

# ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

---

**TOMO III - Núm. 1**

**Enero - Febrero, 1962**

---

**Director:** PROF. DR. JESUS CABO TORRES

**Redacción y Administración:** FACULTAD DE  
FARMACIA - GRANADA (ESPAÑA)

---

UNIVERSIDAD DE GRANADA

RECTOR DE LA UNIVERSIDAD

PROF. DR. EMILIO MUÑOZ FERNANDEZ

VICE-RECTOR

PROF. DR. J. M.<sup>a</sup> CLAVERA ARMENTEROS

FACULTAD DE FARMACIA

TITULARES

- Prof. Dr. J. Dorronsoro Velilla.* Decano, Química inorgánica, analítica y aplicada.
- » » *J. Cabo Torres,* Farmacognosia I y II.
  - » » *V. Callao Fabregat.* Microbiología I y II.
  - » » *J. M.<sup>a</sup> Clavera Armenteros.* Técnica Física y Fisicoquímica.  
(Encargado de Bromatología e Historia).
  - » » *D. Guevara Pozo.* Parasitología.
  - » » *J. M.<sup>a</sup> Muñoz Medina.* Botánica I y II.
  - » » *L. Recalde Martínez.* Fisiología Vegetal.
  - » » *J. Saenz de Buruaga y Sánchez.* Química Orgánica I y II.
  - » » *J. M.<sup>a</sup> Suñé Arbussá.* Farmacia Galénica y Técnica Profesional y Legislación.
  - » » *G. Varela Mosquera.* Fisiología Animal.

ENCARGADOS

- Dr. M. Montcoliva Hernández.* Bioquímica I y II.  
*Dr. R. García Villanova.* Análisis Químico.  
*Dr. J. L. Alías Pérez.* Mineralogía y Geología.

PROFESORES ADJUNTOS

- Dr. M. Abumada, Dr. L. J. Alías, Dr. E. Esteban, Dr. R. García Villanova,*  
*Dr. J. L. Guardiola, Dr. F. Mascaró, Dr. M. Montcoliva, Dr. A. Serrano,*  
*Dr. J. Thomas, Dr. J. Vigaray.*

# REVISTA FARMACÉUTICA

*La responsabilidad de los conceptos  
expuestos en los trabajos no incumbe a  
la Redacción de la Revista sino a sus  
respectivos Autores.*

Dep. Legal Gr. núm. 17 - 1960

---

Imprenta José M.<sup>a</sup> Ventura Hita - Mesones, 23 - Granada

CATEDRA DE MICROBIOLOGIA

Prof. Dr. V. Callao

Ars. Pharm. III, (n.º 1), 1962

**Estudio bacteriológico y consideraciones  
higiénico - sanitarias sobre la producción y  
distribución de pasteles en Granada**

por

M.<sup>a</sup> de los Angeles Navarro Vaquerizo

Entre los distintos tipos de alimentos capaces de dar lugar a estados de intoxicación, ocupan un lugar muy destacado los productos de pastelería y confitería, cuya composición, y complicada elaboración, los hacen medios extraordinariamente aptos para el desarrollo del gran número de microorganismos.

Generalmente, la introducción de los gérmenes contaminantes en dichos productos, se verifica por medio de sus componentes y su multiplicación es favorecida por la humedad de los pasteles y la harina empleada en su fabricación.

Orientamos el presente trabajo, a considerar en primer lugar, los distintos tipos de agentes que intervienen de un modo definitivo en la aparición de tales trastornos en el organismo humano, aislamiento e identificación de los grupos de gérmenes toxi-infecciosos más importantes en estos alimentos, modificaciones del Reglamento vigente, establecemos una relación entre los resultados del análisis bacteriológico y las condiciones sanitarias observadas en las distintas industrias, con vistas a un mejor funcionamiento de las mismas.

## A) PARTE GENERAL

Podemos establecer tres grupos de agentes causales de intoxicaciones: Tóxicos, Sanitarios y Epidemiológicos.

### Agentes tóxicos

Incluimos en este grupo, aquellos tipos de bacterias que con más frecuencia han sido considerados responsables en los accidentes debidos al consumo de alimentos en malas condiciones. Cada uno de ellos, al invadir el organismo humano, dará lugar a determinada sintomatología, que caracteriza el tipo de intoxicación alimenticia.

Entre todos estos gérmenes, ocupan un lugar muy destacado los *Salmonella* sobre todo cuando se trata de alimentos conservados.

Se ha observado, que en todas las epidemias debidas a estos microorganismos, intervenían alimentos ricos en proteínas animales, por lo que cuanta mayor cantidad de huevos entren a formar parte de una determinada crema, más posibilidades habrá de que se desarrollen tales gérmenes.

Sin embargo Nevot (1947) afirma, que en muchos casos se ha atribuído a estas bacterias, el origen de intoxicaciones que fueron causadas por otras de tipo distinto, tales como estafilococos, colis..., etc., y más tarde Dack (1949), diferencia por sus síntomas, las salmonelosis, de otras intoxicaciones.

Las especies de *Salmonella* que se han aislado más frecuentemente, son *S. typhi-murium*, *S. enteritidis*, *S. thompson* y *S. cholerasuis*. Sin embargo, Jerace (1953), comprobó que las cremas eran medios de cultivo excelentes para el *S. paratyphi*, y Sandiford (1954), aisló el *S. typhi* de un recipiente cerrado de crema esterilizada.

Los estafilococos, también han sido considerados en muchos casos, agentes causales de intoxicaciones, y los alimentos que estudiamos por ser de tipo láctico, favorecen de una manera extraordinaria el desarrollo de tales bacterias.

Sin embargo, no todos los estafilococos son tóxicos, sino que este es un carácter particular de ciertas cepas, que en condiciones adecuadas, son capaces de producir un tipo especial de toxina termoestable y neurotópica, denominada enterotoxina, que es la causa de las intoxicaciones.

La naturaleza de esta sustancia, y su acción sobre animales de experimentación, han sido conocidas, gracias a los estudios de Dack (1930),

Jordan (1931), Eaton (1938), Dolman y Wilson (1940), y Haynes y Flucker (1946).

Ciertos gérmenes termorresistentes tales como *Bacillus* y *Clostridium*, cuyas esporas sobreviven fácilmente a las temperaturas de cocción de los alimentos, pueden en determinadas circunstancias, contaminar las masas pasteleras, constituyendo un peligro de intoxicación. Hobbs y otros (1953), atribuyeron al *Cl. perfringens*, la causa de ciertos trastornos alimenticios, hecho probado posteriormente, haciendo ingerir a voluntarios humanos cultivos de este germen aislados de alimentos, y los estudios de Hauge (1950), Castellani, Makowsky y Bradley (1955), demuestran que los *Bacillus*, especialmente la especie *B. cereus*, puede con frecuencia, producir intoxicaciones.

Gran número de investigadores, entre los que destacan Linden, Turner y Thom (1926), Cary, Dack y Davison (1938), Cary, Dack y Meyers (1931) así como Buchbinder, Osler y Steffen (1948), han considerado a los estreptococos, especialmente a los del grupo enterococo, como agentes etiológicos de muchas intoxicaciones y Jordan y Burrows (1934), observaron que los estreptococos viridans, producían una toxina, que al administrarla a monos y conejos daba lugar a agudas gastroenteritis.

Otros tipos de gérmenes tales como *colis*, *Proteus*... etc., han sido también considerados agentes tóxicos principalmente por Demnitz (1926), Gamoka-Kaidoukova y Fedorova (1948)... etc.

### Agentes sanitarios

Consideramos tres fundamentales: limpieza, esterilización y conservación. La falta de limpieza en recipientes donde se hacen las masas, locales, maquinaria, vestidos, instrumentos y manos de operarios, favorece extraordinariamente la contaminación y posterior desarrollo de bacterias. En relación con las mesas de trabajo, se sabe, que el material de que están hechos los tableros, influye de una manera notable en el peligro de contaminación, según la mayor o menor porosidad de su superficie. La madera, es materia apta para dichas contaminaciones, pues se ha demostrado, la facilidad que tienen los estafilococos para cultivar en madera macerada, especialmente si entre sus grietas o rendijas, han quedado restos de materia orgánica.

Respecto a la esterilización, ya hemos considerado las posibles contaminaciones debidas a gérmenes termoestables, así como la termorre-

sistencia de la enterotoxina estafilocócica. Por tanto, es necesario, que la temperatura alcanzada en la preparación de las cremas, sea lo suficiente elevada, y que el tiempo de permanencia de dicha temperatura sea también adecuado, para destruirlos.

Además de una esterilización conveniente, es necesaria también una buena conservación a fin de garantizar la inhibición del desarrollo de gérmenes en estado de vida latente, que hayan podido contaminar las cremas ya frías.

### **Agentes epidemiológicos**

Dentro de este tipo de agentes, hemos de tener en cuenta, aquellos gérmenes causales de intoxicaciones, y sus mecanismos de transmisión.

Ya nos hemos referido a los primeros, al indicar los agentes tóxicos. Respecto a los segundos, consideramos en primer lugar el aire, que por las gotas de Flúger o los núcleos de Weels, puede transmitir fácilmente los gérmenes contenidos en ellos; la humedad, pues es sabido que las bacterias se desarrollan mejor en ambiente húmedo que en el desecado, y el agua, cuyo papel como transmisora de gérmenes es aún más importante, ya que puede contaminar de una forma directa (almíbares y similares), o bien indirectamente (leche aguada, utensilios, piel de obreros al lavarse... etc.).

Como agentes transmisores del reino animal, existen principalmente las moscas, que por su especial constitución y acceso fácil a las viviendas, pueden transmitir distintos tipos de gérmenes, sobre todo de naturaleza intestinal, pues se nutren de basuras, estiércoles... etc.

Otros insectos, como chinches, cucarachas y algunos roedores, como ratas y ratones, pueden ser en determinados casos, medios fáciles de transmisión, y por último, hemos de considerar al hombre, especialmente a los portadores sanos de gérmenes, como agentes transmisores de extraordinaria importancia.

## **B) PARTE EXPERIMENTAL**

Utilizamos para la toma de muestras unos frascos especiales de boca ancha denominados «Duquesas», tapados con guata y esterilizados al horno,

Tomamos muestras del obrador y de pasteles ya fabricados a ser posible del día anterior, con vistas a un estudio comparativo.

En primer lugar, hacemos un recuento de gérmenes totales por el método de Breed, y otro de gérmenes vivos por el método de las placas.

Investigamos los distintos tipos de gérmenes según el siguiente esquema:

<i>Enterobacteriaceas</i>	{	a) Coli
	{	b) Salmonella.
<i>Cocos Gram positivos</i>	{	a) Estafilococos y Micrococos.
	{	b) Enterococos.
<i>Gérmenes esporulados</i>	{	a) Aerobios.
	{	b) Anaerobios.

*Investigación de la presencia de colis fecales.*—Hacemos una colimetría ordinaria, sembrando en medio de Mackonkey, aislamiento posterior en Wurtz (agar-lactosa-tornasol), y confirmamos su origen fecal por las pruebas del IMViC.

*Aislamiento e identificación de Salmonellas.*—Hemos hecho dos tipos de aislamiento, uno de ellos en Wurtz previo enriquecimiento en el medio de Kauffman, cuya composición es la siguiente:

Caldo común . . . . .	90 cc.
CO <sub>3</sub> Ca . . . . .	5 grs.
S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> . . . . .	5 grs.
Iodo . . . . .	25 grs.
IK . . . . .	3 grs.
Bilis . . . . .	5 cc.

y otro directamente en el medio de Wurtz. Identificamos por pruebas bioquímicas y serológicas.

*Aislamiento e identificación de Micrococáceas.*—Antes de aislar, enriquecemos en Chapman líquido para eliminar colis y Proteus no resistentes al CINa. Otros tipos de gérmenes que crecen en este medio se eliminan en un nuevo enriquecimiento por pase por agar semisólido, que hacemos según técnica original del profesor Callao (véase Tesis Doctoral). Aislamos en medio de Chapman sólido de la siguiente composición:

Agar común . . . . .	500 cc.
Manita . . . . .	5 grs.
ClNa . . . . .	37,5 grs.
Púrpura de bromocresol.	

Empleamos púrpura de bromocresol en vez de rojo fenol como recomendación Chapman por estimar que así se ve mejor el viraje del medio por la acción de los gérmenes fermentadores de la manita.

Una vez aislados, identificamos por las siguientes pruebas:

1.º Comportamiento frente al oxígeno. Teóricamente los gérmenes aislados deben de ser anaerobios facultativos, pero el cultivo de 16 horas en agar semisólido, permite el aislamiento en Chapman, de algunos aerobios estrictos, que han permanecido vivos aunque no desarrollados en esas condiciones. Por tanto es necesaria esa diferenciación entre facultativos y estrictos, con vistas a la clasificación posterior.

2.º Fermentación de Glucosa, Lactosa, Sacarosa, Manita, Glicerina y Salicina.

3.º Cromogénesis, en placas de agar-leche.

4.º Prueba de la coagulasa (véase Tesis Doctoral).

5.º Prueba del Indol.

6.º Reducción de los Nitratos.

7.º Hemólisis en tubo y placa (véase Tesis).

8.º Licuación de gelatina en tubos de gelatina ordinaria y placas de agar-gelatina (Técnica de Frazier modificada por Smitz, 1946).

9.º Utilización de la urea como única fuente de nitrógeno, en el siguiente medio:

Agar . . . . .	15 grs.
Urea . . . . .	1 gr.
ClK . . . . .	0,2 grs.
SO <sub>4</sub> Mg . . . . .	0,2 grs.
Agua . . . . .	1000 cc.

y bromocresol púrpura como indicador.

10.º Utilización sobre la leche, en tubos de leche tornasolada.

*Aislamiento e identificación de enterococos.*—Basándonos en los trabajos de Houston y McCloy (1916), que nos indican la gran resistencia al calor de estos microorganismos, así como en los de Dible (1921),

eliminamos los contaminantes por siembra en caldo común y calefacción posterior a 60° media hora. Aislamos en agar común, e identificamos por la prueba de la bilis.

*Aislamiento e identificación de esporulados aerobios.*—Como se trata también de gérmenes termorresistentes, sus colonias aparecerán junto a las de los enterococos, en la placa de agar común que utilizamos para aislar estos últimos diferenciándose de ellas, por su distinta morfología.

Clasificamos las distintas especies por los siguientes caracteres:

- 1.° Medida del germen y presencia o no de vacuolas.
- 2.° Características de las esporas.
- 3.° Pruebas de fermentación análogas a las de los estafilococos.
- 4.° Formación de Indol, reducción de los nitratos, y cromogénesis.
- 5.° Capacidad de crecimiento en caldo con un 7,5 % de ClNa.
- 6.° Reacción del V. P. y utilización del citrato.
- 7.° Acción sobre la leche tornasolada.
- 8.° Utilización del fosfato monoamónico.
- 9.° Licuación de la gelatina.

*Aislamiento e identificación de esporulados anaerobios.*—Enriquecemos en tubos de Hall con leche, aislamos en agar común incubando en campana de Brewer, y hacemos la identificación, por pruebas bioquímicas, producción de  $\text{SH}_2$ , acción sobre la leche tornasolada, y reacción del Indol.

### Resultados obtenidos

El número de gérmenes totales, ha sido muy elevado, pues según el factor del campo calculado, la sola presencia de una bacteria por campo, daría un número de ellas por gramo de crema de 1.443.000. Si tenemos en cuenta que como mínimo, hemos encontrado tres gérmenes por campo y en algunos casos hasta 30, se obtienen cifras muy elevadas.

De bacterias vivas, lógicamente, el número ha sido menor, aunque también considerable, pues hubo placas en que las colonias fueron prácticamente incontables.

En las pruebas colimétricas, hemos hallado un tanto por ciento de colis fecales confirmados por el IMViC, de 27 %. Sin embargo, no nos ha sido posible aislar ningún *Salmonella*.

De Micrococáceas, hemos obtenido un 55,7 %, y de ellas un 56,4 % han resultado ser micrococos, y un 43 % estafilococos. En la diferenciación de especies los resultados son los siguientes: 64,7 % de estafilococcus aureus, y 35,3 % de E. epidermitis. Respecto a los micrococos hemos diferenciado un 18,1 % de M. caseoliticus, otro 18,1 % de M. colpógenes, y sólo un 9 % de M. denitrificans. El resto no han podido ser identificados.

En un 68,5 % de las muestras hemos comprobado la presencia de Bacillus, que según sus características, hemos identificado como B. megaterium y B. subtilis, un 14,2 % de cada uno; un 6,1 % de B. cereus, otro de B. coagulans, y otro de B. badius, y solamente un 4,1 % de B. circulans, así como de B. pumilus. Las especies no identificadas, han dado un tanto por ciento de 42,8 %.

De enterococos hemos obtenido un 17 %, y respecto a los Clostridium, sólo hemos aislado cuatro en todas las muestras, que con arreglo a sus caracteres, han sido identificados como Cl. perfringens.

### Discusión de los resultados

De los resultados obtenidos, hacemos importantes deducciones sobre el estado sanitario de las industrias dedicadas a la producción y venta de productos de pastelería y confitería.

Ya a simple vista, la cifra extraordinariamente elevada de gérmenes totales y vivos, hace pensar en importantes deficiencias en dicha elaboración y venta.

Los colibacilos de origen fecal, indican bien a las claras, contaminaciones intestinales, debidas más difícilmente al agua, y con más facilidad, a falta de higiene en local y personal. Al mismo tiempo, la presencia de tales gérmenes, pone en evidencia el bajo e insuficiente proceso de esterilización a que se sometió la crema en el obrador, pues es bien sabido que se trata de gérmenes no termorresistentes, a no ser que la contaminación se deba a una mala conservación de la crema ya fría.

Los enterococos, pueden tener el mismo origen que los colis, y ambas contaminaciones pueden derivarse también de las materias primas, sobre todo de la leche, si las operaciones de ordeño y conservación, no han sido realizadas correctamente.

No consideramos a los micrococos de gran valor en el aspecto sanitario, pues se trata de gérmenes saprofitos no productores de toxinas.

Respecto a su diferenciación de los estafilococos, aunque hemos seguido la clave de Bergey, no estamos de acuerdo con los criterios de diferenciación de dicho autor, ya que incluye dentro de los micrococos, gérmenes que presentan todas las características de estafilococos, y además de estafilococos de tipo virulento. Así sucede con la cepa 85 por ejemplo, que por fermentar la manita, producir coagulasa, y licuar la gelatina podría ser un estafilococo patógeno, pero por ser aerobio estricto y utilizar el fosfato monoamónico, lo incluimos en el grupo de los micrococos. Otro tanto sucede con la cepa 98<sub>1</sub>, en la que observamos además de producción de coagulasa, reacción dudosa de hemolisis en tubo, y fermentación de la manita. Igual ocurre con las cepas 112, 120, 127... etcétera.

En relación con la clasificación de Micrococos, probablemente por las circunstancias expuestas, hemos encontrado dificultades al aplicar la clave, pues aunque es corriente encontrar en todos los casos gérmenes que no se adaptan, aquí el tanto por ciento de no clasificables es muy elevado.

Los estafilococos aislados, indican a nuestro juicio, mala elaboración en el aspecto sanitario. Ya conocemos su existencia en el aire, objetos... etc., y también que los tejidos de la nariz, garganta y piel de individuos sanos, presentan óptimas condiciones para el desarrollo y propagación de estos microorganismos.

Interesa saber, si tales estafilococos son patógenos, y más interesante aún si son enterotóxicos. Se sabe, que en la mayoría de los casos de intoxicación investigados, los estafilococos responsables, demostraron ser virulentos para el hombre. Por tanto, aquellos que presenten signos de virulencia podemos considerarlos como posibles productores de enterotoxina, y por tanto peligrosos desde el punto de vista sanitario.

Como criterio fundamental de patogeneidad, hemos considerado la prueba de la coagulasa, y de menor valor las de cromogénesis, licuación de la gelatina, hemolisis... etc., según trabajos de Fair Brother (1940), Bruscentini (1942), Ahscar y Mesquida (1943), Kourilsky y Mercier (1942 y 1945), Kourilsky, Mercier y Pillet (1949)... etc.

Así pues, consideramos la presencia de un 58%, de estafilococos coagulasa positivos, como prueba presumible de un manejo de la crema no perfecto desde el punto de vista higiénico-sanitario, durante algún tiempo antes a su examen en el laboratorio, por lo que presenta un peligro potencial de intoxicación ya que es posible que contenga en su interior gran cantidad de enterotoxina. En cambio, la presencia de un

41,2 % de estafilococos coagulasa negativos, indica a nuestro juicio, un manejo de la crema no perfecto en el obrador, pero no podemos tener evidencia de su peligro para la salud del consumidor.

Los Bacillus, por su naturaleza termorresistente, indican que las temperaturas de esterilización fueron insuficientes para destruir sus esporas. Su origen hay que buscarlo en las materias primas, sobre todo el azúcar, y también en el polvo de los locales que mantiene gran cantidad de esporas en suspensión.

Los Clostridium pueden tener este mismo origen, o bien proceder de la leche, insectos... etc.

### C) CONSIDERACIONES HIGIENICO SANITARIAS

*Reglamentación.*—En relación con todo lo expuesto sobre intoxicaciones y epidemias que pueden sobrevenir a consecuencia de ingerir pasteles contaminados, se hace bien patente la necesidad de una reglamentación específica de las citadas industrias, en cuyos artículos estén contenidas la totalidad de las normas sanitarias, como base de una industria pastelera con las máximas garantías sanitarias e higiénicas.

De acuerdo con estos extremos, la Presidencia del Gobierno, en Orden Ministerial de 29 de diciembre de 1956, y publicada en el Boletín Oficial del Estado del 3 de enero de 1957, aprobó el Reglamento para la elaboración y venta de productos de pastelería-confitería (véase tesis).

El Reglamento se encuentra dividido en cinco títulos, en los que están agrupadas las materias de una forma lógica y clara, ya que empieza como todos los tratados en general con el título I, que lleva la denominación: Definiciones. Sin embargo, consideramos excesivo e inadecuado el título, en relación con su contenido, pues en realidad no se definen los productos de pastelería-confitería; simplemente se hace una enumeración y no completa, de las clases de productos que entran dentro del ramo de pastelería y confitería, así como de las materias primas correspondientes.

El artículo 3.º, a nuestro juicio, está fuera de lugar, ya que su sentido es normativo y por tanto no está de acuerdo con la denominación «Definiciones».

Respecto al título II, creemos que sus artículos no están bien ordenados, pues en primer lugar, debería tratarse del envase, operación anterior al transporte y éste antes que la venta.

También creemos que dentro de este mismo título debería existir un artículo dedicado a las materias primas.

Estamos completamente de acuerdo con todo lo expuesto en el título III, y especialmente con el artículo 2.º de este título, que se refiere a prohibir las ventas callejeras, a no ser en ferias y fiestas tradicionales de cada localidad. Sin embargo, en este caso, el Reglamento no tiene en cuenta los mercados ambulantes, ferias de ganado... etc., que constituyen una parte muy importante de tales fiestas. Es absolutamente necesario que los puestos ambulantes de pasteles y dulces se encuentren lo más lejos posible de lugares de estacionamiento del ganado, vertederos de basuras, barracas... etc., por lo que debería existir otro artículo relativo a tales prohibiciones.

Otros dos artículos que había que incluir en el citado título se refieren al agua, que debe de ser potable, y a la leche, que no debe utilizarse nunca cruda, sino previamente esterilizada.

En la actual Reglamentación no se alude para nada el aspecto bacteriológico. A nuestro juicio debe de ir especificado el número máximo de gérmenes totales y vivos que deben existir por grano de crema, así como la prohibición de que sean patógenos o de tipo intestinal.

El título IV trata de las características de las fábricas y de la higiene de las elaboraciones. El primer artículo de este título, en sus seis apartados, se refiere solamente a local de venta y obrador, pero no alude para nada al local destinado a almacén, que tiene gran importancia.

Encontramos el apartado d) poco explícito. En él se pide indicar la clase de artículos que se pretende elaborar y capacidad anual referida a jornadas de ocho horas. Creemos que debe incluirse una descripción completa de todas las clases de pasteles y también muy importante la composición de cada una de ellas.

El artículo 12.º consta de dos apartados. El a) se refiere a las condiciones de higiene del obrador. A este efecto deberán indicarse de una forma precisa los procedimientos de limpieza empleados.

Nos vemos obligados a introducir aquí un nuevo apartado muy interesante relativo a los medios utilizados en la industria en cuestión, para evitar la propagación de insectos, así como la forma de esterilización de maquinaria y útiles, y entre qué períodos de tiempo se realiza dicha esterilización.

Aparte de esto, el artículo 12.º en su totalidad nos parece una parte del artículo 10.º, o mejor, los apartados de este último relativos al agua potable, suelo y desagües, deberían ser del 12.º

Lo especificado en los artículos 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19, nos parece perfecto, pero creemos necesario introducir otro artículo relativo al local almacén.

Las disposiciones del artículo 20.º relativas a los portadores de gérmenes por ser una prohibición deberían estar incluidas en el título III.

Igual sucede en el artículo 22.º, que prohíbe fumar en obradores y locales de venta.

*Relacion entre las condiciones bacteriológicas y sanitarias.*—Vista pues la necesidad del Reglamento y la existencia del mismo, es necesario un control de los distintos establecimientos, para que en ellos se cumpla lo más perfectamente posible dicho Reglamento.

Este control se logrará mediante inspecciones sanitarias, en las que los inspectores visitarán todas y cada una de las pastelerías y obradores, observando detenidamente todas sus características.

Posteriormente y para tener a mano todo lo relativo a una determinada industria, será conveniente rellenar una ficha donde consten todos estos datos (véanse en Tesis modelos de fichas tipo).

Por último y para completar la inspección, se tomarán muestras de los productos fabricados, que se llevarán al laboratorio para su análisis inmediato.

Hemos establecido con las distintas industrias en relación con sus características sanitarias, cuatro grupos o categorías: Excelente, Bueno, Regular y Malo.

En nuestro trabajo hemos visitado todas y cada una de las pastelerías de Granada, así como los obradores. La visita sanitaria dio los siguientes tantos por ciento:

B) Obradores	{	a) Buenas . . . .	17,9 %
		b) Regulares . .	38,4 %
		c) Malas . . . . .	43,5 %
A) Pastelerías	{	a) Buenos . . . .	35,2 %
		b) Regulares . .	17,6 %
		c) Malos . . . . .	47 %

Al analizar las muestras, hemos observado que gran parte de los establecimientos calificados previamente de buenos, contenían gran cantidad de gérmenes, cifra incluso superior a la de otros calificados de malos.

Para encontrar explicación a este hecho hemos pensado en la influencia de la clase de pastel y observamos que precisamente aquellos que contienen gran cantidad de crema son los que luego resultan más contaminados.

Al comparar, considerando un determinado tipo de pastel, pero fabricado en establecimientos distintos, encontramos que los procedentes de establecimientos Buenos, suelen en general contener más gérmenes que los Malos o Regulares.

Una explicación posible aunque no satisfactoria, podemos encontrar, si tenemos en cuenta la diferente composición de unos y otros pasteles. Así si consideramos por ejemplo la clase de pastel denominada «barquillo», encontramos en las distintas pastelerías según su categoría, barquillos cuya crema de relleno consta de huevos, azúcar, vainilla, leche... etc., junto a otros que sólo contienen agua, harina y azúcar. Se comprende que los primeros serán más propicios a contaminarse que los segundos.

Respecto a los obradores, observamos que en el período de preparación de la crema, contaminan generalmente los gérmenes de naturaleza intestinal, aunque predominan los *Bacillus* por la gran resistencia de sus esporas, y luego, al rellenar los pasteles aparece gran cantidad de estafilococos.

Por tanto, repetimos una vez más, el análisis bacteriológico de los productos de una determinada industria, pone de manifiesto la existencia de una higiene perfecta, de un estado sanitario perfecto, así como ciertas deficiencias en las elaboraciones de determinadas industrias, que aparentemente estaban en óptimas condiciones sanitarias.

### Conclusiones

1.º Los productos de pastelería y confitería, son medios extraordinariamente aptos para el desarrollo de gran número de gérmenes contaminantes.

2.º Consideramos de gran utilidad para el control microbiológico de los citados productos, el procedimiento de análisis seguido en esta Tesis doctoral.

3.º La presencia de gran cantidad de gérmenes totales y vivos por gramo, es síntoma evidente de deficiencias sanitarias e higiénicas, en la elaboración y venta de dichas sustancias alimenticias.

4.º El aislamiento por nosotros de un 27 % de colibacilos de origen fecal, pone de manifiesto contaminaciones intestinales en los citados productos.

5.º Todas las investigaciones encaminadas a demostrar la presencia de gérmenes pertenecientes al grupo *Salmonella*, han fracasado.

6.º Hemos identificado el 17 % de estreptococos aislados, como *Str. faecalis* del grupo D de Lancefield.

7.º El medio de Chapman con la modificación introducida, nos ha dado inmejorables resultados para el aislamiento de Estafilococos de origen alimenticio.

Por este procedimiento, hemos aislado Estafilococos en un 20 % de las cremas. De ellos, un 52,9 % son coagulas positivos con tiempos de coagulación variables entre las dos y las 24 horas. El resto, no son productores de coagulasa.

8.º Hemos aislado Micrococos en un 27,1 % de las muestras estudiadas, que han sido identificados como *M. caseoliticus*, *M. colpógenes* un 18,1 % de cada uno; un 9 % de *M. denitrificans*, y el 54,5 % restante no han sido identificados.

9.º Un 68,5 % de las cremas tomadas, suministró gérmenes del género *Bacillus*. De ellos hemos identificado un 14,2 % de *B. megaterium* y otro 14,2 % de *B. subtilis*; de *B. badius*, *B. coagulans*, y *B. cereus*, un 6,1 % de cada una y solo un 4 % de *B. pumilus*.

Los restantes, que constituyen un 42,8 % no han sido identificados.

10.º Solamente hemos conseguido aislar esporulados anaerobios en un 6 % aproximadamente de las muestras y con arreglo a sus características, hemos identificado todos ellos como *Cl. perfringens*.

## BIBLIOGRAFIA

- BUCHBINDER L., OSLER A. G., STEFFEN G. I. — Publ. Hlth. Rep. (Wash), t. 63, p. 109, 1948.
- CARY W. E., DACK G. M. y DAVISON E.—J. infect. Dis. T. 62, p. 88. 1938.
- CARY W. E., DACK G. M. y MEYERS E. —Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), t. 29, p. 214, 1931.
- CASTELLANI A. G., MAKOWSKY R. y BRADLEY W. B.—«*The inhibiting effect of serina upon the growth of the indigenous flora of cream filling*». Appl. Microbid, t. 3, p. 1932-1935, 1955.

- DACK G. M., CARY W. E., WOOLPERT O. y WIGGERS H.—J. Prev. Med. t. 4, p. 167, Baltimore, 1930.
- DACK G. M.—«Food poisoning». Cambridge University Press, 1949.
- DEMnitz A.—Zbl. Bakt. t. 98, p. 141, 1926.
- DIBLE J. H.—J. Path. Bac. t. 24, p. 30, 1921.
- DOLMAN C. E. y WILSON R. J.—«The kitten test for staphylococcus enterotoxin». Carnad. Publ. Health. J. t. 31 núm. , p. 68-71, 1940.
- EATON M. D.—Bact. Review. t. 2, p. 1, 1938.
- FRAZIER W. C.—«A method for the detection of changes in gelatin due to bacteria». J. Infections. Diseases. 39, 3026, 1926. SMITZ N. R.—«Aerobic mesofilia spore-forming bacteria». U. S. U. S. Dept. Agr. Misc. Public. 559, 1946.
- GAMOVA-FAIOUKOWA N. J. y FEDOROVA T. M. — «B. prote is, et sa propagation dans la nature». Microbiologia, t. 17, p. 380, 1948.
- HAUGE S. — Nord hyg. T. t. 31, p. 189, 1950.
- HAYNES W. C. AND HUGKER G. J. — Food. Res. t. 11, p. 281, 1946.
- HOBBS C. et al.—J. Hyg. (Lond). t. 51, p. 75, 1953.
- HOUSTON T. y MC. CLOY J. M.—Lancet, t. 2, p. 632, 1916.
- JERACE F.—«Observazioni e ricerche su di episodio di infezione paratifoide in relazione al consumo di pasticceria». Attnal. med. (Roma) t. 18, p. 11-24, 1953.
- JORDAN N. O.—«Food poisoning and Food-borne Infection» Univ. Chicago. Press. Chicago, 1931.
- JORDAN E. O. y BURROWS W.—Proc. Soc. exp. Biol. t. 30, p. 448. Nueva York 1933. J. Infect. Dis. t. 55, p. 363, 1934.  
Ibid. t. 57, p. 121, 1935.
- LINDEN B. A., TURNER W. R. y THOM C. Publ. Hlth. Rep. (Wash) t. 41, p. 1647, 1926.
- NAVARRO M.<sup>a</sup> A. — «Estudio bacteriológico y consideraciones higiénico-sanitarias sobre la producción y distribución de pasteles en Granada I». Tesis Doctoral, Granada 1961.
- NEVOT A. — «Le probleme des empoisonnements alimentaires, d'origine bacteriene, autres que le botulisme». Bulletin médical, p. 431-434, 21 oct. 1947.
- SANDIFORD B. R.—«Salmonella typhi in canned cream». Mon Bull. Ministr. Health. t. 13, p. 153-158, 1954.

## RESUMEN

Los productos de pastelería y confitería, son medios inmejorables de cultivo de gran cantidad de gérmenes, por lo que en determinadas circunstancias pueden ser vehículos de enfermedades. Es, por tanto, de gran interés su estudio, con vistas a prevenir aquellos accidentes derivados de una mala fabricación en el aspecto sanitario.

Dicha fabricación en Granada, se realiza en términos generales, muy deficientemente, pues ya en la preparación de las cremas, aparecen gérmenes intestinales, y gran cantidad de Bacillus, mientras que en etapa de relleno, se observa un aumento extraordinario de estafilococos, circunstancias que ponen de manifiesto, empleo de materias primas no aptas, poca higiene en el obrador, procesos de esterilización bajos, y mala conservación de los produc-

tos; además de que, lógicamente, la composición de las cremas, influye de una manera notable en el mayor o menor peligro de contaminación.

Por tanto, se impone, lograr un más estricto cumplimiento del Reglamento vigente, mediante inspecciones sanitarias, y análisis bacteriológico de las muestras tomadas en dichas inspecciones.

## RESUMÉ E

Les produits de pâtisserie et de confiserie, constituent un parfait milieu de culture pour une quantité considérable de germes, et peuvent être de ce fait, en certaines circonstances, le véhicule de maladies. C'est en cela que leur étude est d'un très grand intérêt afin de prévenir ces accidents causés par une fabrication mauvaise du point de vue sanitaire.

Cette fabrication à Grenade est d'une manière générale très déficiente, puisque déjà dans la préparation des crèmes apparaissent des germes intestinaux et un grand nombre de bacilles, tandis qu'au stade de remplissage on observe un accroissement considérable de staphylocoques, autant de circonstances qui proviennent manifestement de l'emploi de matières premières non aptes, d'un manque d'hygiène de la part de l'ouvrier, de la carence de processus de stérilisation, et de la conservation déficiente des produits. En outre il est de la conservation déficiente des produits. En outre il est logique que la composition des crèmes ait une influence notable sur le danger plus ou moins grand de contamination.

Pour toutes ces raisons une application plus stricte du règlement en vigueur s'impose par le moyen d'inspection sanitaires et l'analyse bactériologique des prélèvements faits au cours des ces inspections.

## SUMMARY

The products of pastry cook shops are unsurpassable culture media for a great deal of microbes, being in determined circumstances vehicle of disease. This study is for that very interesting to those accidents derived of a bad preparation in the sanitary aspects.

Such manufacture in Granada, is realized very deficient, since in the preparation of the creams one can find intestinal bacteria, and a lot of Bacillus, while during the forcing, it is observed an extraordinary increase of Staphylococcus, these data show the use of not good products, little hygiene in the workshop, low sterilization processes, and a bad conservation of the products; besides the composition of the creams, acts in a notable form on the danger of contamination.

Therefore, it is necessary, to obtain a more strict observance of the standing, statute by means of sanitary inspection and bacteriological analysis of specimens.