

UNIVERSIDAD DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**Frecuencia y Características de
Estafilococos Coagulasa Positiva en Alimentos**

TESIS QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTAN LAS PASANTES

Maria Lucia Alvarez Guerrero

Y

Dalia Jaen González



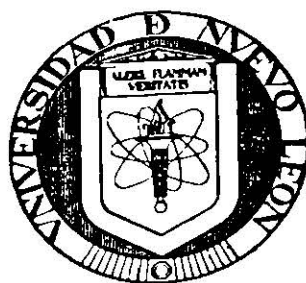
1

78

82



1080075100



UNIVERSIDAD DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**Frecuencia y Características de
Estafilococos Coagulasa Positiva en Alimentos**

TESIS QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTAN LAS PASANTES

Marta Lucia Alvarez Guerrero

Y

Dalia Jaen González



T
Q 2281
S.S. 78
44

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS de la UNIVERSIDAD DE NUEVO LEON bajo la dirección del:

Q.F.B.

JORGE VALENZUELA PEREZ

A MIS PADRES

Marta Lucía.

A MI QUERIDA TIA AURORA

Dalia.

I.- INTRODUCCION

Los estafilococos se encuentran entre las primeras bacterias patógenas descubiertas habiéndose obtenido en cultivo puro por Becker en 1883 (4). Se hallan ampliamente distribuidos y se encuentran constantemente en el medio ambiente del hombre, encontrándose en el aire, en el polvo, en el agua y en los alimentos. Infecciones estafilococicas ocurren espontáneamente en el hombre y en los animales. No es poco común encontrar abscesos estafilococicos en los tejidos de algunos animales.

La mastitis bovina es primariamente una enfermedad producida por estreptococos, pero un número apreciable de casos son causados por estafilococos (10).

Los estafilococos forman parte de la flora bacteriana de la piel y de la nasofaringe del hombre (14). Cuando se encuentran estafilococos patógenos en el medio ambiente, puede suponerse que provienen de fuentes humanas o animales (10).

La intoxicación alimenticia causada por la ingestión de alimentos contaminados por bacterias puede ser de dos clases: Botulismo, causado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum* o *C. parabotulinum* e intoxicación causada por la ingestión de la enterotoxina producida por *Staphylococcus aureus*. (3, 5, 9, 13, 16).

La intoxicación debida al estafilococo sucede, al consumo de alimentos tales como la leche, la crema y carnes contaminadas que han permanecido a la temperatura ambiente por más de 8 horas.

Se ha observado una estrecha relación entre la patogenicidad de los estafilococos y su capacidad de producir coagulasa. (17, 23).

En el presente trabajo se investigó la presencia de estafilococos

coagulasa positiva en alimentos que se consumen en la Cd. de Monterrey sin tratamiento previo.

Se determinaron algunas de las características fisiológicas de los microorganismos aislados con objeto de determinar su posible origen. Consideramos que la incidencia de estos microorganismos puede servir como índice de su condición sanitaria.

II.- MATERIAL Y METODOS

1.—SELECCION DE LAS MUESTRAS.

Se tomaron 917 muestras de no menos 200 g. cada una, de carnes frías, mariscos y carnes preparadas (representando 22 tipos diferentes), de frutas y verduras (representando 22 tipos diferentes) y quesos. En las leches se utilizó, aproximadamente $\frac{1}{4}$ de litro, en las mantequillas 100 g. de la que se expende suelta y una barrita (100 g.) de la empaquetada, de 398 establecimientos clasificados según sus condiciones sanitarias aparentes como de primera, segunda y tercera categoría en los meses de agosto, septiembre y octubre de 1962.

2.—PREPARACION DE LAS MUESTRAS. (1)

Las muestras se cortan en pequeños trozos mezclándose (las mantequillas se revuelven y las leches se agitan), de ahí se toman 20 g. y se homogenizan en una licuadora (excepto las leches y mantequillas), con 300 ml. de agua destilada estéril.

3.—AISLAMIENTO DEL ESTAFILOCOCO. (7, 8).

Se toman alicuotas de 1 ml. de las muestras homogenizadas como antes se dijo y se depositan en una caja de Petri (de la leche se toma 1 ml. directamente) vertiéndoles 10 ml. del medio siguiente previamente esterilizado y enfriado a 42°C.

Extracto de carne.....	2.5 g.
Tripticasa	10.0 g.
Gelatina	30.0 g.
Lactosa	2.0 g.
d-Manitol	10.0 g.
Cloruro de sodio.....	75.0 g.

Agar	15.0 g.
Fosfato dipotásico	5.0 g.
Agua destilada.....	1000.0 ml.*

Las muestras de mantequilla se siembran directamente en estrias sobre el medio solidificado. Se incuban todos a 37°C por 48 horas.

Se determinó la pigmentación de las colonias en tubos con medio de agar nutritivo inclinado, se sembraron aquellas que presentaron pigmento dorado, de las cajas que no se observaron colonias pigmentadas, se sembraron de las colonias blancas y se incubaron por 24 horas a 37°C.

4.—DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD GELATINOLITICA. (25, 26).

Se utilizaron dos métodos para investigar la acción gelatinolítica:

(A).—Los cultivos de las cajas de Petri que se utilizaron para el aislamiento inicial se cubren con una solución saturada de sulfato de amonio (precipitante de las proteínas), considerándose la prueba positiva cuando las colonias en estudio son rodeadas de un halo claro.

(B).—A los cultivos de las colonias que dieron la reacción anterior negativa, se les hizo otra prueba en tubo, usando el siguiente medio:

Extracto de carne.....	3 g.
Peptona	5 g.
Gelatina	100 g.
Agua destilada	1000 ml.

Se inoculan los tubos con el medio anterior el cual se esterilizó previamente y se le dejó solidificar.

Se incuba por 72 horas a 37°C. Se considera la prueba positiva cuando el medio queda líquido después de incubarse en el refrigerador por 5 minutos con un testigo no inoculado, el cual se

*Medio de *Staphylococcus* No. 110 B.B.L. Difco.

solidifica igual que los que dan la prueba negativa.

5.—*INVESTIGACION DE COAGULASA CONJUGADA Y COAGULASA LIBRE.* (1, 18, 25, 26).

Se determinan las coagulasas por el método del tubo de ensaye y el del portaobjeto:

Se siembran en 5 ml. de caldo nutritivo esteril, se incuban por 48 horas a 37°C, y se divide en dos partes, una se utiliza para la prueba de la coagulasa libre y otra para la de la coagulasa conjugada.

A.—Coagulasa libre.

a).—Prueba del portaobjeto.—Se deposita una gota de plasma humano esteril sobre un portaobjeto libre de grasa y se le agrega una gota del cultivo, se homogeniza y se observa por tres minutos si hay aglutinación, lo que indicará, una reacción positiva.

b).—Prueba del tubo de ensaye.—La parte que queda en el tubo se mezcla con una cantidad igual de plasma humano esteril diluido 1;1 con solución de NaCl al 0.7% esteril, se incuba por media hora a 37°C, a Baño María, considerándose la prueba positiva si hay formación de coágulo.

B.—Coagulasa conjugada.

La otra mitad del cultivo se inactiva por 4 minutos a Baño María a 64°C, siguiéndose la misma técnica que en el caso anterior.

6.—*DETERMINACION DE FOSFATASA.* (22, 25, 26).

Se utiliza un cultivo en caldo nutritivo incubado por 48 horas a 37°C, y se sigue la técnica de Shinowara-Jones y Reinhart.

Se divide el cultivo en dos porciones, a una se le añade 0.5 cc de glicerofosfato de sodio en solución ácida y a la otra porción igual cantidad de glicerofosfato de sodio en solución alcalina, se incuba por media hora a 37°C y después se les añade a todos los tubos 0.2 cc de molibdato de amonio, se agita y se les añade 0.2 cc de cloruro estanso poniéndose el cultivo de inmediato de un color azul, que indica la positividad de la reacción. Se llevaron tres testigos,

uno con caldo nutritivo, uno de reactivos y agua destilada esteril y otro con ambas cosas.

7.—*DETERMINACION DE LA ACCION LECITINOLITICA.*
(15, 20, 21, 26).

A 9 ml. del medio que se describe a continuación se les añade 1 ml. de yema de huevo diluída 1;1 con solución de NaCl al 0.7% esteril:

Peptona	40.0 g.
Fosfato ácido disódico.....	5.0 g.
Fosfato diácido potásico.....	1.0 g.
Cloruro de sodio.....	20.0 g.
Sulfato de magnesio.....	0.1 g.
Glucosa	2.0 g.
Agar	25.0 g.
Agua destilada.....	1000 ml.*

Este medio se incuba antes de usarse por 48 horas a 37°C, para comprobar que no haya crecimiento, desechándose aquellos que lo presenten.

Se siembra en estria y se incuba a 37°C, por 48 horas considerando la reacción positiva si se clarifica el medio alrededor de la estria.

8.—*DETERMINACION DE LA PRODUCCION DE ACIDO Y GAS EN MEDIO QUE CONTIENE MANITOL.* (25, 26).

Se utiliza para la prueba el siguiente medio.

Peptona	5 g.
Extracto de carne.....	3 g.
Manitol	5 g.
Agua destilada	1000 ml.

Tubos de Durham conteniendo 5 ml. del medio anterior esteril, se inoculan con los microorganismos, en estudio, después de incubar por 48 horas a 37°C, se observa la aparición de una burbuja

* Medio de Mc. Clung.

en el tubito invertido, lo que indica la formación de gas debido a la fermentación del manitol.

Para probar la formación de ácido, se le añade un indicador (como el rojo de metilo) que vira entre un PH de 4.2 a 6.3.

9.—*DETERMINACION DE LA ACCION HEMOLITICA.*
(25, 26, 27).

Se inoculan tubos que contengan los siguientes medios de agar sangre:

- Agar nutritivo con 5% de sangre desfibrinada de cobayo.
- Agar nutritivo con 5% de sangre desfibrinada de conejo.
- Agar nutritivo con 5% de sangre desfibrinada de Carnero.
- Agar nutritivo con 5% de sangre desfibrinada humana.

Estos medios se incuban por 48 horas a 37°C, antes de usarse para comprobar su completa esterilidad, en los que se observe el crecimiento no serán usados.

Una vez inoculados los tubos se incuban por 48 horas a 37°C, considerándose positiva la reacción en aquellos en los que se presenta una zona clara de hemólisis alrededor de las estrias. Se diferenció la hemólisis alfa de la hemólisis beta.

La clasificación final de las hemolisinas se hizo como a continuación se explica.

	<i>Conejo</i>	<i>Carnero</i>	<i>Humano</i>
	+	+	—
alfa	+	—	—
	—	+	—
alfa-beta	+	+	—
	+	+	+
alfa-delta	+	—	+
	—	+	+
Negativo	—	—	—

III.- RESULTADOS

De los 398 establecimientos que se muestrearon 133 (33.3%) eran de primera categoría, 96 (24.1%) eran de tercera categoría y los restantes que sumaban la cantidad de 169 (42.6%), eran de segunda categoría.

De las 917 muestras que se tomaron para los análisis, 450 eran carnes frías, mariscos, y carnes preparadas, entre las que se contaban 22 tipos diferentes: mortadela, tocino, jamón, pastel de pimiento, pastel de pollo, mortadela con huevo, wiener, salchichón, queso de puerco, pasta de hígado, pimentón, mosaico, fiambre, que se consideraron carnes frías, ostiones y camarones entre los mariscos y carnitas (de puerco) costilla adobada, lengua, barbacoa, chicharrón, chorizos, sangre cocida, entre las carnes preparadas. 397 eran de frutas y verduras, entre las que encontramos 22 tipos diferentes que son: uvas, peras, manzana, durazno, nísperos, tamarindo, membrillo, guayaba, dátiles, entre las frutas y tomate, cebolla, ajo, cilantro, perejil, zanahoria, apio, rábano, lechuga, repollo, pepino, pimiento dulce y chile entre las verduras, y 70 entre leche y lacticinios, tomándose estos últimos, leche, queso y mantequilla.

De las 450 muestras de carnes, 315 dieron estafilococos coagulasa positiva, o sea un 70%. De las 397 frutas y verduras, tuvieron estafilococos coagulasa positiva, 295, o sea 74.5% y de las 70 de leche y lacticinios, un 58%, o sea un total de 41 muestras dieron la reacción de la coagulasa positiva, se observó que el total de muestras, de los diferentes tipos que dieron estafilococos coagulasa positiva fue de 651 de las 917 muestras que se analizaron, o sea un 70.9%.

La cantidad de muestras de un mismo tipo de los 22 existentes que se tomaron en las carnes para los análisis correspondientes, fluctuó entre 33 en la mortadela hasta 8 en los camarones, y el por-

ciento de ellas que contenían estafilococos coagulasa positiva, varió entre 100% en el chorizo y queso de cerdo, y 37% en el fiambre, siendo el número de muestras de todas y cada una, así como su por ciento y cantidad que contenían estafilococos coagulasa positiva los que a continuación se describen: Se estudiaron 33 muestras de mortadela de las que 25 tenían estafilococos coagulasa positiva (75.7%); 32 de jamón, con 18 (56.2%); con estafilococos coagulasa positiva; 29 de wiener con 22 (75.7%) 27 de pastel de pollo con 16 (59.2%); 27 de fiambre con 10 (37%); 25 de tocino con 17 (68%); 25 de pimentón con 15 (60%); 24 de pastel de pimiento con 12 (50%); 22 de carnitas (de puerco) con 16 (72.7%); 22 de mortadela con huevo con 14 (63.6%); 21 de chorizo con 21 (100%); 20 de chicharrones con 18 (90%); 20 de salchichón con 19 (95%) 16 de pasta de hígado con 11 (68.7%); 16 de mosaico con 13 (81.2%); 16 de queso de puerco con 16 (100%); 15 de costilla adobada con 10 (66.6%); 14 de ostiones con 9 (64.2%); 13 de lengua con 9 (69.2%); 13 de barbacoa de res con 10 (67.8%); 12 de sangre cocida con 8 (66.6%); 8 de camarones con 6 (75%).

Se observó que de las 101 muestras de carnes de los establecimientos de primera categoría, 42 dieron estafilococos coagulasa positiva o sea un 41.8%; de las 219 muestras de los establecimientos de segunda categoría, 176 dieron estafilococos coagulasa positiva, o sea 76.4%; y de las 120 muestras de los establecimientos de tercera categoría 97 dieron estafilococos coagulasa positiva o sea que fue un 80.8%. Queda demostrado por lo consiguiente que el porcentaje de muestras con estafilococos coagulasa positiva, fue mayor en los establecimientos de tercera categoría, bajando y dejando en siguiente término, a los establecimientos de segunda, y en último término, con un porcentaje considerablemente menor a los establecimientos de primera categoría.

La cantidad de muestras de un mismo tipo de los 22 existentes que se tomaron en las frutas y verduras para los análisis correspondientes, variaron entre la zanahoria de la que se tomaron 30 y la pera de la que sólo hubo 8, y el porcentaje de dichas que contenían estafilococos coagulasa positiva fluctuó entre 100% correspondiente al tamarindo y el 55% correspondiente al durazno, siendo el número de muestras así como el porcentaje y cantidad que contenían estafilococos coagulasa positiva, los que a continuación aparecen: Se estudiaron 30 muestras de zanahoria con 18 que contenían estafilococos coagulasa positiva (60%); 27 de durazno con

15 (55.5%); 26 de tomate con 24 (92.4%); 25 de pimiento dulce con 15 (60%); 24 de membrillo con 14 (58.3%); 24 de cebolla con 19 (79.1%); 24 de repollo con 19 (79.1%); 22 de manzana con 20 (90.9%); 21 de chabacano con 18 (85.7%); 19 de pepino con 12 (63.1%); 18 de lechuga con 16 (88.8%); 16 de chile con 10 (62.5%); 16 de guayaba con 10 (62.5%); 15 de uva con 12 (80%); 15 de rábano con 13 (86.6%); 13 de dátiles con 11 (84.6%); 13 de cilantro con 9 (69.2%); 12 de apio con 8 (66.6%); 10 de tejo-cote con 8 (80%); 10 de perejil con 9 (90%); 9 de tamarindo con 9 (100%); 8 de pera con 6 (75%).

Se observó que de las 106 muestras de frutas y verduras de los establecimientos de primera categoría 66 o sea 62.2% dieron estafilococos coagulasa positiva; de las 179 muestras de los establecimientos de segunda categoría 143 (79%) dieron estafilococos coagulasa positiva; y de 112 muestras de establecimientos de tercera categoría 86 (76.6%) dieron estafilococos coagulasa positiva. Se advierte por lo tanto que el porcentaje de muestras con estafilococos coagulasa positiva fue mayor en los establecimientos de segunda categoría, un poco más bajo en los de tercera y aún más en los de primera.

Con referencia a las leches y lacticinios se observó que de las 30 muestras de leche analizadas 23 (76.6%) dieron estafilococos coagulasa positiva; 26 de quesos con 18 (69.2%) que contenían estafilococos coagulasa positiva y 14 de mantequillas que dieron ausencia de estafilococos coagulasa positiva, ya que no se pudieron aislar estafilococos de ellas. Se sacó además en conclusión, que de 16 muestras de leche y lacticinios que se habían tomado de los establecimientos de primera categoría, 8 contenían estafilococos coagulasa positiva o sea 50%; de 22 muestras de los establecimientos de segunda categoría 6 (27.7%) contenían estafilococos coagulasa positiva y de 32 muestras de establecimientos de tercera categoría 27 dieron estafilococos coagulasa positiva o sea 84.3%. Notándose así que el mayor porcentaje de muestras con estafilococos coagulasa positiva se encontró en los establecimientos de tercera categoría, un porcentaje mucho menor en los establecimientos de primera y un porcentaje bajísimo en comparación a todos los demás en los establecimientos de segunda categoría.

El número de cepas, coagulasa positiva que dieron pigmentación amarillo dorada fue de 465 o sea 71.4%, el resto fueron colonias no pigmentadas.

Dos muestras hubo que dieron la reacción de la fosfatasa negativa (0.3%), una muestra la dió en el tubo en que se encontraba el sustrato (glicerofosfato de sodio) en solución alcalina y la otra muestra dió la reacción negativa en el tubo que tenía el sustrato en solución ácida y los tubos que tenían el sustrato ácido y alcalino de esas mismas muestras o sea los pares de los tubos anteriores dieron la reacción positiva al igual que los demás.

Un número de 610 (93.7%) muestras se observó que tenían acción gelatinolítica de las cuales 22 habían dado la primera prueba negativa y a la segunda prueba presentaron reacción de la gelatinasa positiva.

Cuatrocientas noventa y ocho muestras dieron la reacción de la coagulasa conjugada positiva o sea 75.2%; las restantes sólo dieron positiva la reacción de coagulasa libre (24.8%).

Seiscientas diecisiete muestras dieron positiva la reacción de la lecitinasa o sea un 94.3%.

Seiscientas diecinueve muestras (95.1%) dieron positiva la reacción de fermentación del manitol.

Con respecto a la hemólisis 7 cepas dieron hemólisis alfa, 5 cepas hemólisis beta, 21 hemólisis alfa-beta y 4 cepas dieron hemólisis alfa-beta-delta, una cepa no dió hemólisis.

De los 651 microorganismos se hicieron grupos que en total sumaron 38 cepas reales, de las cuales 349 dieron pigmento amarillo dorado, coagulasa conjugada positiva, manitol positivo, lecitinasa positiva, fosfatasa positiva, gelatinasa positiva hemólisis alfa beta.

Setenta y cinco no dieron pigmentación, dieron coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva, fosfatasa positiva; gelatinasa positiva hemólisis alfa-beta.

Treinta y ocho dieron pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa.

Veinticuatro dieron, pigmento amarillo coagulasa conjugada negativa, manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Venticuatro no dieron pigmentación; dieron coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; lecitinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Deciséis no dieron pigmentación; dieron coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Catorce dieron pigmentación amarilla; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis beta.

Once no dieron pigmentación; coagulasa conjugada negativa; manitol negativo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Once dieron pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Nueve no dieron pigmentación; dieron coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Nueve no dieron pigmentación; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Ocho dieron pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Siete dieron pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta-delta.

Cinco sin pigmentación; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa.

Cinco sin pigmentación; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa.

Cinco sin pigmentación; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta-delta.

Cuatro con pigmento amarillo; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa.

Tres sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa.

Tres con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Tres sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Tres sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol negativo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Tres con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis beta.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis beta.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Dos sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Uno con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis beta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis beta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis beta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada negativa; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta-delta.

Uno con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa negativa; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta-delta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

Uno sin pigmento; coagulasa conjugada positiva; manitol negativo; lecitinasa negativa; fosfatasa positiva; gelatinasa negativa; hemólisis alfa-beta.

Uno con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa positiva; gelatinasa positiva; hemólisis negativa.

Uno con pigmento amarillo; coagulasa conjugada positiva; manitol positivo; lecitinasa positiva; fosfatasa negativa; gelatinasa positiva; hemólisis alfa-beta.

IV.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las 14 muestras de mantequillas examinadas no proporcionaron microorganismos al ser sembradas inicialmente; Suponemos que ello se debe a que no constituyeron medio adecuado para el desarrollo de estos microorganismos.

Los resultados de las pruebas efectuadas (tabla V) para determinar las características fisiológicas, de los microorganismos aislados, nos demuestran que la prueba de la fosfatasa y de la coagulasa son sensiblemente iguales en cuanto a la determinación, de la posible patogenicidad de los estafilococos, aun cuando en el presente trabajo se hayan empleado métodos para la determinación de la primera que por su complejidad no son prácticos en el trabajo rutinario, sugiriéndose el empleo de métodos más sencillos, tales como los de Barber y Kuper (2).

Las propiedades fisiológicas de las cepas de *Staphylococcus aureus* aislados no son muy diferentes a aquellos reportados para este organismo aislado de varias fuentes por otros investigadores, (11, 12, 19, 24) pero difieren en algunos aspectos como se indica en la tabla No. VI por ejemplo: El porcentaje de microorganismos productores de coagulasa conjugada es algo más bajo que el reportado por Jay para microorganismos aislados de carnes (19) y por Fahlberg y Marston de pacientes hospitalizados (12).

Con respecto a las alfa hemolisinas, los microorganismos aislados en el presente trabajo se asemejan a las cepas de origen humano aisladas por otros autores; la incidencia de productores de alfa hemolisinas fue sensiblemente igual a lo reportado por Elek y Levy trabajando con muestras de origen humano. (11).

Con respecto a los productores de beta hemolisinas su incidencia fue ligeramente menor a los reportados por Clark y colaboradores

(6), quienes trabajaron con leches y superior a lo reportado por Elek y Levy (11) en microorganismos de origen animal.

De acuerdo con el estudio de las hemolisinas los microorganismos aislados parecen ser tanto de origen animal como de origen humano. Parece haber una relación entre la categoría sanitaria del establecimiento muestreado y la incidencia de estafilococos coagulasa positiva.

La gran proporción de muestras que proporcionaron estafilococos coagulasa positiva nos hace suponer una pésima condición sanitaria en los establecimientos que los expenden y un mínimo grado de higiene en la manipulación de los mismos. Creemos de interés el que se intente un trabajo tendiente a establecer las características y frecuencia de estafilococos en manos y garganta de los individuos que manipulan, preparan o expenden alimentos, a fin de establecer si son ellos la fuente de contaminación.

V.- RESUMEN

Considerando a los alimentos como excelente medio de cultivo para las bacterias, se investigaron los estafilococos en aquellos que se consumen sin tratamiento previo suponiendo a tales microorganismos como causa frecuente de las intoxicaciones alimeticias.

Se han determinado algunas de las propiedades fisiológicas de las cepas aisladas, en un esfuerzo por determinar el posible origen de la contaminación y de permitir la comparación, con otros trabajos realizados con microorganismos provenientes de diferentes fuentes.

Se seleccionaron al azar 398 establecimientos clasificados como de primera, segunda y tercera categoría según sus condiciones sanitarias aparentes, en el Municipio de Monterrey, N. L., obteniéndose de ellos 917 muestras; 450 carnes (22 tipos distintos); 397 frutas y verduras (22 tipos distintos) y 70 de leche y lacticinios, en los meses de agosto, septiembre y octubre de 1962.

Se sembraron las muestras en medio de *Staphylococcus* No. 110 y se les determinó: Pigmentación, coagulasa libre y conjugada, gelatinasa, fosfatasa, lecitinasa, fermentación del manitol y hemolisinas.

Un total de 651 muestras dieron estafilococos coagulasa positiva; 315 carnes (70%); 295 (74.5%) frutas y verduras y 41 (58.8%) leche y lacticinios.

El número de muestras fluctuó: en las carnes desde 33, en la mortadela, hasta 8 en los camarones; En las frutas y verduras desde 30 en la zanahoria hasta 8 en la pera y en la leche y lacticinios, se estudiaron 30 de leche, 26 de queso y 14 de mantequilla.

El porcentaje de muestras con estafilococos coagulasa positiva

fluctuó en las carnes desde 100% (chorizo y queso de cerdo) hasta 37% (fiambre); en las frutas y verduras, desde 100% (tamarindos) hasta 55% (durazno); en la leche (76.6%); en el queso (68.4%); en las mantequillas (0%). El porcentaje de carnes con estafilococos coagulasa positiva fue mayor en los establecimientos de tercera (80.8%), que los de segundo, y en los de primera (76.4% y 41.8%); En las frutas y verduras fue mayor en los de segunda (79%) que en los de tercera y primera (76.7% y 62.2%); y en leche y laticinios fue mayor en los de tercera (84.3%) que en los de primera y de segunda (50% y 27.7%).

De las 651 cepas coagulasa positiva: 465 (71.4%) produjeron pigmento amarillo; 649 (99.1%) dieron la reacción de la fosfatasa; 610 (93.7%) hidrolizaron la gelatina; 489 (75.2%) poseían coagulasa conjugada; 617 (94.8%) dieron la reacción de la lecitinasa; 619 (95.1%) fermentaron el manitol; 7 dieron hemólisis alfa; 21 alfa-beta; 5 beta; 4 alfa-beta-delta, así fueron agrupadas en 38 cepas reales, de las que 349 pertenecían a una misma cepa fisiológica.

La incidencia de productores de hemolisinas alfa y beta hace suponer que el origen de los microorganismos aislados puede ser tanto animal como humano, no puede descartarse el pensar en una pésima condición sanitaria de los establecimientos.

VI.- REFERENCIAS

- 1.—American Public Health Association. "Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods", pp. 143. Publication Office A.P.H.A. New York (1958).
- 2.—Barber, M., and Kuper, S.W.A. "Identification of *Staphylococcus pyogenes* by the phosphatase reaction". *J. Path and Bact.* 63, 65, 68 (1951).
- 3.—Bergdoll, M. S. "The Chemistry of Staphylococcal enterotoxin". *Ann. New York Acad. Sc.* 65: 139—143 (1956).
- 4.—Burrows, W. "Text book of Microbiology". 16th Ed. pp. 306. W. B. Saunders Co. Philadelphia (1954).
- 5.—Cervera, E. "Tratado de Microbiología". 3a. Ed. pp. 166. Editorial Porrúa, S. A. México, D. F. (1954).
- 6.—Clark W. S. Jr., T. D. Moore, and F. E. Nelson. "Characterization of coagulase-positive *Staphylococci* isolated from raw milk". *Appl. Microbiol.* 9: 195—99 (1961).
- 7.—Chapman, G. H.: "A single culture medium for selective isolation of plasma coagulating *Staphylococci* for improved testing of chromogenesis, plasma coagulation, manitol fermentation and the stone reaction". *J. Bact.* 51: 409—10 (1946).
- 8.—Chapman, G. H. "A simple method for making multiple tests of a microorganisms". *J. Bact.* 63: 147 (1952).
- 9.—Dack, G. M.: "Food Poisoning". 3th. Ed. pp. 251. Univ. Chicago Press. Chicago (1956).
- 10.—Dubos, R. J. "Bacterial and Mycotic Infections of Man". pp. 310. J. B. Lippincott Co. Philadelphia (1958)
- 11.—Elek, S. D. and E. Levy: "Distribution of Haemolysins in pathogenic and non-pathogenic *Staphylococci*". *J. Pathol. Bacteriol.* 62: 541—554 (1959).

- 12.—Fahjberg, W. J. and J. Marston: "Comparison of physiological properties of certain phage-typable coagulase-positive staphylococci". *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 102: 349—351 (1961).
- 13.—Frazier, W. C: "Food Microbiology". pp. 390. Mc. Graw. Hill Book Co., Inc. New York (1958).
- 14.—Gillespie, E. H., E. A. Devenish and Cowan S. T. "Pathogenic Staphylococci their incidence in the nose and on the skin". *Lancet* 2: 870—873 (1939).
- 15.—Gillespie, W. A. and V. G. Alder. "Production of opacity in egg yolk Media by coagulase-positive Staphylococci". *J. Pathol. Bacteriol.* 64: 187—200 (1960).
- 16.—Glenny, A. T., and M. F. Stevens: "Staphylococcus toxins and antitoxins". *J. Path. Bact.* 40: 201—210 (1935)
- 17.—Halxe, J. H. and W. Smith: "The influence of coagulase on the phagocytosis of staphylococci". *Brit. J. Exper. Path.* 26: 209—216 (1945)
- 18.—Jachers, D.: "Experimentelle Untersuchungen uber die Identitat Freier und gebundener coagulase". *Z. H. y G. Infert, Kr.*, 142: 502—9 (1956).
- 19.—Jay, M. J.: "Further studies on staphylococci in meats VI occurrence and Characteristics of coagulase-positive strains from a variety of nonfrozen market cuts". *Appl. Microbiol.*, 10: 247—251 (1962).
- 20.—Mc. Clung. L. S. and R. Toabe: "The egg-yolk plate reaction for the presuntive diagnosis of clostridium sporogenes and certain species of the gangrene and botulinum groups". *J. Bacteriol.*, 53: 139—347 (1947).
- 21.—Mc. Clung L. S.: "Recent developmens in microbiological techniques". *Ann. Rev. Microbiol.* 3: 395—422 (1949).
- 22.—Marenzi, A. A., C. E. Cardini, R. F. Banfi y F. A. S. Vilallonga: "Bioquímica analítica cuantitativa". p. 926. El Ateneo. Buenos Aires (1947).
- 23.—Rammelkamp C. H., Jr. and J. L. Lebovitz: "The role of coagulase in staphylococcal infections". *Ann. New York Acad. Sc.* 65: 144—151 (1950).

- 24.—Rivas, M. T. A. Vargas, M. C. Parrilla y M. A. Castro-Astivia. "Frecuencia de estafilococos coagulasa positiva en alimentos". *Rev. Latinoamer. Microbiol.*, 3: 143 (1960).
- 25.—Simmons, J. S. and C. J. Gentskow: "Laboratory Methods of the United States Army" 5th. Ed. p. 381. Lea and Febiger. Philadelphia (1944).
- 26.—Society of America Bacteriologists: "Manual of microbiological Methods". p. 140 Mc. Graw Hill Book Co. New York (1957).
- 27.—Williams, R. E. O., and G. J. Harper: "Staphylococcal haemolysins on sheep-blood agar with evidence for a fourth haemolysin". *J. Pathol. Bacteriol.*, 59: 69—78 (1947).

TABLA No. I. ESTABLECIMIENTOS MUESTREADOS Y MUESTRAS EXAMINADAS

<i>Establecimientos</i>	<i>Carnes</i>		<i>Frutas y Verduras</i>		<i>Leche y Lacticinios</i>			
	<i>No.</i>	<i>%</i>	<i>Total</i>	<i>No.</i>	<i>%</i>	<i>Total</i>	<i>No.</i>	<i>%</i>
			<i>Con Estafilococos Coagulasa Positiva</i>	<i>Con Estafilococos Coagulasa Positiva</i>	<i>Con Estafilococos Coagulasa Positiva</i>	<i>Con Estafilococos Coagulasa Positiva</i>		
PRIMERA	133	33.3	101	42	41.8	106	66	62.2
SEGUNDA	169	42.6	229	176	76.4	179	143	79.0
TERCERA	96	24.1	120	97	80.0	112	86	76.7
TOTAL	398		450	315		397	295	
PORCENTAJE			70	74.5		70	41	58.5

TABLA No. II. NUMERO Y TIPO DE CARNES EXAMINADAS Y NUMERO Y PORCENTAJE QUE PROPORCIONARON ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVA.

<i>Carnes Examinadas</i>	<i>No. de Muestras</i>	<i>Muestras con Estafilococos</i>	
		<i>Coagulasa Positiva No.</i>	<i>%</i>
Mortadela	33	25	75.7
Jamón	32	18	56.2
Wiener	29	22	75.7
Pastel de Pollo.....	27	16	59.3
Fiambre	27	10	37.0
Tocino	25	17	68.0
Pimentón	25	15	60.0
Pastel de Pimiento.....	24	12	50.0
Carnitas (Puerco)	22	16	72.2
Mortadela con Huevo.....	22	14	63.6
Chorizo	21	21	100.0
Chicharrón	20	18	90.0
Salchichón	20	19	95.0
Pasta de Hígado.....	16	11	68.7
Mosaico	16	13	81.2
Queso de Puerco.....	16	16	100.0
Costilla Adobada.....	15	10	66.6
Ostiones	14	9	64.2
Lengua	13	9	69.2
Barbacoa (Res)	13	10	67.8
Sangre Cocida.....	12	8	66.6
Camarones	8	6	75.0
T O T A L.....	450	315	
PORCENTAJE		70.0	

TABLA No. III. NUMERO Y TIPO DE VERDURAS Y FRUTAS EXAMINADAS Y NUMERO Y PORCENTAJE QUE PROPORCIONARON ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVA

<i>Frutas y Verduras Examinadas</i>	<i>No. de Muestras</i>	<i>Muestras con Estafilococos Coagulasa Positiva</i>	
		<i>No.</i>	<i>%</i>
ZANAHORIA	30	18	60.0
DURAZNO	27	15	55.5
TOMATE	26	24	92.3
PIMIENTO	25	15	60.0
MEMBRILLO	24	14	58.3
CEBOLLA	24	19	79.1
REPOLLO	24	19	79.1
MANZANA	22	20	90.9
CHABACANO	21	18	85.7
PEPINO	19	12	63.1
LECHUGA	18	16	88.8
CHILE	16	10	62.5
GUAYABA	16	10	62.6
UVA	15	12	80.0
RABANO	15	13	86.6
DATIL	13	11	84.6
CILANTRO	13	9	69.2
APIO	12	8	66.6
TEJOCOTE	10	8	80.0
PEREJIL	10	9	90.0
TAMARINDO	9	9	100.0
PERA	8	6	75.0
T O T A L	397	295	
PORCENTAJE		74.5	

TABLA No. IV. NUMERO Y TIPO DE LECHE Y LACTICINIOS EXAMINADOS Y NUMERO Y PORCENTAJE QUE PROPORCIONARON ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVA.

<i>Leches y Lacticinios Examinados</i>	<i>No. de Muestras</i>	<i>Muestras con Estafilococos</i>	
		<i>Coagulasa Positiva No.</i>	<i>%</i>
LECHE	30	23	76.6
QUESO	26	18	69.2
MANTEQUILLA	14	0	0.0
T O T A L	70	41	
PORCENTAJE		58.5	

TABLA No. V. CARACTERISTICAS FISIOLÓGICAS DE LAS CEPAS OBTENIDAS

No.	Pigmento	<i>Coagulasa</i>							Hemólisis	Gelatinasa	No. Estafilococos
		<i>Conjugada</i>	<i>Manitol</i>	<i>Lecitinas</i>	<i>Fosfatasa</i>						
1	Amarillo	+	+	+	+	+	+	alfa-beta	+	349	
2	Blanco	-	+	+	+	+	+	alfa-beta	+	75	
3	Amarillo	+	+	+	+	+	+	alfa	+	38	
4	Amarillo	-	+	+	+	+	+	alfa-beta	-	24	
5	Blanco	+	+	+	+	+	+	alfa-beta	+	24	
6	Blanco	-	+	+	+	+	+	alfa-beta	+	16	
7	Amarillo	+	+	+	+	+	+	beta	+	14	
8	Blanco	-	-	+	+	+	+	alfa-beta	+	11	
9	Amarillo	+	+	-	+	+	+	alfa-beta	+	11	
10	Blanco	-	+	-	+	+	+	alfa-beta	+	9	
11	Blanco	+	+	+	+	+	+	alfa-beta	-	9	
12	Amarillo	+	-	+	+	+	+	alfa-beta	+	8	
13	Amarillo	+	+	+	+	+	+	alfa-beta-delta	+	7	
14	Blanco	-	+	+	+	+	+	alfa	+	5	
15	Blanco	+	+	+	+	+	+	alfa	+	5	
16	Blanco	-	+	+	+	+	+	alfa-beta-delta	+	5	
17	Amarillo	-	+	+	+	+	+	alfa	+	4	
18	Blanco	-	+	+	+	+	+	alfa	-	3	
19	Amarillo	+	+	+	+	+	+	alfa-beta	-	3	
20	Blanco	+	+	-	+	+	+	alfa-beta	+	3	

No.	Pigmento	Coagulasa Conjugada	Manitol	Lecitinas	Fosfatasa	Hemólisis	Gelatinasa	No. Estafilococos
21	Blanco	-	-	+	+	alfa-beta	-	3
22	Amarillo	+	-	-	+	alfa-beta	+	3
23	Blanco	-	+	+	+	alfa	-	2
24	Blanco	+	+	+	+	beta	+	2
25	Blanco	-	+	+	+	beta	+	2
26	Blanco	-	-	-	-	alfa-beta	-	2
27	Blanco	+	-	+	+	alfa-beta	+	2
28	Blanco	+	-	+	+	alfa-beta	-	2
29	Amarillo	+	+	-	+	alfa	+	1
30	Blanco	-	+	+	+	beta	+	1
31	Blanco	-	+	+	+	beta	-	1
32	Blanco	-	+	+	+	alfa-beta-delta	+	1
33	Amarillo	+	+	+	-	alfa-beta-delta	+	1
34	Blanco	+	+	-	+	alfa-beta	-	1
35	Blanco	+	+	-	+	alfa-beta	+	1
36	Blanco	+	-	-	+	alfa-beta	-	1
37	Amarillo	+	+	+	+	+	1
38	Amarillo	+	+	-	-	alfa-beta	+	1

TABLA No. VI. COMPARACION DE LAS PROPIEDADES DE LOS ESTAFILOCOCOS AISLADOS EN ESTE TRABAJO CON LAS PROPIEDADES DE ESTAFILOCOCOS AISLADOS POR OTROS INVESTIGADORES DE DIFERENTES FUENTES.

Origen	No. de Cultivos	Pigmentadas	Gelatinasa	Coagulasa Conjugada	II E M O L I S I S			
					alfa	beta	delta	Neg.
	No.	%	%	%	%	%	%	
Este Trabajo.....	651	71.4	93.7	75.2	96.6	91	2.1	0
Carnes	272	88	85	87	91	22	70	6
Humano	200	—	—	—	96	11	97	0
Animal	59	—	—	—	74	71	86	2
Leche	51	75	88	—	63	96	0	0

WIND SWIN

T
QR
.S
A4
C.