

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

Determinación de la carga bacteriana más frecuente en pollo fresco, distribuido en el mercado "Ciudad Real", situado en la zona 12 de la Ciudad de Guatemala.

ANA LUCIA MAZARIEGOS GIRÓN

Guatemala, noviembre de 2004

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

Determinación de la carga bacteriana más frecuente en pollo
Fresco, distribuido en el mercado "Ciudad Real", situado en la
Zona 12 de la Ciudad de Guatemala.

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

POR

ANA LUCIA MAZARIEGOS GIRÓN

Al conferírsele el Título Académico de

MÉDICO VETERINARIO

Guatemala, noviembre de 2004

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO:	Dr. M.V. MARIO LLERENA
SECRETARIA:	Dra. M.V. BEATRIZ SANTIZO
VOCAL PRIMERO:	Dr. M.V. YERI VÉLIZ PORRAS
VOCAL SEGUNDO:	Dr. M.V. FREDY GONZALEZ
VOCAL TERCERO:	Dr. M.V. EDGAR BAILEY
VOCAL CUARTO:	Br. ESTUARDO RUANO
VOCAL QUINTO:	Br. DANIEL BARRIOS

ASESORES:

Dra. M.V. Blanca Zelaya de Romillo

Dra. M.V. Virginia de Corzo

Dr. M.V. Wilson Valdéz

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los Estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

Determinación de la carga bacteriana más frecuente en pollo fresco, distribuido en el mercado "Ciudad Real", situado en la zona 12 de la ciudad de Guatemala.

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A Dios por haberme permitido culminar mi carrera universitaria.

A mi hijo, Sebastián, por ser el motor que impulsa mi vida.

A mi esposo, Otto, por su apoyo, paciencia y ayuda.

A mis padres, Esther y Víctor Manuel, a quienes les debo lo que soy.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A las Dras. M.V. Blanca de Romillo y M.V. Virginia de Corzo, sumamente agradecida.

Al Dr. M.V. Wilson Valdéz.

Al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por toda la ayuda prestada.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
3.1. General	3
3.2. Específicos	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1. Composición de la Carne	4
4.2. Métodos de Conservación de la Carne	5
4.2.1. Control de la Temperatura	5
4.2.1.1. Refrigeración	5
4.2.1.2. Congelación	6
4.3. Alteración de la Carne	7
4.3.1. Factores que Contribuyen a la Contaminación de la Carne	7
4.3.1.1. Cocinado y Refrigeración	8
4.3.1.2. Contaminación Cruzada	8
4.4. Factores que Afectan el Crecimiento de los Microorganismos	9
4.4.1. Temperatura	9
4.4.2. Actividad de Agua (AW)	10
4.4.3. PH	11
4.4.4. Humedad	11
4.4.5. Ambiente	12
4.4.6. Humanos	12
4.5. Principales Bacterias que Alteran la Carne	12
4.5.1. Crecimiento y Multiplicación	13
4.5.2. <u>Escherichia coli</u>	14
4.5.2.1. <u>E. coli</u> enteropatógena (EPEC)	15
4.5.2.2. <u>E. coli</u> enterotoxigénica (ETEC)	15
4.5.2.3. <u>E. coli</u> enteroinvasiva (EIEC)	15

4.5.2.4. <u>E. coli</u> enterohemorrágica (EHEC)	15
4.5.2.5. <u>E. coli</u> enteroadherente (EAEC)	15
4.6. Importancia del Control Microbiológico de los Alimentos	16
4.6.1. Métodos para la Determinación de Microorganismos	16
4.6.1.1. <i>Agar Plate Count</i>	17
4.6.1.2. <i>Chromocult Agar para Coniformes</i>	18
4.6.1.2.1. <i>Interpretación</i>	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1 Materiales	20
5.1.1. Recursos Humanos	20
5.1.2. Recursos de Laboratorio	20
5.1.3. Recursos Biológicos	21
5.1.4. Recursos Químicos	21
5.1.5. Recursos Físicos	21
5.1.6. Centros de Referencia	21
5.2. Metodología	22
5.2.1. Universo	22
5.2.2. Diseño de Estudio	22
5.2.3. Procesamiento de la Muestra en el Laboratorio	22
5.2.3.1. Procesamiento para determinar recuento de unidades formadoras de colonia (UFC/gr.) y aislamiento de <i>E. coli</i>	22
5.2.4. Análisis Estadístico	23
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
VII. CONCLUSIONES	25
VIII. RECOMENDACIONES	26
IX. RESUMEN	27
X. BIBLIOGRAFÍA	29
XI. ANEXOS	31
Encuesta sobre expendios de carne de pollo	32
Ficha No. 1: Ficha de registro de resultados de encuesta a expendios	33
Tabla 1: Recuento promedio de la carga bacteriana en carne de pollo expendida en el mercado Ciudad Real de la Ciudad de Guatemala	34

Gráfica 1: Recuento promedio de la carga bacteriana en carne de pollo expendida en el mercado Ciudad Real en la Ciudad de Guatemala, marzo 2003 35

Tabla 2: Recuento Promedio de la carga de *Escherichia coli* en carne de pollo expendida en el mercado Ciudad Real de la Ciudad de Guatemala 36

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la preocupación general de los consumidores ha estimulado la demanda de alimentos más sanos y de mayor calidad. La inocuidad de los alimentos es esencial para mantener la salud y el bienestar del hombre, y la complejidad, cada vez mayor de la sociedad moderna ha incrementado los riesgos de contaminación de los alimentos mediante la acción de varios agentes químicos, físicos y biológicos.

Además, durante las últimas décadas, se han identificado varios patógenos importantes que se transmiten a través de los alimentos, así como nuevos métodos de propagación de éstos. Por lo tanto, la habilidad que tienen los microorganismos para evolucionar rápidamente y adaptarse a su medio ambiente, presentan nuevos retos microbiológicos para todas las personas involucradas en la industria alimentaria.

Los brotes de enfermedades transmitidas a través de los alimentos nos recuerdan que bajo ciertas circunstancias los alimentos comunes pueden causar enfermedades con consecuencias graves, incluso la muerte.

Es por eso que la inocuidad de los alimentos es importante desde la salud de la parvada, la producción, preparación y presentación de los alimentos para así mantener una buena calidad de los mismos

El presente estudio abarca la determinación de la carga bacteriana más frecuente en la carne de pollo fresco, la cual es distribuida en el Mercado "Ciudad Real", situado en la ciudad capital de Guatemala. Se realizó recuento total de bacterias y la presencia de *Escherichia coli*. De esta manera se pudo determinar la carga bacteriológica existente entre las distintas marcas de carne de pollo distribuidas en dicho mercado.

II. Hipótesis:

La calidad microbiológica del pollo fresco distribuido en el mercado Ciudad Real se encuentra dentro de los parámetros aceptables para el consumo humano.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General:

- Evaluar la calidad bacteriológica presente en la carne de pollo fresco distribuida en el Mercado "Ciudad Real".

3.2 Objetivos Específicos:

- Determinación del recuento total de bacterias presentes en la carne de pollo fresco.
- Determinar la carga de *E. coli* en la carne de pollo fresco.
- Determinar cuál de las marcas de pollo fresco evaluadas es más aceptable para el consumo humano.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

El consumo de carne sigue siendo alto, sin embargo ha habido cambios en el tipo de carne que se consume. Por ejemplo, el aumento de consumo de carne de aves, especialmente pollo; ya que se ha reconocido como carne más sana (o posiblemente menos perjudicial). (13)

Sin embargo, los patógenos para el hombre de origen animal entran constantemente en la cadena de aporte de alimentos, donde las contaminaciones cruzadas durante el procesado pueden conducir a un elevado nivel de la contaminación de la carne fresca y los productos cárnicos, lo cual constituye uno de los principales problemas en la seguridad alimentaria. (13)

4.1. Composición de la Carne:

Aunque el consumidor puede elegir la carne en primer lugar por su apariencia atractiva, o por costumbre, es importante no olvidar su valor nutritivo.

La carne se considera, como un alimento de alto contenido protéico. Del contenido total de nitrógeno del músculo, aproximadamente el 95% es proteína y el 5% pequeños péptidos, aminoácidos y otros compuestos. La calidad de la proteína es muy alta, los tipos y las proporciones de aminoácidos son muy similares a los que requiere el crecimiento y el mantenimiento del tejido humano. De los aminoácidos esenciales, la carne aporta cantidades sustanciales de lisina y treonina y cantidades adecuadas de metionina y triptófano, aunque el contenido de estos aminoácidos en la carne es relativamente bajo. (13)

La carne tiene un contenido de lípidos relativamente alto. El tejido muscular en general es una excelente fuente de vitaminas del complejo B, especialmente tiamina, riboflavina, niacina, B₆ y B₁₂. (13)

4.2. Métodos de Conservación de la Carne:

La mayoría de los métodos de conservación se orientan a controlar el crecimiento de bacterias sobre y en el interior del alimento. (6)

4.2.1. Control de la temperatura:

El control de la temperatura ocupa el primer lugar en la lista de los métodos de conservación. (6)

Resulta variable la capacidad de los microorganismos para resistir el calor y el frío.

La actividad bacteriana disminuye considerablemente a la temperatura de refrigeración y es casi imperceptible a temperaturas por debajo de la congelación; sin embargo, algunos microorganismos como los termófilos, crecen con temperaturas superiores a las consideradas comúnmente como óptimas para el crecimiento. Otros, en el extremo opuesto, psicrófilos sobrevivirán y crecerán con las temperaturas medias del refrigerador. La congelación limita el crecimiento, aunque no mata las esporas ni incluso todas las células vegetativas. Las condiciones anormales de temperatura son probablemente la causa de alteraciones y de muerte gradual de las bacterias. (6) (7)

La refrigeración y la congelación son métodos bien conocidos para la conservación de los alimentos. (7)

4.2.1.1 Refrigeración:

Se trata de temperaturas próximas aunque superiores al punto de congelación de los alimentos frescos, generalmente 4°C a 7°C. Cuando desciende la temperatura desde la óptima, se frena la multiplicación e incluso se interrumpe. Sin embargo, con respecto a la inocuidad de los alimentos, es importante saber que los microorganismos pueden crecer, aunque lentamente, a temperaturas de refrigeración. (6) (8)

El empleo correcto de la refrigeración y de la congelación reduce mucho la alteración y los riesgos sanitarios. El tiempo durante el que pueden mantenerse refrigerados los alimentos depende de su contenido de bacterias y de hongos

antes del almacenamiento. Los alimentos crudos frescos y los cocinados recientemente con bajos recuentos bacterianos pueden almacenarse generalmente durante 3-4 días o más antes de que los gérmenes se multipliquen hasta alcanzar números que determinan la alteración de los alimentos. Los alimentos ya contaminados con un elevado número de gérmenes pueden alterarse en 1-2 días. (6)

4.2.1.2 Congelación:

La congelación no es un proceso pensado para mejorar la calidad, o para cambiar la naturaleza física o la calidad sensorial de los alimentos. La congelación es un sistema de conservación, y como tal, se dirige a limitar los daños con la intención de inducir los menores cambios posibles. (13)

Algunos microorganismos, tales como la mayoría de las esporas y algunas células vegetativas sobreviven a la congelación sin ser dañados, algunas sobreviven aunque son alteradas, y otras son inactivadas. (6)

Temperaturas de congelación altas (-10 a -20°C) son más letales para los microorganismos, que las temperaturas más bajas (-20 a -30°C), aunque el alimento puede ser perjudicado por cambio de su estructura. Muchas enzimas y algunas toxinas se mantienen activas durante la congelación de forma que puede deteriorarse lentamente la calidad de los alimentos. La flora microbiana que persiste tras la descongelación dependerá del número y tipo de microorganismos presentes en el alimento antes de su congelación, aunque algunos serán destruidos. Las condiciones en que se realiza la descongelación y el margen tiempo/temperatura tras la descongelación son hechos importantes con respecto al crecimiento de los microorganismos que sobreviven. (6)

En consecuencia, la congelación conserva a los alimentos durante un largo período de tiempo, mientras que la refrigeración simplemente retrasa el crecimiento de los gérmenes y amplía la vida útil del alimento. (6)

4.3. Alteración de la Carne:

El interés en la bacteriología de los alimentos se centraliza en su alteración o descomposición y en la transmisión de enfermedades. (7)

Puede esperarse la alteración de los alimentos, y posiblemente la intoxicación alimenticia, cuando los microorganismos se multiplican hasta alcanzar números no razonables durante el transporte tras la recolección y durante el almacenamiento antes y después de ser procesados. (6) (9)

La alteración se reconoce generalmente por cambios de olor, color, textura y sabor e incluso por una descomposición aparente. En esta etapa los recuentos bacterianos habrán aumentado hasta más de un millón, con frecuencia hasta 10-100 o más millones por gramo; la actividad metabólica bacteriana asociada con el crecimiento causa tanto la descomposición de las sustancias del alimento como la liberación de productos de fermentación, digestión y otros procesos. El potencial de descomposición de las bacterias en las carnes frescas refrigeradas, es predominantemente bacterias gramnegativas. Se alcanza un momento en el que se han agotado los nutrientes y crecimiento y división celular mantienen un equilibrio. (6) (7) (9)

Los microorganismos proporcionan inseguridad al consumidor al provocar apariencia y/u olores desagradables. Sin estos indicadores de deterioro, los organismos patógenos podrían multiplicarse al pasar desapercibidos y ser ingeridos. (9)

La tecnología alimenticia incluye factores de seguridad en la producción de alimentos para mantener una buena calidad. (6)

4.3.1. Factores que Contribuyen a la contaminación de la carne:

En la preparación de los alimentos se producen muchas malas prácticas que permiten la contaminación, supervivencia y crecimiento de bacterias que originan intoxicación por alimentos. (6)

4.3.1.1 Cocinado y refrigeración:

Cuando los alimentos se someten a un cocinado escaso o se descongelan de forma incorrecta, realizando un cocinado demasiado corto y con temperaturas demasiado bajas, pueden sobrevivir salmonelas y otros microorganismos. Un posterior almacenamiento inadecuado permitirá su multiplicación. Los procesos realizados durante la preparación de la carne de ave para la mesa ofrecen muchas oportunidades para la difusión de la contaminación y para la supervivencia y multiplicación de los gérmenes. Así, en brotes asociados con carne de aves, son importantes factores tales como descongelación incorrecta, cocinado inferior al necesario y contaminación cruzada. (6)

4.3.1.2 Contaminación Cruzada:

Si los alimentos crudos y cocinados se preparan sobre las mismas superficies usando el mismo equipo y por el mismo personal, o si se almacenan muy próximos, los microorganismos pueden difundirse desde ingredientes crudos a otros cocinados que no recibirán un tratamiento térmico posterior antes de ser consumidos. (6)

Evitar la contaminación de alimentos crudos resulta difícil, por lo que las medidas prácticas deben dirigirse a inhibir o reducir el desarrollo de los microorganismos contaminantes, asegurando así la calidad microbiológica de los productos alimenticios. Al plantear la inhibición del crecimiento microbiano se debe considerar que no toda contaminación tiene el mismo significado, las características de cada alimento influyen en la multiplicación microbiológica, mientras que unos alimentos se alteran con facilidad, otros con idénticas condiciones, permanecen estables. (3)

4.4. Factores que Afectan el Crecimiento de los Microorganismos:

Los microorganismos están presentes en el ambiente vital del hombre (agua, suelo, aire, etc.), en el propio hombre y en todos los seres vivos, plantas o animales. La contaminación de alimentos se produce desde cualquiera de estas fuentes, más tarde las operaciones de procesado y distribución proporcionan nuevas posibilidades de contaminación. (3)

Cuando las bacterias se extienden sobre un medio con agar en una placa de Petri y se dejan durante la noche con una temperatura adecuada, como 37°C comienzan a multiplicarse. Mediante la división de una célula en dos cada 15-30 minutos se forma un pequeño acúmulo de bacterias, consistente en millones de células, que es llamado una colonia. Cada clase de bacterias produce colonias con una forma típica; el tamaño, forma, color y consistencia de estas colonias en determinados medios de cultivo ayudan a su identificación. (6)

Las bacterias vivirán y se multiplicarán en muchos alimentos; algunas veces el tipo de alimento, y la temperatura y humedad de la cocina proporcionan unas condiciones similares a las usadas para el cultivo en el laboratorio. Las carnes de mamíferos y aves son ejemplos, y las bacterias se multiplicarán en ellas cuando se mantienen sin refrigeración en tiendas o cocinas. (6)

4.4.1 Temperatura:

La mayoría de las personas reconocemos la relación inversa que hay entre la estabilidad de los alimentos y la temperatura. A mayores temperaturas, más rápidamente se deterioran los alimentos. La calidad del alimento puede ser conservada por largos períodos de tiempo a bajas temperaturas. (3)

El frío afecta a los microorganismos de distintas formas dependiendo de su intensidad. Al descender la temperatura se reduce la actividad bacteriana, en consecuencia, los alimentos que permiten el crecimiento bacteriano se almacenarán a bajas temperaturas para prolongar su vida útil y mantenerlos sanos. Cuando los alimentos son enfriados o almacenados a temperaturas

próximas aunque por encima del punto de congelación, algunas bacterias crecerán lentamente, mientras que en estado de congelación o sólido, muchos microorganismos morirán directamente en el proceso de congelación; los restantes no se multiplicarán y su número tenderá a disminuir gradualmente. (6)

Los microorganismos que provocan alteración de los alimentos y que son capaces de multiplicarse en ambientes fríos son llamados psicrófilos; su temperatura óptima de crecimiento son de 15°C o más baja y la máxima de 20°C o inferior. Las formas mesofílicas crecen entre 30-37°C estos abundan en alimentos que han permanecido a temperatura ambiente y cuando se ha roto la cadena de frío, mientras que las termofílicas crecen entre 50-60°C, se caracterizan por tener una tasa de crecimiento elevado. La mayoría de los organismos son mesofílicos; 30°C es la temperatura óptima para la mayoría de las bacterias de vida libre y 37°C para los parásitos de los animales. (3) (7)

El frío intenso no destruirá a la totalidad de las bacterias, aunque evitará que se multipliquen y por esta razón los alimentos que permiten el crecimiento bacteriano serán conservados a bajas temperaturas. Los refrigeradores domésticos no solamente retrasan la alteración de los alimentos sino que también evitan la multiplicación de bacterias nocivas. La congelación mata a una proporción de células. (6)

Deberán evitarse las fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento ya que se incrementará la tasa de crecimiento según aumente la temperatura. (6)

4.4.2 Actividad de Agua (Aw):

Es la razón entre la presión de vapor del aire en equilibrio con una sustancia o solución y la presión de vapor, a la misma temperatura del agua pura. A valores elevados de Aw (cociente que oscila entre 0 y 1), superiores a 0.98, la mayoría de los microorganismos encuentran condiciones óptimas de desarrollo. Por debajo de 0.87 se inhibe el desarrollo bacteriano. Productos frescos como carnes

tienen actividad de agua superiores a 0.97, lo que explica la corta vida útil de estos alimentos. (3)

4.4.3 pH:

Determina la clase de agente contaminante y los cambios que puedan ocasionar en el alimento. (3)

La durabilidad de la carne tiene relación directa con su acidez. (9)

La mayoría de organismos tienen un límite óptimo de pH bastante estrecho, habitualmente en el intervalo 5.5-6.5. Debe determinarse el óptimo de pH para cualquier especie en cada caso. La velocidad de crecimiento puede, sin embargo, disminuir ligeramente a bajos valores de pH, ya que algunos organismos tienen un pH óptimo tan bajo como 2 y otros que pueden aumentar con un pH alto como de 8.5. Esto también puede ejercer un débil efecto selectivo, pero generalmente se considera que el pH en el intervalo 5.5-7 no afecta a la composición general de la microflora. (7) (9) (13)

4.4.4 Humedad:

Las bacterias no pueden multiplicarse sin agua, por lo que la superficie de la carne debe conservarse tan seca como sea posible para controlar el desarrollo de los organismos que se han adaptado al medio ambiente frío, pero que necesitan humedad para incrementar su crecimiento. (6) (7)

Las carnes cocinadas frías contienen humedad suficiente para permitir el crecimiento, mientras que en los productos deshidratados sobrevivirán las bacterias aunque en estado latente hasta que se añada agua suficiente para revitalizarlas. (6)

4.4.5 Ambiente:

La contaminación de la carne se puede producir indirectamente por las heces o las plumas que se diseminan durante las operaciones del sacrificio. Alternativamente técnicas deficientes en el matadero pueden permitir la contaminación directa de la carne, o de las instalaciones. (13)

Se debe considerar siempre la posibilidad de que las instalaciones o los equipos de procesamiento permitan la supervivencia a largo plazo de patógenos y de este modo actúen como un foco puntual de contaminación. (13)

El aire no constituye un hábitat bacteriano; las bacterias existen en el aire únicamente como contaminantes accidentales. Sin embargo, muchas bacterias patógenas son transportadas a través de aire sobre partículas de polvo o sobre residuos secos de partículas de saliva. (7)

4.4.6 Humanos:

Los seres humanos pueden introducir patógenos en los alimentos, durante la producción, el procesamiento, la distribución y/o la preparación de los mismos. Todas las personas involucradas en la industria alimentaria deben reconocer la necesidad de vigilancia para controlar los riesgos microbiológicos, a fin de reducir las enfermedades transmitidas a través de los alimentos. Aunque, es improbable que los portadores sean los más importantes como fuente de patógenos. (8) (13)

4.5. Principales Bacterias que Alteran la Carne:

Las bacterias son microorganismos vivos unicelulares presentes casi en todos los sitios, en el suelo, agua, polvo, ensilado, estiércol y en el aire, frecuentemente en gran número. Existen miles de tipos diferentes y muchas realizan funciones útiles, aunque algunas alteran los alimentos y otras provocan enfermedades en personas y animales. Tanto el hombre como los animales pueden albergar bacterias patógenas productoras de enfermedades que pueden invadir los alimentos y multiplicarse cuando son adecuadas las condiciones de

temperatura, tiempo y humedad. Estas células bacterianas vivas raras veces serán capaces de multiplicarse en ambientes fríos y mueren si son expuestas a calor intenso. (6)

No todos los microorganismos que contaminan los alimentos crudos tienen la misma importancia sanitaria, unos se denominan microorganismos alterantes: responsables del deterioro y cambios en los caracteres sensoriales de los alimentos y el resto corresponde a microorganismos patógenos o causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias; a diferencia de los anteriores, los alimentos que los contienen no presentan por lo general signos claros de alteración, lo que permite el que puedan ser consumidos sin que la contaminación sea evidente. (3)

Las bacterias que pueden propagarse por los alimentos tienen diversas formas. Algunas disponen de cápsulas, envolturas mucosas externas, que las protegen contra sustancias que podrían destruirlas. Las cápsulas pueden ser importantes en la enfermedad. Ciertas bacterias pueden producir cuerpos en reposo llamados esporas cuando las condiciones son desfavorables para su multiplicación, y particularmente cuando carecen de humedad. (6)

Muchas esporas pueden resistir temperaturas elevadas durante períodos largos de tiempo. Cuando las bacterias esporuladas pueden multiplicarse en los alimentos, pueden ser responsables de su alteración por descomposición del alimento con formación de gas. La multiplicación celular es más rápida con temperaturas entre 20 y 50°C (máxima 43-47°C). (6)

4.5.1. Crecimiento y Multiplicación:

Las bacterias se multiplican mediante división binaria, y en condiciones ambientales y de temperatura idóneas esto sucede cada 15-20 minutos. Cuando cada célula ha alcanzado su tamaño máximo, aparece una constricción a ambos lados de su eje central, la membrana o envoltura externa de la célula crece hacia el interior y forma una división que finalmente se rompe, dejando libres dos células nuevas gemelas. (6)

Cuando se han agotado los nutrientes disponibles en el alimento o en el medio de laboratorio o de los productos residuales del crecimiento determinan que el medio ambiente sea inadecuado, se interrumpe la multiplicación y la célula muere. La duración de la vida de una célula bacteriana depende del alimento o del medio sobre o en el que se multiplica o permanece en reposo, y también del tipo de microorganismo. Las esporas producidas por determinadas bacterias pueden sobrevivir en estado latente durante largos períodos de tiempo en condiciones adversas, aunque cuando vuelven a ser adecuadas las condiciones del alimento, humedad y temperatura son capaces de germinar dando origen a bacterias que se multiplican activamente. (6)

La habilidad que tienen algunos tipos de patógenos bacterianos de multiplicarse rápidamente, hasta alcanzar niveles peligrosos en los alimentos que se entibian o que permanecen tibios por períodos extensos de tiempo, es la razón por la cual se ven implicados frecuentemente en las enfermedades transmitidas a través de los alimentos. (8)

Para fines de esta investigación, se consideró una de las principales Enterobacterias: ***Escherichia coli***.

4.5.2. *Escherichia coli*:

Los microbios pertenecientes al género *Escherichia* están muy difundidos en la naturaleza y se encuentran, corrientemente, en el tracto intestinal normal del hombre y los animales. (11)

E. coli es un bacilo que no produce esporas, Gram-negativo. Este microbio es aerobio y anaerobio facultativo en presencia de carbohidratos fermentables. El crecimiento óptimo se consigue a la temperatura de 37.5°C, pero también se desarrolla entre 15-45°C. El pH óptimo es 7, pero tolera amplias oscilaciones. Crece fácilmente en todos los medios corrientes de laboratorio. (11)

Hay que distinguir varias situaciones patogénicas en las que *E. coli* desempeña un papel tóxico o invasivo: enteropatógenos (EPEC), enterotoxígenos (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC) y enteroadherentes (EAEC). (6) (12)

4.5.2.1. *E. coli* enteropatógena (EPEC):

Son responsables de diarrea infantil grave. La virulencia no está relacionada ni con enterotoxinas termolábiles (TL) ni con las termoestables (TE) ni con una capacidad de invasión. No es claro su mecanismo de patogenicidad.

4.5.2.2. *E. coli* enterotoxigénica (ETEC):

Reciben este nombre las cepas de *E. coli* que tienen la propiedad de colonizar en el intestino (factores de adhesión) y de producir toxinas TL o TE. Producen las siguientes enfermedades: Diarrea pediátrica, enfermedad coleriforme grave en adultos en zonas de cólera, diarrea del viajero que puede ser transmitida por alimentos o por agua. (6) (12)

4.5.2.3. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC):

Tiene propiedades invasoras de la mucosa que provocan ulceración e inflamación del intestino grueso. (6)

4.5.2.4. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC):

Conocida también como verotoxigénica (VTEC) es responsable de diarrea sanguinolenta y colitis. El serotipo predominante es el O157:H7. (6)

4.5.2.5. *E. coli* enteroadherente (EAEC):

Según la pauta de adherencia a las células. (6)

Los organismos *E. coli* patógenos pueden diferenciarse de las variedades menos nocivas mediante procedimientos inmunológicos y por otros métodos incluyendo la serotipificación esencial para estudios epidemiológicos. (6)

E. coli puede llegar a las cocinas en muchos alimentos crudos y pasa con facilidad a los alimentos cocinados por los procedimientos corrientes: manos, superficies, recipientes y otro equipo; también pueden ser transmitidos por el agua. Las excretas humanas pueden desempeñar un papel en la difusión durante los brotes epidémicos, aunque, como la mayoría de los microorganismos Gram negativos, *E. coli* no sobrevivirá durante mucho tiempo sobre la piel y los microorganismos son arrastrados mediante el lavado. (6)

Dado que *E. coli* aparece siempre en las heces, puede actuar como marcador de la polución fecal de agua, leche y alimentos. El recuento de *E. coli* en el laboratorio ayuda a valorar el riesgo potencial del agua y de los alimentos. (6)

4.6. Importancia del Control Microbiológico de los Alimentos:

El control microbiológico de los alimentos es importante desde el punto de vista sanitario porque las enfermedades microbianas que ocurren por ingestión de alimentos contaminados no han podido ser erradicadas en el mundo a pesar de los avances en el campo de la higiene.

El estado bacteriológico de la carne se pone de manifiesto en muestras superficiales y profundas. (5)

4.6.1. Métodos para la determinación de Microorganismos:

Generalmente el interior de la carne intacta es estéril o cuando menos muy pobre en bacterias. Sin embargo, la superficie se contamina por el polvo o por el manejo inmediatamente después del desmembramiento del animal. Puede encontrarse cualquier bacteria organotrófica incluyendo aquellas del suelo, del estiércol o de las personas que la manejan o manipulan. (7)

En la mayor parte de las determinaciones de microorganismos se puede realizar la cuantificación utilizando medios de cultivo líquidos o sólidos en la siembra inicial. La utilización de los medios líquidos lleva a una lectura indirecta del número aproximado de los microorganismos capaces de haber producido turbidez o determinada reacción bioquímica (cambio de color, producción de gas, etc.). La cuantificación se realiza comparando el comportamiento del juego de diluciones empleado con una tabla de promedios estadísticos creada al respecto. Este método se denomina **número más probable (NMP)** de microorganismos por un mililitro o un gramo de alimento y se recomienda su uso cuando se espera que el alimento contenga un número pequeño de los microorganismos a estudiar. (5)

La utilización de los medios sólidos implica la lectura de las colonias desarrolladas en el medio de cultivo empleado, suponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo o de un clan de ellos que se encuentra en el alimento. La cuantificación se realiza directamente y se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro o un gramo de alimento. (5)

Este método se denomina conteo en placa y se considera más exacto que el anterior. Se recomienda cuando se sospecha que el alimento contiene un número mayor de los microorganismos a estudiar. (5)

Los resultados obtenidos por ambos métodos no son comparables, por lo que deben crearse criterios microbiológicos independientes para cada uno de ellos. (5)

Entre los agares para el análisis microbiológico a utilizarse están:

4.6.1.1 Agar Plate Count (Agar-peptona de caseína-glucosa-extracto de levadura):

Medio de cultivo exento de sustancias inhibidoras y de indicadores, concebido esencialmente para la determinación del número total de gérmenes en leche, productos lácteos, aguas y otros materiales. (10)

La composición gr/litro es la siguiente: Peptona de caseína 5,0; extracto de levadura 2,5; D(+)-glucosa 1,0; Agar-agar 14,0.

Para su preparación se disuelve 22.5 g/litro y se esteriliza en autoclave (15 min. A 121°C). Antes de la esterilización se incorpora, eventualmente 1,0 g/litro de leche descremada en polvo. Las placas con medio de cultivo son claras e incoloras. (10)

4.6.1.2. Chromocult Agar para Coliformes:

Es un agar selectivo para la identificación simultánea de coliformes totales y *E. coli* en muestras de agua y alimentos.

Gracias a la acción conjunta de peptonas selectas, piruvato y tampón de fosfatos se garantiza un rápido crecimiento también de coliformes con daños subletales. El contenido en lauril sulfato inhibe ampliamente el crecimiento de bacterias gram-positivas, sin tener influencias negativas sobre el crecimiento de coliformes. (10)

La identificación simultánea de coliformes totales y *E. coli* se hace posible por la nueva combinación de dos sustratos cromógenos. El sustrato Salmon-GAL es escindido por la enzima beta-D-galactosidasa característico de coliformes y provoca una coloración roja de las colonias de coliformes. La identificación de la beta-D-glucoronidasa característica para *E. coli* tiene lugar mediante el sustrato X-glucorónico, cuyo producto de escisión produce una coloración azul de las colonias positivas. Ya que *E. coli* escinde tanto Salmon-GAL como X- glucorónido, las colonias se tiñen de violeta-azul oscuro y debido a ello son fáciles de diferenciar de las restantes coliformes, que se presentan en color rojo. (10)

Este agar se compone de peptona 3,0; cloruro sódico 5,0; dihidrogenofosfato potásico 1,7; hidrógenofosfato dipotásico 3,0; piruvato sódico 1,0; triptófano 1,0; Agar-agar 12,0; laurilsulfato sódico 0,1; mezcla de cromógenos 0,2. (10)

Para su preparación se disuelve 27 gr/litro en agua desmineralizada por calentamiento en el baño de agua hirviendo o en vapor fluente, se autoclavea 15 minutos a 121°C, y se enfría a 45-50°C y se vierte en las placas. (10)

4.6.1.2.1 Interpretación:

E. coli: Colonias violeta-azul oscuras (reacción Salmon-GAL) y reacción X-glucoronido)

Coliformes totales: Colonias rojas (reacción Salmon-GAL) y colonias violeta-azul oscuras (*E. coli*)

Otras Enterobacteriáceas: Colonias incoloras. Constituyen una excepción algunas salmonelas, que poseen actividad de beta-D-glucoronidasa. Estas colonias se colorean de turquesa azul claro. (10)

Para la confirmación de la identificación de *E. coli* se cubren las colonias coloreadas de violeta azul oscuro con una gota del reactivo de Indol según KOVACS. Una coloración rojo cereza del reactivo al cabo de aproximadamente 1 minuto indica la formación positiva de Indol. (10)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales:

5.1.1. Recursos Humanos:

- Estudiante Investigador
- Asesores del estudio

5.1.2. Recursos de Laboratorio:

- Refrigeradora
- Incubadora
- Autoclave
- Cuentacolonias Québec
- Balanza
- Probetas
- Pipetas de 1ml.
- Cajas de Petri
- Bolsas Plásticas
- Mechero de Bunsen
- Algodón
- Pinzas Estériles
- Hielera
- Marcador permanente
- Tijeras
- Campana de flujo laminar

5.1.3. Recursos Biológicos:

60 muestras de carne de pollo (cualquier porción). 10gr/muestra

5.1.4. Recursos Químicos:

- Solución salina Peptonada
- Cromo cult (Enterobacterias) Agar
- Agar Plate count (conteo de UFC/gr)

5.1.5. Recursos Físicos:

- Equipo de oficina (computadora, papel bond, impresora, diskettes, etc)
- Vehículo
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

5.1.6. Centros de Referencia:

- COGUANOR, Ministerio de Economía
- Laboratorios Merck, S.A.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

5.2 Metodología:

5.2.1 Universo:

Mercado Ciudad Real ubicado en la zona 12 de la ciudad de Guatemala.

5.2.2. Diseño de Estudio:

Lo que se realizó primero fue un conocimiento del Universo objeto de estudio y por medio de una encuesta se determinó cuántos expendios de pollo existen dentro del mismo, así como las marcas de pollo que vende cada uno, y la cantidad de cada una de ellas . Después con los datos de la encuesta, obtenidos en cada uno de los expendios, se pudo calcular el número de muestras que se iba a tomar en cada expendio necesario para dicho estudio.

El muestreo se realizó al azar en todas las pollerías ubicadas dentro del mercado Ciudad Real, realizando tres muestreos con un intervalo de 15 días, en cada uno de ellos se tomaron las muestras calculadas, hasta alcanzar el total de las muestras.

La muestra de carne de pollo que se solicitó en cada expendio fue aproximadamente de 10 gramos y se colocó en bolsas plásticas debidamente identificadas y se trasladaron en hilera al laboratorio para su posterior procesamiento.

5.2.3. Procesamiento de la muestra en el laboratorio:

5.2.3.1. Procesamiento para determinar recuento de Unidades formadoras de colonia (UFC/gr.) y aislamiento de *E. coli*

Se pesaron 10 gramos de cada muestra y se agregaron 90 ml de solución salina peptonada; y se colocaron dentro de una bolsa plástica estéril, se homogenizó por un minuto. Luego de homogenizado, se tomó 1ml de esa solución

usando una pipeta y se colocó en un tubo de ensayo conteniendo previamente 9ml de solución salina peptonada, y así sucesivamente hasta realizar 5 diluciones decimales de cada muestra que fueron de la 10⁻¹ a 10⁻⁵ y se sembraron las diluciones 10⁻³,10⁻⁴,10⁻⁵, agregándoles 1 ml de cada dilución a las placas debidamente identificadas. Para determinar el recuento de UFC se utilizó el medio de cultivo Plate count y para realizar el aislamiento de *E. coli* se utilizó el agar Cromo cult.

Las siembras se incubaron durante 24 horas a 37°C. La lectura se realizó a las 24 horas. Para el conteo de las colonias se tomaron en cuenta las diluciones que se encontraban dentro de los rangos de 30-300 UFC/gr; y se realizó un promedio de los resultados.

Todo el procedimiento desde el pesaje de la muestra, realización de diluciones y siembras se llevó a cabo con la ayuda de la campana bacteriológica y mechero.

5.2.4. Análisis Estadístico:

- ❖ Para la distribución y presentación de datos se utilizó Tablas de Distribución de Frecuencias y Gráficas. (14)

- ❖ Para la comparación de las marcas se utilizó la Prueba de T de Student, la cual se representa con la siguiente fórmula: (14)

$$t = \frac{\bar{X} - X}{\sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{N}}}$$

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el recuento promedio de la carga bacteriana en carne de pollo expendida en el Mercado Ciudad Real, se observó por medio del análisis estadístico, que existe diferencia en la calidad microbiológica entre las marcas que se expenden en dicho mercado, siendo mucho más elevada la cantidad de colonias en la marca B (Tabla 1 y gráfica 1). Tal diferencia se debe al hecho de que los expendios se encuentran ubicados en diferentes áreas, lo que da lugar a que en algunos de ellos la contaminación sea mayor por estar ubicados cerca de la calle, con lo que se favorece el crecimiento de bacterias por factores externos como humo, polvo, entre otros.

También hay que tomar en cuenta el hecho de que los vendedores tienen deficiencias en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), manipulando los alimentos de diferente forma, pudiendo ellos mismos contaminar la carne con factores como dinero y/u otro tipo de contaminantes (cabello, ropa, cuchillos, etc.)

Asimismo, los medios de transporte que se utilizan para llevar la carne de las distribuidoras centrales o plantas a los expendios podrían actuar como focos de contaminación, ya que si estos no cumplen con las normas higiénicas y sanitarias requeridas, como lo es mantener la cadena de frío, de igual manera la carne se verá expuesta a factores externos que también contribuyen a que los alimentos se contaminen.

En cuanto a la presencia de *Escherichia coli*, en la carne de pollo expendida en el mercado, se determinó que la misma era negativa para ambas marcas, por lo tanto no existe contaminación fecal durante la manipulación de la misma.

VII. CONCLUSIONES

1. Existe diferencia estadísticamente comprobable en la calidad microbiológica entre las diferentes marcas de carne de pollo que se expenden en el mercado "Ciudad Real" de la ciudad de Guatemala, siendo la marca A la que presenta menor cantidad de Unidades formadoras de colonia de bacterias por gramo de carne de pollo (UFC/gr).
2. La presencia de *Escherichia coli* en ambas marcas de carne de pollo expandida en el mercado "Ciudad Real" es negativa.
3. De las dos marcas que se expenden en el mercado "Ciudad Real", se determinó que ambas son aceptables para el consumo humano, según la norma COGUANOR (NGO 34212).

VIII. RECOMENDACIONES

1. Brindar cursos de capacitación a las personas que expenden alimentos sobre las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM´S).
2. Evaluar el impacto que tienen los medios de transporte, agua, manipulación, factores externos, etc. en la calidad microbiológica de la carne de pollo.
3. Determinar los puntos críticos de control en el expendio de la carne de pollo y trabajar en base a los mismos para poder mantener una buena calidad microbiológica de la misma.
4. Las autoridades competentes en el área de inocuidad de alimentos deben llevar un mejor control sobre la higiene de los establecimientos, brindando un ambiente adecuado para el mantenimiento de la misma en donde se expenden alimentos.

IX. RESUMEN

Se realizó un muestreo en el mercado "Ciudad Real" de la ciudad de Guatemala para evaluar la calidad microbiológica de la carne de pollo que se expende en dicho lugar. Lo que se realizó primero es un conocimiento del Universo objeto de estudio y por medio de una encuesta se determinó cuántos expendios de pollo existían dentro del mismo, así como las marcas de pollo que vendía cada uno, y la cantidad de cada una de ellas. Después con los datos obtenidos de la encuesta, se pudo calcular el número de muestras que se iba a tomar en cada expendio.

El muestreo se realizó al azar en todas las pollerías ubicadas dentro del mercado "Ciudad Real", realizando tres muestreos con un intervalo de 15 días, tomando en cada uno de ellos las muestras calculadas.

En el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala se realizaron los análisis microbiológicos para determinar el recuento total de bacterias por gramo de carne de pollo, así como la presencia de *Escherichia coli* y la cantidad de Unidades formadoras de colonias por gramo de carne (UFC/gr.). Para el recuento total de bacterias se utilizó el medio de cultivo Plate count y para el análisis de *Escherichia coli* se utilizó el medio de cultivo Cromo cult.

Los resultados obtenidos en el laboratorio indicaron que de las marcas expandidas en el mercado "Ciudad Real", la marca B contiene una cantidad más elevada de unidades formadoras de colonia que la marca A (44.95×10^6 y 22.54×10^6 , respectivamente), sin embargo ambas son aceptables según la norma COGUANOR (NGO 34212) ya que menciona que el recuento máximo permitido es de 1×10^6 ; mientras que la presencia de *Escherichia coli* fue negativa en ambas marcas.

Con este estudio quedó demostrada la importancia de la higiene en los establecimientos que expenden alimentos, así como la manipulación adecuada por parte de los expendedores y el cumplimiento de las normas higiénico-sanitarias dentro de los mismos.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson, MR. 1989. Microbiología alimentaria, detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. Madrid, Agisa. 440 p.
2. Comisión Guatemalteca de Normas (Guatemala). 1999. Pollo beneficiado listo para cocinar (pollo crudo) entero y en cortes y sus menudos. Especificaciones. Guatemala, COGUANOR. 23 p. (NGO 34212).
3. Fernández, M. 2000. Higiene alimentaria. Madrid. 5 p. (en línea). Consultado el 04 mar. 2002. Disponible en [www.saludalia.com/saludalia /web-saludalia/vivir-sano](http://www.saludalia.com/saludalia/web-saludalia/vivir-sano).
4. García, O. 2002. De la finca a la mesa, realidad actual. Guatemala. 2 p. (en línea). Consultado el 23 may. 2002. Disponible en <http://ns1.oirsa.org.sv/Dio501/Edición-Especial-50/Volumen-06-02.htm>.
5. Gracey, J. 1989. Higiene de la carne. Trad. por Bernabé Sanz Pérez. 8ª. ed. España, Interamericana. 522 p.
6. Hobbs, BC. ; Roberts, D. 1993. Higiene y toxicología de los alimentos. Trad. por Pedro Ducar Maluenda. 3 ed. España, Acribia. 275 p.
7. Jawetz, E. 1996. Microbiología médica. Trad. por Jorge A. Mériço Fane. 15 ed. México, Manual Moderno. 807 p.
8. Knabel, SJ. 2002. Enfermedades transmitidas a través de los alimentos: Papel que juegan las prácticas usadas en el manejo de los alimentos en el hogar. Estados Unidos. 22 p. (en línea). Consultado el 23 may. 2002. Disponible en <http://www.worldfoodscience.org/ciencia/hogar.html>.
9. Libby, JA. 1986. Higiene de la carne. México, Continental. 659 p.
10. Manual de medios de cultivo. 1994. Alemania, Merck. 364 p.
11. Merchant, IA. ; Packer, RA. 1984. Bacteriología y virología veterinarias. Trad. por Miguel Cordero del Campillo. España, Acribia. 768 p.
12. Nicolet, J. 1985. Compendio de bacteriología médica veterinaria. Trad. por José Romero Muñoz de Arenillas. España, Acribia. 275 p.

13. Varnam, AH. ; Sutherland, JP. 1995. Carne y productos cárnicos; Tecnología, química y microbiología. Trad. por Isabel Jaime Moreno España, Acribia. 423 p.
14. Zarate, GP. ; Gil, SI. 1984. Métodos Estadísticos. México, Trillas. 643 p.

XI.ANEXOS

ENCUESTA SOBRE EXPENDIOS DE CARNE DE POLLO

Fecha:

No. de Expendio: _____

Marcas de Pollo que vende:

Cantidad de carne de pollo que se venden por marca:

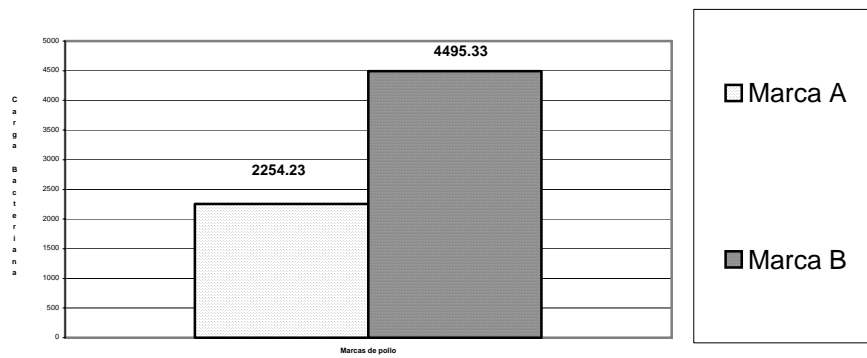
FICHA No. 1
FICHA DE REGISTRO DE RESULTADOS DE ENCUESTA A EXPENDIOS

Fecha	No. de Expendio	Marca de Pollo Vendido	Cantidad de Pollo Vendido

**Tabla No. 1 Recuento promedio de la carga bacteriana en carne de pollo
Expendida en el Mercado "Ciudad Real" de la Ciudad de Guatemala**

MARCA DE POLLO VENDIDA	UFC/gr.
A	22.54 x 10 ²
B	44.95 x 10 ²

Recuento promedio de la carga bacteriana en carne de pollo
expandida en el mercado Ciudad Real en la Ciudad de Guatemala, marzo 2004



**Tabla No. 2 Recuento promedio de la carga de *Escherichia coli* en carne de pollo
Expendida en el Mercado "Ciudad Real" de la Ciudad de Guatemala**

MARCA DE POLLO VENDIDA	UFC/gr.
A	(-)
B	(-)