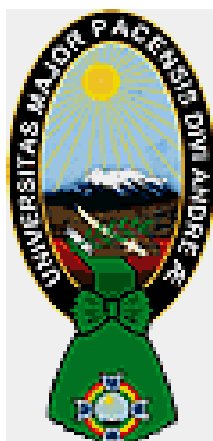


UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA



"ANALISIS MICROBIOLOGICO PARA LA IDENTIFICACION DE
COLIFORMES TOTALES, FECALES Y SALMONELLA EN ALIMENTOS
LISTOS PARA EL CONSUMO COMERCIALIZADOS EN LOCALES
PUBLICOS EN LA CIUDAD DE EL ALTO, DURANTE LOS MESES DE
MARZO A MAYO DEL AÑO 2006"

Elaborado por:

Univ. AMALIA GREGORIA CONDORI APAZA

TESINA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOQUIMICA

LA PAZ - BOLIVIA

2007

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA

“ANALISIS MICROBIOLOGICO PARA LA IDENTIFICACION DE
COLIFORMES TOTALES, FECALES Y SALMONELLA EN
ALIMENTOS LISTOS PARA EL CONSUMO COMERCIALIZADOS EN
LOCALES PUBLICOS EN LA CIUDAD DE EL ALTO, DURANTE LOS
MESES DE MARZO A MAYO DEL AÑO 2006”

Elaborado por:

Univ. AMALIA GREGORIA CONDORI APAZA

Asesor:

DR. OSVALDO RAMIREZ

DR. LUIS M. ARRATIA

LA PAZ - BOLIVIA

2007

DEDICATORIA:

A mis padres Marcelo y Gregoria por su apoyo incondicional, su amor y comprensión a lo largo de mi carrera profesional.

A mi hermano Freddy y mis amigas por sus consejos y su colaboración.

AGRADECIMIENTOS:

Antes que nada quiero dar gracias a DIOS quien ha sido mi soporte y compañía constante durante mis estudios. A todas aquellas personas que de una u otra forma participaron en este proyecto de investigación, ya que no solo contribuyeron en mi progreso académico sino también en lo personal.

Al Laboratorio Municipal de la ciudad de El Alto, por el apoyo incondicional brindado para la realización de este trabajo y a todo su personal por su colaboración.

Expreso mi agradecimiento al Dr. Luis Arratia Apaza por su valiosa colaboración en la elaboración de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pagina
1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. ANTECEDENTES	4
4. MARCO TEORICO	7
4.1 Tipos de contaminación	7
4.1.1 Contaminación Inanimados	7
4.1.2 Contaminación animados	7
4.1.3 Manipulación deficiente de los alimentos	7
4.1.4 Conservación	7
4.1.5 La tabla de picar	8
4.1.6 Lavado de manos	8
4.1.7 Comercio ambulatorio	8
4.1.8 Adulteración de los alimentos	9
4.2 Características que presentan los alimentos	9
4.3 Alimentos preferidos por los microorganismos	10
4.4 Bacterias coliformes	10
4.4.1 Características bioquímicas	11
4.4.2 Hábitat del grupo coliforme	11
4.4.3 Bacterias que integran el grupo	12
4.4.3.1 Coliformes totales	12
4.4.3.2 Coliformes fecales	13
4.4.4 Contaminación fecal o animal	14
4.5 Salmonella	14
4.5.1 Etiología	15
4.5.2 Cuadro clínico	16
4.5.3 Salmonelosis	17
4.5.4 Fuentes de Salmonella	17
4.5.5 Alimentos implicados	18

4.6 Aislamiento e identificación de Salmonella	19
4.6.1 Preenriquesimiento en medio líquidos no selectivos	19
4.6.2 Enriquecimiento en medios líquidos selectivos	19
4.6.3 Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos	20
4.6.4 Confirmación Bioquímica de las colonias sospechosas	20
4.6.4.1 Prueba de citrato	20
4.6.4.2 TSI	20
4.6.4.3 LIA	20
4.6.4.4 SIM	21
4.7 Aislamiento e identificación de Coliformes totales y fecales	21
4.7.1 Recuento en placa	21
4.7.2 Agar Mac Conkey	22
4.7.2.1 Colonias típicas	22
5. OBJETIVOS	23
6. DISEÑO METODOLOGICO	23
6.1 Descripción de la población en estudio	23
6.2 Descripción del ámbito de estudio	24
6.3 Descripción del ámbito de trabajo	24
6.4 Materiales	24
6.5 Equipos	25
6.6 Reactivos	25
6.7 Métodos	25
6.7.1 Preparación de la muestra	25
6.7.2 Ensayos microbiológicos para el recuento de bacterias	
Coliformes – Recuento en placa	26
6.7.2.1 Preparación de las diluciones	26
6.7.2.2 Vertido en placas	26
6.7.2.3 Incubación	27
6.7.2.4 Recuento y calculo de colonias	27
6.7.3 Pruebas confirmativas para coliformes	27
6.7.4 Pruebas para confirmar coliforme fecal	28

6.7.4.1	Confirmación de colonias presuntivas	28
6.7.5	Ensayos microbiológicos para la identificación de <i>Salmonella</i>	28
6.7.5.1	Pre- enriquecimiento	28
6.7.5.2	Enriquecimiento	29
6.7.5.3	Aislamiento	29
6.7.5.4	Confirmación	29
6.7.6	Interpretación de pruebas bioquímicas	30
6.7.6.1	TSI	30
6.7.6.2	LIA	30
6.7.6.3	Citrato	31
7.	PROCEDIMIENTO	31
7.1	Recuento de coliformes Totales y fecales	32
7.2	Ensayos microbiológicos para la detección de <i>Salmonella</i>	33
8.	RESULTADOS	34
9.	DISCUSIONES	37
10.	CONCLUSIONES	38
11.	RECOMENDACIONES	39
12.	BIBLIOGRAFIA	41
	ANEXOS	

RESUMEN

Los alimentos listos para el consumo, expedidos en locales públicos, son un medio en el que se dan las condiciones para el desarrollo de microorganismos, estos por falta de saneamiento ambiental o por malas prácticas de higiene, pudiendo convertirse en una vía principal de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), de manipuladores a consumidores.

Por eso el objetivo principal de la investigación fue evaluar la calidad microbiológica de alimentos en los establecimientos públicos que se preparan y se sirven en la ciudad de “El Alto”,

Los estudios se realizaron en los meses de marzo a mayo del año 2006. Primeramente se tomo muestras y luego se procedió a evaluar la calidad microbiológica de cuarenta (40) alimentos listos para el consumo, los ensayos realizados fueron un recuento de coliformes totales, fecales, e identificación de *Salmonella* y *Escherichia coli*.

Los agentes microbiológicos fueron relacionados con los alimentos implicados como ser los tipos de sopas, segundos, y aderezos. En estas pruebas se comprobó que los contaminantes mas frecuentes son producidos por gérmenes potencialmente patógenos como *E. coli* 5 % y *Salmonella* en un 7.50% de un total 12.50% alimentos contaminados.

En conclusión del 100% (40 muestras) 17.50% presento contaminación por coliformes y un 82.50% no presento ningún tipo de contaminación, pero los riesgos predominantes existen en la *Salmonella* y *E. coli* presentes por la deficiencia en la elaboración o refrigeración, y la falta de higiene asociados a la mala manipulación.

1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que la vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos se está volviendo, cada vez más, una alta prioridad en la agenda de salud pública de muchos países. Esta vigilancia ayuda a estimar la carga de las enfermedades transmitidas por alimentos, evalúa su impacto relativo en la salud y la economía. También evalúa los programas de prevención y control de enfermedades permitiendo la rápida detección y respuesta de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Pero esta vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos expendidos debería estar integrada con los datos de monitoreo y los datos de animales que son alimentos, a lo largo de toda la cadena alimenticia. La integración de este monitoreo de datos produciría una robusta información de vigilancia, y permitiría intervenciones de fijación de prioridades a la salud pública apropiadas (¹). Pues con los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que sólo en el año 2000, un total 2,1 millones de personas fallecieron por causa de enfermedades diarreicas; una gran proporción de esos casos se puede atribuir a la contaminación de los alimentos y del agua potable. También se informa que en los países industrializados el porcentaje anual de personas aquejadas de enfermedades transmitidas por los alimentos asciende a 25 por ciento o más. Por eso la contaminación de los alimentos impone una enorme carga social y económica a las comunidades y sus servicios sanitarios, en costos médicos y pérdida de productividad. (²)

Desde el punto de vista sanitario la venta de alimentos es controvertida porque las deficientes prácticas de higiene en la preparación de esos alimentos tienden a presentar riesgos considerables para la salud. Pues la contaminación microbiana

(¹) www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/foodborneinfections_g_sp.htm - 101k.

(²) <http://www.fodsaafety.gov.cdc>

en los alimentos no es la única causa de los problemas de salud relacionados y vendidos en locales públicos, sino también esta en las personas que manipulan los alimentos porque pueden ser portadores de enfermedades; lo que aumenta los riesgos vinculados con los alimentos vendidos en estos locales públicos.

Por eso ni los alimentos son productos absolutamente estériles por que en ocasiones pueden transportar agentes microbianos patógenos o sus toxinas, con riesgo para la salud del consumidor. Ej. La Salmonelosis, infección común, *Salmonella*, está causada por una variedad de serotipos (más comúnmente por *S. enteritidis*) y se transmite por la ingestión de alimentos contaminados (tales como huevo y pollo) o por personas infectadas que manipulan los alimentos previamente contaminados. No se conoce un reservorio humano y esto usualmente se presenta como gastroenteritis (nausea, vómito y heces no sanguinolentas).

La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Las bacterias coliformes son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación post-proceso térmico.

Por todo esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo; como ser las sopas, segundos y aderezos expendidos en locales públicos de la ciudad de El Alto y así determinar la frecuencia de coliformes totales, fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella*.

Para dicho propósito se llevaron a cabo los procedimientos microbiológicos de recuento en placa, preenriquecimiento, enriquecimiento, siembra en medios de cultivo selectivos y pruebas bioquímicas.

2. JUSTIFICACIÓN

El perfil epidemiológico de Bolivia es el característico de los países en vías de desarrollo, en el que predomina el recrudecimiento de endemias infecciosas y parasitarias relacionadas en la manipulación de los alimentos que se producen hasta que se consumen y por lo cual incide directamente en la cadena alimentaría

La venta y distribución de alimentos listos el consumo ha sido una práctica tradicional en nuestro país Bolivia y que esta actividad se ha multiplicado por múltiples causas, una de ellas sería por personas desempleadas. Pues la limitada oferta de trabajo de los centros urbanos junto a la falta de capacitación calificada y las necesidades de supervivencia lleva a las poblaciones a buscar alternativas para la obtención de ingresos económicos, uno de los cuales se encuentra en el comercio informal es por esto su incremento generando un problema sanitario de gran importancia.

Existen factores que han coadyuvado al incremento de estas ventas de alimentos listos para el consumo, una de ellas es que muchas personas viven lejos de sus lugares de trabajo por lo que deben consumir este tipo de alimentos por el bajo costo o por la proximidad de ellos.

Por que en nuestro medio una gran parte de la población sufre o ha sufrido diarreas de origen bacterianos siendo estas enfermedades tan frecuentes que llega hacer una de las principales causas de mortalidad infantil.

Uno de los problemas de salud pública radica en la alta incidencia de cuadros de gastroenteritis, que afectan a niños menores de 5 años como el resultado de la ingestión de alimentos contaminados.

Generalmente se cuantifican, los microorganismos indicadores, para determinar calidad sanitaria de alimentos, estos microorganismos que en su mayoría son

mesofilos aerobios, mohos, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, y otros. Algunos de los microorganismos patógenos implicados en infecciones o intoxicaciones alimentarias son: *Salmonella spp.* También se encuentran Bacilo corto gram negativo G (-), que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*. Pero la mayor fuente de bacterias esta en el hombre, y la transmisión, de tipo fecal-oral, se debe a una mala higiene e inadecuada manipulación de los alimentos.

3. ANTECEDENTES

Según un estudio realizado en el año 2002 por la Red de Laboratorios Oficial de Análisis de Alimentos RELOAA, elaborado y Coordinado por el Laboratorio INLASA de La Paz, se puede denotar que de un total de muestras analizadas, microbiológicamente, de 873 muestras, 289 se encuentran fuera de norma por recuentos elevados de Coliformes totales es decir que de un porcentaje de 33% y 153 muestras se encuentran fuera de norma por recuentos elevados de Coliformes fecales es decir un porcentaje de 17.5%.

Se procesaron 557 muestras en **Almacén, Distribución y Consumo** y los Alimentos que dieron mayor problema de contaminación fueron **‘Las Comidas listas para el consumo:(212)** el descuido de los manipuladores permite que la calidad higiénica sanitaria sea el principal problema de este producto ya que el 50% de las muestras se encuentra contaminado por Coliformes totales, y el 17 % por coliformes fecales lo cual nos muestra la deficiencia en el lavado de manos, uso de utensilios (provocando contaminación cruzada) e instalaciones deficientes”.

(³)

(³) Espada A, Montiveros D. VIGILANCIA DE CONTAMINATES MICROBIOLÓGICOS EN ALIMENTOS AÑO 2002. INLASA. 2002

Según otro estudio efectuado por el Departamento de salud del Estado Australia, resume que la epidemiología de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en dicho país desde 1995 hasta el 2000. Se identificaron 293 brotes de los cuales 214 fueron producidos por alimentos, y 174 de ellos (o sea 81 %) se conocía su etiología. Esta a base de la frecuencia etiológica fue *Salmonella* en 75 brotes (35%). En este estudio, se dice que, los restaurantes y los abastecedores comerciales fueron asociados con el número más alto de brotes reportados. Pues los alimentos mas frecuentemente implicados fueron las carnes 64 (30%), pescados 34 (16%), ensalada 12 (6%), emparedados 11 (5%) y huevos 9 (4%). De las mismas podemos decir que las carnes, de res y de pollo, fue el de mayor frecuencia y asociado con 27 brotes (13%). Este tipo de estudio demuestra los efectos que causan los brotes ocurridos por las enfermedades transmitidas por los alimentos.

Asimismo otras investigaciones enfatizan que la conducta de los administradores manipuladores y del personal en general del servicio de alimentación puede reducir el riesgo de los episodios producidos por las enfermedades alimentarias.

(⁴)

Otro estudio según el BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO Distrital en Bogota Colombia sobre “La Estrategia de distinción sanitaria de restaurantes populares 2003 -2004 “, se tomaron resultados que tenían como FUENTE a la Base de datos SILASP 2003-2004. En este caso, los alimentos fueron clasificados como de mayor riesgo y de menor riesgo. En los primeros, se incluyeron los alimentos listos para el consumo preparados con carne de res, cerdo o aves. En el grupo de menor riesgo están los jugos clasificados como bebidas no alcohólicas y el grupo de otros mixtos, en el que hay ensaladas, verduras cocidas, leguminosas cocidas y arroz.

De los alimentos de mayor riesgo, en el año 2003 se analizaron 208 muestras. En el que él 73% de ellas obtuvo calidad aceptable, y la no aceptabilidad fue de 27%.

(⁴) grad.uprm.edu/tesis/buenoperez.pdf

En el año 2004, el 28% de las 82 muestras (o sea 23) se calificó como no aceptable. Es decir, entre un año y otro se mantuvo la no aceptabilidad. En el año 2003 se obtuvieron los siguientes resultados: coliformes totales 89.4 % Coliformes fecales 33,3 %, Recuento de mesófilos aerobios 63,1 %.recuento de *Estafilococo* Coagulasa Positivo 5,2 %, recuento de *Bacillus cereus* 3,5 % y en el año 2004 los resultados de: Coliformes totales 82% Coliformes fecales 30%, Recuento de mesofilos aerobios 65,2 % Recuento de *Estafilococo* Coagulasa Positivo 0 %, recuento de *Bacillus cereus* 8,7 %.

De todo el estudio se ve que el porcentaje de no aceptabilidad fue menor en el grupo de alimentos de bajo riesgo. No obstante, llama la atención que pese a que estos productos se someten a procesos térmicos en los que se espera que la carga microbiana se reduzca casi por completo y la no aceptabilidad se debió a recuentos por fuera de la norma de coliformes totales, coliformes fecales, recuento de mesófilos, *Bacillus cereus* y *Estafilococo* coagulasa positiva. Esto refleja nuevamente procesos de contaminación cruzada, inadecuada manipulación por los operarios, baja calidad de materia prima y fallas en los métodos de conservación. Si se observa la no aceptabilidad por tipo de alimento, se encuentra que la carne y el pollo cocidos fueron los alimentos con mayor no aceptabilidad (56% y 28%, respectivamente para 2003 y 26% y 39%, para 2004).

Alimentos de menor riesgo son también los denominados otros y mixtos. Se trata de ensaladas, arroz, vegetales y leguminosas cocidas, sopas y cremas., debido a la presencia elevada de coliformes totales (67.5), coliformes fecales (354%), mesófilos (26,5 %) y *Bacillus cereus* (5 %). En el año 2004 la no aceptabilidad de estos alimentos fue del 40%. Se relacionó con la presencia de coliformes totales y de *Bacillus cereus*, hecho preocupante en alimentos que se someten a prolongados procesos de cocción. ⁽⁵⁾

(⁵) Boletín epidemiológico en Bogotá. ESTRATEGIAS DE DISTINCIÓN SANITARIA DE RESTAURANTES POPULARES 2003-2004.

4. MARCO TEÓRICO

¿Qué es un alimento contaminado?

Es todo alimento que contenga gérmenes patógenos, sustancias químicas o radiactivas, toxinas o parásitos capaces de producir o transmitir enfermedades al hombre o a los animales. “Es también un alimento que ha sufrido un deterioro, perdiendo sus características organolépticas, es decir, en su olor, color, sabor, textura propia del producto.”

4.1 Tipos de contaminantes.- Hay dos tipos de contaminantes que son los inanimados y animados los cuales influyen en los alimentos para ser contaminados.

4.1.1 Contaminantes Inanimados,- estos se dividen en físicos y químicos.

- En los físicos se encuentra el polvo, piedras, astillas, paja, y la radiación..
- En Químicos: Están los insecticidas, detergentes, metales pesados y otros.

4.1.2 Contaminantes Animados.- Son los llamados contaminantes biológicos.

- Biológicos: Pueden considerarse a las bacterias, parásitos, hongos, virus, toxinas y todo aquel agente capaz de generar una reacción biológica en el ser humano

4.1.3 Manipulación Deficiente de los Alimentos

Frecuentemente se difunde en los medios de comunicación lamentables sucesos de intoxicaciones producidas por el mal estado de los alimentos, la mayonesa en mal estado es una de las causas frecuentes, pero no la única.

Esto nos indica que hay un serio problema en la población, se desconoce las buenas prácticas de manipulación de básica de los alimentos:

4.1.3.1 Conservación: Mucha gente cree que el refrigerador es como una caja común donde puede entrar cualquier cosa, en cualquier momento y en cualquier

estado; otros creen que el refrigerador es como una cajita mágica en la que automáticamente todo se conserva bien. Y no es así, ya que, si no se tiene cuidado en aislar unos alimentos de otros, puede producirse una contaminación cruzada malográndose unos a otros, si no se hace una limpieza constante del refrigerador

4.1.3.2 La tabla de picar: Estas son un medio muy propicio para la contaminación en la cocina, si no se lavan permanentemente pueden contaminar los alimentos: Por ejemplo, si hemos cortado un pollo crudo con un cuchillo sobre la tabla, y luego usamos ese mismo cuchillo y tabla sin lavar, para picar una cebolla o lechuga, para la ensalada, con seguridad vamos a tener problemas, ya que el pollo crudo tiene agentes contaminantes que al contacto con alimentos crudos, que vamos a comer y nos van a afectar.

4.1.3.3 Lavado de manos: La persona que prepara los alimentos debe ser escrupulosa en el cuidado de las condiciones higiénicas, una de las fundamentales es el lavado de sus manos. Debe lavarse cuantas veces sea posible, especialmente cuando manipula alimentos crudos que se van a cocinar, pero particularmente, también debe tener cuidado en lavarse las manos luego de ir al baño, si no lo hace, con seguridad estará poniendo en peligro la salud de quienes consuman los alimentos manipulados por él.

4.1.3.4 Comercio ambulatorio: Hay que tener mucho cuidado al adquirir alimentos en el comercio ambulatorio, pues la venta a la intemperie, sin servicios higiénicos apropiados, ocasionara que muchas veces se ponga en peligro la salud de los consumidores, pues en su mayoría, estos comercios no tienen protección del calor, del sol y del polvo.

Por eso es “muy importante verificar las condiciones en que se expenden estos productos, pues si se lo hace irresponsablemente se expone la salud y hasta la vida de los consumidores”.

4.1.3.5 Adulteración de los Alimentos: Otro lamentable problema está constituido por la práctica inescrupulosa de adulterar alimentos con la finalidad de obtener una mayor rentabilidad. Esto sucede frecuentemente con los condimentos o alimentos molidos. Lamentablemente no hay forma de enterarse de lo que contienen estos productos sino después de haberlos ingerido y sufrido algún daño. Por eso es muy importante elegir correctamente el lugar donde compramos estos productos. Aunque lo mejor sería que los adquiramos en su estado natural (ají, comino, canela, pimienta, etc.) para que nosotros mismos los transformemos de acuerdo a nuestras necesidades. ⁽⁶⁾

4.2 Características que presentan los alimentos para el desarrollo de los contaminantes biológicos

Los agentes contaminantes pueden instalarse en muchos alimentos, pero no en todos pueden llegar a multiplicarse y enfermar al hombre. Los alimentos para favorecer la reproducción de estos agentes pueden ser:

- **Nutritivos:** Leche, carne, huevos y sus derivados cómo son muy nutritivos, constituyen un buen alimento para los microorganismos.
- **Tener la humedad suficiente:** Los alimentos como leche, quesos, cremas, carnes y sus derivados por la humedad que contienen favorecen la multiplicación de los microorganismos. Por otra parte, en los alimentos secos (charque, fruta seca, cereales) los microorganismos tienen menos posibilidad de sobrevivir
- **Temperatura:** Es un elemento importante para que las bacterias puedan desarrollarse o no. Hay temperaturas favorables para ese desarrollo y es entre 5 °C y 60 °C a estas denominamos críticas, pues los alimentos mantenidos entre estas permiten el rápido desarrollo de las bacterias y sus toxinas. Recordemos que la temperatura del medio ambiente es entonces

⁽⁶⁾ Organización Mundial de la Salud. CODEX ALIMENTARIO.1 ed. La Paz.

una temperatura crítica. En las temperaturas inferiores a 5°C, las bacterias permanecen en estado “durmiente” no mueren pero tampoco se reproducen ni desarrollan”. Por encima de los 60 °C la mayoría muere. Las temperaturas inferiores a 5 °C y superiores a los 60 °C las denominamos temperatura de seguridad.

- **Tiempo:** el tiempo es también importante pues permite una mayor reproducción bacteriana cuando existe contaminación primaria en un alimento su reproducción crece en progresión geométrica cada 20 o 30 minutos, aunque esto no es estándar. Es decir que de una bacteria cada 30 minutos se obtiene dos y así sucesivamente. Podemos decir que en 24 horas tendremos de una bacteria 281 mil millones de otras bacterias contaminadas.

4.3 Alimentos preferidos por los microorganismos.

- Lljhua (aderezo de locoto y tomate).
- Salsas y cremas
- Mayonesa
- Pasteles rellenos
- Preparados con huevos y leche
- Verduras de hoja
- Carnes y pescados crudos
- Carnes cocidas que se consumen en frío. (7)

4.4 Bacterias coliformes

Los coliformes son buenos indicadores de un proceso o de un estado sanitario inadecuado. La presencia de estos microorganismos en cantidades mayores al mínimo establecido indica:

(7) Organización Mundial de la Salud. MANUAL DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS. 1 ED. 2003

- La mala manipulación y procesamiento del alimento
- La mayor probabilidad de encontrar bacterias patógenas como *Salmonella*, *Shigella* y otros.

Se distinguen dos grandes grupos, por lo tanto, los coliformes totales —que comprende la totalidad del grupo— y los *coliformes fecales* —aquellos de origen intestinal.

Desde el punto de vista de la salud pública esta diferenciación es importante puesto que permite asegurar con alto grado de certeza que la contaminación que presenta el agua es de origen fecal. ⁽⁸⁾

4.4.1 Caracteres bioquímicos

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- a) ser aerobias o anaerobias facultativas;
- b) ser Gram negativas;
- c) no ser esporógenas;
- d) fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas.

4.4.2 Hábitat del grupo coliforme

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

⁽⁸⁾ Instituto Boliviano de normalización y calidad. NB 32005. ENSAYOSMICROBIOLOGICOS RECUENTOTE BACTERIASCOLIFORMES.2002

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre.

4.4.3 Bacterias que integran el grupo

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

- a) *Escherichia*
- b) *Klebsiella*
- c) *Enterobacter*
- d) *Citrobacter*

Estos se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en el suelo, plantas, aguas, etc. Los principales coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*.

El primero se encuentra normalmente en el intestino del hombre y otros animales, mientras que *E. Aerogenes* esta asociado normalmente a la vegetación y sólo se encuentra ocasionalmente en el intestino.

4.4.3.1 Coliformes totales

Son bacterias que tienen forma de bastoncillos, pero no forman esporas, son Gram. negativos aeróbicos y anaeróbicos facultativos, que fermentan la lactosa con la formación de gases al cabo de 24 – 48 h y a °T de 37 °C. Este grupo de bacterias se compone de un gran número de géneros bacterianos estrechamente relacionados que habitan en el intestino grueso del hombre y animales, suelos, agua y materia en descomposición. Debido a su hábitat normal en el intestino del hombre, se denomina “bacilos entéricos”.

Muchos bacilos entéricos no causan enfermedades cuando quedan confinados al tractogastro -intestinal de un huésped normal, pero en el huésped alterado o frente a una oportunidad a invadir otros sitios del cuerpo pueden tener capacidad de producir enfermedad en cualquier tejido.

Los alimentos contaminados por un gran número de bacilos entéricos en el curso de su manipulación pueden indirectamente ocasionar complicaciones clínicas en la población que por su trabajo están en contacto continuo con los mismos.

El número de coliformes totales en una muestra de agua o alimento es usado como criterio de sanitización y aunque su especificidad como indicadores no es buena, se suelen usar como indicadores de contaminación fecal por algunas razones.

4.4.3.2 Coliformes fecales

Se define como coliformes fecales a aquellos que fermentan la lactosa a 44,5 – 45,5 °C, y es un análisis que permite descartar a *Enterobacter*, puesto que ésta no crece a esa temperatura. Si se aplica este criterio crecerán en el medio de cultivo principalmente *E. coli* (90%) y algunas bacterias de los géneros *Klebsiella* y *Citrobacter*. La prueba de coliformes fecales positiva indica un 90% de probabilidad de que el coliforme aislado sea *E. coli*.⁽⁹⁾

E. coli

El aislamiento de esta bacteria en el agua da alto grado de certeza de contaminación de origen fecal, alrededor del 99% no es absoluta porque se han aislado cepas de *E. coli* que no tienen origen fecal, pero es un grado de certeza que es más que razonable para certificar contaminación con ese origen.

⁽⁹⁾ <http://es.wikipedia.org/wiki/Coliforme>

Sin embargo, el aislamiento de este microorganismo no permite distinguir si la contaminación proviene de excretas humana o animal, lo cual puede ser importante, puesto que la contaminación que se desea habitualmente controlar es la de origen humano. Esto no significa menospreciar la de origen animal, especialmente dada la existencia de zoonosis, enfermedades que son comunes al hombre y animales, que también se pueden transmitir por el agua.

En los alimentos, la presencia y concentración de *E. Coli* es de menor significado y si se presenta, aun en gran numero, y no implica necesariamente una contaminación fecal. El número puede estar influido por varios factores como contaminación natural, crecimiento en el alimento, equipamiento mal sanitizado y contaminación personal.

4.4.4 Contaminación fecal humana o animal

La *Escherichia coli* de origen animal y la de origen humano son idénticas. Sin embargo, algunos investigadores han encontrado que las bacterias del género *Rodococcus* se asocian solamente a la contaminación fecal por animales. ⁽¹⁰⁾

4.5 Salmonella

La *Salmonella* es un bacilo Gram. negativo, es un género de bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos que rodean al microorganismo y no desarrolla cápsula ni espora. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa pero no lactosa y que esta compuesto principalmente por tres especies importantes: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesius* y *Salmonella enteritidis*. Las infecciones con estos bacilos se asocian

⁽¹⁰⁾ Pascual. MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA Metodología analítica para alientos y bebidas. 1 ed 1992

a la ingestión de alimentos y agua contaminada por detritus humano y de animales que sirven como reservorio. En el caso de la *Salmonella typhi*, sólo se transmite de persona a persona por lo que su único reservorio es el hombre.

La *Salmonella* presenta un período de incubación de 12 a 72 horas. Esta puede presentar tres tipos de infección: enterocolitis, fiebre tifoidea y septicemia. En el caso de enterocolitis los síntomas iniciales son náuseas, vómitos que progresan a un dolor abdominal y disposición de heces con consistencia acuosa. Por lo general dura desde días hasta un máximo de dos semanas con una resolución espontánea

En el caso de la fiebre tifoidea producida por *S. typhi* o la fiebre entérica producida por *S. paratyphi* A, B, C, la progresión de la enfermedad es lenta y presenta vómitos y diarrea. Después de la primera semana, conforme la bacteriemia se vuelve sostenida, el paciente presenta fiebres altas, delirio, abdomen sensible y esplenomegalia. En esta etapa puede presentar manchas rosadas en el abdomen. Durante la tercera semana la enfermedad comienza a resolverse pero puede producir complicaciones graves como hemorragia o perforación intestinal. Luego de la resolución los pacientes pueden permanecer como portadores crónicos, pero sólo ocurre en un 3%.

4.5.1 Etiología

El género *Salmonella* constituye un gran grupo de bacilos gram negativos que forman una de las divisiones de la familia *Enterobacteriaceae*. La mayor parte de las cepas son móviles y producen ácido y gas a partir de glucosa, el manitol y el sorbitol (excepto *Salmonella typhi* y otras cepas raras que sólo producen ácido, son activas productoras de sulfuro de hidrógeno, y están estrechamente relacionadas entre sí por antígenos somáticos y flagelares).

Estas bacterias se proliferan en distintos tipos de medios artificiales. Sin embargo, pueden ser separadas en medios diferenciales mediante la inclusión de ciertas sustancias químicas que favorecen su proliferación y suprimen otros microorganismos coliformes. Casi todas las cepas mueren a 55°C en una hora o a 60°C en 15 o 20 minutos.

Pero en su mayoría casi todas las *Salmonellas* son flageladas: por medio del empleo de las condiciones de proliferación adecuadas y pueden evaluarse de forma separada a los antígenos flagelares y somáticos.

Además de los antígenos H y O algunas cepas, notablemente los bacilos tifoideos tienen un antígeno somático adicional asociado a la virulencia (Vi). Se utiliza un sistema de tipificación con bacteriófagos contra el antígeno Vi con frecuencia para la investigación epidemiológica Ej. De las epidemias de fiebre entérica (tifoidea).

4.5.2 Cuadro Clínico

El cuadro clínico inicia entre 12 y 72 horas después de la ingestión de la bacteria y se caracteriza por náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y fiebre. La diarrea dura de tres a cuatro días, raramente hasta diez, suele ser moderada pero puede llegar a semejar a la del cólera o a la disentería. El dolor es peri umbilical, posteriormente se localiza en el cuadrante inferior derecho. La fiebre es moderada y de corta duración. Al examinar al paciente, puede encontrarse dolor abdominal leve a la palpación, que puede semejar un cuadro de colecistitis o apendicitis.

La temperatura aumenta en forma gradual durante cinco a siete días, y después se estabiliza como fiebre continua o levemente remitente entre los límites de 39 y 40° C. La temperatura puede sostenerse a estos niveles con escasa variación durante dos a tres semanas. Ocurre una bradicardia relativa en 39 y 49% de los pacientes. La fiebre prolongada y persistente provoca debilidad general; los pacientes están débiles y anoréxicos.

4.5.3 Salmonelosis

La salmonelosis puede ser consecuencia a la ingestión de células viables pertenecientes a una especie de la variedad de salmonella, se trata de la infección bacteriana de origen alimentario que se presenta en mayor frecuencia.

La probabilidad de infección por ingestión de un alimento que contiene salmonellas depende de la resistencia del consumidor, de la infecciosidad de la cepa de salmonella en cuestión y del número de microorganismos ingeridos. Parece ser que las salmonellas al alcanzar cifras importantes en los alimentos sin producir alteraciones detectables de su aspecto, de su olor, e incluso de su sabor.

No cabe duda que cuanto mayor sea el número cualquiera de estos microorganismos patógenos que contiene el alimento, tanto mayor es la probabilidad de provoquen infección en la persona que lo ingiere y tanto mas corto es el periodo de incubación.

4.5.4 Fuentes de *Salmonella*

Las personas y los animales son directa o indirectamente la fuente de contaminación de los alimentos con *salmonellas*. Los microorganismos pueden proceder de enfermos clínicos o portadores.

Las *salmonellas* también pueden proceder de los gatos, de los perros, de los cerdos, y de los bóvidos. Aunque la fuente, mas importante de las salmonellas en los alimentos están en las aves (en sus huevos) y los roedores.

Aproximadamente la tercera parte de los alimentos implicados en los brotes de salmonelosis son las carnes y productos derivados de las aves, que se ha prestado gran atención, como fuentes de salmonella, tanto a los huevos provistos de cáscara como a los huevos líquidos, congelados y desecados.

Pero también “las moscas desempeñan un importante papel en la diseminación de las salmoneras, sobre todo por que son vehicularles desde heces contaminadas a los alimentos” que están listos para el consumo.

4.5.4 Alimentos implicados

Los alimentos implicados con mayor frecuencia son los de distintos tipos de carne, como la de res, de aves y los distintos productos derivados de la misma, sobre todo si no están debidamente conservados y si se mantienen sin refrigeración durante mucho tiempo.

Las carnes frescas pueden contener bacterias del genero Salmonella que se producen por la enfermedad en los animales sacrificados o pueden haber sido contaminados por manipuladores. Los productos cárnicos como las empanadas de carne, el picadillo, los embutidos, las carnes crudas (el jamón, el tocino entreverado y la lengua) los sadwichs y la salsa de ají (carne picada y ají) al ser expuesto a temperatura ambiente que permiten la multiplicación de la salmonella, serán portadores innatos de las bacterias.

La carne de ave, su salsa y su jugo no deben ocasionar problemas si se manipulan y si se cocinan convenientemente; pero si bien lo mismo que el pescado y de mas alimentos marinos, los productos derivados de los mismo, como ser; la leche y los productos lácteos (incluso la leche fresca, las leches fermentadas, los helados y el queso) han producido infecciones de salmonelosis e incluso los huevos, en aquellos alimentos que no han sido suficientemente cocido o pasteurizada puede haber el riesgo de que contengan *salmonellas* vivas. Ej en Rellenos de crema. ⁽¹¹⁾

⁽¹¹⁾ Frazier W. MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS. 4 ed. España. Acribias. 1993

4.6 Aislamiento e identificación de *Salmonella*

Dentro de la sistemática analítica para el aislamiento e identificación de bacterias del género *Salmonella*, se utilizan habitualmente, varias etapas, como ser:

- Pre-enriquecimiento en medio líquidos no selectivo
- Enriquecimiento en medios líquidos selectivos
- Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos
- Confirmación bioquímica de las colonias sospechosas

4.6.1 Pre-enriquecimiento en medio líquidos no selectivo

En la etapa de pre-enriquecimiento no selectivo se logra la revivificación de las *Salmonella* lesionadas, se incrementa su vitalidad y se adquiere las condiciones fisiológicas adecuadas para su perfecto desarrollo.

El medio de selección es el agua peptonada tamponada que al mantener un pH constante favorece el desarrollo de la *Salmonella*. Por otra parte, la peptona y los fosfatos revitalizan al germen.

4.6.2 Enriquecimiento en medios líquidos selectivos

En la etapa de enriquecimiento selectivo se estimula y favorece el crecimiento de las *Salmonellas* y se restringe la proliferación de a flora competitiva.

En el medio selectivo de caldo tetrionato se inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales. La recuperación de las *Salmonella* se obtendrá entre los 42-43 ° C.

En el medio selectivo caldo selenito cisterna, el selenito inhibe el crecimiento de gran parte de la flora intestinal competitiva (*E. coli*, enterococo), sin afectar a las *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas* y *Proteus*. La cisteína favorece el crecimiento de la *Salmonella*.

4.6.3 Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos

En esta etapa se restringe aun más, el crecimiento de flora competitiva y se estimula el de las *Salmonella*. Por otra parte la composición de los distintos medios permite el crecimiento de colonias con aspecto característico en cada uno de ellos.⁽¹²⁾

4.6.4 Confirmación bioquímica de las colonias sospechosas

4.6.4.1 Prueba de citrato

El principio de esta prueba es determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo provocando alcalinidad.

Se detecta utilizando un medio de cultivo con citrato como única fuente de carbono mediante el crecimiento y la alcalinización del medio. Este aumento de pH se visualiza con el indicador azul de bromotimol que vira al alcalino a pH 7,6.

4.6.4.2 TSI

El agar triple o azúcar hierro es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio. También permite la detección de la producción de H₂S. Es un medio útil para la identificación de enterobacterias.

4.6.4.3 LIA

Este ensayo permite diferenciar los m.o que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se puede detectar además la producción de H₂S. Es muy utilizado en las técnicas de búsqueda de *Salmonella*, principalmente para

¹²Instituto Boliviano de normalización y calidad. NB 32007. ENSAYOS MICROBIOLOGICOS-DETECCION DE SALMONELLA.2003

descartar otras bacterias que dan colonias de aspecto similar en los medios diferenciales utilizados durante el aislamiento selectivo.

Durante las primeras etapas de la incubación el fondo virará el indicador de pH del medio al ácido (amarillo) por la fermentación de glucosa. Luego, si el aminoácido es descarboxilado se formarán aminas que provocan un retorno al color original del medio o hacia un viraje al básico (color violeta)

En la desaminación se produce un ácido carboxílico y NH_3 y se visualiza en la superficie la aparición de un color rojo intenso. La producción de H_2S a partir de tiosulfato se visualiza por la precipitación de sulfuro ferroso de color negro.

4.6.4.4 SIM

La capacidad que tienen algunas bacterias de poder formar sulfuro de hierro como consecuencia de la reducción del tiosulfato de H_2S , el cual reacciona con la sal férrica. También esta incluida la capacidad de formar indol a partir del triptofano y finalmente la presencia o ausencia de movilidad bacteriana (que se aprovecha en este medio semi-sólido).

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo rojo, es decir que cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo del reactivo de Kovacs descrito más adelante. El medio de cultivo utilizado debe ser rico en triptofano.

4.7 Aislamiento e identificación de *Coliformes totales y fecales*

4.7.1 Recuento en placa

Esto nos permite determinar indirectamente el número de microorganismos presentes en una muestra, en base a que se desarrollen en medio de cultivo en

placa, formando colonias. Por lo tanto se determinan por este método sólo las células microbianas VIABLES en las condiciones de trabajo (nutrientes, atmósfera, temperatura). Pero como las colonias pueden originarse tanto de una célula como de un grupo de células, se utiliza el término: UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (u.f.c.). De modo que todas las células que están en una placa tengan una adecuada disponibilidad de nutrientes, y que la incertidumbre del método sea menor.

Se establece que las condiciones óptimas de recuento se dan cuando se desarrollan entre 30 y 300 colonias por placa. Esta regla general se usa siempre que no haya una especificación diferente. Pero para los alimentos se utilizan el rango de colonias óptimas entre 25 a 250 ufc por placa. Si fuera posible y necesario se puede repetir el recuento para obtener placas con un número de colonias óptimas (ya dichas).

4.7.2 Agar Mac Conkey

Este es un medio diferencial para la detección, aislamiento y enumeración de bacterias coliformes y patógenas intestinales en aguas, productos lácteos y muestras biológicas. Su acción diferencial esta basada en que los microorganismos capaces de fermentar lactosa producen una caída de pH, junto con una absorción del colorante, apareciendo en la colonia el color rojo y las colonias de microorganismos que no fermentan la lactosa permanecen incoloras.

4.7.2.1 Colonias típicas

Las colonias de los microorganismos fermentadores de lactosa (coli-formes) en agar MacConkey son de color rojo ladrillo, eventualmente rodeadas de bilis precipitada.¹³

¹³ <http://www.analizacalidad.com/anmic.pdf>

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar mediante análisis microbiológico a coliformes totales, fecales y la *Salmonella* en alimentos listos para el consumo comercializados en locales públicos de la ciudad de El Alto en los meses de marzo a mayo del 2006.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICO

1. Determinar la presencia de Coliformes totales, fecales y la *Salmonella* en alimentos listos para el consumo comercializados en locales públicos de la ciudad de El Alto de La Paz en los meses de marzo a mayo del 2006, para ver el grado de contaminación o no contaminación de los alimentos.
2. Identificar el tipo de agente patógeno que están con más frecuencia en los alimentos listos para el consumo comercializados en locales públicos de la ciudad de El Alto de La Paz en los meses de marzo a mayo 2006.
3. Determinar en que tipo de alimentos listos para el consumo hay una mayor frecuencia de contaminación por coliformes fecales, totales y de *Salmonella*.

6. DISEÑO METODOLOGICO

6.1 Descripción de la población en estudio

La población en estudio esta constituida por cuarenta muestras de alimentos listos para el consumo. Los alimentos analizados se encontraban listos para ser consumidos. Las muestras fueron tomadas al azar, el horario de recolección de las muestras fue de 11:30 a 1:00 por ser este horario en el que hay mayor afluencia de consumidores. La cantidad de alimento recolectado fue aproximadamente de 300g el total de muestras procesadas fueron de cuarenta.

De todas las muestras tomadas se realizó un estudio prospectivo, en los cuales se realizaron recuento de colonias, pre-enriquecimiento, enriquecimiento, pruebas bioquímicas para la identificación de coliformes totales, coliformes fecales y los agentes patógenos.

6.2 Descripción del ámbito de estudio

La Población en estudio corresponde a Alimentos listos para el consumo comercializados en locales públicos de la ciudad de El Alto en las: Zona 12 de octubre, 16 de Julio, Villa Dolores y Zona Villa Bolívar A (Aeropuerto), todas estas muestras fueron procesadas durante los meses de Marzo, Abril y Mayo del 2006.

6.3 Descripción del ámbito de trabajo

El Laboratorio Municipal de la ciudad de El Alto en su interior cuenta con dos Áreas de trabajo el área de Microbiológico y el área de Bromatología. El área de Microbiología cuenta con un stock material, reactivo y medios de cultivos pues esta sección está encargada de identificar alimentos que pueden presentar contaminación por microorganismos. El laboratorio queda ubicado en la Av. Juan Pablo II. Urbanización trabajadores de AASANA en predios del Matadero Municipal del Alto.

6.4 MATERIALES

- Cajas Petri
- Tubos de Fermentación
- Tubos Durham
- Pipetas de 1 ml , 10 ml

6.5 EQUIPOS

- Autoclave
- Baño Maria
- Balanza electrónica
- Estufas
- Destilador de agua

6.6 REACTIVOS

- Agua peptonada tamponada
- Agar Mac-Conkey
- Agar PCA
- Caldo E-C
- Caldo Lauril sulfato
- Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)
- Agar Salmonella – Shigella
- Caldo Selenitocisteina
- Caldo Tetrionato
- Solucion de Yodo
- Agar-hierro-triple azucar
- Agar lisina hierro
- Agar citrato de Simmons
- Reactivo de Kovacs

6.7 METODOS

6.7.1 Preparación de la muestra

Las muestras fueron procesadas en un periodo menor de cuatro horas después de ser recolectadas y sus procesos fueron:

- Pesar 250 g de muestra
- Poner en 225 ml de agua peptonada tamponada
- Mezclar la muestra con el diluyente mediante agitación suave para obtener una mezcla homogénea.
- Partir de esta dilución para obtener las siguientes diluciones, las cuales se hacen de acuerdo al grado de contaminación de los productos.

6.7.2 Ensayos microbiológicos para el recuento de bacterias coliformes – Recuento en placa

El método consiste en colocar 1 ml del alimento homogenizado al 10 % y de las diluciones decimales a cajas petri, en un medio selectivo. Después de una incubación de 24 h a 37 °C, se cuenta el número de colonias, características.

6.7.2.1 Preparación de las diluciones

Se preparan diluciones decimales sucesivas (relación muestra/volumen de dilución 1 en 10), partiendo en general de 25 g o mL de muestra en 250 mL de diluyente para la primera dilución ($1/10$ o 10^{-1}). Para la segunda dilución ($1/100$ o 10^{-2}) se toma 1 mL de la 10^{-1} y se descarga en 9 mL de diluyente y así sucesivamente. Se descarta la pipeta luego de cada descarga

Cada vez que se prepara una dilución es necesario homogeneizarla adecuadamente para lograr una distribución de los m.o. en todo el volumen de dilución.

6.7.2.2 Vertido en placas

Con una pipeta esterilizada se transfiere 1 ml de cada una de las diluciones preparadas a cajas petri esterilizadas vacías, adecuadamente codificadas e individualizadas. Añadir 10 ml a 15ml del medio de cultivo fundido y enfriar a la temperatura de 44 a 46 °C.

Inmediatamente después de la acción del medio de cultivo homogenizar cuidadosamente el contenido de cada caja, mediante movimientos regulares y uniformes sobre una superficie plana evitando rebalses y toda contaminación externa.

Asegurase que las cajas estén en posición horizontal, durante la solidificación del medio.

6.7.2.3 Incubación

Solidificado el medio de cultivo se invierten las cajas de petri y se las incuba a 37 °C durante 24 h.

6.7.2.4 Recuento y calculo de colonias

Las colonias deben contarse después de concluido el periodo de incubación, seleccionar la dilución cuyas placas tengan un desarrollo entre 25 y 250 colonias contar las colonias sospechosas típicas con atípicas.

- **TÍPICAS:** Color rojo intenso con precipitado lactosa positivo
- **ATÍPICAS:** Color rosado amarillentas o café claro con precipitados

6.7.3 Pruebas confirmativas para coliformes

- a) Seleccionar del agar Mac Conkey y PCA 3 a 5 colonias sospechosas
- b) Inocular una colonia en un tubo de fermentación que contenga Caldo EC de la misma colonia a un tubo con caldo Laurel sulfato inocular siempre primero al caldo EC
- c) Incubar los caldos a 44,5 °C por 24 horas en Baño maria

COLIFORME TOTAL

Positivo: Producción de gas

Negativo: No hay formación de gas

COLIFORMES FECALES

Positivo: Producción de gas

Negativo: No hay formación de gas

6.7.4 Pruebas para confirmar coliforme fecal

De tubo de Caldo EC inoculado e incubado, con ayuda de un aza Bacteriologica repicar en forma independiente por agotamiento sobre la superficie de agar EMB.

Incubar las cajas invertidas 48 horas a 35 °C

Examinar las placas después de 48 horas de incubación para ver si contienen colonias presuntivas de Escherichia coli observándose colonias verde brillantes.

6.7.4.1 Confirmación de colonias presuntivas

Seleccionar 20 colonias mas típicas o sospechosas a cada una de las placas de agar selectivo TSI; LIA; indol movilidad

6.7.5 Ensayos microbiológicos para identificación de *Salmonella*

6.7.5.1 Pre-enriquecimiento

En la etapa de pre-enriquecimiento no selectivo se logra revivificación de las Salmonellas lesionadas, se incrementa su vitalidad ya adquieren condiciones fisiológicas adecuadas para su desarrollo

a) Alimentos sólidos o semisólidos

En forma aséptica pesar 25 a 50 g de muestra transferir a 225 o 450 ml de agua peptonada tamponada, respectivamente homogenizar la mezcla.

Incubar a 35°C durante 24 horas

b) Alimentos líquidos

En forma aséptica medir de 25 a 50 ml de muestra, transferir a 225 o 450ml de agua peptonada tamponada respectivamente y homogenizar

6.7.5.2 Enriquecimiento

Se realiza en medio líquido selectivo, mediante siembra del sustrato procedente del pre-enriquecimiento y sirve para favorecer el crecimiento de las salmonellas, inhibiendo el de la flora acompañante.

Después de la incubación empleando una pipeta estéril transferir 1ml del frasco de pre-enriquecimiento a 10ml de caldo tetracionato incubar a 24 horas a 42° C transferir 1 ml del frasco de pre-enriquecimiento a 10 ml de Caldo Selenito Cisterna se incubara a 24 horas a 35 °C

6.7.5.3 Aislamiento

Se efectúa sembrando el sustrato procedente del enriquecimiento en medios sólidos selectivos que nos permiten a la visualización de colonias características de salmonella.

De cada tubo de caldo de enriquecimiento inoculado e incubado, con ayuda de un asa bacteriológica, repicar en forma independiente, por agotamiento por superficie de los siguientes agares Salmonella Shigella, Mc Conkey

Incubar las cajas invertidas de 24 a 48 horas a 35 ° C

Examinar placas después de 24 a 48 horas de incubación para ver si contienen colonias presuntivas de Salmonella, basándose en las siguientes características:

a) Agar Salmonella- Shigella: Colonias translucidas transparentes u opacas y otras translucidas con centro negro.

6.7.5.4 Confirmación

Las colonias seleccionadas (presuntas a salmonellas), se confirman mediante pruebas bioquímicas. Seleccionar 20 o más colonias típicas o sospechosas de ser Salmonella de cada una de las placas de agar selectivo inocular cada una de las

colonias a agar TSI, LIA, SIM, Urea, Citrato de Simons. En Agar TSI, LIA y Citrato de Simons por picadura y estiramiento en agar SIM por picadura e incubar a 35 ° C por 24 Horas

6.7.6 Interpretación de pruebas bioquímicas

6.7.6.1 TSI

a) Fermentación de glucosa

- Fermenta la glucosa: Fondo amarillo (A)
- No fermenta la glucosa: Fondo Rojo (K)

b) Fermentación de Lactosa y/o sacarosa

- Fermenta estos azúcares: Pico amarillo (A)
- No fermenta estos azúcares: Tendido Rojo (K)

c) Producción de H₂S

- Producción de H₂S: Ennegrecimiento del medio intensidad variable
- No produce: Sin cambio

d) Producción de gas

- Produce gas: Ruptura o desplazamiento del agar
- No produce gas: Sin cambio

6.7.6.2 LIA

a) Descarboxilación de lisina

- Descarboxilación de Lisina: Fondo y tendido púrpura (K/K)
- No descarboxilación de lisina: Fondo amarillo (A)

b) Producción de H₂S:

- Produce H₂S ennegrecimiento del medio (intensidad variable)
- No produce H₂S: Sin cambio

c) Producción de gas

- Produce gas: Ruptura o desplazamiento del agar
- No produce gas: Sin cambio

d) Desaminación de lisina

- Desaminación de la lisina: Tendido rojo (R)
- No desaminación de la lisina: Tendido púrpura(K)

6.7.6.3 Citrato

El ensayo es positivo cuando se observa crecimiento a lo largo de la estría, acompañado o no de un viraje del indicador al color azul.

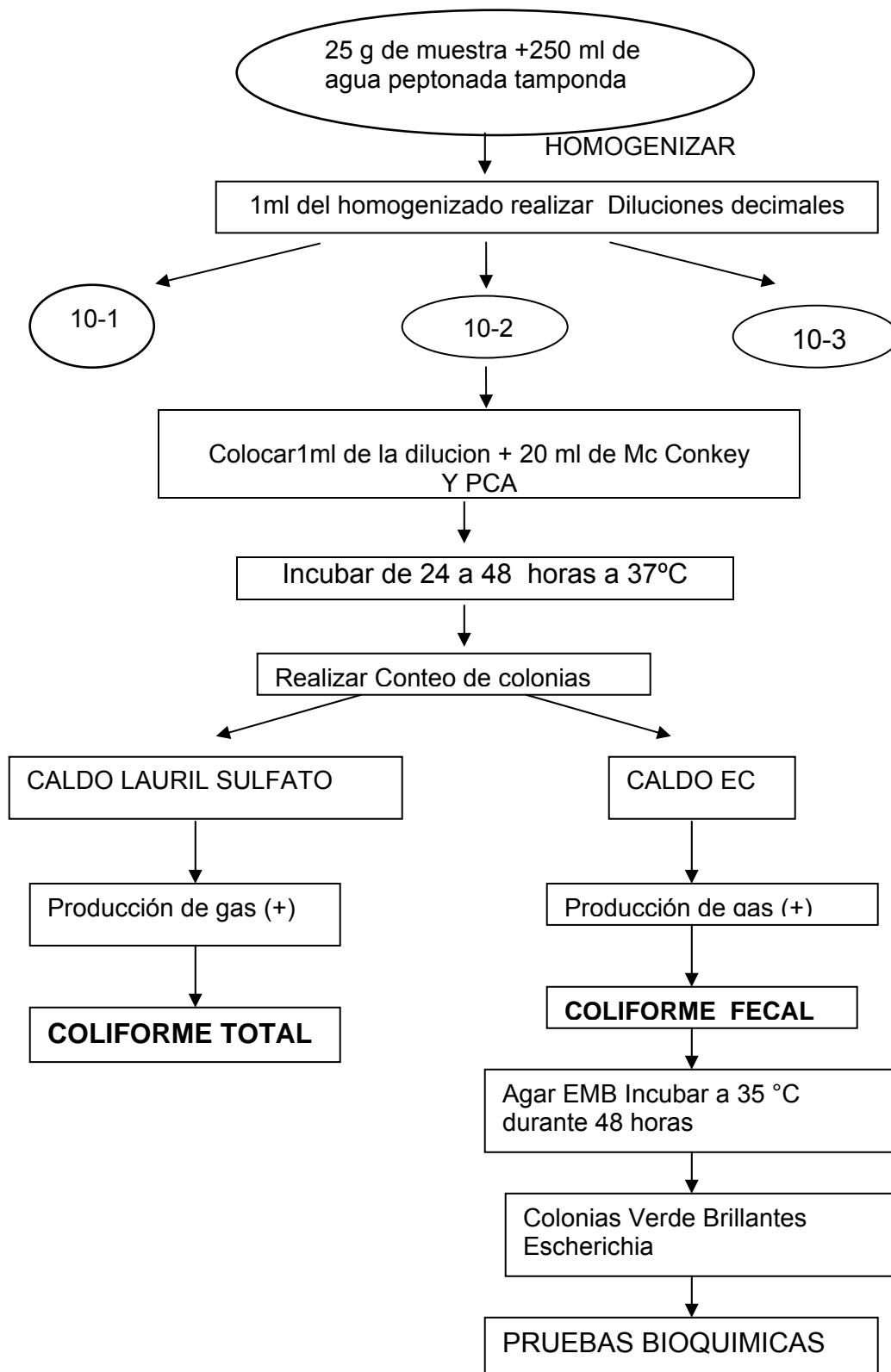
7. PROCEDIMIENTO

Al realizar la toma de muestra se observó las condiciones del lugar y se tomaron muestras de sopas, segundos, y aderezos (lajuas) antes de procesar las muestras con los antecedentes del ambiente y la manipulación se eligieron las muestras de lo que se tiene un total de:

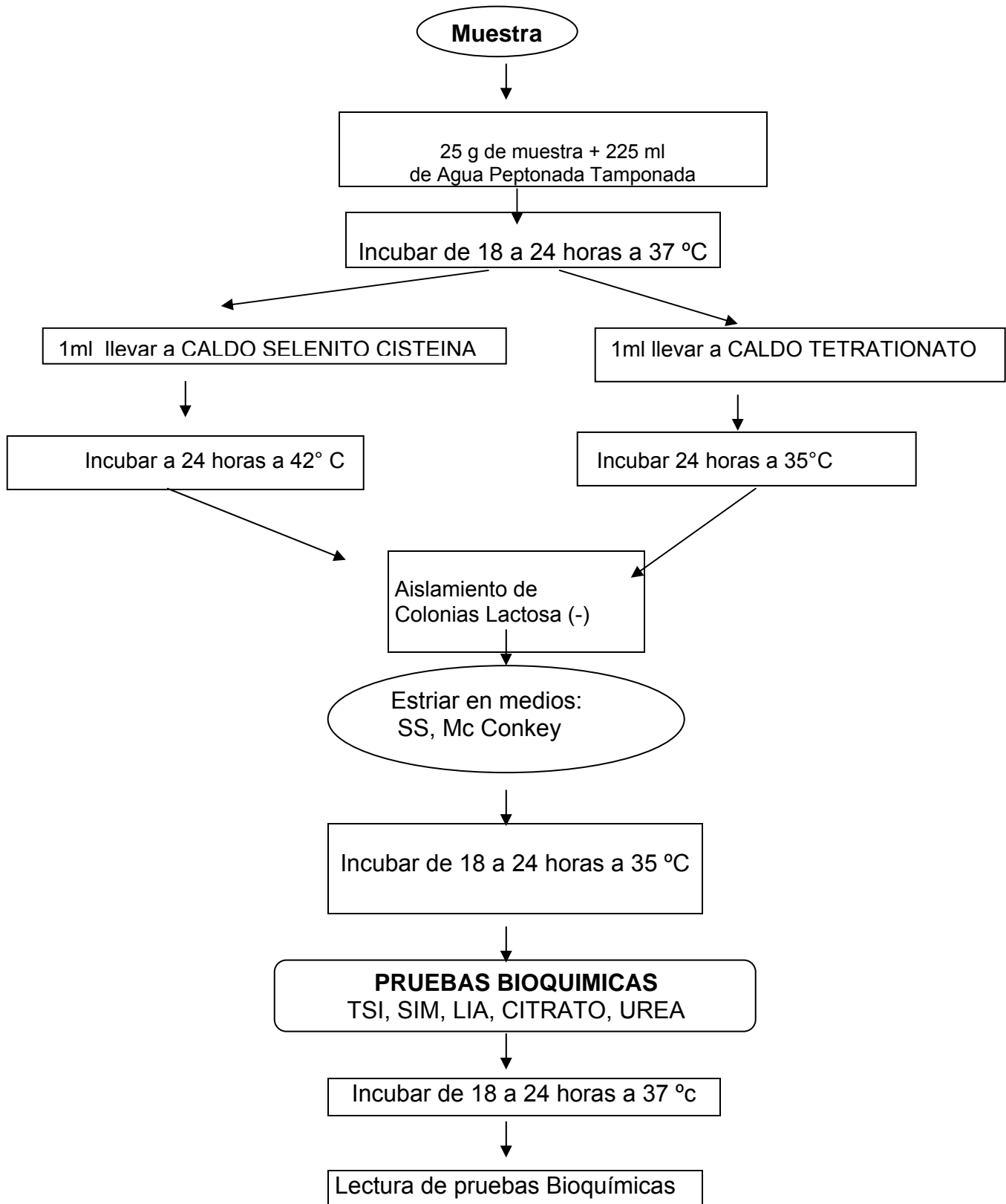
- 10 Sopas
- 15 Segundos
- 15 aderezos

Luego se procedió a realizar el análisis microbiología en estas muestras elegidas.

7.1 Recuento de coliformes Totales y fecales



7.2 Ensayos microbiológicos para la detección de *Salmonella*



8. RESULTADOS

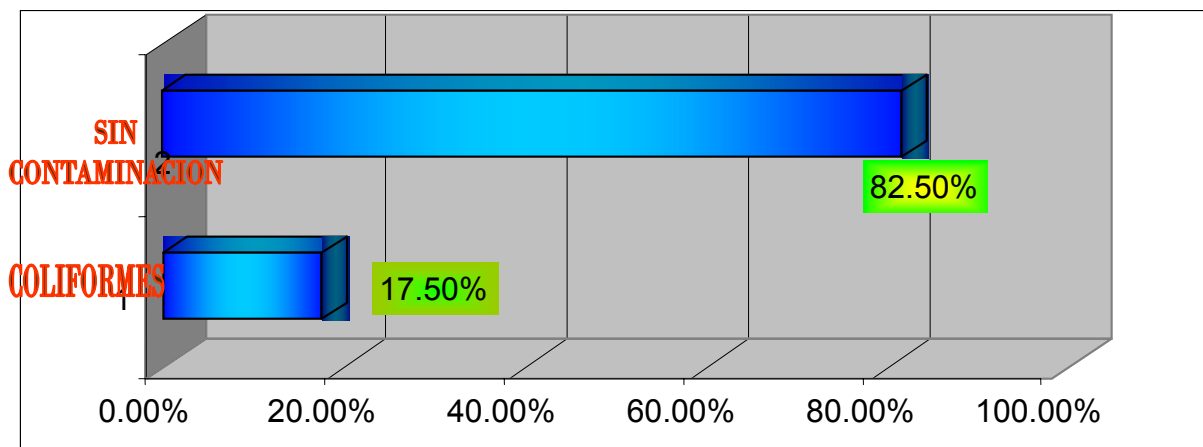
Tabla N° 1

Presencia o ausencia de coliformes totales, fecales en las muestras de alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.

Muestras analizadas	N° de muestra	%
PRESENTE	7	17.50%
AUSENTE	33	82.50%
TOTALES	40	100%

Figura N° 1

Presencia o ausencia de coliformes totales, fecales en las muestras de alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.



De un total de 45 muestras analizadas se encontraron que el 17,5 % son coliformes y un 82,50 % no presenta contaminación bacteriana por encima de los límites establecidos.

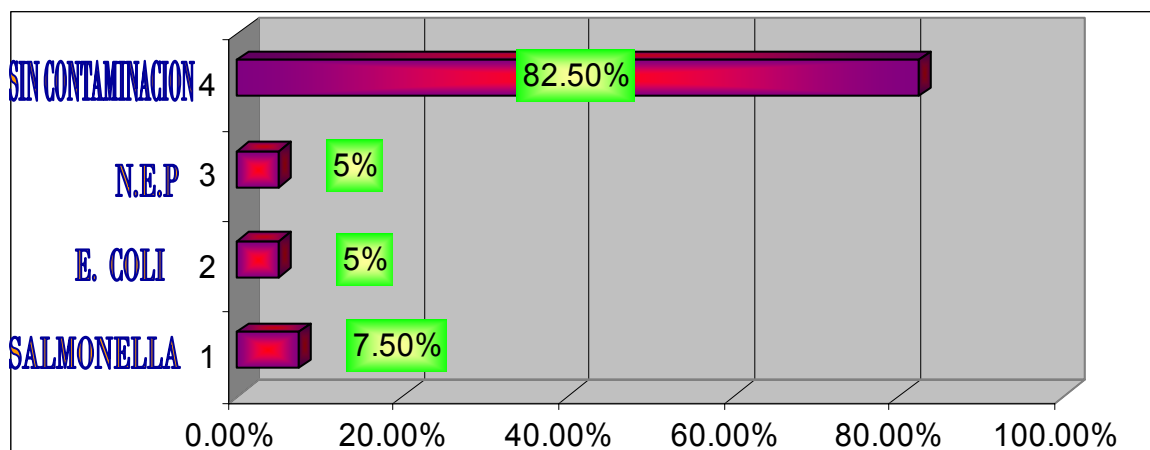
Tabla N° 2

Presencia de enteropatógenos en alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.

ENTEROPATOGENOS	Muestras	%
Salmonella	3	7.50%
E. Coli	2	5%
No enteropatógeno	2	5%
Sin contaminación	33	82.50%
	40	100.00%

Figura 2

Presencia de enteropatógenos en alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.



De un total de 40 muestras procesadas un 5 % presento E. coli, Salmonella 7,50%, un 5% no enteropatógenos y un 82,50 % no presento contaminación bacteriana.

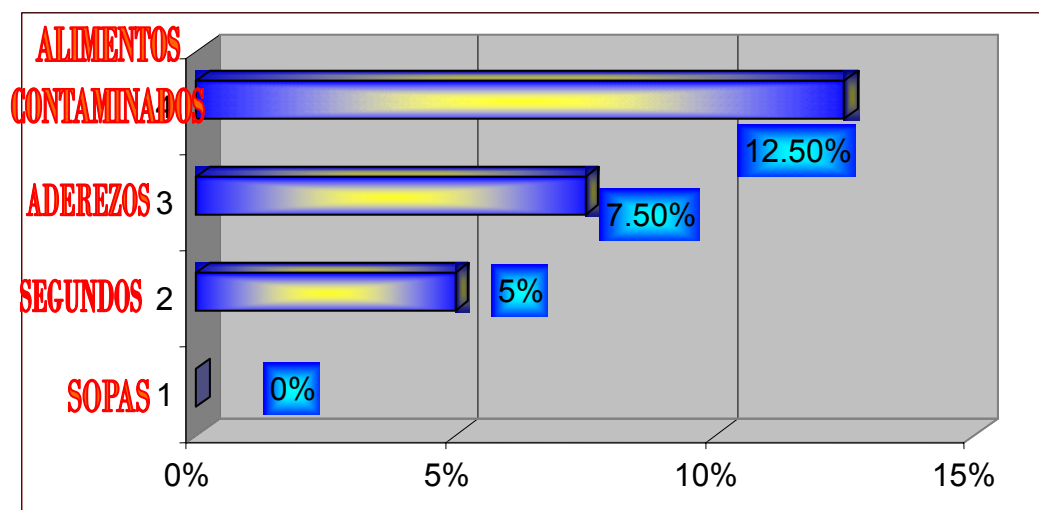
Tabla N° 3

Presencia de enteropatógenos en diferentes tipos de alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.

TIPO DE ALIMENTO	N° DE MUESTRAS	SALMONELLA	E. COLI	%
SOPAS	10	0	0	0%
SEGUNDOS	15	1	1	5%
ADEREZOS	15	2	1	7.50%
TOTAL	40	3	2	12.50%

Figura N° 3

Presencia de enteropatógenos en diferentes tipos de alimentos listos para el consumo, expendido en la ciudad de El Alto. Laboratorio Municipal del Alto. La Paz- Bolivia, de marzo a mayo del 2007.



De un total de 40 muestras procesadas se encontraron que un 5 % de los segundos y un 7,50% de los aderezos presentaron enteropatógenos y un 0% de las sopas no presento contaminación bacteriana

9. DISCUSIONES

Los alimentos que presentaron mayor cantidad de microorganismos patógenos con *Salmonella* fueron los aderezos (Llajuas) pero según el libro MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS de Frazier los alimentos contaminados con mayor frecuencia por *Salmonella* son de distintos tipos de carne, como ser la carne de ave y los productos derivados como la empanadas de carne, el picadillo, los embutidos, los sándwich y la salsas de ají, si se dejan expuestos a temperaturas ambientales que permiten la multiplicación de la *Salmonella*.

Los huevos también pueden ser portadores de *Salmonella* y aquellos alientos elaborados con huevos que no han sido suficientemente cocido o pasteurizados. .

En la Tesina: El análisis microbiológico para la investigación de coliformes y *Salmonella* en chorizos, preparados artesanalmente y expendidos en las ciudades del “El Alto”; se encontró contaminación por coliformes totales en un 54 % y *Salmonella* en un 0 %.

Los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo fueron de un 17,5 % de Coliformes totales y un 7,5 % de *Salmonella*. Esto se pudo deber a que las muestras que presentaron mayor contaminación fueron los aderezos.

En el trabajo realizado se pudo evidenciar la presencia de *Escherichia coli* en un 5% de las muestras en los alimentos como “segundo” y aderezos, y se presume que se debe a que estos alimentos no se hallaron en una refrigeración, o fue producto por la mala manipulación de los alimentos.

Pero según el Libro de MICROBIOLOGÍA ALIMENTARÍA de Pascual, la *Escherichia coli* tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraenterico, por lo que su presencia en alimentos indica contaminación reciente. Se destruye a temperatura de Pasteurizacion y también durante su almacenamiento en frío.

10. CONCLUSION

Por los resultados obtenidos en el presente trabajo podemos concluir que del 100% (de las cuarenta muestras) un 17,50 % de las muestras presento coliformes totales y fecales, un 82,50 % de las muestras son aptas para el consumo.

Sobre la presencia de enteropatógenos se encontró que en un 7,50% era *Salmonella* y en un 5 % *Escherichia coli*. También se pudo evidenciar que el 5% muestra la presencia de microorganismos no enteropatogenos lo que nos indica que son microorganismos de la familia Enterobacteriaceae como contaminantes durante el aislamiento de los dos patógenos en estudio. Un 82.50 % de las muestras no presentaron contaminación microbiológica.

De los resultados obtenidos sobre la presencia de enteropatogenos según el tipo de alimentos, los que presentaron mayor contaminación microbiológica fueron los aderezos con un 7,50 % de los cuales dos (2) muestras presentaron *Salmonella* y una de (1) *E. coli*. Esto se puede deber a que en el caso de los aderezos el más implicado es la llajua que esta preparada por tomate que es uno de los vegetales implicados en el brote de gastroenteritis

En el caso de los segundos un 5% presentó contaminación de las dos muestras uno fue por *Salmonella* y la otra por *E. coli*., mientras que en el caso de las sopas ninguna presento contaminación de *Salmonella* y *E. coli*.

La presencia de *E. coli* son testigos de falta de higiene denotaban contaminaciones cruzadas, desinfección de hortalizas de modo inadecuado y frío insuficiente. Es decir que hay una mala refrigeración o conservación de dichos alimentos.

Se deduce que el número de microorganismos presentes en las muestras de alimentos analizadas pudo estar influenciado por aquellos que se encontraban

expuestos en la zona de peligro y por algunas prácticas no adecuadas durante el manejo y elaboración de los mismos.

Uno de posibles factores que justifiquen los resultados observados, podrían deberse a la escasa formación en higiene alimentaria del personal manipulador, a unas afluencias masivas de comensales que obligan a la elaboración anticipada de grandes contingentes de comidas y al espacio reducido que presentan los locales para la manipulación y conservación de estos productos.

Por ultimo los métodos fueron validados a través de la utilización de cepas ATCC concretamente *Escherichia coli* ATCC 514551 con un índice de perfil con la certeza del 97.7 %. Los cuales permitieron al análisis microbiológico de las cuarenta (40) muestras para detectar la *Salmonella* y *E. coli*.

11. RECOMENDACIONES

Es muy importante pedir a las autoridades de salud y más que todo a la Alcaldía Municipal de la ciudad de El Alto un mayor control de las condiciones en que se elaboran los alimentos antes de ser expendidos a los consumidores, y tener un control sanitario del manipulador o vendedor de alimentos.

Se deberá realizar un control sanitario que es la vigilancia a través de exámenes médicos periódicos, que se efectuaran para descartar la presencia de alguna enfermedad infecto-contagiosa en el manipulador- vendedor y su diseminación a través de los alimentos

Las personas que manipulan alimentos, juegan un papel importante con sus actitudes para prevenir la contaminación, ya que esta es causada principalmente por la falta de higiene en la manipulación. El correcto lavado de las manos es el principal hábito que debe practicar cualquier persona que manipule alimentos, por

que es el medio de eliminar la mayor parte de los microbios que las manos pueden llevar a los mismos.

En la preparación de alimentos el manipulador deberá considerar: Lavar cuidadosamente los utensilios antes y después de cada preparación, lavar bien la superficie donde pela, corta, pica o prepara alimentos, antes y después de utilizarla. Mantener aseado el lugar donde se manipula alimentos.

Realizar el mismo estudio en la venta ambulatoria de alimentos en vía publica ya que existe una gran cantidad en esta ciudad, y son los que mas son consumidos por la población por su bajo costo y se encuentran cerca de los lugares de trabajo.

12. BIBLIOGRAFIA

1. [ww.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/ foodborneinfections_g_sp.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/foodborneinfections_g_sp.htm) - 101k
2. <http://www.fodsaafety.gov.cdc>
3. Espada A, Montiveros D. VIGILANCIA DE CONTAMINATES MICROBIOLOGICOS EN ALIMENTOS AÑO 2002. INLASA. 2002
4. grad.uprm.edu/tesis/buenoperez.pdf
5. Boletín epidemiológico en Bogotá. ESTRATEGIAS DE DISTINCIÓN SANITARIA DE RESTAURANTES POPULARES 2003-2004.
6. Organización Mundial de la Salud. CODEX ALIMENTARIO.1 ed. La Paz. Sistemas gráficos color.2003
7. Organización Mundial de la Salud. MANUAL DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS. 1 ED. 2003.
8. Instituto Boliviano de normalización y calidad. NB 32005 . ENSAYOS MICROBIOLOGICOS RECUECTOTE BACTERIAS COLIFORMES
9. <http://es.wikipedia.org/wiki/Coliforme>
10. Pascual. MICROBIOLOGÍA ALIMENTARÍA Metodología analítica para alientos y bebidas. 1 ed 1992
11. Frazier W. MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS. 4 ed. España. Acribias. 1993
12. Instituto Boliviano de normalización y calidad. NB 32007. ENSAYOS MICROBIOLOGICOS.- DETECCION DE SALMONELLA. 2003
13. [http// www.analizacalida.com/anmic.pdf](http://www.analizacalida.com/anmic.pdf)

ANEXOS

AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB)

Formula (g/ L) pH 6.8 +/- 0,2

Peptona	10.0
Lactosa	10.0
Fosfato dipotasico	2.0
Eosina	0.4
Azul de metileno	0,06
Agar	15,0

Añadir 37,5 g a un litro de agua destilada. Llevar a ebullición hasta disolución completo. Esterilizar en autoclave a 121°C, 15 minutos, enfriar a 60 °C agitar el medio para oxidar el azul de metileno (que recupera su color azul y para suspender el precipitado que forma parte esencial del medio).

Composición

Digerido pancreático de gelatina	17,0 g
Digerido pancreático de caseína	1,5 g
Digerido péptico de tejido animal	1,5 g
Lactosa	10,0 g
Mezcla de sales biliares	1,5 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	13,5 g
Rojo neutro	30,0 mg
Cristal violeta	1,0 mg
Agua destilada	1.000 mL
pH final	7,1 ± 0,2

Suspender los ingredientes en el agua destilada. Calentar agitando frecuentemente y dejar hervir hasta disolver completamente. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

AGAR SALMONELLA- SHIGELLA (AGAR S-S)**Formula (g/ L) pH 7,0 +/- 0,2**

Polvo “ Lab-lemco”	5.0
Peptona	5.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	8.5
Citrato sodico	10.0
Hiposulfito sodico	8.5
Citrato ferrico	1,0
Verde Brillante	0,00033
Rojo neutro	0,025
Agar	15,0

Añadir 63 g a 1 litro de agua destilada. Llevar a ebullición con agitación frecuente y dejar hasta la disolución del agar. No autoclavar. Enfriar a 50 °C mezclar y repartir en placas petri estériles.

AGAR SIM**Formula (g/L) ph 7,3 +/- 0,2**

Triptona	20.0
Peptona	6,1
Sulfato amonico ferroso	0.2
Tiosulfato sodico	0.2
Agar	3.5

Añadir 30 g en un litro de agua destilada y hervir hasta disolver el medio completamente. Distribuir en los recipientes finales esterilizar por autoclave durante 15 minutos a 121 ° C.

Agar Urea

Peptona	1 g
Cloruro de sodio	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
Glucosa (0,1 %)	1 g
Urea (20 %)	20 g
Rojo de fenol	0,012 g
Agar	15 g
Agua Destilada	1 L

Pesar 29 g de Urea básica deshidratada y disolver 100 ml de agua destilada. No calentar la solución. La Urea se descompone con el calor.

Disolver 15 g de agar en 900 ml de agua destilada. Autoclavar a 121° por 15 minutos. Enfriar hasta 50° .

Agregar los 100 ml de base de Urea estéril por medios asepticos al agar y a la mezcla acuosa. Distribuir el medio asepticamente en tubos estériles, aproximadamente 495 ml por tubo y dejar solidificar en la posición pico de flauta.

AGUA PEPTONADA TAMPONADA

Peptona	10 g
Cloruro de sodio	5 g
Na ₂ HPO ₄	35 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
Agua destilada	1 L

Ajustar pH a 7,2 con Na OH 1 N autoclavar a 121° C por 15 minutos mantener refrigerado. Repartir en matraces de 225 ml.

CALDO TETRATIONATO**Formula (g/L)**

Peptona de caseína	2,5
Peptona de Carne	2,5
Sales biliares	1,0
Carbonato de Calcio	10,0
Tío sulfato de sodio	30,0

Solucion Yodo – Iodurada

Yodo	6
Ioduro de Potasio	5
Agua	20 ml

Añadir 46 g a un litro de agua destilada y llevar a ebullición. Enfriar a 45° C y agregar 20 ml de solución Yodo – Iodurada, inmediatamente antes de su uso. Mezclar continuamente, mientras se reparte en volúmenes de 10 ml en tubos.

CALDO LAURIL TRIPTONA**Formula (g/L)**

Triptona	20,0
Lactosa	5,0
Cloruro sodico	5,0
Fosfato de potasio	2,75
Fosfato monopotásico	2,75
Lauril sulfato de sodio	0,1

Añadir 35,6 g a un litro de agua destilada y distribuir en recipientes con tubos de fermentación (Durham). Esterilizar en autoclave a 121 ° C durante 15 minutos.

CALDO SELENITO CISTEINA**Formula (g/L)**

Peptona	5.00
Lactosa	4.00
Fosfato disodico	10.00
Selenito de sodio	4.00
L – Cisterna	0.01

Suspender 23 g de polvo por litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar ligeramente hasta disolución completa. Evite el calentamiento excesivo y no esterilizar en autoclave.

CALDO ESCHERICHIA COLI**Formula (g/L)**

Tripticasa o tristona	20.0 g
Sal biliar N° 3	1.50 g
Lactosa	5.0 g
Fosfato dipotaico hidrogenado	4.0 g
Fosfato de potasio dihidrogenado	1.50 g
Cloruro de sodio	50 g
Agua destilada	1000 ml

Pesar y disolver en agua destilada esteril, mezclar y ajustar el pH a 6,9 dispensar en tubos con Dirham en un volumen de 10 y 15 ml y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C.

GUIAS PARA EL ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE VARIOS PRODUCTOS LISTOS PARA EL CONSUMO

TABLE 1 Guidelines for the microbiological quality of various ready-to-eat foods

Food category (see table 2)	Criterion	Microbiological quality (CFU per gram unless stated)			
		Satisfactory	Acceptable	Unsatisfactory	Unacceptable/potentially hazardous*
	Aerobic colony count[†] 30°C/48h				
1		<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	≥10 ⁴	N/A
2		<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵	N/A
3		<10 ⁵	10 ⁵ -<10 ⁶	≥10 ⁶	N/A
4		<10 ⁶	10 ⁶ -<10 ⁷	≥10 ⁷	N/A
5		N/A	N/A	N/A	N/A
	Indicator organisms[‡]				
1-5	Enterobacteriaceae [§]	<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴	N/A
1-5	<i>E. coli</i> (total)	<20	20-<100	≥100	N/A
1-5	<i>Listeria</i> spp (total)	<20	20-<100	≥100	N/A
	Pathogens				
1-5	<i>Salmonella</i> spp	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>Campylobacter</i> spp	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>E. coli</i> O157 & other VTEC	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>V. cholerae</i>	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>V. parahaemolyticus</i> [¶]	<20	20-<100	100-<10 ³	≥10 ³
1-5	<i>L. monocytogenes</i>	<20**	20-<100	N/A	≥100
1-5	<i>S. aureus</i>	<20	20-<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴
1-5	<i>C. perfringens</i>	<20	20-<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴
1-5	<i>B. cereus</i> and other pathogenic <i>Bacillus</i> spp [¶]	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵

* Prosecution based solely on high colony counts and/or indicator organisms in the absence of other criteria of unacceptability is unlikely to be successful.

† Guidelines for aerobic colony counts may not apply to certain fermented foods – for example, salami, soft cheese, and unpasteurised yoghurt. These foods fall into category 5. Acceptability is based on appearance, smell, texture, and the levels or absence of indicator organisms or pathogens.

‡ On occasions some strains may be pathogenic.

§ Not applicable to fresh fruit, vegetables and salad vegetables.

¶ Relevant to seafood only.

If the *Bacillus* counts exceed 10³ CFU/g, the organism should be identified.

** Not detected in 25g for certain long shelf-life products under refrigeration

NA Not applicable

BOX 2 Grades of microbiological quality

The terms used to express the microbiological quality of the ready-to-eat foods are:

- Satisfactory – test results indicating good microbiological quality
- Acceptable – an index reflecting a borderline limit of microbiological quality
- Unsatisfactory – test results indicating that further sampling may be necessary and that environmental health officers may wish to undertake a further inspection of the premises concerned to determine whether hygiene practices for food production or handling are adequate or not.
- Unacceptable/potentially hazardous – test results indicating that urgent attention is needed to locate the source of the problem; a detailed risk assessment is recommended. Such results may also form a basis for prosecution by environmental health departments, especially if they occur in more than one sample. Food examiners will wish to draw on their own experience and expertise in determining the advice and comments they wish to give and they will be required to do this if invited to give an expert opinion during legal proceedings.

INFORME DE RECOLECCION DE MUESTRAS**A. IDENTIFICACION**

Especificar el Local y dirección:

Calle y Numero

NUMERO DE AMONESTACION:

NOMBRE DEL PRODUCTO:

PROPIETARIO:

CANTIDAD APROXIMADA:

B. MUESTRA A EXAMINAR

Tipo de muestra: () restos de alimentos () superficie ambiental

C. MUESTRAS DE RESTOS DE ALIMENTO O SUPERFICIE AMBIENTAL

Identificación de muestra a ser examinada.....

Análisis solicitado.....

FECHA:

NOMBRE DEL ANALISTA

FOTOS

RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES



Preparación de medio PCA



Homogenizado de la muestra y diluyente



Vertido de Agar PCA en placas



Placa de PCA



Colonias en agar PCA



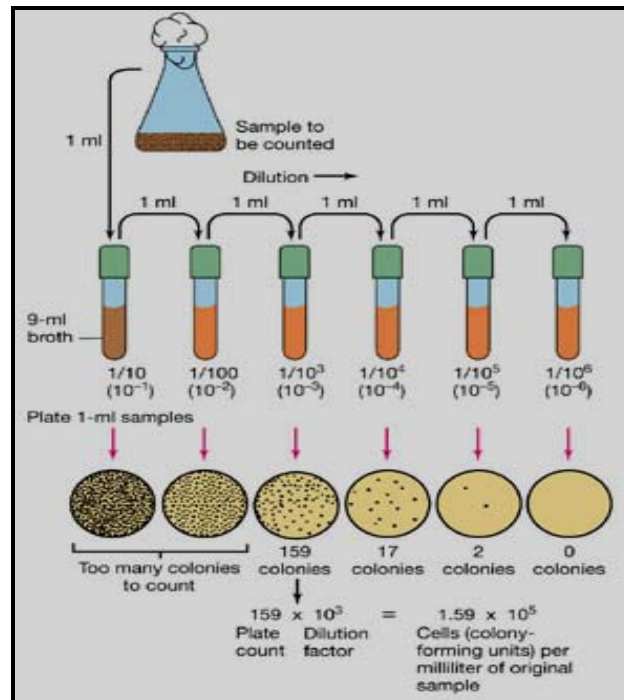
Recuento de colonias en Agar PCA



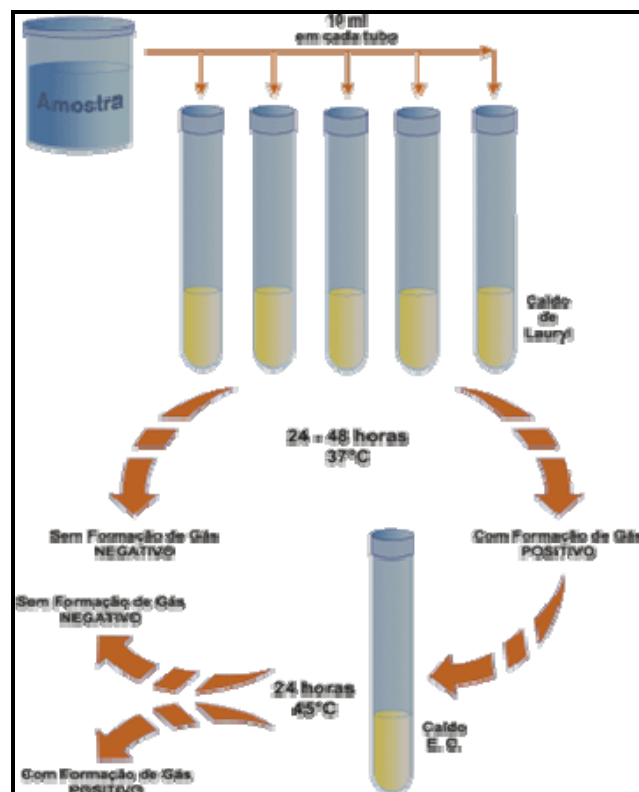
***E. coli* en Agar Mac Conkey**

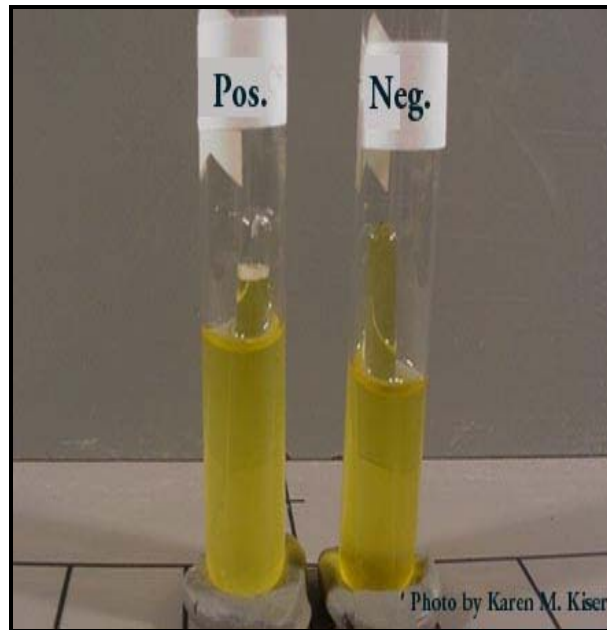


***E. coli* en Agar Mac Conkey**



Preparación de las diluciones

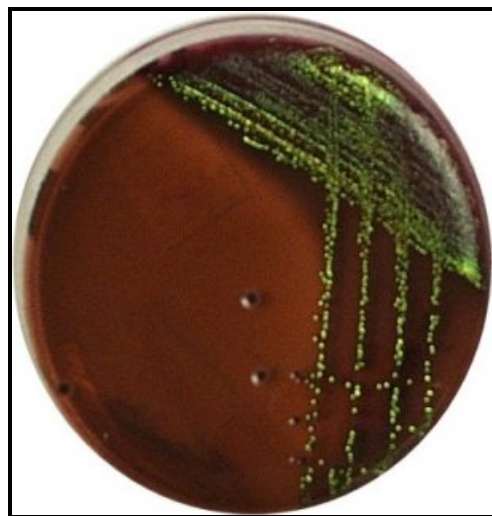
PRUEBA CONFIRMATIVA PARA COLIFORMES.
En caldo Lauril sulfato y Caldo EC



**Producción de Gas en tubo de fermentación
con caldo Lauril sulfato**



***E. coli* en Agar EMB**



***E. coli* en Agar EMB**

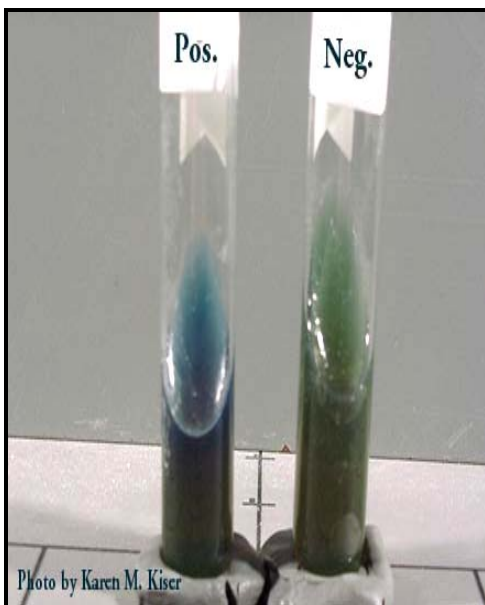
ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS PARA IDENTIFICACIÓN DE SALMONELLA**Aislamiento de Salmonella en Agar SS****Aislamiento de Salmonella en Agar SS****Salmonella en agar Mac Conkey**

PRUEBAS BIOQUIMICAS

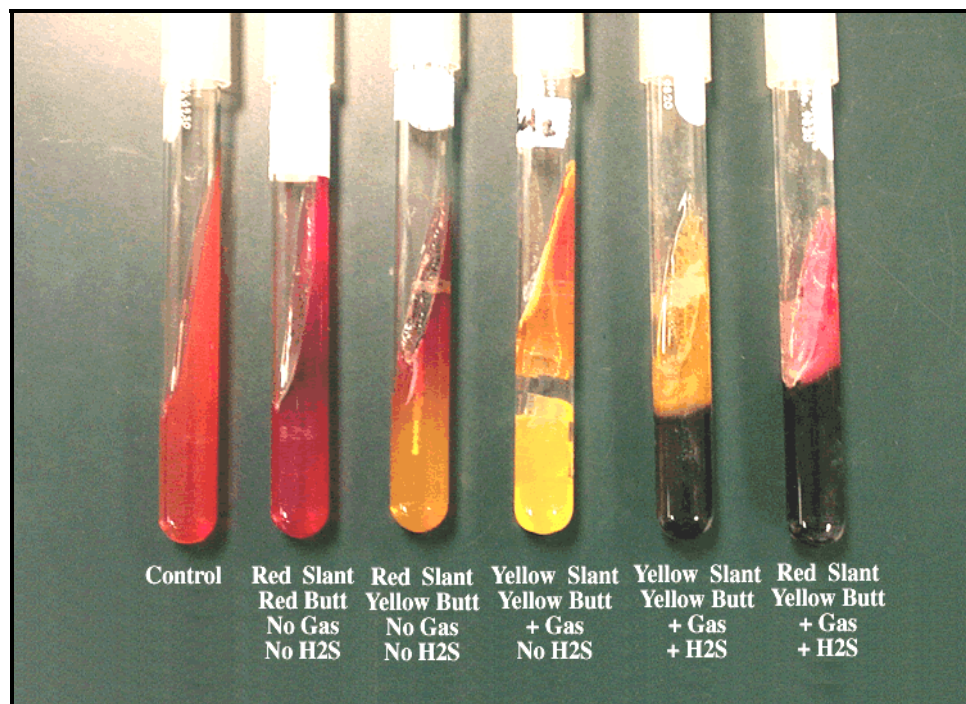
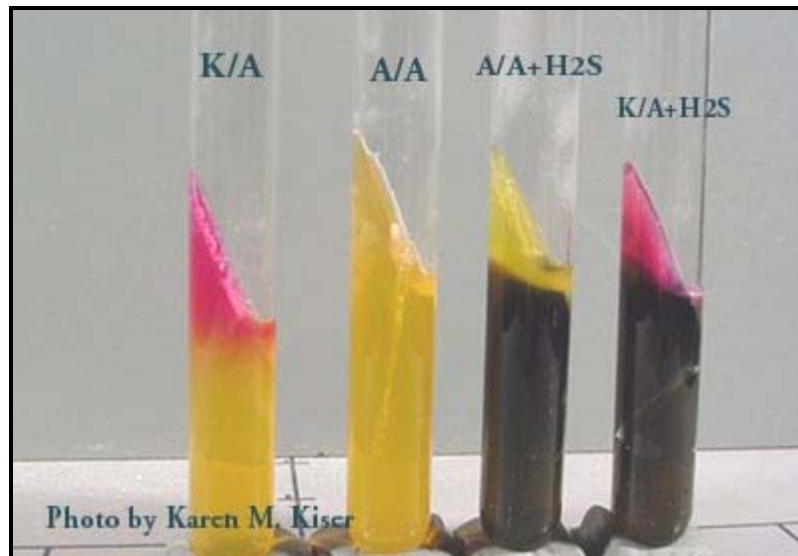


Batería de pruebas bioquímicas

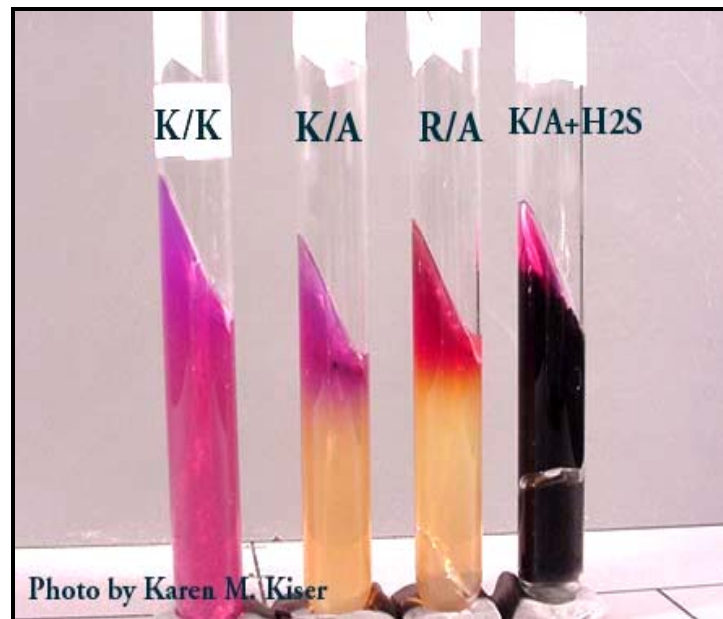
❖ Agar Citrato de Simmons



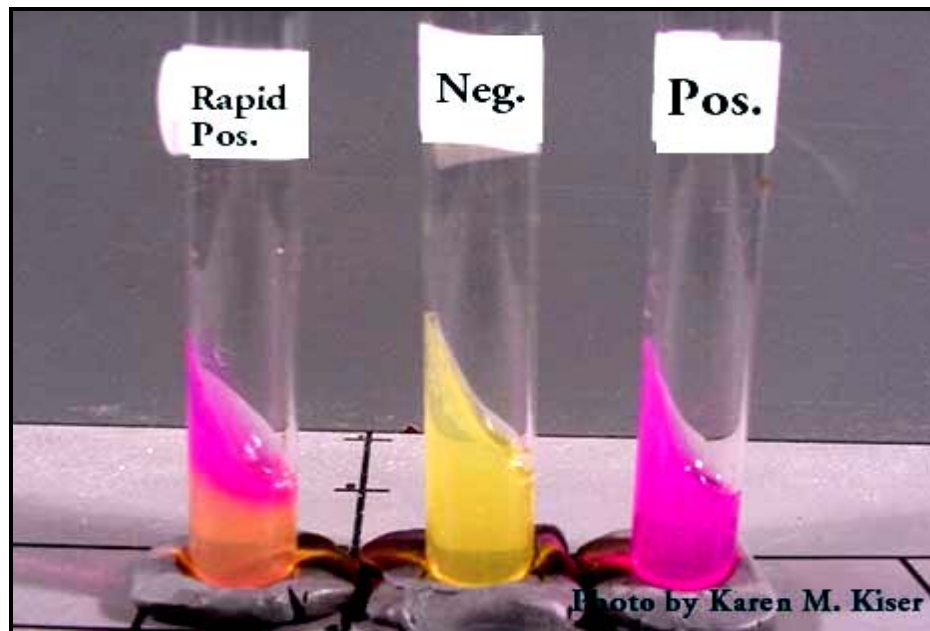
❖ Agar TSI



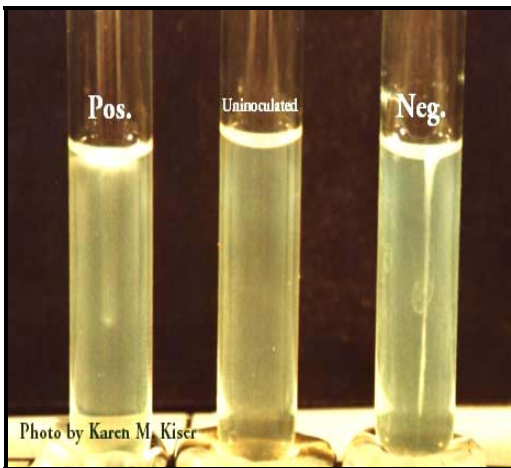
❖ Agar LIA



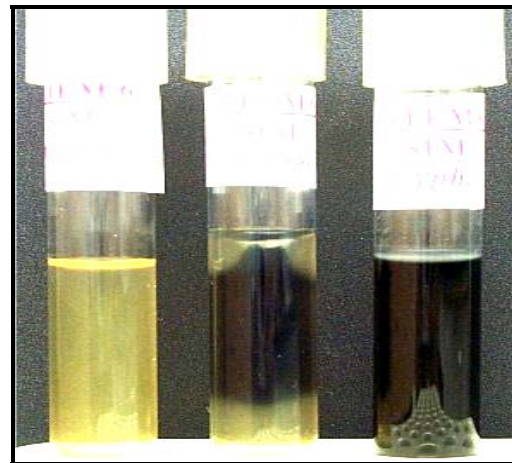
❖ UREA



❖ MEDIO SIM



Motilidad



Producción de Gas

