio RM - VP

Urease test Broth

Agar Triple azúcar y Hierro (TSI)

Simons Citrate Agar

4- Reactivos

Solución de Cristal violeta

Safranina

Alcohol - Acetona

Acido tartárico al 10%

Yodo metálico

Yoduro de Potasio

Alcohol al 95%

Agua destilada

Solución de hidroxido de potasio al 40%

Alfa Naftol

Alcohol etílico absoluto

Paradimetilaminobenzal dehído

Acido Clorhídrico 1N

Hidroxido de sodio 1N

Lactosa al 6%

Manitol al 6%

Glucosa al 6%

Sacarosa al 6%

“Azul” de bromotimol

C- Procedimiento.

Se analizaron 100 muestras de diferentes marcas comerciales y diferentes lugares distribuyéndolas de la siguiente manera:

33 de mercados municipales, 33 de supermercados (las primeras 5 de cada supermercado corresponden a pollos troceados sumando un total de 15 muestras, y los 18 restantes son muestras de pollos enteros) y 34 de granjas .

En los mercados y granjas solo se analizaron pollos enteros. (ver esquema N^o 1)

1- Recolección y Preparación de la Muestra.

La recolección se efectuó en bolsas plásticas estériles y se colocó en hieleras hasta el momento del análisis.

En los mercados algunas muestras tenían cubiertas plásticas, y otras se encontraban al descubiertos . En los supermercados y granjas las muestras estaban debidamente empacadas.

- Se pesó asepticamente 50 g de muestra y se colocó en bolsa plástica estéril previamente pesada.
- Se agregó con una probeta estéril 100 ml de caldo peptonado mantenido a una temperatura de 45 °C .

- Se agitó hasta homogenizar la suspensión .
- Se tomó asepticamente con una pipeta morh estéril (graduada hasta 1.0 ml) 0.05 ml de la bolsa y se colocó en un tubo de ensayo y se completó el volumen a 10 ml con caldo peptonado (dilución 5×10^{-3}) y se homogenizó.
- De la dilución anterior (5×10^{-3}) se tomó 0.05 ml con una pipeta morh estéril graduada hasta 1 ml) y se completó a un volumen de 10 ml (dilución 5×10^{-4}) y se homogenizó.
- Con esta última dilución se hizo el análisis.

2 - Recuento Total de Bacterias

- Con una pipeta morh estéril se tomó 1 y 0.1 ml de la dilución 5×10^{-4} y se colocaron en placas de petri estériles previamente rotuladas.
- Enseguida se agregó 25 ml de Agar Nutritivo fundido y enfriado a 45°C , a cada placa y se homogenizó con movimiento rotatorios. Al mismo tiempo se llevó un blanco que contenía únicamente el medio de cultivo, para comprobar la esterilidad del medio . Se dejó solidificar el medio y seguidamente las las placas de petri se incubaron a 37°C por veinticuatro horas, colocándose en forma invertida.
- Al cabo de este tiempo , se hicieron las lecturas correspondientes utilizando el contador de colonias.

3- Recuento Total de Hongas y Levaduras

- Con una pipeta morh estéril se tomó 1 y 0.1 ml de la dilución 5×10^{-4} y se colocó en placas de petri estériles.
- Enseguida se agregó a cada placa 25 ml de Agar Papo Dextrosa (acidificado con ácido tartárico al 10%) fundido y enfriado a 45°C y se homogenizó con movimiento rotatorios. Al mismo tiempo se llevó un blanco que contenía únicamente el medio de cultivo, para comprobar la esterilidad del medio. Se dejó solidificar el medio de cultivo y seguidamente las placas de petri se incubaron a 25°C por 5 días, colocándose en forma invertida.
- Se asumió que el crecimiento era mayor que 10^{14} microorganismos /g de muestra, ya que el crecimiento en las placas fue muy abundante e incontables. Por lo que se tomó el criterio de reportar como positivo si hubo crecimiento en la placa . y negativo cuando no hubo crecimiento.

4- Aislamiento e Identificación de Salmonella.

- Con una pipeta esféril se tomó alícuotas de 0.1 y 1 ml de la dilución 5×10^{-4} y se inoculó en tubo de ensayo que contenían 10 ml de caldo de tetrionato.
- Se incluyó un tubo que solo contenía caldo de tetrionato el cual nos sirvió como tubo testigo.

- Se incubó a 35 °C durante 12- 18 horas.
- A partir de los tubos con caldo de tetrionato se inoculó en placas de Agar MacConkey de manera que se pudiese obtener colonias aisladas.
- Se incubó a 35 °C durante 24 ± 2 horas, colocándose en forma invertida.
- Al cabo de este tiempo se observó cuidadosamente las colonias desarrolladas las cuales tenían las siguientes características :
Colonias redondas, transparentes (lactosa negativa), distribuidas en toda la placa en abundancia; Colonias rosadas, brillantes, redondas, cremosas (lactosa positiva), distribuidas abundantemente en toda la placa.
- Se hizo un frotis de los 2 tipos de colonias obtenidas en el medio de Agar MacConkey y se coloreó por el método de Gram. Se observó en el microscopio y se anotó resultados.
- En base a los resultados del frotis se seleccionó colonias típicas lactosa negativa y se resembró en Agar Sulfito Bismuto. Se incubó a 35 °C por 24 horas.
- Al cabo de ese tiempo, se observó crecimiento de colonias que tenían las siguientes características : color café, negras con brillo metálico, verdes; todas redondas y cremosas; con crecimiento abundante.

- Con las colonias sospechosas de Salmonella se realizó las siguientes pruebas bioquímicas :

a- Indol

Se inoculó el caldo de triptófano al 1%. Se incubó a 37 °C durante 24 a 48 horas. Se agregó 5 ml de éter y se agitó, se dejó en reposo por 2 minutos y luego se añadió 5 gotas del reactivo de Kovac o reactivo de Erlicn por las paredes del tubo. Una reacción positiva se manifiesta por la formación de un anillo rosado en la interfase del medio de cultivo y el solvente (éter). Esto es debido a que la bacteria posee la enzima triptofanasa.

b - Rojo de Metilo

Esta prueba detecta la acidez del medio. A 5 ml de cultivo (Medio RM-VP) se le añadió 5 gotas de solución de Rojo de Metilo.

Una reacción positiva se indica por la presencia de un rojo definido, la reacción negativa se indica por un color amarillo.

La prueba está demostrando que la bacteria ha seguido la fermentación ácido mixto o fórmica. Una vez que se ha formado ácido pirúvico a partir de la glucosa, se forma : formato y ácido acético o oacetato, aquí interviene una enzima que es la pirúvico transacetilasa, sin esta enzima la bacteria no sigue la vía ácido fórmico, entonces a un pH de 6 ó de 5, las bacterias son inducidas por una enzima que es la hidrogenolasa fórmica.

Los productos ácidos de las bacterias al agregar el indicador varían de amarillo a rojo. Esta prueba para *Salmonella* es positiva.

c- Voges - Proskauer

A 1 ml de cultivo se añadió 0.6 ml de alfa naftol en alcohol etílico absoluto y 0.2 ml de hidróxido de potasio al 40% .

La prueba es positiva si desarrolla un color rosa.

Algunas bacterias a partir de ácido pirúvico pueden producir acetil - metil carbinol o acetoina, este compuesto en presencia de oxígeno molecular y por reducción forma 2,3 butanodiol que se oxida rápido; en Voges Proskauer lo que se detecta es la presencia de acetoina que es más estable.

Para *Salmonella* esta prueba es negativa lo que significa que la bacteria no produce acetoina .

d- Citrato

Se inoculó la superficie de un tubo con medio de Agar Citrato de Simóns, se incubó a 37 °C durante 24 a 48 horas. La reacción positiva se manifiesta por crecimiento de bacterias en la superficie del medio, y el cambio de color del medio, de verde a azul . Esto es debido a que la bacteria utiliza como única fuente de carbono el citrato.

Para *Salmonella* esta prueba es positiva.

e- Triple Azúcar y Hierro (TSI)

Entre los componentes del medio tenemos : glucosa , lactosa , sucrosa , el sulfato amónico férrico que es el detector de la producción de ácido sulfhídrico; el rojo de fenol es el indicador que detecta el cambio de pH. El pH final es 7.2 (a este pH el medio es color rojo) . Este indicador en medio alcalino es rojo y en medio ácido amarillo .

El tiocianato de sodio es la fuente de azufre que la bacteria utiliza para la producción del ácido sulfhídrico

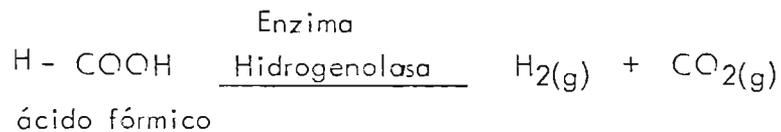
A partir de las colonias sospechosas de Salmonella observadas en el medio de Agar Sulfito Bismuto, se inoculó en tubos que contenían medio de Triple Azúcar y Hierro (TSI), puncionando primero el medio hasta el fondo y luego se esparció el inóculo sobre el bisel . Se incubó a 37 °C por 24 horas . La interpretación de la prueba se puede hacer de la siguiente forma :

N/N : Bisel rosado (N), fondo rosado (N), significa que la bacteria no fermentó ninguno de los azúcares .

N/A : Bisel rosado (N), fondo amarillo (A), significa que la bacteria fermentó la glucosa, pero no lactosa y sucrosa .

A/A : Bisel amarillo (A), fondo amarillo (A) , significa que la bacteria fermentó la glucosa , lactosa y sucrosa .

- La producción de gas (H_2), se manifiesta por burbujas con rompimiento del fondo algunas veces . Esto es debido , a que la bacteria que se inculó tiene una enzima que es la hidrogenolasa , que es capaz de transformar el ácido fórmico formado a partir de la glucosa en H_2 y CO_2 (gas Hidrógeno y Dioxido de carbono respectivamente) según las reacción :



La producción de un precipitado negro es debida a la formación de H_2S . Significa que algunos microorganismos tienen la habilidad de producir ácido sulfhídrico por la utilización de compuestos que tienen azufre.

Para Salmonella los resultados del TSI son N/A con producción de ácido sulfhídrico.

f- Urea

Se inculó un tubo con caldo de urea y se homogenizó. Se incubó a 37 °C por 24 horas.

Una prueba positiva se manifiesta por un cambio de color en el medio,

del amarillo a rosa o rojo púrpura debido a la presencia de la enzima ureasa en la bacteria .

Para Salmonella esta prueba es negativa por lo que no se produjo ningún cambio de color ; esto significa la ausencia de la enzima ureasa en dicha bacteria

g- Movilidad

Se inoculó en un medio semisólido , la bacteria se sembró con asa recta hasta el fondo del medio , se incubó a 37 °C durante 24 a 48 horas .- Si las bacterias no son móviles el crecimiento no se difunde mas allá de la línea de puntura , pero si es móvil, el crecimiento se difunde visiblemente formando turbidez . La Salmonella es una bacteria móvil , por lo consiguiente el crecimiento se difundió visiblemente .

h- Fermentación de Azúcares .

Para cada muestra :

- 1) Se preparó 12 tubos con caldo peptonado , poniendole a cada uno su correspondiente campana Durham's y se esterilizó a 15 libras de presión por 15 minutos .
- 2) Se preparó soluciones de sacarosa , glucosa , maltosa , manitol , todas al 6% . Se esterilizó por filtración en membrana .
- 3) Se distribuyó los doce tubos preparados en el paso (1) en cuatro series de

3 tubos cada uno,(2 tubos para el azúcar que se probó y el otro para el testigo). Se rotuló debidamente .

- 4) A los dos primeros tubos de cada serie, se añadió asépticamente 10 ml del azúcar correspondiente, así :

Serie 1 10 ml de sacarosa al 6 %

Serie 2 10 ml de glucosa al 6%

Serie 3 10 ml de lactosa al 6%

Serie 4 10 ml de manitol al 6%

- 5) Se inoculó los tubos con las bacterias y de manera semejante se inoculó un tubo testigo, conteniendo el mismo medio, excepto al azúcar a probar .

- 6) Las observaciones se hicieron a las 24, 48, 72 horas y cada semana durante 24 días, se observó :

Cambio de pH que sufre el medio (de color azul pH = 7.6 pasa a pH = 6 color amarillo) por la producción de ácido , durante el proceso fermentativo .

CO₂ desprendido y capturado por la campana Durham's. Se considera una fermentación positiva .

En el momento de llevarse a cabo la inoculación si todos los tubos son de color azul y las campanas Durham's se encuentran completamen

te llenas de medio, se considera negativa la prueba .

La Salmonella fermentó únicamente manitol y glucosa .

D. Cálculos .

1. Cálculo de la fracción de gramo de muestra por alícuota tomada (1 - y 0.1 ml) (ver esquema No. 3)

Para la primera dilución :

Peso de muestra .: 50 g.

Volumen : 100 ml.

$$\begin{array}{l} 50 \text{ g} - 100 \text{ ml} \quad (0.5 \text{ g/ml}) \\ \downarrow \\ 0.05 \text{ ml} \longrightarrow 10 \text{ ml} \quad (0.0025 \text{ g/ml}) \end{array}$$

En la primera dilución se tuvo 0.0025 g/ml

Para la segunda dilución :

$$\begin{array}{l} 10 \text{ ml} \quad (0.0025 \text{ g/ml}) \\ \downarrow \\ 0.05 \text{ ml} \longrightarrow 10 \text{ ml} \quad (0.0000125 \text{ g/ml}) \end{array}$$

En la segunda dilución se tuvo 0.0000125 g/ml

$$\frac{1}{5000} \times \frac{1}{50,000} \times \frac{1}{10} = \text{Fd.}$$

$$\text{Factor de dilución : } \frac{1}{25 \times 10^8} = 25 \times 10^{-8}$$

Recíproco del factor de dilución : 25×10^8

Sustituyendo en (b)

$$25 \times 10^8 \times 30 = 750 \times 10^8$$

$$750 \times 10^8 = \text{No. de mo en } 0.00000125 \text{ g de muestra}$$

Luego se tiene :

$$750 \times 10^8 \text{ - } 0.00000125 \text{ g}$$

$$\times \text{ - } 1.0 \text{ g.}$$

$$x = 600 \times 10^{14} \text{ mo / g de muestra}$$

Para alícuota de 1.0 ml

$$\text{Número de colonias contadas} = 80$$

$$\text{La cantidad en placa} = 1.0 \text{ ml}$$

Sustituyendo en (a)

$$\frac{1}{5000} \times \frac{1}{50,000} \times 1 = \text{fd}$$

$$\text{fd} = 25 \times 10^{-7}$$

Recíproco del factor de dilución : 25×10^7

Sustituyendo en (b)

$$25 \times 10^7 \times 80 = 2000 \times 10^7$$

Luego se tiene :

$$2000 \times 10^7 = 0.0000125 \text{ g.}$$

$$x = 1.0 \text{ g}$$

$$x = 16 \times 10^{14} \text{ mo/g de muestra}$$

Se calculó la media aritmética de los resultados de las alícuotas 0.1

y 1 ml de la siguiente manera :

$$\text{Alícuota 0.1 ml} = 600 \times 10^{14}$$

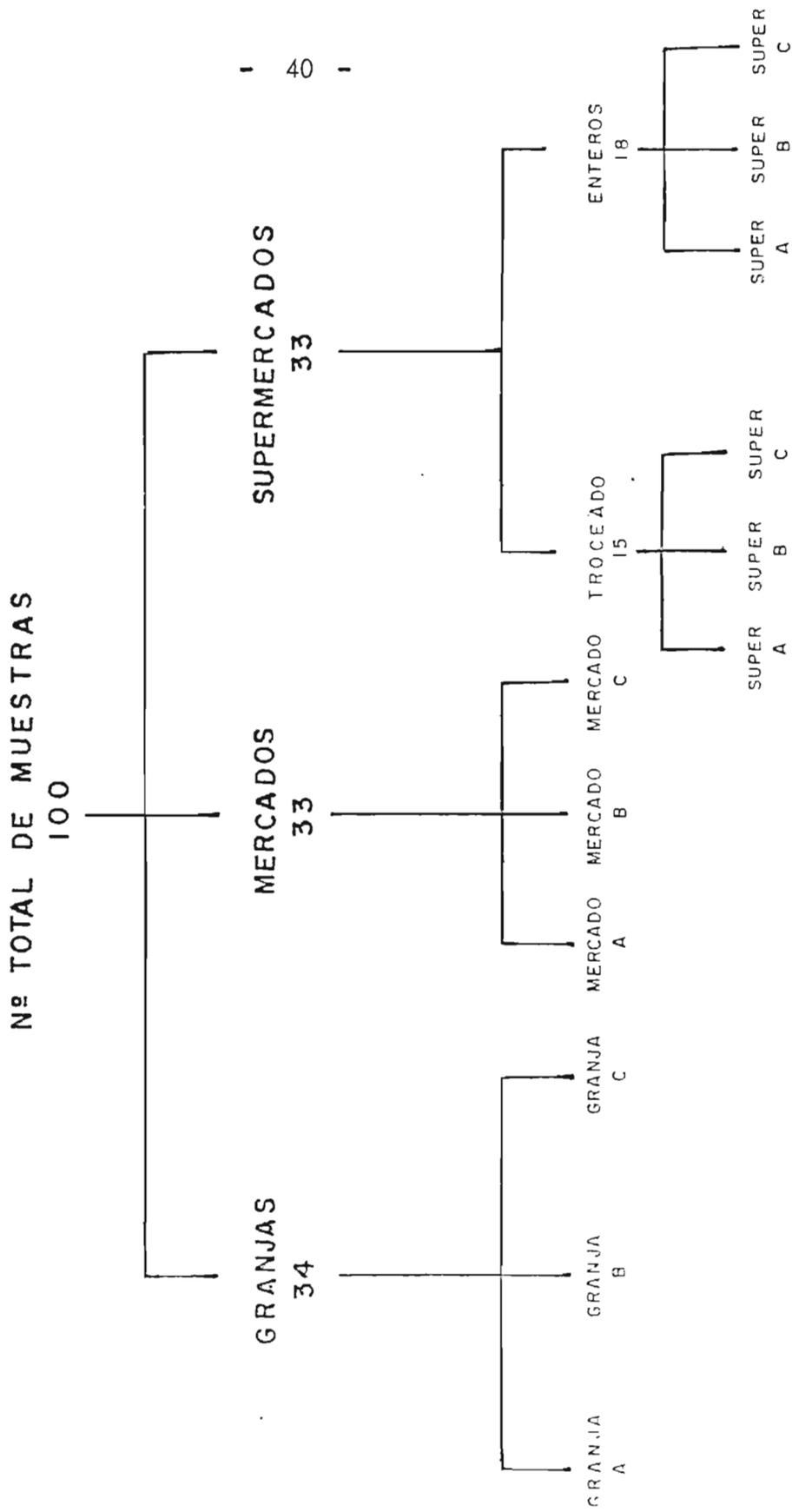
$$\text{Alícuota 1.0 ml} = 16 \times 10^{14}$$

$$\text{Media aritmética} = \frac{600 \times 10^{14} + 16 \times 10^{14}}{2}$$

$$\text{Media aritmética} = 308 \times 10^{14} \text{ mo/g de muestra .}$$

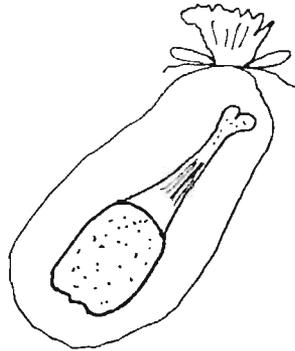
ESQUEMAS

ESQUEMA N° 1
 ESQUEMA DE LA DISTRIBUCION DE MUESTRAS.

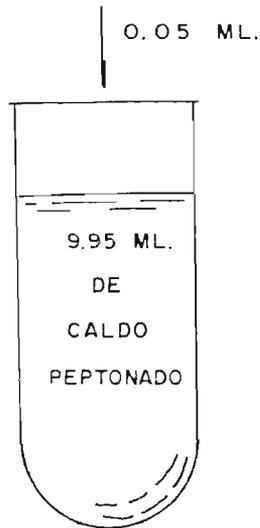


ESQUEMA Nº 2

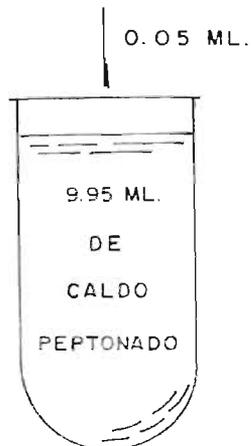
ESQUEMA PARA LA PREPARACION DE LA MUESTRA



50 GRAMOS DE MUESTRA +
100 ML. DE CALDO PEPTONADO



DILUCION 5×10^{-3}



DILUCION 5×10^{-4}

ESQUEMA N° 3

ESQUEMA DEL N° DE GRAMOS PRESENTES EN
LA DILUCION 5×10^{-4}

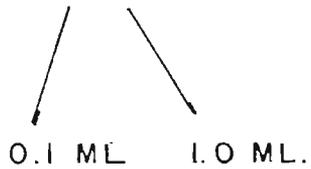
50 g. — 100 ML. (0.5 g / ML.)



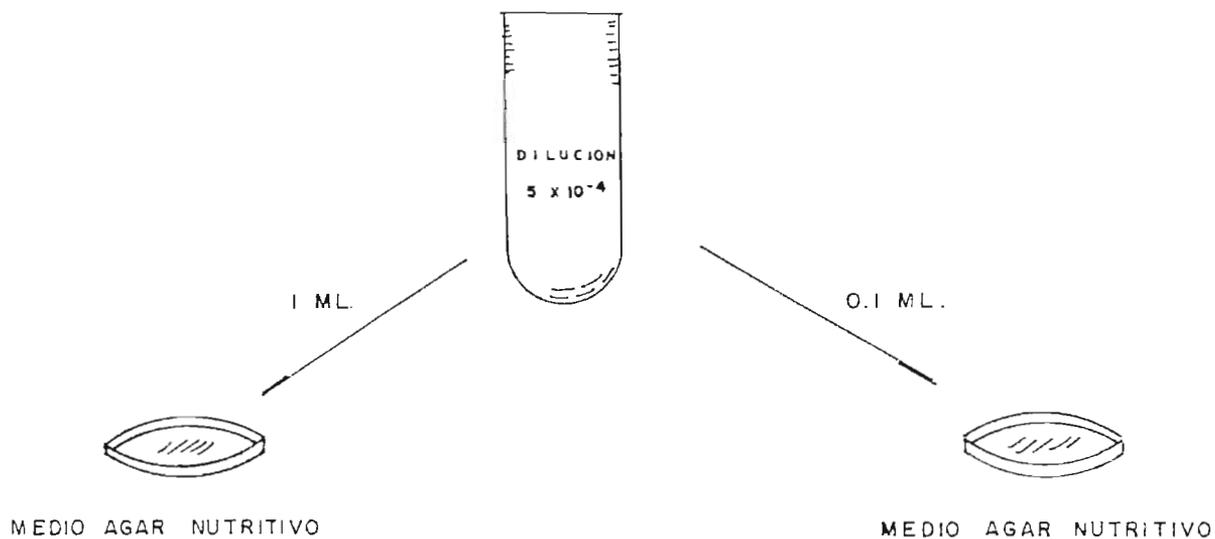
0.05 ML. — 10 ML. (0.0025 g / ML.) (5×10^{-3})



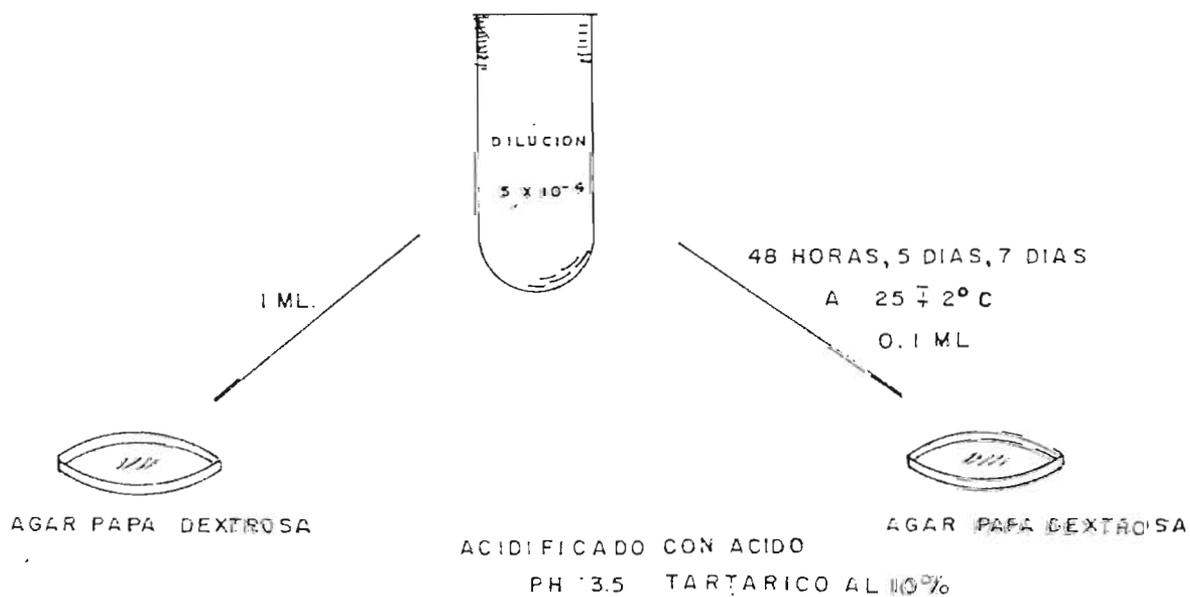
0.05 ML. — 10 ML. (0.0000125 g / ML.) (5×10^{-4})



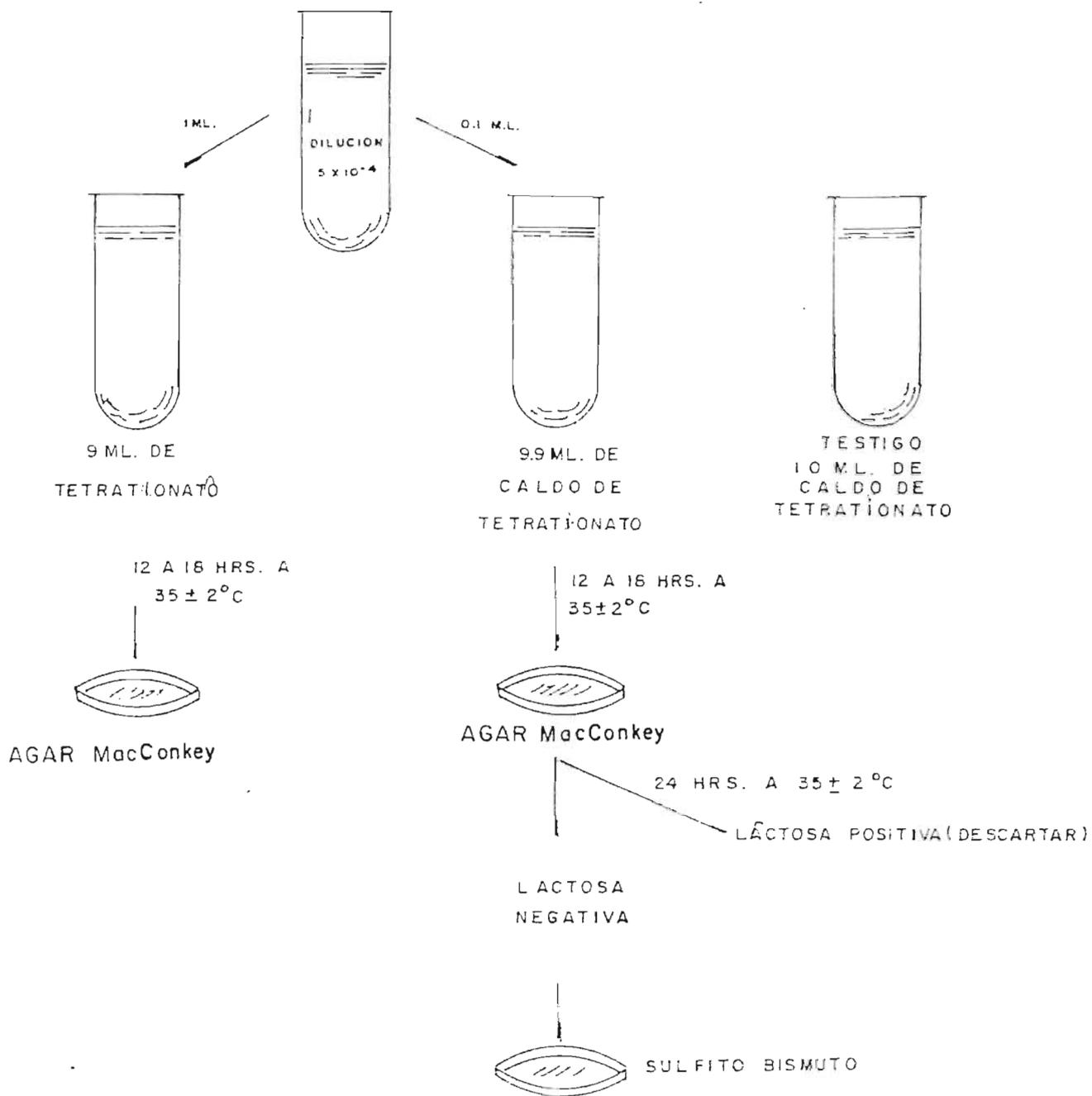
RECUESTO TOTAL DE BACTERIAS



RECUESTO TOTAL DE HONGOS Y LEVADURAS



ESQUEMA PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE SALMONELLA.



PRUEBAS BIOQUIMICAS

- UREA
 - MOVILIDAD
 - T.S.I
 - FERMENTACION DE AZUCAR
 - IMVIC
- {

GLUCOSA

SACAROSA

MANITOL

LACTOSA

}

C A P I T U L O V

RESULTADOS

CUADRO N° 1

RECUESTO TOTAL DE BACTERIAS EN MERCADOS MUNICIPALES

N° DE BACTERIAS / g DE MUESTRA x 10¹⁴

MERCADOS	N° DE MUESTRA										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	308	409	369	411	510	389	57	189	309	520	1420
B	117	104	708	21	385	21	85	180	310	918	110
C	405	510	366	360	210	204	64	134	182	264	408

CUADRO N° 2

RECUESTO TOTAL DE BACTERIAS EN SUPERMERCADOS

N° DE BACTERIAS / g DE MUESTRA x 10¹⁴

SUPERMERCADOS	N° DE MUESTRA										
	TROCEADOS					ENTEROS					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	205	235	163	1020	1520	105	103	52	91	102	85
B	520	615	1020	560	982	510	123	62	153	257	184
C	82	102	83	102	206	63	41	31	51	42	41

RECUENTO TOTAL DE BACTERIAS EN GRANJAS

N° DE BACT./g. DE MUESTRA X 10¹⁴

GRANJA	N° DE MUESTRA											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	101	41	0	20	0	0	51	71	10	20	30	
B	10	61	34	51	44	31	21	51	30	11	31	
C	51	151	101	61	71	111	71	102	104	163	184	120

CUADRO N° 4

RECUENTO TOTAL DE HONGOS Y LEVADURAS

PROCEDENCIA	N° DE MUESTRA	POSITIVAS	% POSITIVAS	NEGATIVAS	% NEGATIVAS
MERCADOS	33	29	87.88	4	12.12
SUPERMERCADOS	33	25	73.50	8	24.24
GRANJAS	34	20	58.8	14	41.2
N° DE MUESTRAS TOTALES	100	74	74	26	26

CUADRO N° 5

CONTAMINACION CON SALMONELLA

PROCEDENCIA	N° DE MUESTRAS	POSITIVAS	%POSITIVAS	NEGATIVAS	%NEGATIVAS
MERCADOS MUNICIPALES	33	26	78.8	7	21.2
SUPERMERCADOS	33	19	57.5	14	42.4
GRANJAS	34	10	29.4	24	70.5
N° DE MUESTRAS TOTALES	100	55	55	45	45

CAPITULO VI

D I S C U S I O N

Para el análisis microbiológico de la carne de pollo se toma en cuenta los siguientes factores : la procedencia de la muestra , empaque, troceado , lugar de distribución , temperatura, manipuleo; razón por la cual se aplicó el método recomendado en la referencia (25), ya que se adaptó a las necesidades del análisis y a nuestros objetivos.

Debido a que la carga microbiana presente en las muestras era alta se hicieron diluciones mayores para poder cuantificar el crecimiento microbiano .

Para el análisis se seleccionó mercados , supermercados y granjas con mayor afluencia de público y situados en el área de San Salvador. Como podemos observar la contaminación en los mercados fué bien alta, se obtuvieron valores desde 21×10^{14} hasta 1420×10^{14} microorganismos por gramo de muestra .

Al efectuar la recolección de las muestras se observaron las siguientes condiciones : pollos con y sin empaque, colocados en bandejas que contenían restos de agua y sangre en algunos casos ; presencia de insectos como las moscas que son vectores de enfermedades .

Todas estas condiciones se presentaron bien marcadas en el mercado (A), por lo que sus valores de contaminación son muchos más altos que los de (B) y (C) .

En los supermercados las muestras estaban empacadas en forma adecuada; los pollos enteros en bolsa plástica, y los troceados en bandejas de polietileno cubiertos con una película protectora (film), colocadas en mostradores refrigerantes.

A pesar de que las condiciones higiénicas fueron mejores que la de los mercados se obtuvieron valores altos de contaminación, sin embargo de los tres supermercados analizados el (C) presentó mejores condiciones higiénicas por lo tanto valores de contaminación obtenidos fueron menores.

En los pollos troceados los valores de contaminación fueron más alto que los de los pollos enteros.

En las granjas después del proceso de sacrificio, eviscerado y empacado los pollos se almacenan en un cuarto frío cuya temperatura es de 25°C bajo cero hasta el momento de su venta.

Al comparar los resultados de granjas y supermercados se observa que la menor contaminación correspondió a las granjas, obteniéndose valores que fueron desde cero hasta 184×10^{14} mo/gramo de muestra.

Para Recuento Total de Hongos y Levaduras la contaminación fue más alta en los mercados ya que se obtuvo un porcentaje de 87.8 % .

De las 100 muestras analizadas, 74 fueron positivas y 26 negativas.

En la contaminación con Salmonella podemos observar que las de los mercados fué más alta puesto que en 26, de las 33 muestras analizadas se aisló Salmonella . La contaminación más baja fué la de las granjas, en 10 de las cuales, de las 34 analizadas, se aisló dicha bacteria .

CAPITULO VII

C O N C L U S I O N E S

En los mercados debido a las condiciones higiénicas en que se encontraron las muestras, los resultados obtenidos no son aceptables porque sobrepasan los estándares establecidos para carne de aves (5×10^3 a 1×10^5 microorganismos por gramo de muestra), por lo tanto son carnes de mala calidad microbiológica .

En los supermercados los valores obtenidos en las muestras de pollos troceados son más altos que los correspondientes a las muestras de pollos enteros. Esto se debe a que en el troceado intervienen varios factores que aumentan la contaminación , tales como : cuchillos, tablas de picar, manipuleo, temperatura, humedad relativa, etc.

En general se puede decir que la contaminación de las muestras de supermercados fué menor que la de los mercados por las razones siguientes : almacenamiento adecuado en mostradores refrigerantes con una temperatura de 8°C y en congelación a 25°C bajo cero; el personal usa ropa adecuada (gorro, guantes gabacha), el equipo e instalaciones son sometidos a una limpieza periódicamente en la cual el equipo se lava a diario y las instalaciones son desinfectadas con soluciones de cloro dos veces por semana.

A pesar de las condiciones antes mencionadas , estas muestras no cumplen con los estándares internacionales para carne de aves, por lo tanto son carnes

dé mala calidad microbiológica .

La contaminación de las granjas fué menor que la de supermercados y mercados dado que en las muestras procedentes de la granja se reducen los siguientes factores de contaminación : Transporte , troceado y tiempo de almacenamiento; por lo cual la carga microbiana es menor .

Por tanto algunas de las muestras analizadas cumplen con los standares internacionales y por consiguiente son de buena calidad microbiológica.

En el Recuento Total de Hongos y Levaduras se usó la misma dilución que para Recuento Total de Bacterias (5×10^{-4}), a pesar de que esta dilución fué alta, el crecimiento fué abundante y variado. Esto se debió a factores como : humedad, exposición de la carne al aire , pH de la carne, que favorecen el crecimiento de hongos y levaduras.

En la contaminación con Salmonella del número total de muestras analizadas, el 55% fueron positivas, y el 45% fueron negativas, Esto demuestra que la contaminación con Salmonella fué muy alta debido a : contaminación del agua , portadores asintomáticos, alimento que come el pollo, etc; por lo que se considera un alto riesgo de contaminación para el humano.

La mayoría de los valores obtenidos en el análisis se rechazan, porque los standares internacionales establecen que los alimentos no se admiten bacterias patógenas. Por lo que podemos decir que las muestras analizadas con resultado positivo que constituyen la mayoría, son inaceptables para el consumo.

CAPITULO VIII

R E C O M E N D A C I O N E S

- Que el Gobierno de la República a través del Ministerio de Salud Pública, establezca las leyes necesarias para el control de calidad de la carne de pollo y de todos los alimentos en general .
- Que las autoridades gubernamentales por medio del Ministerio de Salud Pública , efectúen una campaña para que las personas que se dedican al comercio de la carne de pollo y otros alimentos, reciban una educación sanitaria, y de esta manera se eviten las infecciones causadas por Salmonella y otros microorganismos patógenos.
- Realizar exámenes bacteriológicos periódicamente al personal de granjas e instituciones que se dedican a la distribución y manipulación de alimentos. Si se descubren portadores asintomáticos de Salmonella, debe prohibirse a éstos manipular los alimentos mientras no hayan recibido el respectivo tratamiento médico .
- Realizar exámenes bacteriológicos de algunas muestras de pollo de cada establecimiento comercial y si éstas están contaminadas retirarlas del consumo público .
- Efectuar análisis microbiológicos del alimento que se le dá al pollo y del agua de lavado, con el fin de evitar riesgos de contaminación .

- Crear una sección a través del Ministerio de Salud Pública que se encargue de dar a conocer los brotes y casos de enfermedades causadas por alimentos contaminados con Salmonella y además impulsar el mejoramiento de los estudios epidemiológicos y de laboratorio, y dar una exacta información estadística de casos a las autoridades correspondientes .
- Conceder atención especial a los métodos de conservación de alimentos y procurar por todos los medios el saneamiento adecuado de granjas, plantas de elaboración de alimentos, restaurantes, comedores, etc.
- Todas las aves destinadas al comercio deben ser sometidas a inspección y a una evaluación microbiológica para asegurar su sanidad, con objeto de que las aves se examinen vivas, antes del sacrificio, en el eviscerado y durante y después del empacado, Esta inspección debe ser obligatoria para proteger la salud pública .
- Que la Universidad de El Salvador, por medio de la Facultad de Química y Farmacia continúe realizando trabajos de investigación de este tipo y así contribuir en el control de la Salmonellosis.

CAPITULO IX

B I B L I O G R A F I A

1. Biester, Aves de Corral Enfermedades, 4a. Edición, Editorial Hispanoamericana, México D.F. pp : 220 - 223 - ,1964.
2. Blood, D.C., Henderson J.A., Medicina Veterinaria, 4a. Edición, Editorial Interamericana S.A. de C.V., México, pp : 370 -372, 1976.
3. B B. L, Manual de Procedimientos de Laboratorio y Productos, 5a. Edición, Editorial Asociados, S.A., México, pp : 228 - 121 - 133, 1974.
4. Bailey, W,y Scott, R., Elvin G., Diagnóstico Microbiológico, Aislamiento e identificación de microorganismos patógenos, 1a. Edición, Editorial Panamericana , Buenos Aires , pp : 240 - 250, 1973.
5. Carpenter, P, Microbiología, 4a. Edición, Nueva Editorial Interamericana, México, pp : 405 - 406, 1977.
6. Clavera, J.M., Los problemas de la Alimentación, 3a. Edición, Editorial

Prieto, Granada, España, pp : 82, 85, 1953.

7. Dorn, P., Manual de Patología Aviar, 1a. Edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp : 114 - 116, 1974.
8. Deelbeco, D., Tratado de Microbiología , 1a. Edición, Editorial Salvat S.S. Mallorca, Barcelona, España , pp : 774 - 776 - 1974.
9. Difco, Manual de Bacteriología, 9a. Edición, Editorial Gráfica Mirasa, S.S. Valdemoro, Madrid, España, pp : 28 - 29 - 50- 51, 153 -158, 174- 175, 200, 1978.
10. Frazier, W.C., Microbiología de los Alimentos, 2a. Edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp : 305 - 311 , 1972.
11. Frobisher, M., y Furist R., Microbiología, 13a. Edición, Editorial Interamericana, México, pp ; 228 - 300, 1973.
12. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
Archivo de Nutrición , Guatemala .

13. Jawetz, E., Manual de Microbiología Médica, 6a. Edición, Editorial El Manual Moderno S.A., México D. F., pp : 245- 249, 1981.
14. Lawrie, R.A, Ciencia de la Carne, 1a. Edición, Editorial Acribia , Zaragoza , España , pp : 150 - 152, 1967.
15. Montes, A.L. Bromotología, Buenos Aires, Editorial Universitaria, pp : 242- 249, 1966.
16. Myrvick, Q.N., Pearsall, N., Weiser, R.S., Bacteriología y Micología Médica, 1a. Edición , Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., México pp : 240 - 250, 1974.
17. Manual de Laboratorio Microbiología Sanitaria, 2a. Edición, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, pp : 101- 120, 1978.
18. Manual de Microbiología Aplicada I, 1a. Edición, Sección Microbiología, Facultad de Química y Farmacia , Universidad de El Salvador, 1980.

19. Manual de Microbiología Aplicada III, 1a. Edición, Sección Microbiología, Facultad de Química y Farmacia , Universidad de El Salvador, 1980.
20. Publicación de la Comisión de Fomento Avícola al Servicio de la Avicultura Nacional, 1982. Fomento Avícola No. 4 : 8-10.
21. Potter, N, La Ciencia de los Alimentos, 1a. Edición, Edutex, S.A., México, pp : 450 - 456, 1973.
22. Rhodes, A., y Fletcher, D. L., Principios de Microbiología Industrial, 1a. Edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp : 125 - 129, 1969
23. Stamm , G.W, Manual de Veterinaria, 5a. Edición, Editorial Continental S.A. México, pp : 414 - 420 , 1961.
24. Schwartz, L.D., Manual de Sanidad Avícola, 1a. Edición , Editorial UTEHA México, pp : 68 -74-76-77, 79-83 - 1974.
25. Thatcher, F.S.,y Clark F.S., Análisis Microbiológico de Alimentos , 3a. Edición, Editorial Acribia, España, pp : 6-15 , 104 -119, 1973.