



Universidad Nacional Autónoma de México

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**DEMOSTRACION DE LAS TOXINAS BOTULINICAS
EN CONSERVAS POR METODO
BIOLOGICO EN RATONES**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
ALFONSO HECTOR VIDALES LIRA**

ASESOR:

M. V. Z. CARLOS ALEJANDRO PACHO RUIZ

COASESOR:

M. V. Z. ENRIQUE SANCHEZ CRUZ

8396



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2-19
MATERIAL Y METODOS	20-21
RESULTADOS Y CONCLUSIONES	22
BIBLIOGRAFIA	23

RESUMEN

Con el fin de detectar la presencia de toxinas de Clostridium botulinum en productos alimenticios enlatados, se obtuvieron 30 latas de dichos productos para seleccionarlas, se usaron los siguientes criterios:

- 1).- Latas con abolladuras
- 2).- Latas caducadas
- 3).- Latas infladas
- 4).- Latas de apariencia normal

En general latas que nos hicieran sospechar de la presencia de las toxinas botulínicas. El contenido de estas latas se procesó para obtener un inóculo que fué aplicado a un grupo de treinta ratones utilizándose igual número de éstos como testigos. Se hicieron las observaciones correspondientes y se determinó la ausencia de toxinas en dichos enlatados.

INTRODUCCION

El botulismo es una intoxicación causada por la ingestión de la toxina botulínica, se caracteriza en principio por una parálisis motora que va seguida por paro respiratorio, dicha toxina prolifera en tejidos de animales y en vegetales. (2, 13, 15).

El micro-organismo causal es el Clostridium botulinum, germen anaerobio esporulado, el cual en condiciones favorables de temperatura y humedad en material descompuesto se multiplica rápidamente y elabora una toxina altamente mortal y relativamente estable. Existe cierto número de tipos antigénicamente distintos de Clostridium botulinum clasificados como "A", -- "B", "C", "D" y "E". (2, 13, 15).

El Clostridium botulinum es un bacilo grande de 0.9 a 1.2 micrómetros de ancho por 4 a 6 micrómetros de longitud. De ordinario, aparecen individuos aislados o en cadenas cortas. Tienen la capacidad de formar esporas las cuales son de forma oval, suelen ser mayores que el diámetro de la célula, se mueven lentamente gracias a cuatro u ocho flagelos periféricos que posee; no se ha demostrado la existencia de cápsulas. Los cultivos jóvenes son gram-positivos y algunos bacilos varían en la intensidad con que se tiñen. (2, 13, 15).

Este germen es anaerobio estricto, crece óptimamente a tempo

raturas comprendidas entre 20-30°C. y con dificultad a 37°C., los más adecuados son los medios alcalinos. La multiplicación se favorece por la adición de 0.5% de glucosa y 0.5% de fosfato de potasio en caldo de corazón de buey con hígado digerido pépticamente. (2, 13, 15).

Bonventre y Kempe descubrieron que el ciclo de crecimiento - normal de Clostridium botulinum se caracteriza por un período de multiplicación celular seguido de una activa autólisis de los gérmenes. Esta autólisis y la fase de crecimiento logarítmico activo, son los responsables de la liberación de toxina. (2, 13, 15).

Las esporas de este bacilo mueren en cinco horas a 100°C., en dos horas a 105°C.; en una hora y media a 110°C.; en cuarenta minutos a 116°C.; y en diez minutos a 120°C. Es evidente que la ebullición durante varias horas no mata a las esporas. (2, 13, 15).

Los distintos tipos de Clostridium botulinum producen diversos efectos sobre los carbohidratos y medios protéicos. El tipo "A" forma ácido y gas a partir de la glucosa, maltosa, fructuosa, dextrina y glicerina. Los tipos "B" y "C" no fermentan la salicina. El tipo "C" no fermenta la glicerina, ninguna de las cepas fermenta la rafinosa, inulina, manitol, dulcitol, galactosa, xilosa, rhamnosa y arabinosa. La leche tornasolada

se coagula con digestión y alcalinización. Los medios con sangre se lisan, los tipos "A" y "B" digieren y ennegrecen el medio con carne cocida, pero no lo modifican los tipos "G", "D" y "E". La licuación del medio a base de albúmina de huevo coagulada es variable y ha sido propuesta como medio de clasificar los distintos tipos. Bengston sugiere la denominación de los tipos licuantes como Clostridium paratubulinum en la cual coloca todos los tipos americanos "A" y "B" y todas las cepas "A" de Europa. Los tipos europeos "B" y todos los tipos "C" y "D" no licúan el medio a base de albúminas de huevo coagulado y se llaman Clostridium botulinum. Todos los tipos licúan la gelatina. Al suero coagulado lo licúan los tipos "A" y "B" pero no el "C", "D" y produce amoníaco, elevada cantidad de ácido sulfúrico y nada de indol. (4, 7, 10). Clostridium botulinum se divide en dos tipos principales teniendo en cuenta la producción de toxina. La antitoxina "A" no neutraliza a la toxina "B", ni esta antitoxina neutraliza la toxina producida por el tipo "A". Los otros tres tipos mencionados también producen toxinas específicas que son antígenicamente distintas. Los dos tipos principales pueden distinguirse también mediante las reacciones de aglutinación y fijación de complemento.

La acción prolongada de la luz solar disminuye su potencia en

unos pocos meses. Uno de los caracteres más importantes de esta toxina es que no le afecta la acidez equivalente al jugo gástrico, no las digestiones péptica ó tripsica, en lo que se diferencia de las otras toxinas bacterianas. Según Duff y otros la inoculación del germen con tripsinas aumenta la producción de toxina. (4, 10).

NOMENCLATURA DE LAS TOXINAS

Basada en consideraciones de estructura molecular, se ha propuesto una nomenclatura para tres clases de toxinas, principalmente, toxinas simples, sintoxina y mistoxina. Las toxinas simples se definen como un monomero o polimero de una proteína tóxica simple, el término de proteína simple usado en su significado tradicional de una proteína compuesta exclusivamente de aminoácidos. (4, 7, 10, 14, 15).

Nuevos conocimientos han demostrado la necesidad de ampliar esta definición de una toxina simple para incluir todas las clases posibles de proteínas tóxicas simples que se diferencian de sintoxinas y mixtoxinas. (4, 7, 10, 14, 15).

Una toxina se caracteriza biofísicamente como una especie molecular que posee propiedades distintivas como un veneno. Como lo define Bonbeatre, Lincoln y Lamanna, una toxina simple puede ser un monomero tóxico capaz de causar una polimerización sin pérdida de toxicidad. Las toxinas botulínicas reve

lan una clase de estructura, principalmente la coexistencia de diferentes entidades proteínicas simples dentro de una compleja, sólo una de éstas es tóxica y unidas por cadenas que se rompen fácilmente por fuerzas físicas. La separación cromatográfica, la absorción selectiva y la evaporación de corpúsculos de sangre fue exitosa al aumentar la potencia tóxica - de toxinas botulínicas purificadas y cristalizadas por la separación de una entidad no tóxica. (4, 7, 10, 14, 15).

Este resultado es inconsistente con la idea de que se está tratando con un polímero. La cualidad característica de un polímero es que está compuesto de unidades repetidoras de una sola especie molecular. Así la síntesis de un polímero es asociar un grupo de moléculas idénticas por disociación de un polímero de una manera correcta, debe conducir a un sólo producto, esto es, su monomero componente, característica que no tienen las toxinas botulínicas. (4, 7, 10, 14, 15).

TOXINAS BOTULINICAS

Se describen aquí las toxinas botulínicas y se consideran los problemas de nomenclatura que presentan. La experiencia registrada con estas toxinas simples nos darán las bases objetivas para las recomendaciones respecto a la nomenclatura. La toxina botulínica cristalina tipo "A" es una proteína simple con un peso molecular de 900,000 daltones, se ha demostrado que -

puede separarse en dos componentes proteícos, uno con actividad neurotóxica, y otro con hemaglutinina no tóxica y aislados por cromatografía en dietil amino etil en columnas diferentes antigénicamente, (4, 7, 10, 14, 15).

En aislamiento los componentes de hemaglutinina tienen una tendencia hacia la autoasociación. El componente tóxico con un peso molecular de 150,000 daltones se ha denominado "A" y el componente atóxico "AB", por Das Gupta, Bassoff y Rothstein. (4, 7, 10, 14, 15).

Al tratarse con varias enzimas proteolíticas, la toxina cristalina pierde su toxicidad, mientras que su actividad hemaglutinante no se pierde ó se pierde más lentamente. (4, 7, 10, 14, 15).

Esta diferencia en sensibilidad a la enzima proteolítica se confirma por la existencia de diferentes estructuras en estos componentes de la toxina hemaglutinina y tóxicas forman un complejo estable y cristalizabile, que posee características biofísicas de una proteína homogénea. (4, 7, 10, 14, 15).

Al ser aislada por el método de cromatografía PEDE-SPMADEX, la toxina tipo "B", se ha mostrado que existe como una molécula proteínica de más de 100,000 daltones, se dice que la dimensión exacta es de 165,000 pero, como ésta existe en el medio de cultivo antes de utilizar la cromatografía ó al purificarse

por un método de precipitación, la toxina "B" parece más cercana del tamaño más grande de una toxina tipo "A" cristalina. (4, 7, 10, 14, 15).

Como la toxina tipo "A", la toxina tipo "B" parece que ocurre materialmente como un agregado o complejo de proteínas tóxicas o hemaglutinantes separables de otros. (4, 7, 10, 14, 15).

La separación de estos componentes no requiere división de las cadenas covalentes y justifica el uso del término agregado ó complejo puesto que estos términos se aplican a una asociación suelta ó una unión débil de unidades ó componentes en una partícula. (4, 7, 10, 14, 15).

La toxina tipo "E" también existe como un agregado de diferentes componentes de una proteína simple. Esta es aislada del medio de cultivo o por extracción de un bacilo como una sustancia de peso molecular de 350,000 daltones con valor $S_{20,w}$ de 11.6. Esta toxina es separable en un componente tóxico de -- 150,000 daltones y un valor de sedimentación de 73 y un componente no tóxico no hemoaglutinante de dimensiones similares. (4, 7, 10, 14, 15).

La actividad hemaglutinante puede ser mostrada en cultivo tipo "E", pero la toxina purificada a diferencia del caso para las toxinas "A" y "B" no posee esta actividad.

Puesto que el conocimiento de las estructuras de las toxinas

botulínicas tipos "C", "D", y "F", es considerablemente menos avanzada que para los tipos de toxina "A", "B", y "E", estos tipos no son discutidos. (4, 7, 10, 14, 15).

Toxinas tipo "E" de pesos moleculares de 350,000 daltones y un valor de sedimentación de 11.6, 150,000 daltones y un valor de sedimentación de 1.3 tiene un aumento en la actividad biológica después de una corta exposición a la tripsina. El mecanismo de este aumento se desconoce. (4, 7, 10, 14, 15).

El aumento en toxicidad no es acompañado por una disminución en el valor de sedimentación ni por ningún cambio en la más alta dilución de toxina capaz de producir líneas precipitales inmunes. (4, 7, 10, 14, 15).

Ahora, una prolongada exposición a la tripsina resulta en una pérdida de toxicidad, ya que la acción inicial de la tripsina es la de romper cadenas, con el resultado de un cambio menor en la forma de la molécula tóxica, lo cual ya sea que hace más fácil para la molécula penetrar a sitios de choque ó aumenta la exposición a grupos toxofóricos de aminoácidos. Un cambio de configuración así podría también llevar un ajuste mejor de la molécula completa tóxica en el sustrato de choque en el sistema nervioso. A diferencia del caso para toxinas tipo -- "E" los productos obtenidos de materiales "A", "B", y "F" no han sido purificados ni estudiado para saber si tienen ó no una

mayor potencia que las toxinas purificadas sin la exposición al penetrar a sitios de choque ó aumentar la exposición a grupos toxofóricos de aminoácidos. Un cambio de confirmación así podría también llevar un ajuste mejor de la molécula completa tóxica en el substituto de choque en el sistema nervioso a diferencia del caso paratoxinas tipo "E" los productos obtenidos de materiales "A", "B", y "F" no han sido purificados ni estudiados para saber si tienen o no una mayor potencia que las toxinas purificadas sin la exposición a la tripsina. Por lo tanto no se justifica, basándose en la información obtenida, decir que estas activaciones reportadas de toxinas "A", "B" y "F" produzcan una molécula tóxica de una actividad específica aumentada. (4, 7, 10, 14, 15).

Debe considerarse que una preparación de una toxina impura tratada con tripsina puede mostrar un aumento en toxicidad por -- cualquiera de estas razones.

- 1.- Conversión de una proteína no tóxica a proteína tóxica.
 - 2.- Aumento de la proteína intrínseca de una molécula ya tóxica, por un cambio de tamaño o forma.
 - 3.- Liberación de moléculas tóxicas atrapadas de un agregado incluyendo material extraño.
 - 4.- Destrucción de una substancia neutralizante ó antidota.
- (4, 7, 10, 14, 15).

No se conoce un ejemplo probado de activación de toxinas botulínicas que comprometa una separación de aminoácidos de una molécula. (4, 7, 10, 14, 15).

Este mecanismo se ha asumido por la activación triptica de toxinas tipo "E" por Yerwing exponiendo a la toxina con tripsina observando un aumento de toxicidad, notando también que una larga exposición a la tripsina hay una pérdida en la toxicidad, para explicar su separación de material tóxico de bajo peso molecular. La generación de actividad biológica por proteólisis enzimática limitada, es un fenómeno bien conocido de un aumento inducido enzimáticamente en actividad biológica de una substancia que daña tejidos de origen bacterial, fué probablemente de Hemolysin neumococo. (4, 7, 10, 14, 15).

La literatura bacteriológica revisada nos muestra que lo que se ha llamado activación de toxinas en realidad comprende no menos de tres fenómenos diferentes.

- 1.- Conversión de una proteína no-tóxica a un estado tóxico.
- 2.- Aumento en toxicidad al remover un componente no tóxico de un agregado o complejo que contiene ambos componentes tóxicos y no tóxicos como se muestra para toxinas botulínicas.
- 3.- Aumento de potencia de una molécula ya tóxica por un cambio intramolecular. (4, 7, 10, 14, 15).

Teóricamente, un evento intramolecular responsable de una - - transición de un estado no tóxico a uno tóxico o en un aumento en una toxicidad preexistente podría ser el resultado ya sea de una reducción en número de residuos de aminoácidos ó en un cambio en configuración sin pérdida de aminoácidos. (4, 7, 10, 14, 15).

Es obvio que el término activación se ha usado en un sentido general ó indiscriminado para incluir cualquier proceso, resultado en cualquier actividad nueva o aumentada. De todos - modos es deseable tener una terminología para clasificar claramente diferentes fenómenos para este propósito, sería razo-nable restringir el término activación a cambios intramolecu-lares que aumentara la proteína tóxica. (4, 7, 10, 14, 15).

El término activación cualitativo podrá emplearse cuando una transición de un estado molecular no tóxico a uno tóxico y el término activación cuantitativa para denominar un proceso de aumento de la toxicidad preexistente de una molécula. El au-mento en una actividad específica acompañando la separación de una molécula tóxica de una agragada o compleja que haya in-cluido un componente no tóxico, no debería llamarse activación el término adecuado sería "realce". (4, 7, 10, 14, 15).

Dolman y Yerwing han objetado en el campo etimológico para - llamar la toxina activable tipo "E" una precursora protoxina

o prototoxina puesto que desde su punto de vista, estos términos implican un cambio de un estado de inactividad biológica a uno de actividad. (4, 7, 10, 14, 15).

Ante el caso de toxinas botulínicas el término prototoxina ha sido usado para identificar activación proteolítica, es razonable restringir los términos de protoxina y prototoxinas a una molécula biológicamente inactiva capaz de convertirse en toxinas para cualquier proceso, incluyendo exposición a tripsina. La restricción de estos términos a un cambio cualitativo tiene la ventaja de eliminar la controversia en cuanto a su uso y es etimológicamente correcta como lo señala Dolman. (4, 7, 10, 14, 15).

ACCION Y EFECTOS DE LAS TOXINAS BOTULINICAS

Los efectos de las toxinas botulínicas se ponen de manifiesto en el sistema nervioso, actuando en la sinapsis neuro muscular de los nervios motores y paralizando al mismo tiempo las terminaciones del parasimpático. Sus efectos tóxicos se parecen mucho a los que siguen a la intoxicación atropínica. Bishop y Bronfenbrenner hablan de una acción curariforme. (6, 8, 13, - 15).

SINTOMATOLOGIA (En humanos y animales)

El comienzo es brusco y se caracteriza por náuseas, vómitos intensos, diarrea, seguidos muy pronto de una sensación de

extrema laxitud, mareo, vértigo, etc. Es muy constante también la sequedad de la boca, lengua y faringe, a la que puede añadirse la disfagia. Los síntomas oculares siempre llaman la atención.

Subjetivamente aquejan al enfermo centelleos, disfunción de la agudeza visual, fotofobia y diplopia. La exploración descubre oftamoplegia interna y externa, midriasis, y rigidez pupilar paralítica. Hay blefaroptosis a veces nistagmo y frecuente estrabismo. Puede aparecer parálisis de todos los músculos oculares.

Destacamos la disfagia, la disartiría, y la alteración de la voz, por parálisis de la musculatura correspondiente; es frecuente asimismo, la parálisis facial.

Los músculos de la nuca y región cervical se interesan dificultando la rotación y enderezamiento de la cabeza. Puede afectarse también la motilidad de los músculos, pero en general se trata más bien de una paresía que de una parálisis completa. Los trastornos de los esfínteres no son raros y resulta frecuente la retención de la orina. (6, 8, 13, 15).

En lo concerniente al sistema nervioso parasimpático, que suele estar afectado, hay xerostomía con sensación de sed provocada por la sequedad de la boca y las fauces. (6, 8, 13, 15).

El pulso pasa de una fase de vagotonía inicial, revelada por

la bradicardia, a la vasoparesia expresada por taquicardia - muy acentuada "vagotonía" (excitabilidad del neumogástrico). Las alteraciones cardíacas y la parálisis respiratoria representan las más graves repercusiones vegetativas, que ponen en peligro la vida y son frecuente causa de muerte, la cual sobreviene del tercero al octavo día, es excepcional la muerte en las primeras 48 horas. Debe destacarse la falta de fiebre en el curso de todo el proceso, salvo complicación con -- otras enfermedades (6, 8, 13, 15).

La ingestión de alimentos que contienen la toxina no siempre va seguida de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, todo dependerá del tipo de toxina y la cantidad de la misma. En una amplia revisión de Rogers, Koenis, y Spickard (1964), en la que registran 28 brotes de botulismo tipo "E", entre un total de 472 individuos que ingirieron el alimento que contenía toxina, la enfermedad se manifestó en el 47.8%. (6, 8, 13, 15).

ANATOMIA PATOLOGICA

El exámen a simple vista de los órganos sólo descubre signos de congestión; el bazo suele estar tumefacto. La aparición de focos neumónicos, frecuentemente suscitados por alteraciones deglutorias debe considerarse una complicación. Las lesiones son más patentes en la mucosa del tramo digestivo, y se advierten en ella hiperemía y signos hemorrágicos en forma de equi-

mosis diseminadas. En el sistema nervioso central se encuentran lesiones de diversa índole histológica. Predominan las lesiones degenerativas en las neuronas, aunque son inconstantes. Además, son frecuentes pequeños focos de hemorragias o trombosis vascular. (6, 8, 13).

El diagnóstico diferencial se hace con: Intoxicación estafilococcica, enteritis por clostridium perfringens tipo "A", intoxicación química con cloruro de metilo o fluoruro sódico, cuya sintomatología es similar en los diferentes estadios de las mismas. (2, 8, 13).

La contaminación de alimentos que causan los brotes de botulismo se deben principalmente a la deficiente higiene en la obtención del producto y a la mala aplicación de técnicas para conservar el producto. (1, 3, 4).

En la epidemiología del botulismo se le ha atribuido gran importancia a diversos factores tales como: violación de los reglamentos sanitarios por personas que tienen que ver con los productos alimenticios en cualquiera de los pasos de la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y entrega de los consumidores; por otro lado desempeñan un papel importante los factores de tradición y hábitos en el campo de la nutrición, tales como la existencia de los métodos poco racionales en la preparación de alimentos y la falta de conocimientos

sobre la etiología y profilaxis del botulismo. (1, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 12).

Los análisis hechos en la Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas, demuestran que en el pasado los brotes de botulismo fueron principalmente causados por pescado cartilaginoso comercial (esturión), durante los últimos años, se ha detectado que las principales causas de botulismo en los consumidores son los productos procesados siendo las más frecuentes las diferentes especies de pescados y carne de cerdo.

En este mismo país, la información existente muestra que el número de brotes de botulismo reportados durante los años de 1958 a 1964 es de una y media veces más alta con respecto a los datos obtenidos durante los 20 años de la pre-guerra, indudablemente el aparente aumento del número de reportes durante los últimos años se debe a una detección más completa de los casos de botulismo a través de mejores métodos clínicos, y a el diagnóstico de laboratorio en general a una organización más eficiente de los servicios médicos y no al hecho de que haya disminuido su presentación e incidencia. (1, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 12).

Un serio peligro en relación con el botulismo durante los últimos años son los productos alimenticios que se enlatan para su consumo, esto lo demuestran reportes existentes en Europa y -

Estados Unidos en donde los vegetales enlatados, y las frutas inadecuadamente procesadas en las condiciones de higiene que se requieren; probablemente los vegetales y frutas fueron mal lavados conteniendo esporas de Clostridium botulinum, las cuales germinaron y produjeron toxinas durante el almacenamiento subsecuente a temperaturas ambientales altas, en tarro sellados herméticamente, aún cuando hayan sido previamente hervidos también se han reportado casos de botulismo provocado por hongos silvestres y procesados de la manera anterior. (1, 3, 4, 5, 6, 9, 11).

Se ha notado que la tasa de mortandad está correlacionada con la clase de producto que causa el envenenamiento, se reporta por ejemplo una mortandad baja en los casos de botulismo por productos de cerdo. Por otro lado una tasa de letalidad alta, se observó en brotes de botulismo causados por pescado, vegetales y frutas enlatadas. (1, 3, 4, 5, 6, 7).

Comparando la información sobre el botulismo de diferentes países, Dolman encontró alta mortandad en Inglaterra (76.5%), Estados Unidos (65%), Canadá (56.4%), Dinamarca (41.2%) y Japón (28%). (1, 3, 4, 5, 6, 7).

Según análisis de los brotes de botulismo en Europa y Estados Unidos, se indica que pocos casos fueron observados durante el invierno y primavera ya que la temperatura exterior durante -

este período es menos adecuada para la proliferación y producción de toxinas de agentes de botulismo en la comida. (1, 3, 4, 5, 6, 7).

Ahora bien, en nuestro país se observa que la industria procesadora de alimentos, sobre todo aquella que se dedica a la elaboración de conservas y semiconservas, no guardan las medidas de higiene necesaria para que se pudiera decir que la materia prima así como el procesado han sido los óptimos, por lo tanto el producto no tiene el grado de calidad y el estado de sanidad apropiado y éstos son factores muy importantes que pueden causar las alteraciones ya mencionadas. (1, 4, 5).

En lo anteriormente expuesto, radica la importancia del tema a desarrollar para poder llegar a determinar si los productos enlatados reúnen las condiciones ideales de calidad y control sanitario y así llegar también a determinar si éstas son causas de problemas de salud pública.

MATERIAL Y METODOS

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1.- Matraces de Erlen Meyer | 2.- Filtro de Seitz |
| 3.- Papel de Filtro | 4.- Etanol |
| 5.- Tubos de ensayo | 6.- Solución Fisiológica |
| 7.- Embudos | 8.- Jeringa y aguja |
| 9.- Tijeras | 10.- Balanza |
| 11.- Espátula | 12.- Tenedor |
| 13.- Latas de conserva | 14.- Probeta |
| 15.- Mechero | 16.- Cinta para identificar |
| 17.- Autoclave | 18.- Cuchillo |
| 19.- 60 ratones blancos | |

Se investigarán conservas que se expenden en diferentes centros de consumo, tomándose de cada lote de 40 latas 5 muestras procurando tomar aquellas que presentan malformaciones físicas. Las latas de conservas se incubarán durante 7 días en una estufa de incubación a 37°C.; y del alimento se tomará una muestra de 20 gr., se picará finamente, éstos se mezclarán en 20 ml. de solución fisiológica en un matraz de Erlen Meyer, se cerrarán y se sacudirán moderadamente y se dejará durante 12 hrs. en ambiente oscuro. Al día siguiente el contenido del Matraz Erlen Meyer se pasará primeramente a través de un papel filtro y posteriormente por el filtro de Seitz,

con el fin de obtener un líquido libre de bacterias. (16).

El producto así obtenido se le inyectará a ratones por vía intraperitoneal una cantidad de 0.5 a 0.7 ml. del filtrado. Se llevará un control del experimento de la siguiente manera:

Una porción del filtrado se procesará a baño María durante 20' a 100°C y la misma dosis y el mismo modo de administración, - el filtrado así procesado se inyectará a un ratón utilizado como control.

El resultado del ensayo se interpretará de la siguiente manera:

En caso de que la muestra del alimento sometido a exámen presentara toxina-botulínica aparecerá en el animal de experimentación dentro de un término no mayor de 24 horas, los signos de toxicosis característicos del botulismo ya descritos.

En los animales control no aparecerá ningún signo de enfermedad. (16).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, demostraron que en ninguna de las muestras fué detectada la presencia de toxinas de Clostridium botulinum ya que los ratones inoculados con los filtrados no presentaron signos que hicieran sospechar de intoxicación. - En los ratones testigo tampoco se observó ningún cambio. Analizamos las posibles razones para tratar de explicar la - ausencia de signos de toxicosis en los ratones inoculados, en contramos que:

- 1).- Posiblemente la toxina botulínica no se separó en sus dos componentes el tóxico y el hemoaglutinante. (7, 10).
- 2).- Quizás la acción de enzimas proteolíticas (tripsina y - quimotripsina) inhibieron la toxicidad debido a:
 - 2.1).- Que no hubo destrucción de una substancia antídota o neutralizante propia del organismo. (7, 10).
 - 2.2).- Que no hubo aumento de la potencia intrínseca de una molécula ya tóxica. (7. 10).
 - 2.3).- Que no hubo liberación de moléculas tóxicas atra

padas en un agregado. (7, 10).
 - 2.4).- Que no se presentó el aumento de una molécula ya tóxica por un cambio intramolecular. (7, 10).
- 3.- Que no estuvo presente la toxina botulínica.

B I B L I O G R A F I A

- 1).- BAUMASTNER, J.G. Y HERSON, A.C., Conservas alimenticias Editorial Acribia, 1975, 2a. Edición.
- 2).- BEESON B., PAUL Y McDERMOTT, WALSH, Tratado de Medicina Interna de Cecil-Loeb, Editorial Interamericana, 1964, 11a. Edición.
- 3).- DUCKWORTH, R.B., Frutas y Verduras, Editorial ACRIBIA, 1968.
- 4).- HART, F.L., Análisis Modernos de los Alimentos, Editorial Acribia, 1977.
- 5).- HEISS, R., Principios del Envasado de los Alimentos, Editorial Acribia, 1975.
- 6).- HOBBS, B.C., Higiene y Toxicología de los Alimentos, Editorial Acribia, 1971.
- 7).- INGRAM, M. Y ROBERTS, T.A., Proceedings of the Fifth International Symposium on Food Microbiology, Moscow, July 1966.
- 8).- JUBB, K.V.F., Y KEENEDY, P.C., Patología de los Animales Domésticos, Editorial Labor, S. A., 1974.
- 9).- KORNEL, CORETTI, Embutidos: Elaboración y Defectos, Editorial Acribia 1971.
- 10).- LAMANA, CARLS, Y SAKAGUCHI, YENJI, Botulinal Toxines and of Simple Toxines Nomenclature, Journal of Bacteriology, Vol. 108, No. 3, Pennsylvania, U. S. A., 1971.
- 11).- LAWRIE, R.A., Ciencia de la Carne, Editorial Acribia, 1977.
- 12).- LUDORFF, N.Y. MEYER, V., El pescado y los productos de la Pesca, Editorial Acribia, 1976.
- 13).- PEDRO-PONS, AGUSTIN, Y FARRERAS VALENTI, PEDRO, Patología y Clínica Médicas, Editorial Salvat, Tomo VI, 1968.

- 14).- SALFIELD, J.R., Práctica de la Ciencia de los Alimentos, Editorial Acribia, 1976.
- 15).- STERNE, W., Clostridios Patógenos, Editorial Acribia, 1976.
- 16).- SVOBODA, JOSET, Trabajos Prácticos en la Higiene de los Alimentos, Universitaria La Habana, Cuba, 1975.