

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



OFICINA DE  
EXTENSION CIENTIFICA

"DETECCION DE INHIBIDORES BACTERIANOS NO NATURALES EN HUEVOS  
DE GALLINA PARA CONSUMO DEL AREA METROPOLITANA DE  
GUADALAJARA"

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JUAN MANUEL MARTINEZ MONTES

GUADALAJARA, JAL.

1983

A MI MADRE:

\*RAFAELA MONTES CARRILLO\*

Por los sacrificios y esfuerzos  
de muchos años para formarnos,-  
y tratar de darnos lo que ella  
no tuvo para sí.



OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA

A MI ASESOR:

\*Q.F.B. CARMEN YOLANDA PARTI  
DA ORTIZ\*

Con quien siempre estaré en  
deuda por todo lo que como -  
jefe, amiga y maestra aportó.

A LOS BUENOS AMIGOS

Y

A LOS BUENOS MAESTROS:

Que con su actitud y ejemplo --  
contribuyeron a despertar en mí  
una actitud positiva.

## C O N T E N I D O

	PAGINA
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	16
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	31
RESUMEN	33
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35

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

La labor del Médico Veterinario no sólo se limita al estudio y control de las enfermedades que afectan a los animales; sino que de una manera indirecta, debe velar también por la salud del hombre, ejerciendo una adecuada inspección sobre los productos de origen animal - que éste habrá de consumir.

Quizá uno de los campos profesionales en nuestro país, en donde el Médico Veterinario ha tenido una menor participación, es el relativo a la Salud Pública, vigilando que los productos animales y sus derivados, sean - éstos naturales o industrializados, guarden un adecuado estado sanitario que permita ingerirlos con absoluta confianza de su inocuidad.

Con el fin de optimizar la producción de alimentos, desde 1949, fecha en que se descubrió el efecto benéfico de la adición continua de antimicrobianos a los - alimentos de los animales, se han venido usando aquellos en forma masiva debido a sus propiedades como agentes -- ergotrópicos, o bien como auxiliares en el control y tratamiento de algunas enfermedades.

Debido a la poca regulación existente , y a la facilidad para adquirirlos, se ha estado abusando del empleo de dichas sustancias, originando con ello graves - problemas. Entre los más importantes están: la apari- - ción de cepas de microorganismos resistentes, tanto en - aquellos que afectan a los animales como en los que afectan al hombre. En este último además, como lo señala la OMS (8), se han producido reacciones de hipersensibili- - dad al consumir alimentos de origen animal cuyo nivel de antibióticos o metabolitos de éstos rebasa ciertos lími-

tes.

Los límites de que habla la OMS son variables dependiendo de la sustancia, pero por lo general son relativamente pequeños, por ejemplo, señala que para el caso de las estreptomycinas, si excede de 0.5 ppm se pueden -- presentar reacciones de hipersensibilidad en individuos - susceptibles.

La misma organización menciona otros productos que no deben aparecer en los alimentos de origen animal, por ejemplo la Tilosina y demás macrólidos, así como Cloramfenicol. También se ha establecido que las Tetraciclinas a dosis de 5 a 7 ppm pueden ser tóxicas, y su uso de 5 a 20 ppm en alimentos o en los animales puede inducir resistencia a enterobacteriáceas (8).

El Código Sanitario de los Estados Unidos Mexicanos en su capítulo II relativo a bebidas no alcohólicas - y alimentos, señala en el artículo 236 las condiciones bajo las que se considera un alimento como CONTAMINADO, y - entre ellas está el contener residuos de antibióticos.

El Capítulo V relativo a medicamentos señala en su artículo 255 "La Secretaría de Salubridad y Asistencia -- (SSA) en coordinación con la Secretaría de Agricultura y - Recursos Hidráulicos (SARH) establecerá el control de los medicamentos de uso veterinario, cuando su uso puede significar un peligro para la salud humana".

La SARH en las disposiciones números 10, 11, 40, 41 y 42 referentes a químicos, alimentos, biológicos y vitamínicos, ha tratado de limitar y restringir el uso de - - ciertos productos en aves de postura, así también fija el

tiempo que debe transcurrir para que los huevos puedan -- consumirse.

Actualmente son sólo seis las substancias que se -- incluyen en las mencionadas disposiciones: Cloramfenicol, Oxitetraciclina, Doxiciclina, Nitrofurazona, Eritromicina y Piperazina. Sin embargo otros productos de uso generalizado en la mayoría de las especies de interes zootécnico, y que contienen antibióticos o quimioterapéuticos sólo se contempla su regulación cuando son administrados a animales destinados al sacrificio, mas no prevee su -- uso en aves de postura.

La literatura mundial es extensa y abundante en -- cuanto a reportes sobre aislamiento de inhibidores no naturales en carne y leche. Existen varios trabajos realizados en nuestro país como los de González 1974 (7); Pérez 1977 (10); y González Corona en 1979 (6), en donde -- los autores reportan resultados positivos.

Los reportes relativos a la presencia de dichas -- substancias en huevos son escasos, existen varios factores que contribuyen a dificultar su estudio en este producto.

Existen en el huevo además de las defensas físicas, mecanismos de defensa naturales de origen enzimático (3), están constituidos principalmente por la avidina y la lisozima presentes sobre todo en la clara. La primera fija la biotina, impidiendo que los microorganismos la tomen -- para su metabolismo. La lisozima hidroliza la pared bacteriana de los gérmenes Gram positivos (4) (5).

Otra enzima, la ovotransferrina, fija el hierro -- formando quelatos, impidiendo así que sea usado por las

bacterias (4) (5).

Dada su naturaleza protefca, esas enzimas pueden inactivarse por calentamiento a 80°C durante 15 minutos, tal y como lo demostraron Di Giuseppe y Col. eliminando así los inhibidores naturales.

Las técnicas de identificación por reacciones colorimétricas para la identificación de antimicrobianos no funcionan, dado las pequeñas cantidades de inhibidores que pueden estar presentes, además de la íntima unión entre los antibióticos y las proteínas del huevo.

La cromatografía de gases es un método que ha dado excelentes resultados para identificar cantidades muy pequeñas de inhibidores en carnes, pero requiere de equipo sofisticado. La espectrofotometría ultravioleta también se ha empleado en estudios en leche y carne, pero no encontramos reportes sobre su uso en huevos.

Un método sencillo de identificación y cuantificación, una vez que han sido eliminadas las enzimas del huevo con acción de inhibidores, es el microbiológico, usando cepas bacterianas sensibles a los productos en estudio, sin embargo como lo demostraron Di Giuseppe y Col., (3), no es un método muy sensible para detectar cantidades muy pequeñas. Considerando entonces las limitantes propias de este método, si al aplicarlo se obtienen halos grandes de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de componentes del huevo y una prevalencia generalizada de dicha respuesta, puede esto darnos una idea del estado actual que guarda el huevo con respecto a la presencia de inhibidores bacterianos no naturales, que en un

momento dado pueden constituir un problema de salud pública.

Debido además a la gran variedad de antibióticos y quimioterapéuticos de que se dispone en el mercado, la mayoría de los estudios conducidos a la fecha parten de una investigación inicial de las sustancias que están ingiriendo las aves para su posterior identificación y cuantificación en el huevo (Di Giuseppe y colaboradores, Yoshimura y colaboradores).

### OBJETIVO

Este trabajo tiene como finalidad la detección de inhibidores no naturales en huevos de gallina destinados a consumo humano y recolectados en el área metropolitana de Guadalajara.

MATERIAL Y METODOS

EQUIPO:           Agitador mecánico de tubos de ensayo  
                  Autoclave  
                  Balanza analítica  
                  Baño María  
                  Centrífuga  
                  Espectrofotómetro  
                  Estufa Bacteriológica  
                  Potenciómetro  
                  Refrigerador.

MATERIAL

BIOLOGICO:       Cepa Bacteriana Gram negativa. (Escherichia coli).  
                  Cepa Bacteriana Gram positiva. (Sarcina lutea)  
                  300 Huevos de gallina para consumo.

MATERIAL DE

LABORATORIO:   Asa Bacteriológica  
                  Bolsas de plástico  
                  Coladera  
                  Discos de papel filtro de 6 mm de diámetro.  
                  Embudos de plástico.  
                  Hisopos de algodón.  
                  Material de vidrio usual de laboratorio de bacteriología.  
                  Mecheros Bunsen y Fisher  
                  Pipetas Pasteur.  
                  Pizeta  
                  Separador de yemas  
                  Vernier  
                  Pinzas de disección y tijeras.

REACTIVOS: Solución Buffer de fosfatos-carbonatos de -  
pH 8.

MEDIOS DE

CULTIVO: Agar de Müeller-Hinton.  
Caldo nutritivo.

## METODO MICROBIOLOGICO

### I./MUESTREO.

Durante el periodo comprendido del 26 de Abril al 2 de Julio de 1983 se recolectaron al azar un total de -- 300 huevos. Y se dividieron en 75 lotes de 4 huevos cada uno. La recolección se hizo de diferentes lugares en que el consumidor puede tener acceso al producto como son: - mercados fijos y ambulantes, expendios de pollo y huevo, - tiendas de autoservicio y abarrotes, de la Zona Metropolitana de Guadalajara.

### II.- Estandarizacion de las condiciones de Trabajo.

Tomando como base las investigaciones de Di Giuseppe y Col., así como la información procedente de las tesis de González Corona, González Villegas y Pérez Espino, se determinaron las condiciones de trabajo más favorables.

Las cantidades de medio de cultivo, su espesor (medio sólido), el tamaño de los discos de papel filtro, la cantidad de bacterias usadas en la siembra de las cepas, el tiempo de incubación, así como la cantidad y tipo de -- solventes se probaron bajo diferentes condiciones, seleccionando las que proporcionaron mejores resultados, y que son las descritas a continuación.

### III.- Microorganismos de Prueba.

Se usó una cepa liofilizada de *Sarcina lutea* (Gram positiva) y otra de *Escherichia coli* (Gram negativa).

Resuspendimos el liofilizado de *Sarcina lutea* usan

do 2 ml. de agua estéril, efectuada aquella, tomamos con jeringas 0.5 ml. y los depositamos en tubos de ensayo con tapón de baquelita que contenían 10 ml. de caldo nutritivo.

Se incubó 48 horas a 35°C con estufa bacteriológica, al cabo de las cuales se efectuó resiembra en placa, usando una gota de cultivo y efectuando siembra por estrías en el medio de Mueller-Hinton. Incubamos por 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se observó el aspecto de las colonias; redondas, de bordes lisos, brillantes, con pigmentos amarillos. Se tomó una muestra para efectuar tinción de Gram.

Comprobada la pureza, se propagó a tubos de tapón de baquelita con 10 ml de caldo nutritivo, los cuales una vez estandarizados sirvieron para la siembra de las placas de prueba.

El cultivo patrón en placa se almacenó en refrigeración por una semana, al cabo de la cual se substituyó por otro puro y nuevo.

El otro germen de prueba fue una cepa Gram negativa, representada por *Escherichia coli*. Se siguió el mismo procedimiento descrito para *Sarcina*, a excepción de que el cultivo madre no era de un liofilizado, sino una colonia procedente de un cultivo en verde brillante.

#### IV.- Preparación de medios de cultivo y material.

Se usó caldo nutritivo para la obtención de cultivos tanto de *Sarcina* como de *Escherichia*, a una concentración de 9 g/100 ml.

Para las cajas de petri empleamos agar de Mueller-Hinton en concentración de 40 g/100 ml.

Se esterilizó el material y los medios de cultivo en autoclave y se prepararon las placas, añadiendo a las mismas 13 ml de Agar de Mueller-Hinton; efectuada la solidificación se refrigeraron hasta su uso.

#### V.- Preparación de la solución buffer.

Para efectuar la separación de las enzimas, y para evitar que los extractos se coagularan cuando se calentaban, requerimos de un solvente, que además causaba la precipitación de algunas proteínas (sobre todo en caso de la yema), se siguió la técnica de Di Giuseppe y Col., usamos una solución buffer de carbonato-fosfatos, a pH 8, el cual se checaba con un potenciómetro, ajustando a pH 8 a 8.03- con carbonatos o fosfatos según fuera el caso.

#### VI.- Obtención de los extractos.

Se trabajaron yema, clara y membrana vitelina de cada huevo.

##### A) Obtención de clara

Se usó un separador de yemas sobre un embudo, y se deslizó la clara por éste hasta una bolsa plástica colocada dentro de un frasco, se mezcló agitando la bolsa y con una varilla de vidrio. Realizamos un corte en uno de los extremos de la bolsa, depositando aproximadamente 2 ml en tubos de ensayo de 100 x 15 mm. añadimos con pipeta 10 ml

de solución buffer, se pasan los tubos a un agitador mecánico durante 2 minutos para mezclar el contenido.

Los tubos se refrigeran por 18-20 horas para dejar actuar al buffer.

#### B) Obtención de yema

Del separador de yemas, ésta se pasó a una coladera provista de malla de 2 mm colocada sobre un embudo. La salida del embudo descansaba dentro de una bolsa contenida a su vez en un frasco. Rompiendo la membrana vitelina con un agitador, la yema pasaba a través de la coladera.- Se continuó el mismo proceso descrito para la clara.

#### C) Obtención de membrana vitelina

La membrana vitelina quedó retenida en la coladera, se lavó entonces con agua de la llave para eliminar residuos de yema, luego usamos agua destilada aplicándola con pizeta.

Por medio de pinzas de disección pasamos la membrana a tubos de ensayo de 100 X 12 mm, añadimos con una pipeta 4 ml de buffer y se procedió en la forma descrita para clara y yema.

### VII.- Inactivación de enzimas.

Después de refrigerar por 18-20 horas, centrifugamos los tubos durante 15 minutos a 3,000 rpm aproximadamente, luego se extrajo el sobrenadante usando pipetas Pasteur, se depositó en tubos de ensayo de 100 X 12 mm -

hasta completar cerca de 7 mililitros para cada extracto, (yema y clara) y 3.5 ml para los extractos de membrana vi telina.

Se colocaron los tubos en una canastilla, y se su mergieron en baño maría 15 minutos a 80°C. Los extractos asf obtenidos están listos para probarse. En algunas oca siones, sobre todo en aquellos provenientes de yema, era necesario añadir de 0.2 a 0.3 ml. más de buffer luego del calentamiento, ya que en algunos casos semicoagulaban en tal forma que interferían con la velocidad de difusión.

#### VIII.- Siembra de las placas de prueba.

Se usaron cultivos en caldo nutritivo, con una lec tura de 60 a 61% de transmitancia (con espectrofotómetro a 600 nm), correspondientes a aproximadamente 350 millo nes de bacterias/ml (según la escala de Mc Farland usando como patrones tubos con BaSO<sub>4</sub>). Esa concentración de gér menes se alcanzaba en un tiempo que variaba de 40 a 44 ho ras de incubación a 35°C.

Eliminando el exceso de humedad del medio con hiso po, se usó otro para sembrar las placas; este último, es taba humedecido con el gér men de prueba.

Se prepararon 2 series de cajas, una sembrada con Sarcina, y la otra con Escherichia. La cara externa del fondo de cada caja se dividió en 8 secciones.

Se implantaron los extractos inactivados, usando discos de papel filtro estériles, aplicados con pinzas de disección previamente flameadas. Cuando los discos queda

ban muy húmedos, se retiraba el exceso de humedad usando un papel filtro.

Cada extracto se confrontó tanto contra Sarcina, - como contra Escherichia. Las cajas se marcaron para identificarlas, y se incubaron 24 horas a 35°C.

IX.- Lectura de resultados.

Después de 24 horas de incubación, se observaron - las placas y se midieron los diámetros de los halos de -- inhibición con un Vernier.

## R E S U L T A D O S

De los 300 huevos analizados, 35 (11.66%) resultaron positivos a inhibidores bacterianos no naturales, y - 265 (84.34%) dieron resultados negativos (Gráfica No.1).

De las muestras positivas, 13 correspondieron a -- huevos con yema y clara que inhibieron crecimiento bacteriano, 11 en que la inhibición sólo se obtuvo con la yema, 7 sólo con la clara y 4 en que la inhibición la produjeron tanto la yema como la clara y la membrana vitelina. (Gráfica No. 2).

Las dimensiones de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano de los diferentes extractos probados frente a *Escherichia coli* y a *Sarcina lutea*, se representan en el cuadro No. 1.

De los extractos de cada una de las 35 muestras positivas, se obtuvieron en total 87 halos de inhibición, - 51 de los cuales (58.6%) correspondieron a *Sarcina lutea* y 36 (41.3%) a *Escherichia coli* (Gráfica No. 3).

En los extractos probados, el de yema dió un mayor número de halos de inhibición, ya que fueron en total 44 (50.5%), seguidos del de clara que fueron 37 (42.5%); el número más bajo correspondió a membrana vitelina con sólo 6 (6.9%) extractos positivos (Gráfica No. 4).

El crecimiento de *Sarcina lutea* fue inhibido por - 26 extractos de yema, 21 extractos de clara y 4 extractos de membrana vitelina (Gráfica No. 5).

La reproducción de *Escherichia coli* fue inhibida - por 18 extractos de yema, 16 extractos de clara y 2 ex-

tractos de membrana vitelina (Gráfica No. 6).

El polígono de frecuencias para los halos de inhibición en base a los resultados expresados en el cuadro No. 1, se representa en la gráfica No. 7.

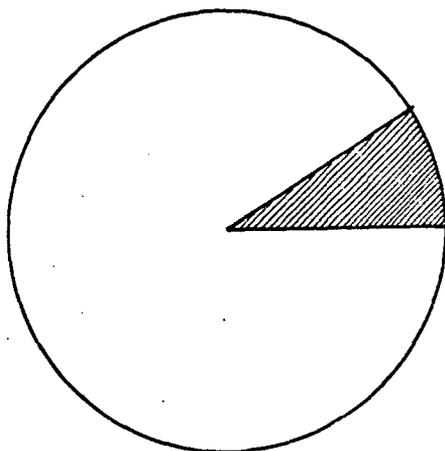
La frecuencia más alta, y por lo tanto el valor modal, tanto para *Sarcina* como para *Escherichia* se encontró en el intervalo comprendido entre 8 a 8.95 mm de diámetro. En ambos casos la frecuencia tiende a descender a medida que aumenta el diámetro de los halos de inhibición, correspondiendo por lo tanto la menor a valores comprendidos entre 11 y 12.95 mm.

También en base al cuadro No. 1 se obtuvo el valor de la media para los halos de inhibición: Para *Sarcina* -- fue de 9.27 mm y para *Escherichia* de 9.03 mm, con una desviación estandar de 1.428 y 1.423, respectivamente.

Aunque en las gráficas y en el cuadro No. 1, se demuestra que la *Sarcina* fue más sensible para detectar los inhibidores de crecimiento bacterianos no naturales en los huevos muestreados, no existe una diferencia estadística entre las medias calculadas.

MUESTRA	Sarcina lutea			Escherichia coli		
	CLARA	YEMA	MEMBRANA	CLARA	YEMA	MEMBRANA
9	11.6	11.8		12.70	10.55	
20		8.05			7.65	
36	11.7	12.05		11.20	12.0	
42		9.95			9.05	
43	8.45	10.1				
44		7.95			7.75	
69	9.4	9.6		8.90	8.70	
74		8.10				
81	7.85	8.05	7.20	7.90	8.35	7.05
83	8.10	8.15	7.05	7.90	8.15	7.0
90		11.4			10.75	
97	7.90	8.10				
98					8.65	
129	10.75	10.95		9.65	9.90	
137		9.25			8.70	
138	9.15	9.45				
146		7.9				
163		9.05				
174	7.90	8.05		7.35	8.0	
185	8.05			7.95		
192				10.1		
199					11.70	
201	8.30					
213		8.05			7.70	
223	8.45	8.75				
224	11.60	11.55				
233	7.95			8.15		
249	10.95	12.90	7.25			
252	10.70	10.95	7.30			
261	9.3			8.70		
277	8.15	8.35		8.25	8.30	
286	9.70	10.1		8.75	9.05	
289	9.30	9.65		9.05	9.15	
293				10.1		
294				9.70		

CUADRO No. 1: DIAMETRO DEL HALO DE INHIBICION EXPRESADO EN MILIMETROS, DE MUESTRAS POSITIVAS A INHIBIDORES BACTERIANOS NO NATURALES.



GRAFICA No. 1

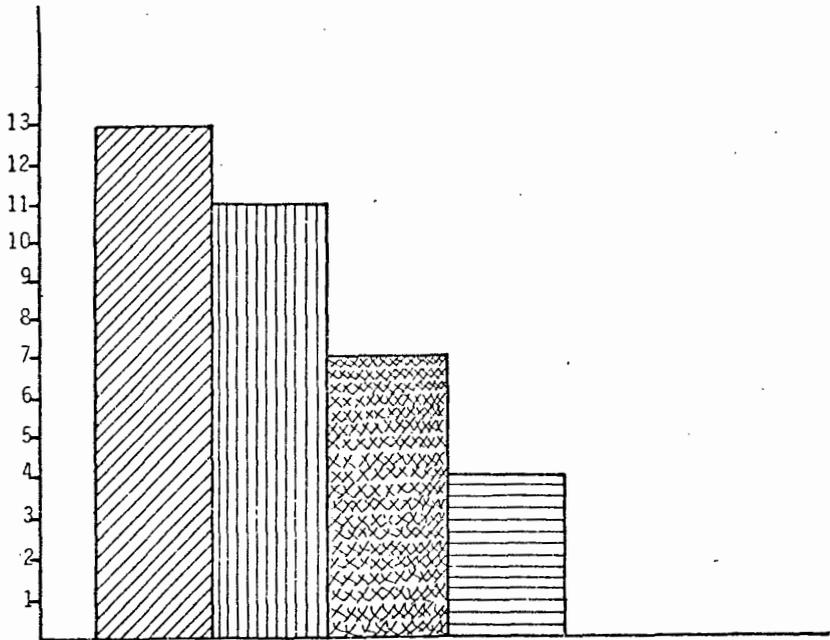
RELACION DE MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS  
A INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO BACTERIANO -  
NO NATURALES.



POSITIVAS (11.66%)

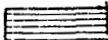


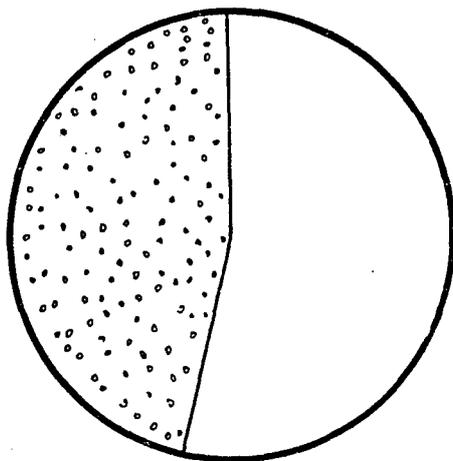
NEGATIVAS (84.34%)



GRAFICA No. 2

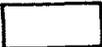
RELACION DE MUESTRAS POSITIVAS A INHIBICION DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

-  MUESTRAS CON EXTRACTO DE YEMA Y CLARA POSITIVAS
-  MUESTRAS CON SOLO EXTRACTO DE YEMA POSITIVO.
-  MUESTRAS CON SOLO EXTRACTO DE CLARA POSITIVA.
-  MUESTRAS CON EXTRACTO DE YEMA, CLARA Y MEMBRANA VITELINA POSITIVAS.

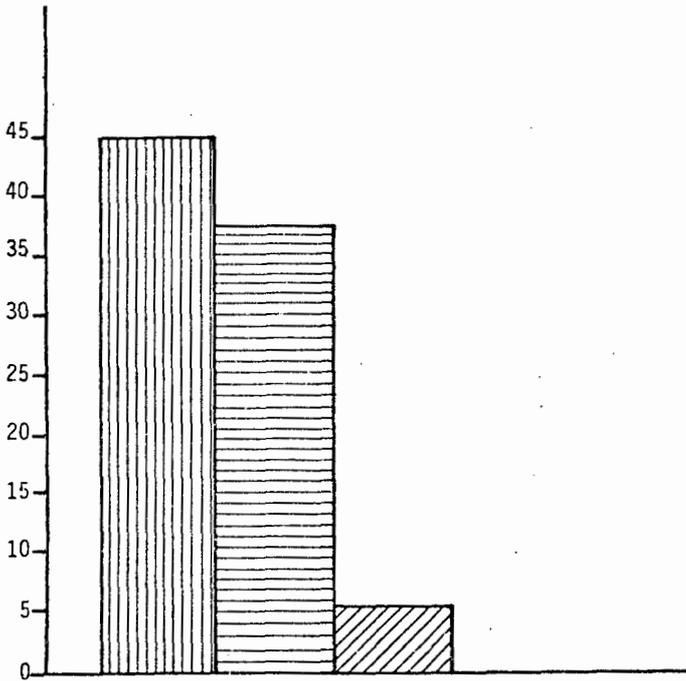


GRAFICA No. 3

RELACION DE HALOS DE INHIBICION TOTALES CORRESPONDIENTES A CADA CEPA BACTERIANA.

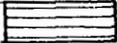
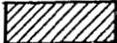
 Sarcina lutea (58.6%)

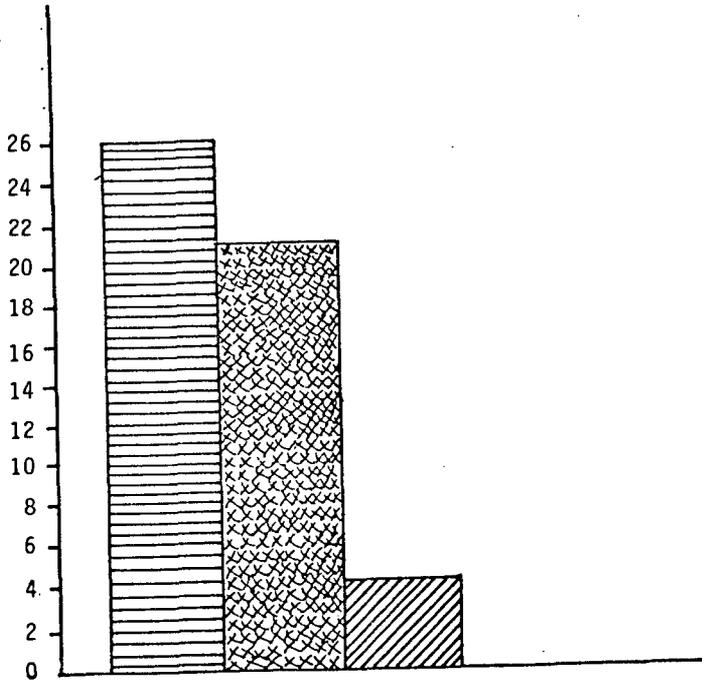
 Escherichia coli (41.3%)



GRAFICA No. 4

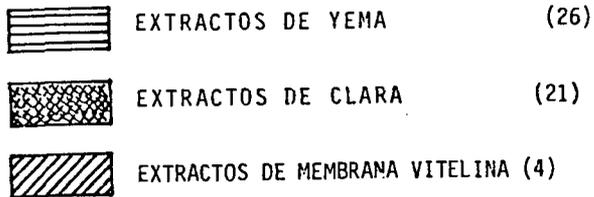
RELACION DE EXTRACTOS QUE PRESENTARON HALOS DE INHIBICION DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

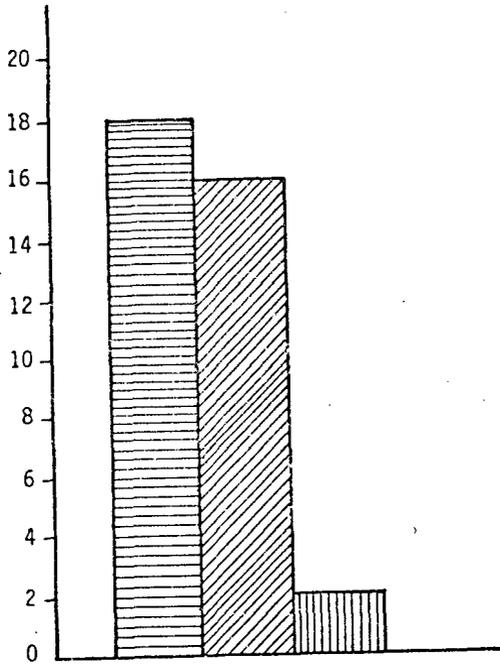
	EXTRACTO DE YEMA	(44)
	EXTRACTO DE CLARA	(37)
	EXTRACTO DE MEMBRANA VITELINA	(6)



GRAFICA No. 5

RELACION DE EXTRACTOS QUE INHIBIERON  
CRECIMIENTO DE *Sarcina lutea*.

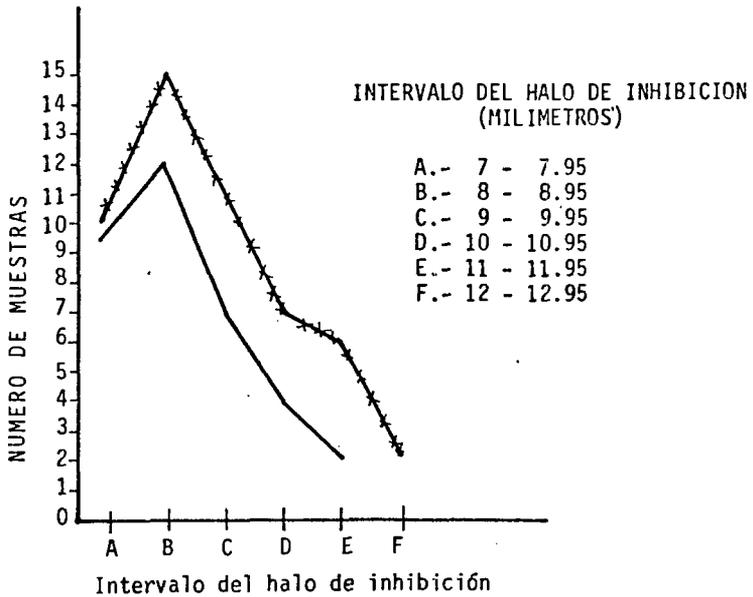




GRAFICA No. 6

RELACION DE EXTRACTOS QUE INHIBIERON CRECIMIENTO DE *Escherichia coli*.

	EXTRACTOS DE YEMA	(18)
	EXTRACTOS DE CLARA	(16)
	EXTRACTOS DE MEMBRANA VITELINA	(2)



GRAFICA No. 7

POLIGONO DE FRECUENCIAS: DIAMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICION DEL TOTAL DE EXTRACTOS POSITIVOS.

xxxxx *Sarcina lutea*

— *Escherichia coli*

$\bar{X}$  *Sarcina* = 9.27      D.S. = 1.428

$\bar{X}$  *Escherichia* = 9.03      D.S. = 1.423

$\bar{X}$  = MEDIA

D.S. = DESVIACION ESTANDAR

D I S C U S I O N

Los valores encontrados son un porcentaje menor al esperado, incluso si tomamos como base el número de lotes (26) que aportaron muestras positivas. El hecho de que cuando menos un huevo del total de 4 que formaban el lote resulte positivo, nos indica que existen inhibidores no naturales, aún cuando no hayan podido evidenciarse en todas las muestras del mismo.

Los resultados dependen de una serie de variables que escapan a nuestro control, desconocemos las condiciones de manejo a que se vió sometido el producto antes de su adquisición, así como el tiempo de almacenamiento y la influencia de estos factores sobre los inhibidores no naturales cuando se hallan presentes.

Desconocemos si los huevos que formaban los lotes fueron puestos dentro del período de medicación del agua y/o pienso, o en días posteriores al tratamiento, ya que como lo señalan Di Giuseppe y Col., así como Yoshimura y Col., a medida que pasa el tiempo luego del último día de tratamiento, llega un momento en el cual no pueden detectarse los medicamentos.

Ello puede deberse a dos factores; o bien ya no existen en el producto, o bien, se hallan en cantidades tan pequeñas que no pueden evidenciarse por el método microbiológico.

Otra serie de variables se refiere a las aves, y al manejo y alimentación que éstas reciben, factores que influirán en el producto y sus características. Sobre todo que el peso y tamaño del huevo, influirá sobre la cantidad de substancias depositadas por gramo de materia, --

aún cuando nosotros usamos cantidades más o menos iguales de las sustancias de prueba de cada huevo, éstos no tenían un peso y tamaño uniforme, pues el muestreo fue al azar.

Los resultados obtenidos, concuerdan sin embargo con lo señalado por Yoshimura y Col., en el sentido de que la mayor cantidad de sustancias se depositan en la yema, además nos sirve esto de apoyo para confirmar que la inactivación de las enzimas del huevo con carácter inhibitorio fue efectiva, ya que como lo señalan Di Giuseppe y Col., dichas sustancias se hallan en mayor proporción en la clara y membrana vitelina (que fueron los extractos que dieron menor porcentaje de positivos), y en pocas ocasiones aparecen en la yema.

En algunas muestras se evidenciaron residuos de inhibidores sólo en la yema, y en otras sólo en la clara, pero en ningún caso sólo en la membrana vitelina. Cuando este extracto resultó positivo, los otros dos fueron también; quizá los huevos en que resultó positiva la membrana vitelina, eran los que tenían mayor cantidad de inhibidores (en 2 de los casos, el diámetro de los halos de inhibición excede al valor promedio).

Las muestras que solamente resultaron positivas a la clara, posiblemente se deba a que contenían un producto con baja habilidad para penetrar al huevo, ya que Yoshimura y Col. encontraron esta característica para la Tilosina, la cual reportan que dio concentraciones más altas en clara, y menores en yema.

En la mayor parte de los resultados obtenidos se observa inhibición en ambos tipos de gérmenes (Sarcina -

y Escherichia), lo cual sugiere que la mayor parte de las sustancias presentes son de amplio espectro.

A pesar de que en apariencia, en base al número de extractos que inhibieron al germen, así como el diámetro de los halos de inhibición, la Sarcina parece la cepa más sensible, no hubo diferencia estadísticamente significativa cuando se comparó con los obtenidos para Escherichia.

El número de huevos con extractos que dieron halos de inhibición, así como el diámetro de éstos sugiere la presencia de muy bajos niveles de inhibidores bacterianos no naturales en este producto.

## CONCLUSIONES

- 1.- Se evidenció la presencia de inhibidores bacterianos-naturales en 11.66% de los huevos muestreados.
- 2.- Los resultados obtenidos son un porcentaje menor al esperado.
- 3.- La yema fue el extracto con mayor número de diámetro de los halos de inhibición, seguida de la clara, y en muy pequeña proporción de la membrana vitelina.

Huevos cuyos 3 extractos resultaron positivos (yema, clara, membrana vitelina) fueron los menos abundantes, ocupando un lugar intermedio aquellos que solamente tenían yema positiva.

Los más abundantes poseían clara y membrana vitelina-positivas.

- 4.- El diámetro de los halos de inhibición fue menor al que menciona Di Giuseppe haber obtenido. A pesar de que la Sarcina fue inhibida con mayor frecuencia y -- con mayores halos, no existió diferencia significativa entre la media de Escherichia y la del ya mencionado germen.
- 5.- La mayor parte de los extractos positivos inhibían ambos gérmenes de prueba, lo cual sugiere que los inhibidores presentes son de amplio espectro en su mayoría.

R E S U M E N

Durante el período comprendido del 26 de Abril al 2 - de Julio de 1983, se muestrearon 300 huevos de gallina de los que se consumen en Guadalajara y zona metropolitana, - en busca de residuos de inhibidores bacterianos que pudie- ran constituir un problema de salud pública.

Usando el método microbiológico, empleamos como or- ganismos de prueba a *Sarcina lutea* (Gram positiva) y a -- *Escherichia coli* (Gram negativo); basados en la técnica - de Di Giuseppe y Col., se muestreó yema, clara y membrana vitelina de cada huevo.

35 Muestras (11.66%) a las que correspondieron un- total de 87 extractos (de yema, clara y membrana viteli- na) resultaron positivas.

El mayor porcentaje de muestras positivas lo apar- tó la yema (50.5%) seguida de la clara (42.5%) y por últi- mo la membrana vitelina (6.9%).

El diámetro de los halos de inhibición(media) fué - de 9.27 mm para *Sarcina* y 9.03 mm para *Escherichia*. No - hubo diferencias significativas a pesar de que *Sarcina* -- fue el germen inhibido con mayor frecuencia y con mayores diámetros para los halos de inhibición.

La mayor parte de las sustancias presentes inhi- bió ambos gérmenes de prueba, lo cual sugiere que son de amplio espectro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Bradshaw Jack L. : MICROBIOLOGIA DE LABORATORIO.  
Editorial El Manual Moderno. México, 1976.
- 2.- Carter Gordon R. : DIAGNOSTIC PROCEDURES IN VETERINARY BACTERIOLOGY AND MICOLOGY. Third edition. Pags. 347 - 362.  
Charles C. Thomas publisher. U.S.A. 1979.
- 3.- Di Giuseppe F. Foglini A. Quercetti D. Gualtieri M. - Valentini G : OSSERVAZIONI E RICERCHE SULLA PRESENZA DI INHIBENTI BATTERICCI NELLE UOVA DI GALLINA.  
Veterinaria Italiana. Vol. 26. Pags. 107-116. Abril-1974.
- 4.- Frazier W.C. : MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS.  
Segunda edición. Pags. 292-293. Editorial Acribia.  
Zaragoza. España. 1972.
- 5.- Giavarinni Ida: TRATADO DE AVICULTURA. Pags. 339-343.  
Editorial Omega. Barcelona España. 1971.
- 6.- González Corona José Luis : DETERMINACION Y DETECCION DE ANTIBIOTICOS EN LECHE DESTINADAS AL CONSUMO HUMANO DE LA CIUDAD DE GUADALAJARA Y PERIFERIA.  
Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
Universidad de Guadalajara. 1979.
- 7.- González Villegas Raúl Antonio : DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE SULFONAMIDAS EN LECHE QUE CONSUME EL - DISTRITO FEDERAL.  
Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 1974.

- 8.- Meyer Jones L. Booth Nicolas H. Mc Donald Leslie E.:  
VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS. Fourth edi--  
tion. The Iowa State University Press. 1977.
- 9.- NUEVO CODIGO SANITARIO DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.  
Editorial Divulgación. México. 1973.
- 10.- Pérez Espino Pablo: REVISION DE LA INCIDENCIA DE INHI  
BIDORES BACTERIANOS EN LECHEs QUE SE CONSUMEN EN EL -  
D.F. ANALIZADAS EN LOS LABORATORIOS DE LA DIRECCION -  
GENERAL DE CONTROL DE ALIMENTOS, BEBIDAS Y MEDICAMEN-  
TOS DE LA SSA EN EL AÑO DE 1975 Y PRIMER SEMESTRE DE-  
1976.  
Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veteri- -  
naria y Zootecnia. U.N.A.M. 1977.
- 11.- PRONTUARIO DE ESPECIALIDADES VETERINARIAS. Sexta edi  
ción. Centro Profesional de Publicaciones S.A. Méxi-  
co. 1981.
- 12.- Sturkie Paul D : FISILOGIA AVIAR. Traducción de la  
segunda edición Inglesa. Pags. 380-390. Editorial --  
Acribia. Zaragoza España. 1968.
- 13.- Vázquez Rojas Fernando : LOS QUIMIOTERAPEUTICOS, SU -  
EMPLEO Y SUS COMBINACIONES CON INTERES ESPECIAL EN LA  
NUTRICION ANIMAL.  
Porcirama. Vol.VIII. No. 89. Pags. 27-47. México. - -  
1982.
- 14.- Wayne W. Daniel: BIOESTADISTICA. Primera edición.  
Editorial Limusa. México. 1977.

- 15.- Yoshimura Harou. Itoh Osamu. Kondo Kunio. Yonezawa Shoicchi. Nagura Seichi: RESIDUES OF MACROLIDE - - ANTIBIOTICS IN EGGS LAID BY HENS GIVEN MEDICATED - -- DRINKING WATER.  
Annual report of National Veterinary Assay Laboratory. No. 15. Pags. 43-48. Kokubunji. Tokyo. Japon. 1978.
- 16.- Zähler Hans. Maas Werner K : BIOLOGY OF ANTIBIOTICS.- Pags. 15-30. Editorial Springer-Verlag. New York-Ber- lfn. 1972.