

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

"ANALISIS BACTERIOLOGICO DE ALIMENTOS
PROCESADOS: SALCHICHA y JAMON"

MARTHA CONSUELO FIGUEROA VARGAS

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOLOGIA



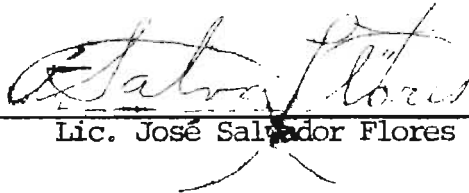
San Salvador, El Salvador
Abril 1980

T
576.163
F475a

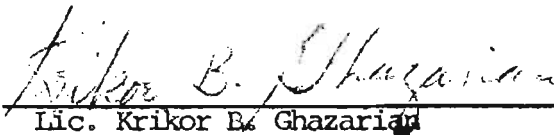
UES BIBLIOTECA CENTRAL
INVENTARIO: 10120705

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

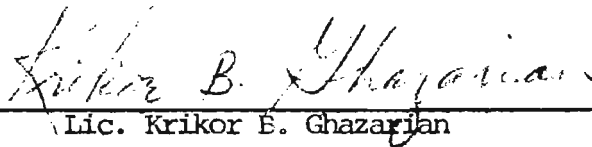
Decano


Lic. José Salvador Flores

Coordinador Interino

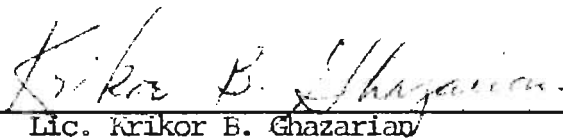

Lic. Krikor B. Ghazarian

Asesor


Lic. Krikor B. Ghazarian

Jurado Examinador:

Presidente


Lic. Krikor B. Ghazarian

1er. Vocal


Lic. José Wester del Cid

2do. Vocal


Lic. Miriam Bessie Siu

DEDICATORIA

A mis padres:

Teresa Vargas v. de Figueroa

Audencio Figueroa (a su memoria)

A mi esposo:

Amílcar

A mis hijos:

Lidia Cristina

Amílcar Ernesto

A mis hermanos:

Rosa Elena

María Angela

Eva

Ricardo

Guillermo

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de una manera especial a mi Asesor Lic. Krikor Barsegh Ghazarian, por su constante y acertada orientación durante la realización de este trabajo, a los Respetables Miembros del Jurado Examinador, a mis amigos, compañeros y todas aquellas personas que contribuyeron para el desarrollo de esta tesis.

CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| 1. INTRODUCCION..... | 1 |
| 2. REVISION LITERARIA..... | 3 |
| 3. MATERIALES Y METODOS..... | 9 |
| I. Adquisición de la muestra..... | 9 |
| II. Esterilización de los materiales, preparación de medios de cultivo, reactivos y colorantes..... | 10 |
| III. Análisis realizados..... | 10 |
| Primera Fase..... | 10 |
| III.1 Preparación del inóculo..... | 10 |
| III.1.1 Análisis para Coliformes..... | 11 |
| III.1.1.1 Prueba Presuntiva..... | 11 |
| III.1.1.2 Prueba Confirmada..... | 12 |
| III.1.1.3 Prueba Completa..... | 13 |
| III.1.1.4 Ensayo Diferencial..... | 14 |
| III.1.2 Análisis de <u>Staphylococcus</u> | 16 |
| III.1.3 Análisis de Recuento Total..... | 16 |
| III.1.4 Análisis de <u>Clostridium</u> | 17 |
| Segunda Fase..... | 18 |
| III.2 Preparación del inóculo..... | 18 |
| III.2.1 Análisis de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> | 19 |
| III.2.2 Prueba Bioquímica..... | 20 |

| | Página |
|---------------------------|--------|
| 4. RESULTADOS..... | 20 |
| 5. DISCUSION..... | 44 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 48 |
| 7. RECOMENDACIONES..... | 49 |
| 8. RESUMEN..... | 50 |
| 9. LITERATURA CITADA..... | 52 |
| ANEXOS..... | 55 |

LISTA DE CUADROS

TEXTO

| <u>Quadro No.</u> | | <u>Página</u> |
|-------------------|--|---------------|
| 1 | Resultados de análisis bacteriológicos para la demostración de la presencia de miembros del grupo coliforme, mediante la técnica de tubos múltiples, morfología de cada colonia, su origen, NMP por gr. y RIE por gr. de muestras..... | 24 |
| 2-6 | Continuación de Resultados de análisis bacteriológicos para la demostración de la presencia de miembros del grupo coliforme..... | 25 |
| 7 | Ensayo Diferencial de IMViC para la determinación de coliformes con su correspondiente Reacción de gram y de esporas..... | 30 |
| 8-11 | Continuación del Ensayo Diferencial de IMViC para la determinación de coliformes..... | 31 |
| 12 | Resultados de análisis de <u>Staphylococcus</u> con su respectiva prueba de la coagulasa y de <u>Clostridium</u> | 35 |
| 13. | Especies identificadas de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> por medio de la prueba bioquímica realizadas en TSI inclinado..... | 36 |
| 14-16 | Continuación de Especies identificadas de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> | 37 |
| 17 | Comparación de los resultados de análisis realizados en muestras de salchicha no tratadas y tratadas térmicamente; empaçadas y no empaçadas..... | 40 |
| 18 | Comparación de los resultados de análisis realizados en muestras de jamón no tratados y tratados térmicamente; empaçados y no empaçados..... | 41 |

APENDICE

| | | |
|-----|--|----|
| A-1 | Reacciones de diferentes bacterias coliformes a las pruebas de IMViC..... | 56 |
| A-2 | Características morfológicas de colonias de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> , en medios de cultivo selectivos..... | 57 |
| A-3 | Clasificación de varias especies de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> | 58 |

LISTA DE GRÁFICAS

TEXTO

| <u>Gráfica No.</u> | | <u>Página</u> |
|--------------------|---|---------------|
| 1. | Representación logarítmica del Recuento Total de Bacterias (RTB), para cada una de las muestras de salchichas no tratadas y tratadas térmicamente; empacadas y no empacadas y el límite establecido por Normas sanitarias de alimentos de C. A. y Panamá..... | 42 |
| 2. | Representación logarítmica del Recuento Total Bacteriano (RTB), para cada una de las muestras analizadas de jamón no tratadas y tratadas térmicamente; empacadas y no empacadas y el límite establecido por Normas sanitarias de alimentos de C. A. y Panamá..... | 43 |

LISTA DE FIGURAS

APENDICE

| <u>Figura No.</u> | | <u>Página</u> |
|-------------------|--|---------------|
| A-1 | Diferentes análisis realizados a una muestra de un producto alimenticio procesado..... | 59 |
| A-2 | Marcha en la determinación de coliformes..... | 60 |
| A-3 | Esquema para análisis de <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> | 61 |

1. INTRODUCCION

Las muestras de salchicha utilizadas en este trabajo son un producto elaborado a base de carne de porcino, sales de cura y condimentos, perfectamente triturados y mezclados; son embutidos en tripas finas de cerdos; presentando estrangulamientos más o menos uniforme, procesados a una temperatura que no llega a los 100°C. Las salchichas deben prepararse con carnes provenientes de animales sanos, sacrificados bajo inspección sanitaria; en su elaboración se tolera la adición de pequeñas cantidades de agua y almidón; pero no debe permitirse el empleo de colorantes dentro de la muestra, sino sólo para colorear los envoltorios. Las características físicas y químicas se refieren a que debe presentar reacción negativa al amoníaco, carecer de vestigios de gas sulfhídrico y poseer un valor de pH poco ácido (Normas Sanitarias de alimentos, 1966).

El jamón es un producto alimenticio preparado con muslos de cerdo y en cuanto a sus características químicas deben ser similares a las correspondientes a las de salchichas.

Los alimentos procesados, ya sea por su aspecto apetitoso o por la facilidad de preparación, presentan una tasa muy alta de consumo en nuestro país. En base a lo anterior se consideró de gran necesidad e importancia realizar los análisis bacteriológicos de salchicha y jamón con el propósito de conocer el grado de confiabilidad higiénica de ellos, y sugerir las medidas

posibles de prevención de enfermedades gastrointestinales que pueden ser producidas principalmente por microorganismos entre ellos los coliformes considerados como indicadores de contaminación fecal. Estos se clasifican en dos géneros y seis especies; sólo uno de ellos, Escherichia coli, puede llamarse netamente forma intestinal (Gebhardt, 1972).

Algunas cepas de E. coli son en realidad patógenas y producen infecciones intestinales graves y a veces mortales. Otras especies de bacterias coliformes están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se observan en el intestino del hombre y de animales (Gebhardt, 1972).

En los embutidos pueden desarrollarse Clostridium botulinum y estafilococos, productores de toxinas botulinicas y enterotoxinas respectivamente.

Entre otras enfermedades entéricas está la salmonelosis humana que es producida por las Salmonellas y presentan características de gastroenteritis aguda que se manifiesta por dolores abdominales generalmente violentos y de escasa duración, seguidos por fenómenos diarréicos, debidos al consumo de carnes poco cocidas o a embutidos como la salchicha. La Shigelosis transmitida por alimentos resulta casi siempre de la contaminación de un excretor humano que ha tocado alimentos líquidos o húmedos imperfectamente cocidos y conservados luego a una temperatura que permite la proliferación de las bacterias (Sanz Egaña, 1967).

Los objetivos fueron:

- a) Determinar las condiciones higiénicas de los alimentos procesados, salchicha y jamón.
- b) Identificar algunos de los contaminantes bacteriológicos de dichos productos.
- c) Hacer las observaciones correspondientes y sugerir las medidas necesarias para la obtención de alimentos de me
jor calidad.

2. REVISION LITERARIA

La elaboración de los alimentos tiende a modificar la población microbiana de los mismos al inactivar las formas sensibles por un procedimiento particular y permitir que predominen las re
sistentes (Gebhardt, 1972).

Los microorganismos que crecen llevan a cabo cambios característicos, debido a sus esquemas metabólicos, alteran el sabor, olor y aspectos de los productos que les sirven de sustratos. Los alimentos, para el hombre y animales, pueden clasificarse se
gún su origen en: productos vegetales, productos animales y productos elaborados; en estos últimos la flora microbiana depende del carácter del alimento y de los métodos de elaboración (Carpenter, 1969).

Las bacterias de los géneros Escherichia y Aerobacter se incluyen en el grupo de Coliformes o coli-aerógenos, éstos son bacilos cortos, aerobios y anaerobios facultativos, Gram negati

vos, no forman esporas, fermentan la lactosa con formación de gas; las dos especies más importantes son Escherichia coli y Aerobácter aerógenes.

Algunos caracteres que hacen importantes a las bacterias coli formes en la alteración de los alimentos son: capacidad para crecer bien en numerosos sustratos y para utilizar como fuente de energía un gran número de hidratos de carbono y como fuente de nitrógeno, compuestos nitrogenados; capacidad de síntesis de la mayoría de las vitaminas que necesitan; posibilidad de crecer bien a temperaturas comprendidas dentro de un amplio margen; capacidad de producir a partir de los azúcares considerables cantidades de ácido y gas, además de poder ocasionar la producción de sabores anormales (Frazier, 1972).

Hasta hace poco tiempo se había subestimado la importancia de E. coli como agente etiológico de enfermedades; pero estos organismos son la causa más importante de pielitis, pielonefritis, septicemia, meningitis y endocarditis; ciertos serotipos producen en los niños diarreas epidémicas graves y a veces mortales; además estos organismos son de gran importancia para el sanitario, cuando se encuentran en los alimentos, pues se pueden considerar como índice de contaminación fecal (Smith, 1971).

Escherichia freundii es similar a E. coli en su morfología y caracteres de cultivo; pero difiere de éste por la utilización del citrato, producción de H_2S y variabilidad en la producción de indol.

Las especies de Aerobacter aerógenes y Aerobacter cloacae se encuentran en las heces del hombre y animales, por lo tanto, tienen el mismo significado que E. coli; aunque A. aerógenes abunda más en el suelo (Smith, 1969).

La Academia Nacional de Ciencias del Uruguay, afirma que la presencia de E. coli denota una contaminación directa o fecal. Las autoridades de Salud Pública de otros países, como EE.UU. de Norte América, estiman que ocurren más de un millón de casos de envenenamiento alimentario al año; esto indica que es de vital importancia controlar la calidad de este tipo de producto elaborado; ya que las bacterias coliformes causan grandes estragos en la salud del consumidor de salchicha y jamón (Frazier, 1972).

Las normas para NMP de coliformes son las siguientes:

Grado I: menos de 6 coliformes por ml. de tejido analizado (carne limpia y segura).

Grado II: de 6 a 15 coliformes por ml. (carne de pureza dudosa).

Grado III: más de 15 coliformes por ml. de tejido analizado (carne altamente contaminada) (Sherwood y Thomson 1953).

Según Sarles (1963) y Carpenter (1969), las intoxicaciones y las infecciones debidas a los alimentos, están agrupadas bajo la denominación general de intoxicación alimentaria, que puede ser causada por microorganismos patógenos del alimento o por la toxina, con el microorganismo o sin él presente al momento de consumirlos. La intoxicación alimentaria por estafilococos es consecuencia de

la ingestión de toxina preformada, la cual suele estar producida por cepas de Staphylococcus aureus, intensamente hemolíticos en agar sangre y con reacción coagulosa positiva (Burrows, 1969); el período medio de incubación de la intoxicación alimentaria después de consumidos los alimentos que contengan la enterotoxina, es más o menos de dos horas; la cual es termestable, o sea, resistente a temperatura de 100°C durante 30 minutos o más, en consecuencia la cocción no la destruye (Carpenter, 1969).

El crecimiento de S. aureus no se detiene con la utilización del nitrito de sodio y el cloruro de sodio a una concentración de 2.5% (Palumbo, 1977).

En Europa el botulismo casi siempre ha sido producido con más frecuencia por salchichas de cualquier tipo y por la ingestión de jamón, carnes conservadas de cuadrúpedos, aves y peces (Burrows, 1969; Carpenter, 1969). Las bacterias que a menudo causan desperdicio de los alimentos, las mesófilas, principalmente anaeróbicas, en general, son formas que causan putrefacción entre las cuales Clostridium botulinum es característico (Gelhardt, 1972).

Se conocen cuatro tipos de toxinas botulínicas antigénicamente distintas; los tipos A y B, patógenas para el hombre; el C, para las aves y el D, para el resto de mamíferos; los tipos A y B son proteínas que se han obtenido en forma cristalina; éstas actúan sobre las terminaciones nerviosas motoras. El Clostridium que se encuentra en la enfermedad conocida como gangrena gaseosa y que produce diez exotoxinas es el Clostridium perfringens; además produce

enterotoxinas que pueden causar intoxicación alimentaria (Smith, 1960).

Los alimentos pueden permanecer en buen estado por más tiempo mediante la regulación de la humedad, adición de sustancias químicas, almacenamiento a bajas temperaturas, radiación y destrucción de microorganismos a temperaturas elevadas (Carpenter, 1969).

Son pocos los alimentos que nos llegan en estado natural, solo las frutas, verduras, carne, huevos y pescado frescos no han sufrido ningún tratamiento; todos los demás alimentos se han procesado en alguna forma (Fisher, 1972). Prost (1967) y Frazier (1972) han puesto de manifiesto que los microorganismos llegan a la carne procedentes en su mayor parte del exterior y del tubo digestivo del propio animal, durante el sacrificio del mismo, otros procedentes del cuchillo, aire, operarios, carros de transporte y equipo en general. Los microorganismos así añadidos pertenecen a numerosas clases, por lo que en circunstancias ordinarias se hallan presentes la mayoría de los potencialmente capaces de producir alteraciones que se desarrollan tan pronto como las condiciones ambientales les permiten. Longré (1968) establece que el jamón cocido está comprendido en la categoría de alimentos no sometidos a tratamiento térmico que aseguren su esterilidad. La cocción a veces, pero no siempre, puede evitar la infección y el envenenamiento. Frobisher (1976) reporta que los alimentos que se comen crudos deben seleccionarse con mucho cuidado en especial los húmedos,

no ácidos, ya que son adecuados para el crecimiento de Salmonella spp y Shigella spp. Entre las especies de Salmonella que han sido aisladas de pacientes de gastroenteritis de origen alimentario, es t_un la Salmonella typhimurium y Salmonella enteritidis, encontr_undose principalmente en las carnes crudas y las salchichas (Collins, 1969). Alford (1969) afirma que las características físicas y qu_umicas de Salmonella typhimurium, est_un relacionadas con su creci_umiento, afección y virulencia.

Las salchichas de carne de cerdo constituyen un alimento sus_uceptible a alteraciones; es por eso que deben conservarse en refri_ugeración y a_un en estas condiciones tienen una duraci_uon limitada, ya que la alteraci_uon m_us frecuente es el "agriado", que se ha atri_ubuido a la multiplicaci_uon y producci_uon de Lactobacillus y Leuconostoc; tambi_uen los jamones blandados que han sido precocidos y han sufrido un curado medio, deben prote_ugerse contra la contaminaci_uon, almacen_undose refrigerados, para imp_uedir su alteraci_uon producida por microorganismos del g_unero Proteus y Escherichia (Frazier, 1972). Shooter (1974) afirma que los coliformes de carnes, en algunos casos, lo m_us probable es que sean originados por contaminaci_uon con la piel del animal.

Los embutidos deben ser preparados con carnes y otros tejidos animales en perfecto estado; no se pueden incluir tejidos descom_upuestos o no comestibles; deber_uan ser manipulados con buenas condiciones de higiene y est_un exentos de par_usitos, insectos, mohos

impurezas y microorganismos que indiquen manipulación defectuosa del producto.

La composición química del jamón es la siguiente: posta de cerdo, 41.1%; agua 45.5%; sal común 4.6%; polvo praga 1.7%; azúcar 1.2%; vegamina 3.3%; californina 6.2%; fósforo 1.7%. Después de agregados todos estos ingredientes se mantiene durante 4 días en cura. Las salchichas llevan la siguiente composición: carne de ternera, sal, agua, especias, condimentos y proteína vegetal (Normas Sanitarias de alimentos, 1966).

Catedráticos de Microbiología General de la Facultad de Química del Uruguay efectuaron el estudio microbiológico de muestras de jamón tratado térmicamente (el tiempo y la temperatura a que fueron sometidos no lo establecen); los resultados obtenidos sobre RT, E. coli y Streptococcus D, sobrepasaron los límites establecidos ($10^5/g$, $10/g$, $100/g$, respectivamente) (Werner de García, 1971).

3. MATERIALES Y METODOS

I. ADQUISICION DE LA MUESTRA

Para los ensayos realizados en este trabajo, se utilizaron 24 muestras, repartidas de la siguiente manera: 12 muestras de salchicha, de las cuales 6 fueron tratadas térmicamente en el laboratorio antes de cada análisis (incluyendo 4 adquiridas sin empaque y 8 empacadas al vacío) esta misma distribución se utilizó para las 12 muestras de jamón; se compraron en diferentes supermercados de San Salvador con la precaución que la marca del producto no se

repitiera más de 4 veces; además, se tuvo el cuidado de que la adquisición de la muestra fuera hecha entre 3 y 6 horas antes de la ejecución de cada ensayo.

El período de realización de este trabajo comprendió los meses de julio a noviembre de 1978.

II. ESTERILIZACION DE MATERIALES, PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y COLORANTES.

Se lavaron todos los objetos de vidrio que se usaron en cada ensayo, luego se esterilizaron de acuerdo a las recomendaciones establecidas por APHA (1970); para la preparación de medios de cultivo, reactivos y colorantes se siguieron las indicaciones dadas por los fabricantes y por APHA (1970). Posteriormente al describir cada análisis realizado se hará mención de sus aplicaciones y cantidades usadas.

III. ANALISIS REALIZADOS (Figs. A-1 y A-2)

Primera Fase

III.1 Preparación del inóculo:

Como se mencionó anteriormente, se efectuaron 24 ensayos, de los cuales 12 fueron hechos con muestras de salchicha y las otras 12 muestras con jamón. Para el análisis del producto tratado térmicamente se colocó la muestra, previamente pesada, en una estufa a 170°C durante 20 minutos, luego se dejó enfriar antes de licuarlo y así realizar el ensayo correspondiente.

Se pesaron en forma aséptica, haciendo uso de una caja de petri estéril, 50 grs. de la muestra a analizar ya sea de salchicha o de jamón, se colocaron en un vaso para licuadora previamente esterilizado, se agregó 450 ml. de Buffer de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) con una concentración de 3.4% ajustado a un pH de 7.2, también estéril, y 0.45 grs. de Etilen diamino tetra Acético (EDTA). La mezcla se licuó por un período de 2 minutos, y utilizando pipetas estériles, se pasó 0.1 ml. del licuado al tubo "A" que contenía 9.9 ml del Buffer se agitó para dispersar el inóculo uniformemente y de este tubo; con otra pipeta, estéril se tomó 0.1 ml. de su contenido y se depositó en el tubo "B", preparado con anterioridad con 9.9 ml. de KH_2PO_4 estéril. Se prepararon los medios necesarios para la realización de las siguientes pruebas:

III 1.1 Análisis para Coliformes

III 1.1.1 Prueba Presuntiva (Técnica de los Tubos Múltiples)

Se usaron 10 tubos de ensayo, cada uno con un tubo de fermentación (tubo de Durham) en su interior, conteniendo 10 ml. de caldo de Lauril Sulfato (LSB) (Merck), previamente esterilizados y rotulados con sus respectivas diluciones; se inocularon 3 tubos de LSB, con 1.0 ml. de la mezcla que contenía la licuadora, correspondiéndole una concentración de 10^{-1} ; 3 tubos con 0.1 ml. del contenido de la licuadora, los que fueron rotulados con 10^{-2} ; otros 3 tubos

con 1.0 ml. de la dilución del tubo "A", éstos fueron rotulados 10^{-3} , además se dejó el décimo tubo para que sirviera como testigo para comparar con los otros los resultados obtenidos. Se agitaron e incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Pasado este período se tomaron como positivos los que presentaban gas en el tubo de fermentación, tomando en cuenta la turbidez del medio, los negativos fueron los que no presentaron gas dentro del tubo de Durham en el tiempo estipulado.

III 1.1.2 Prueba Confirmada

Para la realización de esta prueba se prepararon 4 tubos de Caldo de Verde brillante de Bilis Lactosa (BRILA) (Merck), y 4 tubos conteniendo Caldo de EC medium (Difco), cada uno con su tubo Durham; se escogieron tres tubos positivos de LSB con la mayor dilución para inocular, con asa de platino, de 3 mm. de diámetro y por tres veces, tres de cada cuatro tubos preparados y mencionados anteriormente, dejando el cuarto tubo como testigo. Se incubaron los tubos de BRILA a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y los de EC medium, en baño de maría a $44.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ambos durante 24 ± 2 hrs.

Se prepararon 7 cajas de petri conteniendo Agar de Eosina-Azul de metileno (EMD, Difco), y se inocularon individualmente en forma de estrías con el contenido de los tubos positivos de BRILA y EC medium, con una aguja de inoculación, evitando hacer uso del sobrenadante del caldo. Las placas se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 hrs. y después de este tiempo se clasificaron las colonias

en típicas, atípicas y negativas (APHA, 1970):

- a- colonias coliformes típicas Son las que poseen núcleo, con brillo metálico o sin él, también se puede tomar en cuenta del diámetro, borde y forma, aunque estas últimas tres características son secundarias.
- b- colonias atípicas: Sin núcleo, opacas, mucoides, después de 24 horas.
- c- colonias negativas: Las que no presentan las características mencionadas en los literales a y b.

III 1.1.3 Prueba Completa

Para esta prueba se extrajeron las colonias típicas y atípicas clasificadas utilizando un contador de colonias Quebec, y se inocularon dos tubos de cada colonia seleccionada: el primer tubo con agar nutritivo inclinado (Difco) y el segundo con caldo lactosado (Difco), y tubo de Durham, para realizar la fermentación secundaria. Se inocularon a $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas, la formación de gas en el tubo de fermentación del caldo lactosado se consideró una prueba positiva. Los tubos de agar nutritivo inclinado que resultaron positivos se usaron para la coloración de Gram y de esporas, así como para realizar el ensayo diferencial (Godoy, 1971).

III 1.1.4 Ensayo Diferencial

Con los tubos positivos de agar nutritivo inclinado, se inocularon los medios utilizados en el ensayo de IMViC, que comprende las siguientes pruebas: I= Indol, RM= Rojo de Metilo, VP= Voges Proskauer y C= Citrato (APHA, 1970).

III 1.1.4.1 Prueba de Indol

Consiste en su producción a partir de Triptófano.

Se prepararon tubos de ensayos con 5 ml. de caldo de Triptófano (Difco), en cada tubo, se inocularon con cada una de las colonias de los tubos de agar nutritivo inclinado que dieron positiva la prueba completa, se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Después de este tiempo se le añadió a cada tubo de 0.2 a 0.3 ml. de reactivo de Indol, previamente preparado; cuando resultó un color rojo oscuro en la capa superficial del medio la prueba fue, considerada positiva; si no hubo cambio de color la prueba fue considerada negativa y si se observó un color anaranjado la prueba indicó la presencia de escatol.

III 1.1.4.2 Reacción de Voges Proskauer, VP: Consiste en la producción de acetil metil carbinol.

Se prepararon tubos con caldo de medio Metil Red Voges Proskauer (MR-VP; EBL), se inocularon e incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 2 horas. Pasado este período, se extrajo y se colocó en otro

tubo 1.0 ml. del medio y se le agregó 0.6 ml. de solución de αnaftol más 0.2 ml. de solución de KOH, la reacción se leyó durante las siguientes 4 horas, si se produjo color rojo o carmesí, se consideró prueba positiva.

III 1.1.4.3 Prueba de Rojo de Metilo (MR): es la producción de ácido a partir de glucosa.

Para su realización se inocularon e incubaron los tubos que contenían 5.0 ml. de caldo de medio MR-VF (BBL), a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 5 días; pasado este período se le agregaron 5 gotas de solución indicadora de rojo de metilo a cada tubo, el color rojo indicó resultado positivo y el anaranjado, negativo.

III 1.1.4.4 Prueba del Citrato (C): éste es usado como única fuente de carbono.

Se utilizaron tubos de agar Citrato inclinado (BBL). Después de inoculados se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 4 días como máximo ya que se puede leer la reacción antes. Si se observó un viraje de color verde a azul, se consideró positiva la reacción y los que conservaron su color original fueron considerados negativos (APHA, 1970).

Para la clasificación de los microorganismos que se encontraron en el análisis anterior, se hizo uso de la interpretación de la Reacción de IMViC (APHA, 1970); (Cuadro A-1).

III 1.2 Análisis de Staphylococcus

Se prepararon 150 ml. de Agar Vogel Johnson (VJA, BBL), al que se agregaron 3 ml. de Telurito de Potasio al 1%, luego se rotularon 12 cajas de petri, con diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} , en duplicado; seguidamente se procedió a la inoculación con sus respectivas diluciones (sección III.1); luego se vaciaron 20 ml. aproximadamente de VJA a cada una de las cajas y se mezclaron en forma rotativa, después de que el medio solidificó se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 48 ± 2 horas pasado este período, se identificaron colonias típicas (centro negro con halo amarillo) (Figura A-1).

Para comprobar la clasificación de S. aureus, se aplicó la prueba de coagulasa positiva; que consistió en colocar en un tubo pequeño estéril, 0.8 ml. de caldo nutritivo (no dextrosado), 0.2 ml. de plasma, se inoculó con la colonia seleccionada e incubó en baño de maría a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 1 a 6 horas: si se coaguló fue positivo y se clasificó como S. aureus; siempre se incluyeron tubos negativos, para establecer comparaciones (Collins, 1969).

III 1.3 Análisis de Recuento Total (RTB)

Se prepararon 150 ml. de Plate Count Agar (PCA) (Difco); se rotularon cajas de petri con diluciones de 10^{-3} a 10^{-6} , en duplicado (en la muestra no tratada térmicamente se eliminaron las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} debido a la dificultad de hacer recuentos por ser muy numerosas las colonias); luego se inocularon siguiendo los mismos

pasos del análisis de Staphylococcus, se colocó el agar y se rotaron las cajas y cuando el cultivo estuvo bien mezclado y solidificado, se incubaron a $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 72 ± 2 horas. (Figura A-1), después se contaron las colonias haciendo uso del contador Quebec, tomando en cuenta solo aquellas placas que contenían entre 30 y 300 colonias. Se determinaron los valores logarítmicos de cada uno de los datos obtenidos, de la siguiente manera: se tomó el resultado de RTB de la primera muestra de salchicha no tratada térmicamente $4.8 \times 10^5 = 5 \log. 10 + \log. 4.8 = 5.7$; si la concentración es 10^{-5} de la concentración original; después de realizadas todas las conversiones se procedió a graficarlas, tanto para salchicha como para jamón (Gráficas 1 y 2).

III 1.4 Análisis de Clostridium

Se prepararon 12 cajas de petri conteniendo Brewer Anaerobic Agar (BAA) (Difco), se rotularon por duplicado con las diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} (Figura A-1), se inocularon y se extendió el inóculo con una varilla curvada, luego se colocaron en una cámara anaeróbica improvisada; que consistió en una campana de vidrio con una vela encendida para producir el medio anaeróbico, luego se incubaron a $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 72 ± 2 horas. Después se identificaron las colonias por el olor característico a queso podrido*. Si el resultado fue positivo se hizo coloración de esporas para determinar su presencia.

Segunda Fase

III 2. Preparación del Inóculo

Se esterilizaron vasos para licuadora, pipetas, cajas de petri, tijeras y pinzas; se prepararon 225 ml. de Caldo de Selenito Cistina (SC, Difco), 225 ml. de Caldo Verde Brillante de Tetracionato y 240 ml. de Caldo de enriquecimiento GN (BBL). Todo este material se preparó y esterilizó de acuerdo a las indicaciones establecidas (APHA, 1970).

Se pesaron 25 grs. de la muestra y usando un vaso estéril de licuadora, se mezcló por 2 minutos con el caldo de SC, agregándole a la vez 0.22 de EDTA; se depositó en su respectivo erlenmeyer y se incubó a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas; seguidamente se pesaron otros 25 grs. de la muestra, para licuarlos en otro vaso también estéril, junto con el Caldo de Verde Brillante de Tetracionato más 0.22 grs. de EDTA, por un tiempo de 2 min. y se incubaron a la misma temperatura y durante el mismo período; luego se pesaron 10 grs. de la muestra y se licuaron en otro vaso estéril y se incubó en la misma forma que los caldos anteriores, para realizar estos licuados y trasposos a erlenmeyers se siguieron técnicas asepticas.

* Ghazarian K. B. Jefe de la Sección de Microbiología del Departamento de Biología. Fac. de CC y HH. Universidad de El Salvador. Comunicación personal 1979.

Se prepararon 100 ml. de cada uno de los siguientes medios selectivos: Agar Verde Brillante (BG Agar, Difco), Agar Salmonella-Shigella (SS Agar, Difco), Agar Sulfato de Bismuto (BS Agar, Difco), Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD, Difco), Agar Desoxicolato Lactosa (DC Agar, Difco) y Agar Eosina Azul de Metileno (EMB, Difco).

III 2.1 Análisis de Salmonella y Shigella

Con cada medio de cultivo se llenaron 5 cajas de petri, utilizando 20 ml. por caja, se dejó una como testigo para cada medio; se inocularon con el caldo de enriquecimiento SC que estaba incubado, se inocularon en duplicado los siguientes medios: BG Agar, SS Agar, BS Agar, XLD, DC Agar y EMB, para la dispersión del inóculo se usó un asa de 3 mm. para la de estría y una varilla de vidrio en forma curvada para la otra.

Con el caldo Verde Brillante de Tetrionato se inocularon en la misma forma 2 cajas de petri de BG Agar, SS Agar y BS Agar.

Por último el caldo de enriquecimiento GN, sirvió para inocular siempre en forma duplicada los medios XLD, DC Agar y EMB. Se incubaron todas las cajas incluyendo los testigos, a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas, excepto las de XLD y BS Agar que se incubaron durante 48 ± 2 horas siempre a la misma temperatura (Figura A-3).

III 2.2 Prueba Bioquímica

Para realizar esta prueba, se prepararon 30 tubos de ensayo con Agar de hierro tres azúcares en forma inclinada (TSI, Difco), para identificar Salmonella y Shigella; se oscogieron, marcando con lápiz graso detrás de las cajas de petri con el medio selectivo, las colonias que correspondían a las características de Salmonella y Shigella, señaladas por Merck (1975); (Cuadro A-2).

Se inocularon y rotularon los tubos con TSI inclinado e incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas (Figura A-3), pasado este período se leyeron los resultados y se clasificaron los microorganismos aislados; haciendo uso de la interpretación de Merck (1975); (Cuadro A-3).

Como se explicó anteriormente la temperatura a que se sometieron las muestras tratadas térmicamente, fue de 170°C .

El primer ensayo se realizó empleando utensilios caseros, y así crear condiciones de preparación y consumo similares a las del hogar, como son: cocina, cacerola, cuchara y manteca; a la vez se tomó la temperatura a que se cocinó, para hacer uso de la estufa en los ensayos posteriores.

4. RESULTADOS

El procedimiento seguido en los análisis bacteriológicos y químico realizados a cada uno de los alimentos en estudio; fue llevado a cabo según las normas y metodologías establecidas por organismos internacionales, se identificaron los contaminantes

lacteriológicos, que determinan la calidad higiénica de dichos pro
ductos elaborados (salchicha y jamón), y se determinaron las con-
diciones en que pueden ser consumidos sin mayor peligro para la
salud.

Se puede observar en cuadros 1 - 11, los resultados obtenidos
en las pruebas presuntiva, confirmada, completa y diferencial que
constituyen las diferentes fases de determinación de bacterias co
liformes.

En cuadro 1, se presentan los resultados de la prueba presun-
tiva, en su mayor dilución (10^{-3}); tanto en salchicha como en jamón
no tratados térmicamente fueron positivos en 100%, ya que los tres
tubos indicaron producción de gas en cada uno de los ensayos; en
cambio en los ensayos de muestras tratadas térmicamente, todas re-
sultaron negativas, incluyendo las muestras empacadas y sin empa-
que. Respecto a la prueba confirmada, según las características
de cada colonia de las muestras de salchicha y jamón no tratadas
térmicamente, todas las muestras indicaron colonias positivas a
partir de EC medium y BRILA.

En cuadro 7, los resultados de la prueba completa tanto para
caldo lactosado como para Agar nutritivo inclinado, en salchicha
y jamón no tratados térmicamente fueron positivos; pero para los
tratados con calor, fueron negativos. Los resultados de la colo-
ración de Gram y de esporas indicaron presencia de bacterias Gram
(-)s y ausencia de esporas en las muestras no tratadas térmicamen-
te empacadas y sin empaque. Para la diferenciación de microorga-

nismos, se empleó la prueba de IMViC, dando como resultado la identificación de especies de Escherichia coli, Escherichia freundii y Aerobacter aerógenes en sus variedades I y II, a las muestras tratadas térmicamente en el laboratorio no se les pasó dicha prueba, por haber resultado negativas en pruebas anteriores (Cuadros 7, 12 y 13).

En el cuadro 1, se presentan los resultados del número más probable por gramo (NMP) determinado según Bacteriological Analytical Manual (1969). En todas las muestras de salchicha y jamón el NMP fue mayor de 1.100; excepto el resultado de la muestra 1, que fue de 290.0. En los ensayos realizados con productos tratados térmicamente el NMP fue de 0.0.

En el cuadro 12, se presentan los resultados obtenidos en el análisis de Staphylococcus, confirmando con la prueba de coagulasa positiva. Se usa en la mayoría de los resultados las siglas MNPC "muy numerosas para contar", ya que no se puede dar una cifra exacta; las diluciones mayores presentaban colonias más dispersas y las muestras se clasificaron solamente como positivas (+), sin dar número, para lo cual se tomaron en cuenta las características dadas por Burdon (1971): colonias doradas, amarillas con centro negro y casi siempre con capacidad para coagular el plasma, como se comprobó con la prueba de la coagulasa que se les aplicó a las colonias típicas de Staphylococcus, obteniendo en todas las muestras no tratadas térmicamente resultados positivos para S. aureus.

Respecto al Recuento Total de Bacterias por gramo (RTB), en salchicha y jamón ya sea o no tratado térmicamente en el laboratorio se obtuvieron resultados positivos, observándose una disminución en el valor de RTB en los ensayos realizados en productos tratados térmicamente (Cuadro 1).

Se puede apreciar en Gráfica 1, la representación logarítmica del Recuento Total de Bacterias, para las diferentes muestras de salchicha no tratada y tratada térmicamente incluyendo las que se adquirieron empacadas y sin empacar. En la gráfica 2, las muestras de jamón no tratadas y tratadas térmicamente. En ambas gráficas se representa el límite establecido por las normas sanitarias de alimentos aprobadas por Salud Pública de C. A. y Panamá (1966). Como puede notarse existe una diferencia notable en el número de bacterias, entre los dos procedimientos empleados para cada producto.

En Cuadro 12, se presentan los resultados en la investigación de Clostridium la presencia se indica con signo (+) y su ausencia con (-); 2 muestras dieron resultados positivos, ambos de salchicha no tratada térmicamente, sin empaque comercial.

Los resultados de la investigación de Salmonella y Shigella en Three Sugar - Ion (TSI), se dan en el Cuadro 13.

Las especies identificadas en ambos productos se presentan en el Cuadro A-3; en las muestras de salchicha y de jamón se identificaron: Salmonella typhimurium, Salmonella pullorum, Salmonella gallinarum, Salmonella paratyphi - A y Shigella dysenteriae.

| NUMERO DE MUESTRA | PRUEBA PRESUNTIVA | | | PRUEBA CONFIRMADA | | | | RTB por gr. |
|-------------------|---|-----------|-----------|---------------------------------------|--|---|----------------------------|--------------------|
| | Número de tubos positivos de Caldo de Lauril Sulfato (LSB) de 9 tubos | | | No. de tubos positivos de caldo de EC | No. de tubos positivos de caldo de BRILA | Agar de Eosina y /zul de Metileno (EMB) | | |
| | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} | MMP por gr. | Características de las Colonias | A partir de Caldo de EC | A partir de Caldo de BRILA | |
| 1(S.no t.t) | 3/3 | 2/3 | 3/3 | 290.0 | 2/3 | 3/3 | | 4.8×10^5 |
| 1.1 a | | | | | | | T sin BM | |
| 1.1 b | | | | | | | T con BM | |
| 1.1 c | | | | | | | T con BM | |
| 1.1 d | | | | | | | Atípica | |
| 1.3 c | | | | | | | T sin BM | |
| 1.4 a | | | | | | | T sin BM | |
| 2(S. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | | 6.6×10^3 |
| 3(J. no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | >1,100.0 | 3/3 | 3/3 | | 10.6×10^6 |
| 3.1 a | | | | | | | T sin BM | |
| 3.2 a | | | | | | | T sin BM | |
| 3.2 b | | | | | | | T con BM | |

CUADRO I. Resultados de análisis bacteriológico para la demostración de la presencia de miembros del grupo Coliforme, mediante la técnica de tubos múltiples, morfología de cada colonia, su origen, MMP por gr. y RTB por gr. de muestra.

Nomenclatura usada: primer número = tubo positivo de LSB; segundo número = tubo positivo de EC medium a partir de LSB; Literal = tipo de colonia positiva a partir de EC o BRILA; S no t.t = salchicha no tratada térmicamente; S. t.t = salchicha tratada térmicamente; J. no t.t = jamón no tratado térmicamente; J. t.t = jamón tratado térmicamente; T sin BM = típica sin brillo metálico; T con BM = típica con brillo metálico.

| | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|----------|---|---|-------------------|
| 3.4 a | | | | | | | | | | T sin BM | + | + | |
| 3.5 a | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 4(J.t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | 4.9×10^2 |
| 5(J. no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | 8.8×10^6 |
| 5.1 a | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.1 b | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.1 c | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.1 d | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.1 e | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.2 a | | | | | | | | | | T sin BM | + | + | |
| 5.3 a | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.3 b | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.4 a | | | | | | | | | | T con BM | + | + | |
| 5.5 d | | | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 5.5 e | | | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 6(J.t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | 3.4×10^2 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|--|-----------|---|--|-----------------------|
| 7(S no t.t.) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | | 6.5 x 10 ⁵ |
| 7.1 a | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 7.1 b | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 7.1 c | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 7.2 d | | | | | | | | | Atfpica | + | | + |
| 7.4 a | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 7.6 d | | | | | | | | | T sin BM | + | | + |
| 8(S.t.t.) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | | 4.5 x 10 ³ |
| 9(S. no t.t.) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | | 8.8 x 10 ⁶ |
| 9.1 a | | | | | | | | | Atfpica | + | | + |
| 9.2 a | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 9.3 a | | | | | | | | | T sin BM | + | | + |
| 9.3 b | | | | | | | | | T sin BM | + | | + |
| 9.3 c | | | | | | | | | T con BM | + | | + |
| 9.3 d | | | | | | | | | T sin Bi. | + | | + |
| 10(S.t.t.) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | | 4.0 x 10 ³ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|--|--|----------|---|---|-------------------|
| 15.3 a | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 15.4 e | | | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 16(S. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | | | 4.0×10^3 |
| 17(S.no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | | | 6.0×10^6 |
| 17.1 a | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 17.2 e | | | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 17.3 a | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 17.3 b | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 17.4 a | | | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 18(S. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | | | 4.8×10^3 |
| 19(J.no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | | | 5.0×10^5 |
| 19.1 a | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 19.1 b | | | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 19.1 c | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 19.1 d | | | | | | | | | | T sin BH | + | + | |
| 20(J. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | | | 4.4×10^3 |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|----------|---|---|-----------------------|
| 21(J.no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/3 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | T con BH | + | + | 7.0 x 10 ⁶ |
| 21.1 e | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 21.2 a | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 21.3 a | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 21.4 a | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 22(J. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | 3.5 x 10 ³ |
| 23(J.no t.t) | 3/3 | 3/3 | 3/2 | > 1,100.0 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | | | | 6.6 x 10 ⁶ |
| 23.1 a | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 23.2 a | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 23.3 e | | | | | | | | Atípica | + | + | |
| 23.3 b | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 23.4 a | | | | | | | | T con BH | + | + | |
| 24(J. t.t) | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0.0 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | | | | 4.0 x 10 ³ |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |

| NUMERO DE MUESTRA | PRUEBA COMPLETA | | | | DIFERENCIACION DE MICROORGANISMOS | | | | | | | | | | ESPECIES IDENTIFICADAS | |
|-------------------|-----------------|--------------------------|------------------|----------------------|-----------------------------------|----|----|---|---|-----------------|----|---|---|---|------------------------|--------------------------------|
| | CALDO LACTOSADO | AGAR NUTRITIVO INCLINADO | REACCION DE GRAM | PRESENCIA DE ESPORAS | PRUEBA DE INVIC | | | | | CALDO DE SERILA | | | | | | |
| | | | | | CALDO DE EC | | | | | CALDO DE SERILA | | | | | | |
| | | | | | I | RM | VP | C | I | RM | VP | C | | | | |
| 1.1 a | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>Aerobacter aerógenes II</u> |
| 1.1 b | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>E. freundii II</u> |
| 1.1 c | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>E. freundii II</u> |
| 1.1 d | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>A. aerógenes II</u> |
| 1.3 c | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | <u>E. freundii I</u> |
| 1.4 a | + | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | <u>A. aerógenes II</u> |
| 3.1 a | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>A. aerógenes II</u> |
| 3.2 a | + | + | - | - | + | - | + | + | | | | | | | | <u>A. aerógenes II</u> |
| 3.2 b | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | <u>E. freundii II</u> |
| 3.4 a | + | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | <u>A. aerógenes II</u> |
| 3.5 a | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | <u>E. freundii II</u> |

CUADRO 7. Ensayo diferencial de INVIC para la determinación de Coliformes con su correspondiente Reacción de Gram y de esporas.

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|--|--|-----------------------|
| 5.1 a | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 5.1 b | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 5.1 c | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 5.1 d | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 5.1 e | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 5.2 a | + | + | - | - | - | + | + | - | + | - | + | + | | | | <u>A. aerogenes</u> I |
| 5.3 a | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 5.3 b | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 5.4 a | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 5.5 d | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 5.5 e | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 7.1 a | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 7.1 b | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 7.1 c | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. coli</u> I |
| 7.2 d | + | + | - | - | - | + | + | - | - | + | - | + | | | | <u>E. freundii</u> II |

CUADRO 8. Continuación del Ensayo Diferencial de INViC para la determinación de Coliformes.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|---|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|---|------------------------|
| 7.4 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | + | <u>E. freundii</u> II |
| 7.6 d | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | + | <u>A. aerógenes</u> II |
| 9.1 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. coli</u> I |
| 9.2 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. coli</u> I |
| 9.3 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 9.3 b | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 9.3 c | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. coli</u> I |
| 9.3 d | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 11.1 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 11.2 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 11.3 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 11.3 b | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. coli</u> I |
| 13.1 e | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerógenes</u> II |
| 13.1 b | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 13.3 a | + | + | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |

CUADRO 9. Continuación del Ensayo Diferencial de IMVIC para la determinación de Coliformes.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|---|--|--|--|--|---|--|--|--|--|--|--|---|--|--|--|--|--|--|------------------------|
| 13.5 b | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 13.6 a | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 15.1 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 15.2 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 15.3 a | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 15.4 a | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 17.1 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 17.2 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 17.3 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 17.3 b | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 17.4 a | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 19.1 a | + | | | | | - | | | | | | | + | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 19.1 b | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>E. freundii</u> II |
| 19.1 c | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |
| 19.1 d | + | | | | | - | | | | | | | | | | | | | | <u>A. aerogenes</u> II |

CUADRO 10. Continuation del Ensayo Diferencial de IMViC para la determinación de Coliformes.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----------------|
| 21.1 a | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | E. coli II |
| 21.2 a | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | E. freundii II |
| 21.3 a | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | + | + | E. freundii II |
| 21.4 a | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | E. coli I |
| 23.1 a | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | E. freundii II |
| 23.2 a | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | E. coli II |
| 23.3 a | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | E. freundii II |
| 23.3 b | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | E. coli I |
| 23.4 a | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | E. coli I |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

CUADRO II. Continuación del Ensayo Diferencial de IMVIC para la determinación de Coliformes.

| NUMERO DE MUESTRA | VOGEL JOHNSON AGAR (VJA) | | | | | | PRUEBA DE LA COAGULASA (<i>S. aureus</i>) | BREWER ANAEROBIC AGAR (BAA) | | | | | |
|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 10 ¹ | 10 ² | 10 ³ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ | | 10 ¹ | 10 ² | 10 ³ | 10 ⁴ | 10 ⁵ | 10 ⁶ |
| 1(S. no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | + | - | |
| 3(J. no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 5(J. no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 7(S no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | - | - | - | + | - | |
| 9(S. no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 11(S.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 13(J.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 15(J.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 17(S.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 19(S.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 21(J.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| 23(J.no t.t) | MNPC | MNPC | MNPC | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |

CUADRO 12. Resultados de análisis de *Staphylococcus* con su respectiva prueba de la coagulasa y de *Clostridium*.

| NUMERO DE MUESTRA | ZONA COLUMNAR | SUPERFICIE INCLINADA | FORMACION DE H ₂ S | ESPECIES IDENTIFICADAS |
|-------------------|---------------|----------------------|-------------------------------|------------------------|
| 1.1 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 1.1 b | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 1.1 c | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 1.2 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 1.6 b | AG | AL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 1.6 c | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 3.3 c | AG | AL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 3.4 a | AG | OAL | - | <u>S. paratyphi-1</u> |
| 3.5 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 3.7 a | A | OAL | - | <u>Sh. dysenteriae</u> |
| 3.7 c | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 3.8 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 3.11 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |

CUADRO 13. Especies identificadas de Salmonella y Shigella por medio de la prueba bioquímica realizada en ISI inclinado.

| | | | | |
|--------|----|-----|---|------------------------|
| 5.1 b | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 5.2 a | A | OAL | - | <u>Sh. dysenteriae</u> |
| 5.2 b | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 5.5 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 7.1 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 7.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 7.4 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 7.5 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 9.1 a | AG | AL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 9.2 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 9.3 a | A | OAL | + | <u>S. gallinarium</u> |
| 9.4 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 9.5 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 11.1 a | A | OAL | + | <u>S. gallinarium</u> |
| 11.2 a | AG | OAL | + | <u>S. gallinarium</u> |

CUADRO 14. Continuación de Especies identificadas de Salmonella y Shigella.

| | | | | |
|--------|----|-----|-----|-----------------------|
| 11.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 11.4 a | / | OAL | + | <u>S. gallinarum</u> |
| 13.1 a | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |
| 13.2 a | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |
| 13.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 15.1 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 15.2 a | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |
| 15.2 b | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |
| 15.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 17.1 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 17.2 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 17.2 b | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 17.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 17.4 a | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |
| 19.1 a | AG | OAL | + - | <u>S. pullorum</u> |

CUADRO 15. Continuación de Especies identificadas de Salmonella y Shigella.

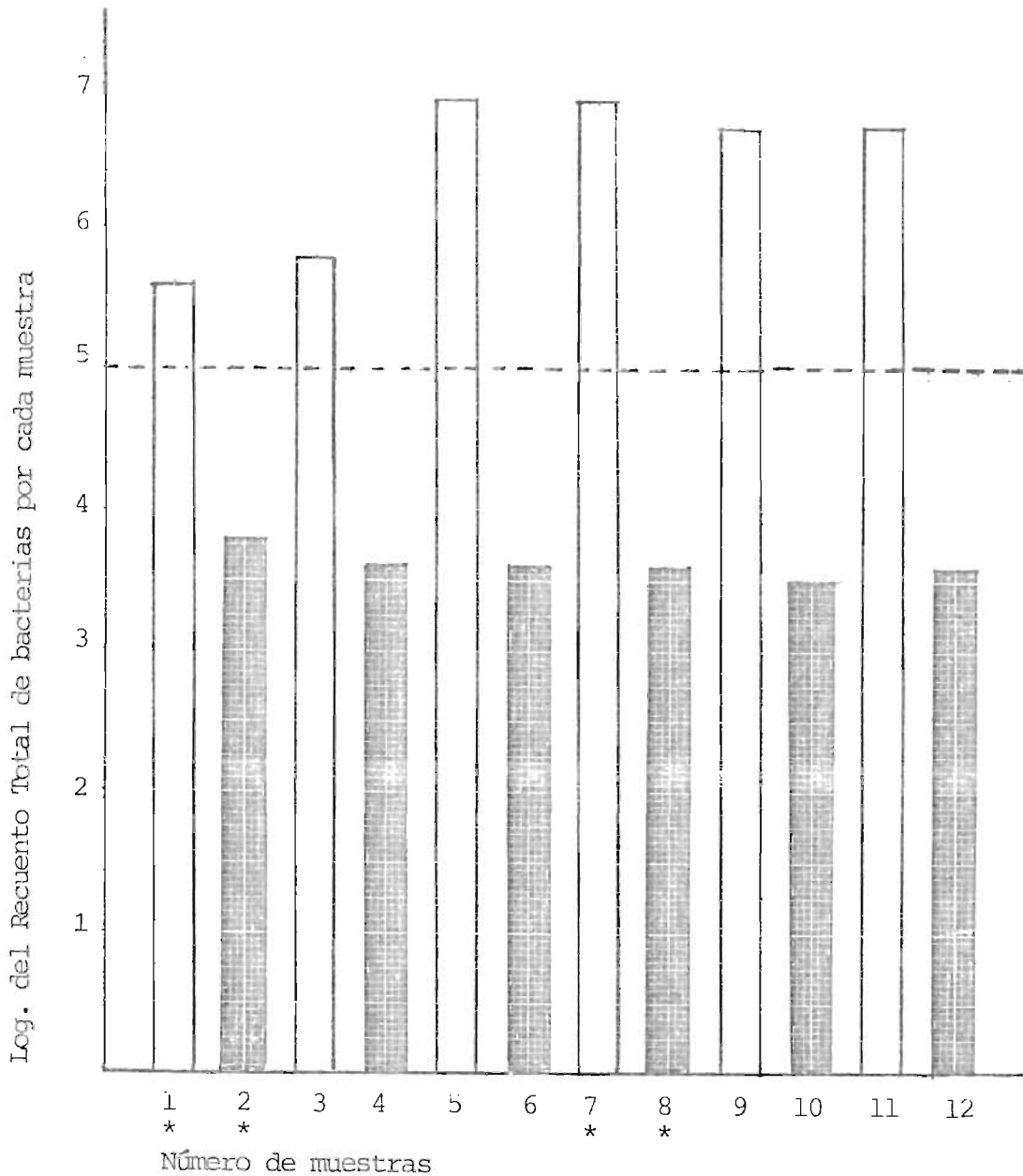
| | | | | |
|--------|----|-----|---|-----------------------|
| 19.2 c | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 19.3 c | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 19.4 c | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 21.1 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 21.1 b | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 21.2 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 21.3 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 21.4 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |
| 21.5 a | AG | OAL | - | <u>S. paratyphi-A</u> |
| 21.6 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 23.1 a | AG | OAL | - | <u>S. paratyphi-A</u> |
| 23.2 a | AG | OAL | - | <u>S. paratyphi-A</u> |
| 23.3 a | AG | OAL | + | <u>S. pullorum</u> |
| 23.4 a | AG | OAL | + | <u>S. typhimurium</u> |

| NUMERO DE MUESTRA | No Tratadas Térmicamente | | | | | | Tratada Térmicamente | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------------|---------------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------------------|------------|----------|-------------|-------------|---------------------|----|---|-------------|-------------------------|------------|----------|----|---|----|
| | MMP por gr. | RTB por gr. | Coliformes | | | Clostridium | S. aureus coagulasa (+) | Salmonella | Shigella | MMP por gr. | RTB por gr. | Coliformes | | | Clostridium | S. aureus coagulasa (+) | Salmonella | Shigella | | | |
| | | | E. coli | E. freundii | A. aerogen | | | | | | | I | II | I | | | | | II | I | II |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 290.0 | 4.8x10 ⁵ | - | + | - | + | + | - | - | 2 | 0.0 | 6.6x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |
| 7 | 1100.0 | 6.5x10 ⁵ | + | - | - | + | + | - | - | 8 | 0.0 | 4.5x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |
| 9 | > 1100.0 | 8.8x10 ⁶ | - | - | - | - | + | - | - | 10 | 0.0 | 4.0x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |
| 13 | > 1100.0 | 6.5x10 ⁵ | - | - | - | - | + | - | - | 14 | 0.0 | 4.5x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |
| 15 | > 1100.0 | 8.0x10 ⁶ | - | - | - | - | + | - | - | 16 | 0.0 | 4.0x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |
| 17 | > 1100.0 | 6.0x10 ⁶ | - | - | - | - | + | - | - | 18 | 0.0 | 4.8x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | | |




CUADRO 17. Comparación de los resultados de análisis realizados en muestras de salchicha no tratadas y tratadas térmicamente, empaçadas y no empaçadas.

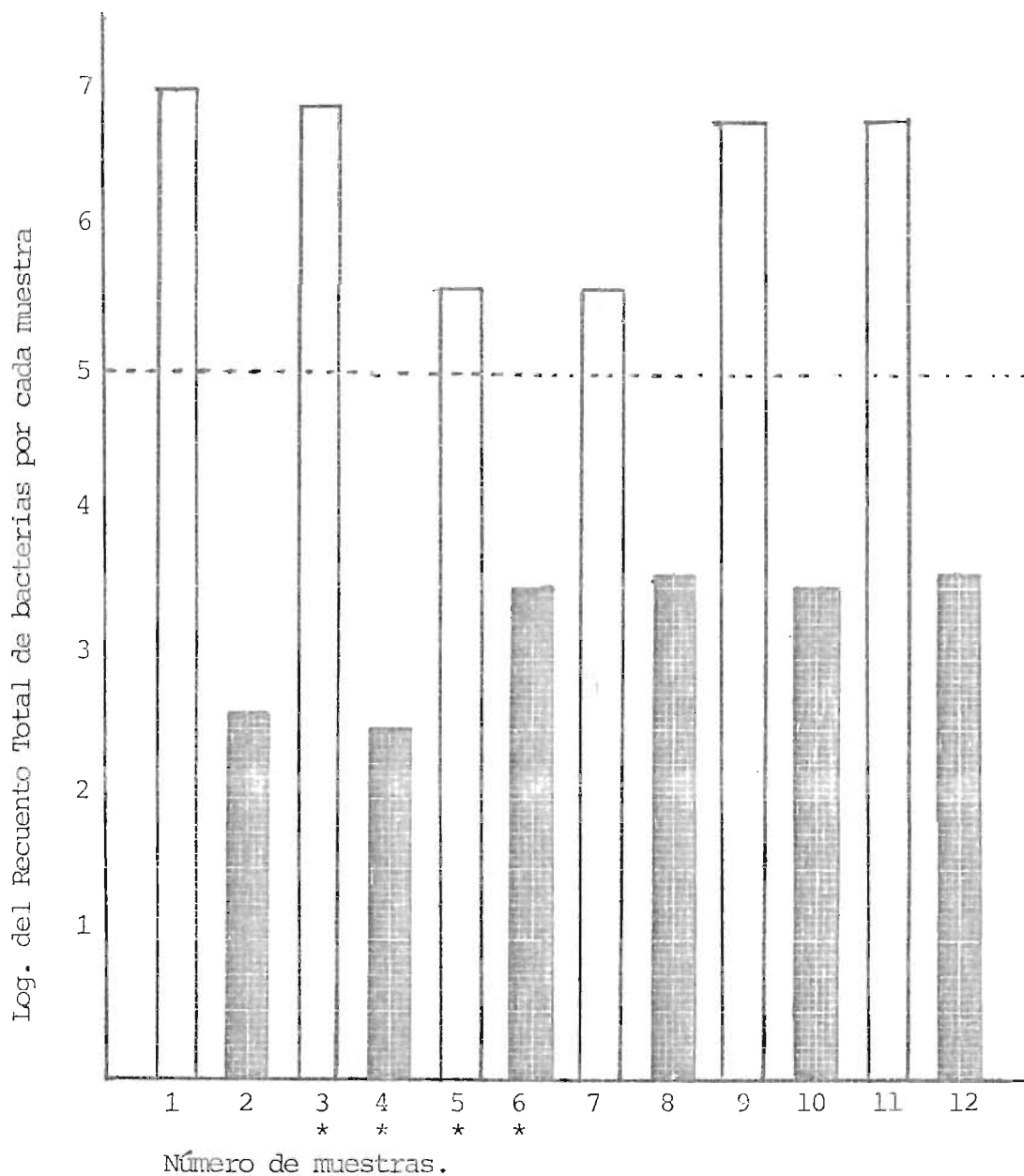
| NUMERO DE MUESTRA | No Tratada Térmicamente | | | | | | | | | | Tratada Térmicamente | | | | | | | | | |
|-------------------|-------------------------|----------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|------------|----------|-------------|----------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|------------|----------|---|----|
| | MMP por gr. | RTB por gr. | Coliformes | | | Clostridium | S. aureus coagulasa (+) | Salmonella | Shigella | MMP por gr. | RTB por gr. | Coliformes | | | Clostridium | S. aureus coagulasa (+) | Salmonella | Shigella | | |
| | | | E. coli | E. freundii | K. aerogen. | | | | | | | E. coli | E. freundii | K. aerogen. | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | I | II |
| 3 | 1,100.0 | 10.6x10 ⁶ | - | - | + | - | + | + | - | 4 | 0.0 | 4.9x10 ² | - | - | - | - | - | - | | |
| 5 | 1,100.0 | 10.6x10 ⁶ | + | - | + | - | + | + | - | 6 | 0.0 | 3.4x10 ² | - | - | - | - | - | - | | |
| 11 | 1,100.0 | 4.6x10 ⁵ | + | - | - | - | + | - | - | 12 | 0.0 | 3.7x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | |
| 19 | 1,100.0 | 5.0x10 ⁵ | - | - | + | - | + | + | - | 20 | 0.0 | 4.4x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | |
| 21 | 1,100.0 | 7.0x10 ⁵ | + | - | - | - | + | - | - | 22 | 0.0 | 3.5x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | |
| 23 | 1,100.0 | 6.8x10 ⁶ | + | - | - | - | + | + | - | 24 | 0.0 | 4.0x10 ³ | - | - | - | - | - | - | | |

CUADRO 16. Comparación de los resultados de análisis realizados en muestras de jamón no tratadas y tratadas térmicamente; empaçadas y no empaçadas.

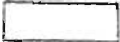

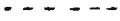


Gráfica 1. Representación Logarítmica del Recuento Total de Bacterias (RTB) para cada una de las muestras de salchicha no tratada y tratada térmicamente.

-  = Salchicha no tratada térmicamente.
-  = Salchicha tratada térmicamente.
-  = Límite establecido por Normas Sanitarias de alimentos. Aprobado por Salud Pública de C.A. y Panamá (1966).
- * = Muestras no empacadas.



Gráfica 2. Representación Logarítmica del Recuento Total de Bacterias (RTB) para cada una de las muestras analizadas de jamón no tratadas y tratadas térmicamente.

-  = Jamón no tratado térmicamente.
-  = Jamón tratado térmicamente.
-  = Límite establecido por Normas Sanitarias de alimentos. Aprobado por Salud Pública de C. A. y Panamá (1966).
- * = Muestras no empacadas.

2. DISCUSIÓN

El origen de la mayor parte de los problemas microbiológicos relacionados con estos alimentos, reside en el contenido de proteínas y el alto porcentaje de humedad, ésto se puede observar en la composición química de estos productos.

En el Cuadro 17, se presentan los resultados de los análisis microbiológicos de las muestras de salchicha tratadas y no tratadas térmicamente resultaron contaminadas por coliformes de los siguientes: E. coli, E. freundii y A. aerógenes; lo mismo se puede afirmar respecto al jamón no tratado por calor ya que todas las muestras dieron positivas (Cuadro 18). En base a estos resultados comparativos se puede afirmar que la calidad higiénica de estos productos no tratados térmicamente es altamente inadecuada para el consumo humano, pues indican contaminación fecal de animales de sangre caliente; las más apropiadas para ingerir sin mucho riesgo para la salud, fueron las muestras tratadas térmicamente ya que todos los resultados fueron negativos. En experiencias realizadas por Mossel (1962) establece que cuando se trata de productos sometidos a temperaturas suficientemente altas para destruir enterobacteriaceas, su presencia denota un inadecuado calentamiento, una contaminación durante o posterior al proceso; el microorganismo encontrado fue E. coli, por lo que sostiene que debe rechazarse todo alimento donde se compruebe su presencia pues a pesar de ser considerado como no patógeno, se han encontrado cepas asociadas a diarreas infantiles; además afirma que sea o no de origen fecal, su presencia en número relati-

vamente elevado demuestra una proliferación indeseable, lo que además señala una dudosa calidad higiénica. Payne (1977) hace notar que la mayor parte de alimentos procesados contaminados, condición que para el consumidor no es posible determinar a simple vista; debido a que los elaboradores hacen uso de sustancias químicas como nitrito y nitrato de sodio mezclado con cloruro de sodio para curarlos y darles una apariencia apetecible, disimulando así lo malo del producto.

Todas las muestras tanto de salchicha como jamón no tratado térmicamente, con la coloración de Gram dieron resultados negativos; a la vez fueron negativos en la investigación de esporas, lo que indica que los microorganismos pueden eliminarse mediante temperatura apropiada para este tipo de bacteria.

El número más probable de bacteria por gramo (NMP), cuando se comparó el de las muestras no tratadas por el calor con los valores de las tratadas térmicamente, se observó una disminución de mayor de 1.100 a 0.0 (Cuadros 17 y 18).

Para poder realizar comparaciones entre los resultados obtenidos en este trabajo y las normas de NMP de coliformes establecidas por Sherwood y Thomson, (1953), se tuvo que suponer que 1.0 ml. es igual a 1.0 g. así, podemos decir que todas las muestras analizadas sobrepasaron el nivel establecido tanto las de salchicha como las de jamón no tratadas térmicamente.

Otras experiencias realizadas por Mc. Divit, et al. (1957), señalan que en jamones tratados térmicamente el E. coli no es des-

truido cuando es llevado a una temperatura interna de 77°C pareciendo ejercer este producto una acción especialmente protectora que lo hace totalmente resistente a esa temperatura. Los coliformes son indicadores biológicos. De hecho se supone que estos productos llevan organismos patógenos como virus, huevos de nemátodos, tremátodos, protozoarios, que no fueron analizados en este trabajo; pero transmitidos también por este tipo de alimento.

De acuerdo a los resultados de análisis para Staphylococcus se determina que la positividad de la reacción de coagulasa en ambos productos no tratados por el calor indica la presencia de S. aureus, microorganismo muy perjudicial para la salud del consumidor.

Las muestras de salchicha y jamón tratados con calor todas dieron resultados negativos en un 100% de los casos, ya que el calor destruyó dichos microorganismos; resultados similares obtuvo Longré (1968) en ensayos hechos con muestras de jamón cocinado, pues no se encontraron cepas de Staphylococcus con reacción en coagulasa positiva.

En las muestras tratadas térmicamente no se encontraron S. aureus; esto no elimina totalmente la existencia de enterotoxinas, pues aunque el criterio que se adopta como mejor indicador de patogenicidad es la producción de coagulasa, no está totalmente establecida su relación con la enterotoxigenidad (Angelotti, 1968).

En los análisis de Recuento Total de Bacterias, los resultados demostraron que tanto las muestras de salchicha y de jamón no tratadas y tratadas térmicamente, dieron valores mayores de cero.

Para las muestras de salchicha no tratada con calor tanto para las adquiridas sin empaque como para las empacadas, el porcentaje de RTB fue del 100%, en cambio al tratarlos térmicamente hubo una disminución del 95% de contaminantes; lo mismo se observa en las muestras de jamón.

Mediante estos resultados se puede afirmar que el calor destruyó la mayor parte de microorganismos, tanto en las muestras de salchicha como en jamón; en éste la temperatura fue más uniforme durante mayor tiempo debido al grosor de las muestras al compararla con las salchichas, ésto influyó para que hubiera mayor destrucción de microorganismos (Cuadros 17 y 18).

Estableciendo comparaciones entre el límite establecido por Normas Sanitarias aprobadas por Salud Pública de C. A. y Panamá; se tiene que tanto las muestras de salchicha como jamón no tratadas térmicamente solrepasaron dicho límite en un 100%, caso contrario sucedió con las muestras tratadas con calor disminuyeron notablemente a tal grado que no alcanzaron dicho límite.

En los análisis de Clostridium, que resultaron positivos posiblemente las muestras se contaminaron debido a que este microorganismo viene del suelo, no debe eliminarse la posibilidad de que estén presentes en el resto de muestras; además debe de tomarse en cuenta la falta de equipo apropiado para la realización de este análisis.-

Las muestras de salchicha y las de jamón que dieron resultados positivos para especies de Salmonella y de Shigella posiblemente-

te fueron contaminadas por la manipulación de estos productos alimenticios. Cuando las muestras fueron tratadas térmicamente las cepas de Salmonella spp y Shigella spp encontradas en ellas, resultaron ser termolábiles.

Como puede observarse en forma general, los resultados de este trabajo indican que el precio y marca comercial de las salchichas y jamón no son garantía para su consumo sin ser sometidos a otros procesos. Además debe de tomarse en cuenta el tiempo que tarda el producto en ser consumido, la calidad de la materia prima, el procedimiento, la manipulación durante la distribución a los establecimientos comerciales, etc., por lo que se requiere una cocción superior a 100°C para llevar el material a un nivel microbiológico aceptable y prevenir las enfermedades producidas por estas bacterias.

6. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos practicados en salchicha y jamón no tratados y tratados térmicamente se puede concluir:

1. Están altamente contaminados por Escherichia coli, Escherichia freundii, Aerobacter aerógenes, Staphylococcus aureus, coagulasa positiva, Clostridium, Salmonella y pocas Shigellas. Ya que son las bacterias presentes en estos productos.

2. Las comparaciones establecidas con el valor límite de microorganismos que se debe tomar como base para los productos elabo-

rados, denotan que los productos en estudio son de mala calidad higiénica.

3. Los microorganismos determinados en las muestras de salchicha y jamón utilizados en este trabajo son sensibles al tratamiento con temperaturas superiores a 100°C durante un período prudencial.

7. RECOMENDACIONES

Para este análisis bacteriológico se pueden hacer las siguientes recomendaciones:

1. Tratar de evitar el consumo de salchicha y jamón en la forma que es adquirida en los establecimientos comerciales ya que es necesario ingerirlos después de ser tratados térmicamente a una temperatura mayor a 100°C de preferencia cocinado con grasa debido a que su punto de ebullición es más alto y como consecuencia la inactividad de microorganismos es mayor.

2. Hacer un llamado a las instituciones encargadas de velar por la salud, para que controlen con más efectividad la calidad de estos alimentos, pues son muy sensibles al desarrollo de microorganismos que causan enfermedades tóxico infecciosas, debido a su consistencia húmeda y a su contenido protéico.

3. Recomendar a las casas productoras de alimentos elaborados el establecimiento de laboratorios de control de calidad y sanidad.

4. Exigir a los empleados de las fábricas de alimentos elaborados, un examen médico rutinario.

5. Dar a conocer al público por algún medio informativo, los tipos de microorganismos que poseen, las enfermedades que producen y la forma más apropiada para prepararlos; y así el daño que puedan causar, sea evitado en parte o totalmente.

6. Sugerir a las amas de casa que eviten usar estos productos en la forma no tratada térmicamente, para la alimentación especialmente de niños, ya que si no van preparados en forma conveniente son dañinos para la salud. Aunque se hace la salvedad respecto a los estafilococos, que la resistencia del cuerpo a ellos, parece que depende por entero a la acción fagocitaria y al efecto difusional de la acción celular inflamatoria aún cuando en el suero de muchos adultos, se encuentren anticuerpos para una variedad de componentes o productos de estafilococos (Burdon, 1971).

7. Recomendar la realización de otros trabajos para determinar la mejor forma, la menor temperatura y el tiempo mínimo posible que se necesita para eliminar la mayor parte de microorganismos sin disminuir significativamente el valor nutritivo que llevan estos productos alimenticios.

C. RESUMEN.

En el presente trabajo se efectuaron 24 ensayos sobre análisis bacteriológicos, practicados en productos cárnicos: salchicha y jamón; los productos se clasificaron de la manera siguiente: 12 muestras de salchicha, de los cuales 6 fueron tratadas térmicamente antes de los análisis, incluyendo 4 adquiridas sin empaque y 8

empacadas al vacío; esta misma distribución se siguió para las 12 muestras de jamón. Los productos eran de diferente marca comercial y fueron comprados en diversos supermercados de San Salvador.

Los análisis realizados a cada muestra fueron: análisis de Coliformes, con sus correspondientes pruebas: presuntiva, confirmada, completa y diferencial, análisis de Staphylococcus, con su respectiva prueba de coagulasa positiva, análisis de Recuento Total, análisis de Clostridium y análisis para Salmonella y Shigella.

Los resultados de los análisis a que fueron sometidos ambos productos, salchicha y jamón no tratados térmicamente en el laboratorio, fueron positivos, es decir estaban contaminados con los siguientes microorganismos: Escherichia coli, Escherichia freundii, Staphylococcus aureus, coagulasa positiva, Salmonella spp y Shigella spp; respecto a las muestras tratadas térmicamente a 170°C durante 20 minutos, sin hacer uso de grasa, solamente se obtuvieron resultados positivos en el análisis de Recuento Total; pero en un nivel más bajo que el establecido por las Normas Sanitarias de alimentos de C. A. y Panamá.

Se puede concluir que este tipo de alimento, por su contenido microbiológico es de calidad malísima para el consumo humano.

9. LITERATURA CITADA

- Alegría, J.R. 1978. Análisis bacteriológico de muestras de "conchas" o "curiles" Anaflara tuberculosa Sowerby colectadas en la Bahía de Jiquilisco. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias y Humanidades. Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura). 97 pág.
- Alford, J. A. 1969. en Idziak, E. S. 1973. Growth and virulence of Salmonella typhimurium Grown in different foods. Applied and Environmental Microbiology. 26(4). 629-630 pág.
- Angelotti, R. 1960. en Werner de García, B., J. Méndez, M. Nieves, O. Betarte. 1971. Microbiología de carnes y derivados. V. Estudio microbiológico de jamones cocidos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 13 (1). 249-254 pág.
- APHA, AWWA, WPCF. 1970. Métodos Estándar para el examen de agua y aguas de desecho. Editorial Interamericana. México. 609 pág.
- Bacteriological Analytical Manual. Division of Microbiology. Washington.
- Burdon, K. R., P. Williams. 1971. Microbiología. Publicaciones Cultural, S. A. México. 516-520 pág.
- Durrows, P. 1969. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 972 pág.
- Carpenter, P. 1969. Microbiología. Editorial Interamericana, S.A. México. 421 pág.

- Collins, C. 1969. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia. España. 241-243 pág.
- Fisher, W. 1972. Valor nutritivo de los alimentos. Editorial Limusa Wiley, S. A. México.
- Frazier, W. 1972. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. España. 512 pág.
- Frobisher, M. 1976. Microbiología. Editorial Interamericana, S. A. México.
- Gebhardt, L. 1972. Microbiología. Nueva Editorial Interamericana, S. A. México. 380 pág.
- Godoy, G. 1971. Manual de Microbiología General y Médica. Editorial Universitaria. El Salvador C. A. 184 pág.
- Longré, K. 1968. en Werner de García, B., J. Méndez, M. Nieves, O. Betarte. 1971. Microbiología de carnes y derivados. V. Estudio Microbiológico de jamones cocidos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 13 (4) 249-254 pág.
- Mc. Divit. 1957. en Werner de García, B., J. Méndez, M. Nieves, O. Betarte. 1971. Microbiología de carnes y derivados. V. Estudio Microbiológico de jamones cocidos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 13 (4). 249-254 pág.
- Merck, E. 1975. Manual de Microbiología. Otros productos para Microbiología. Alemania.

- Mossel, D. A. A. 1962. en Werner de García, B., J. Méndez, M. Nieves, O. Betarte. 1971. Microbiología de carnes y derivados. V. Estudio Microbiológico de jamones cocidos. Revista Latinoamericana de Microbiología. 13 (4) 249-254 pág.
- Normas Sanitarias de Alimentos. 1966. Tomo I. 174-192 pág.
- Palumbo, S. A. 1977. Destruction of Staphylococcus aureus During Franckfurter processing. Applied and Environmental Microbiology. 34 (6). 740-744 pág.
- Payne, W. 1974. Microbiología. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
- Prost, E. 1967. en Idziak, E. S. 1973. Growth and virulence of Salmonella typhimurium Grown in different foods. Applied and Environmental Microbiology. 26 (4). 629-630 pág.
- Sanz Egaña, C. 1967. Enciclopedia de la carne. España Calpe, S.A. Madrid. 608-617 pág.
- Sarles, W. 1963. Microbiología General y Aplicada. Salvat Editores, S. A. Barcelona. 541 pág.
- Sherwood y Thomson. 1953. en Alegría, J. R. 1978. Análisis bacteriológico de muestras de "conchas" o "curiles" Anadara tuberculosa Sowerby colectadas en la Bahía de Jiquilisco. Universidad de El Salvador (Tesis de Licenciatura). 97 pág.
- Shooter, P. A. 1974. en Newton, K. C., J. C. L. Harrison, K. M. Smith. 1977. Coliformes from hides and meat. Applied and Environmental Microbiology. 33 (1). 199-200 pág.
- Smith, D.T. 1960. Bacteriología de Zinsser. Editorial Hispanoamericana. México. 460-489 pág.

APENDICE

| Organismos | I | IM | VP | C |
|---------------------------------------|---|----|----|---|
| <u>E. coli</u> | | | | |
| Variedad I | + | + | - | - |
| Variedad II | - | + | - | - |
| <u>E. freundii</u> (intermedios) | | | | |
| Variedad I | - | + | - | + |
| Variedad II | + | + | - | + |
| <u>Aerobacter</u> <u>aerogenes</u> | | | | |
| Variedad I | - | - | + | + |
| Variedad II | + | - | + | - |

Cuadro A-1. Reacciones de diferentes bacterias Coliformes a las pruebas de IMVIC (APHA, 1970).

| Medio de cultivo | Características de la colonia | Microorganismos |
|---|---|---|
| Agar Verde Brillante (BG Agar) | Colonia rosa con halo rojo | <u>Lactosa</u> 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 Bismuto. (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 A</u> y <u>S. pullorum</u> . |
| Agar Xilosa - Lisina- 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. typhosa</u> |
| Agar Desoxicolato Lactosa. (DC Agar) | Colonias incoloras | <u>Lactosa</u> negativo <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u> . |
| Agar de Eosina - Azul de Metileno (EMB) | Colonias transparentes, amarinas. | <u>Salmonellas</u> y <u>Shigellas</u> |

Cuadro A-2. Características morfológicas de colonias de Salmonella y Shigella, en medios de cultivo selectivos (Merck, 1975).

| Especie | Zona columnar | Superficie inclinada | Formación de H ₂ S |
|--|---------------|----------------------|-------------------------------|
| <u>Salmonella</u> <u>paratyphi -A</u> | AG | OAL | - |
| <u>Salmonella</u> <u>pullorum</u> | AG | OAL | + |
| <u>Salmonella</u> <u>paratyphi -B</u> | AG | OAL | + |
| <u>Salmonella</u> <u>typhi-murium</u> | AG | OAL | + |
| <u>Salmonella</u> <u>gallinarium</u> | A | OAL | + |
| <u>Shigella</u> <u>dysenteriae</u> | A | OAL | - |
| <u>Salmonella</u> <u>typhi</u> | A | OAL | - |

} Columna de medio de cultivo, negra.

- Solamente en la parte superior de la columna del medio de cultivo, frecuentemente, formación de anillo, a veces al cabo de 48 horas.

Cuadro A-3. Clasificación de varias especies de Salmonella y Shigella (Merck, 1975).

Significado de las siglas:

AG = Formación de ácido y producción de gas.

+ = Ennegrecimiento por formación de H₂S.

- = Sin ennegrecimiento.

AL = Viraje al rojo por formación de álcali.

OAL = Sin alteración del color original del medio de cultivo o rojo por formación de álcali.

A = Viraje a amarillo por formación de ácido.

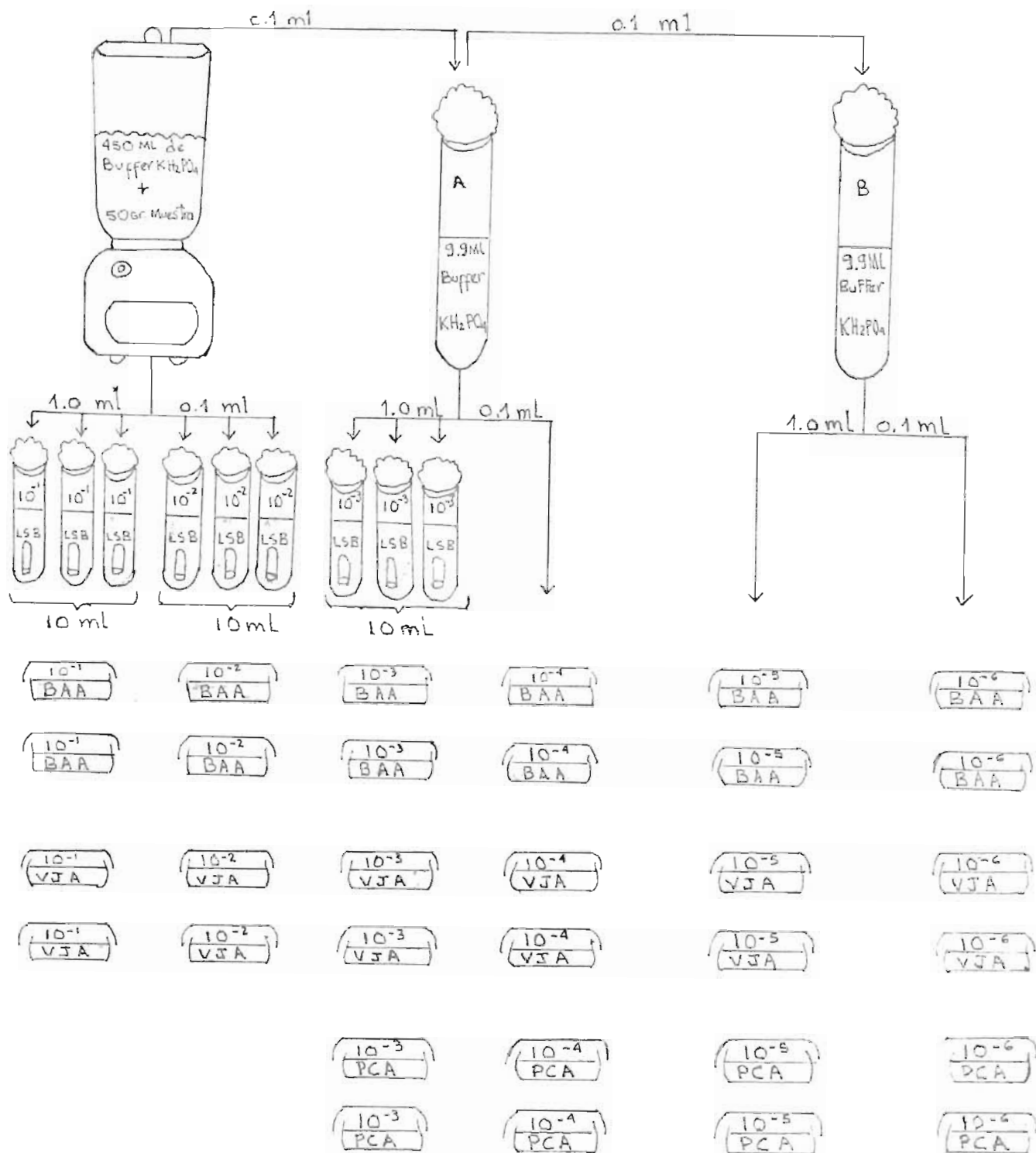


Fig. A-1. Diferentes análisis realizados a una muestra de un producto alimenticio procesado: A- Prueba Presuntiva para análisis de Coliformes (Método de tubos múltiples), B- Análisis de Clostridium, C- Análisis de Staphylococcus, coagulasa positiva, D- Análisis de Recuento Total (Alegria, 1978).

Caldo de Lauril Sulfato

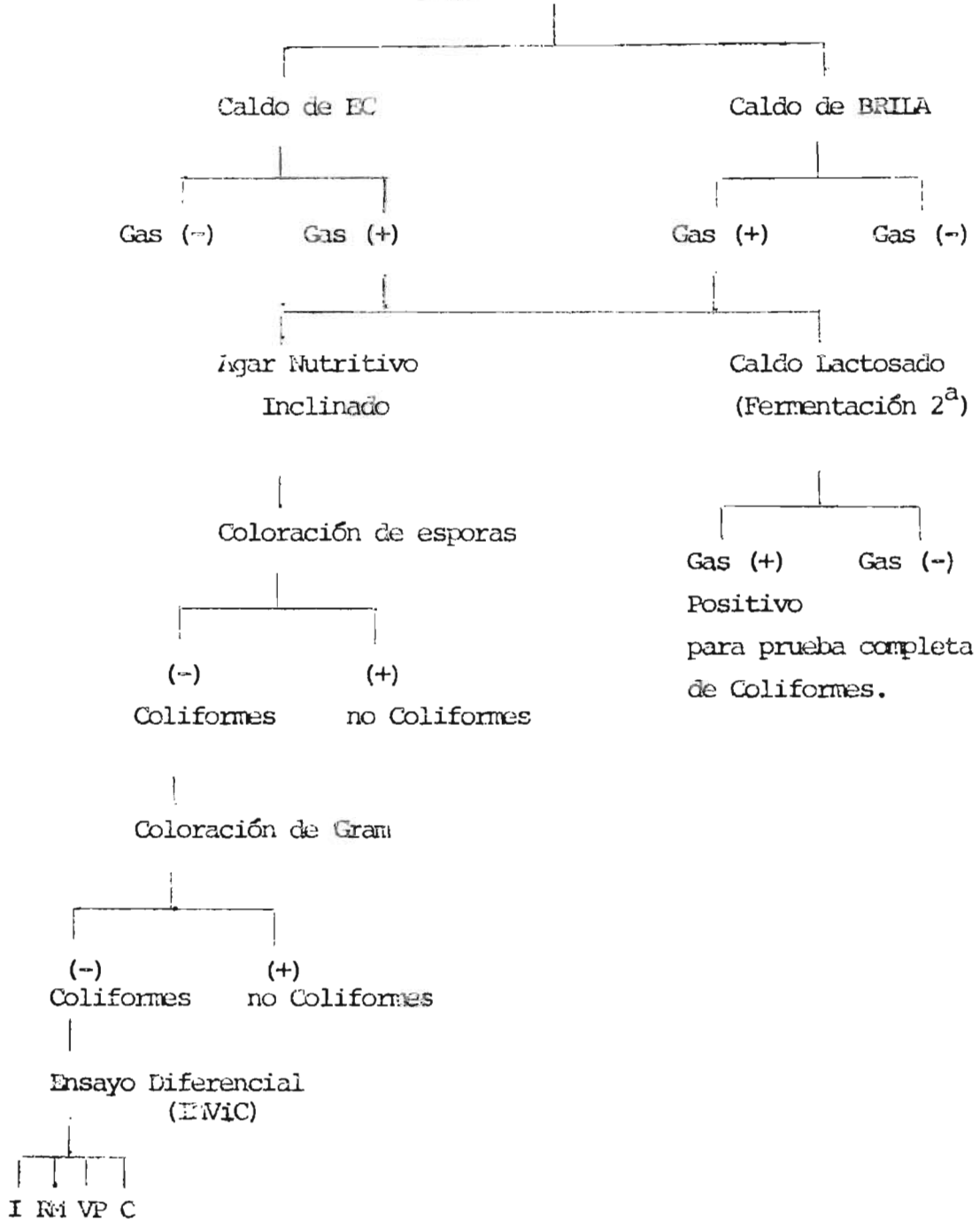


Fig. A-2 Marcha en la determinación de Coliformes.

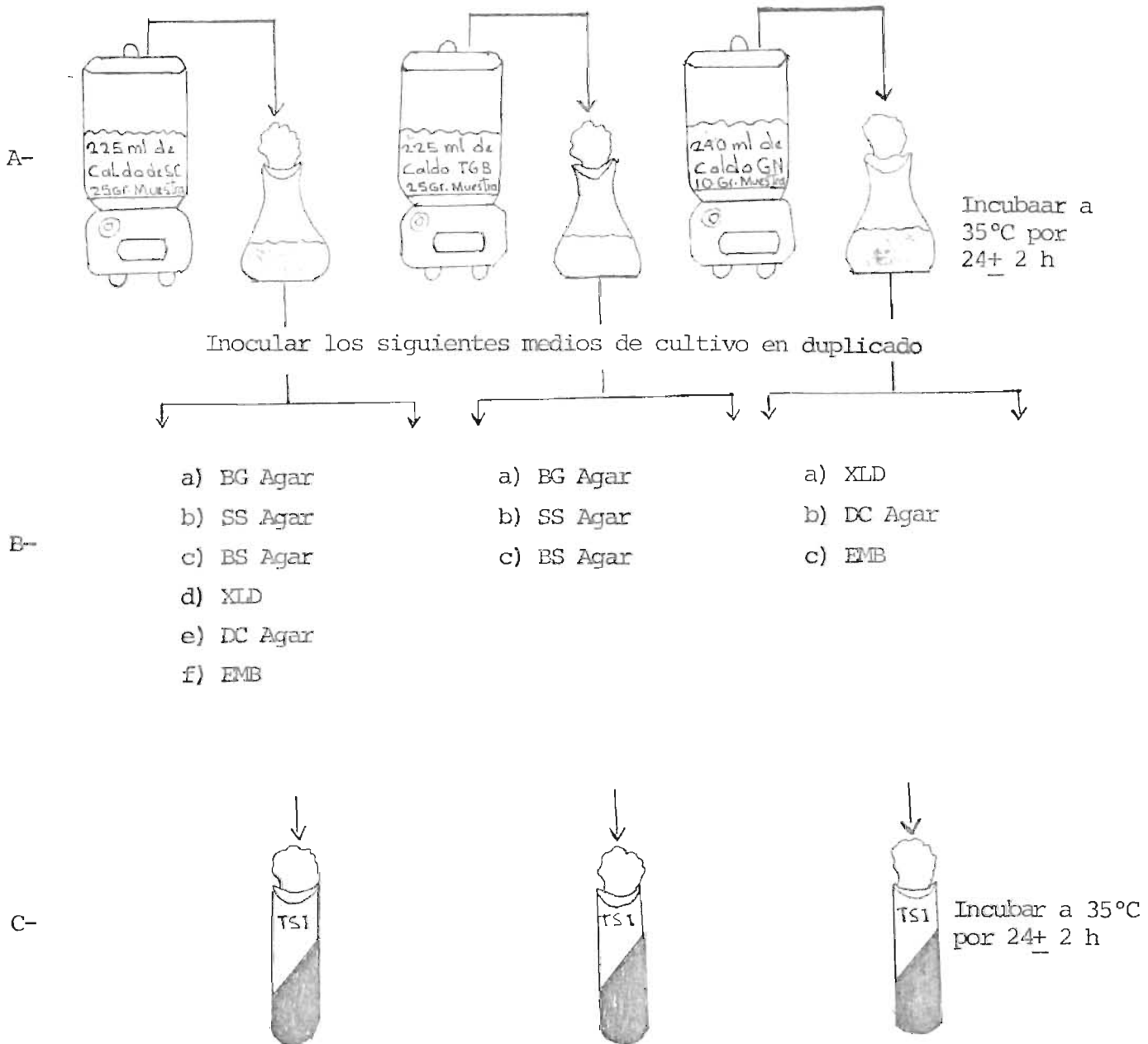


Fig. A-3. Esquema para Análisis de *Salmonella* y *Shigella*: A- Se licúa la muestra con su caldo selectivo, se vierte en su respectivo erlenmeyer e incuba a 35°C por 24+2h, B- Se inoculan en medios de cultivo y se incuban a 35°C durante 24+ 2h excepto los de BSA y XLD que será por 48+ 2 h, C- Colonias típicas se inoculan en tubos de TSI inclinado, se incuban a 35°C por 24+ 2h.