# EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE POLEN SECO

**Autores: Virginia Leyva[1], Carlos Alberto del Risco[2], Tamara K. Martino[1], Yamila Puig[1], Mayrin Machin[1], Neybis Aportela[1], Idalmis Hernández[1], Perla Soto[1], Yaumara Ferrer[1], Martiza de los Reyes[1] y Ailen Camejo[1].**

**[1]Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA). E mail: virginia.leyva@infomed.sld.cu, villy@sinha.sld.cu**

**[2]Centro de Investigaciones Apícola. E mail: carlos@eeapi.cu**

## Resumen

En el presente trabajo se realizó un estudio de la calidad microbiológica del polen secado de forma artificial a 40 °C durante 24 horas en estufa con recirculación de aire forzada. El mismo se colectó entre los meses de diciembre 2006 a mayo 2007 en el apiario del Centro de Investigaciones Apícolas, conformándose así 28 muestras. Estas fueron sometidas a las determinaciones cuantitativas de los indicadores de la calidad sanitaria: microorganismos aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, hongos filamentosos y levaduras viables; así como la determinación de microorganismos patógenos: *Salmonella* en 30 g, *Staphylococcus* coagulasa positiva, *Clostridium perfringens* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las determinaciones se realizaron según los métodos recomendados por la ISO, excepto la determinación de coliformes fecales que se realizó según la Norma Cubana vigente. Las cepas presuntivas de *E. coli* aisladas se confirmaron por pruebas bioquímicas y posteriormente se realizó su estudio serológico. A las cepas de *E. coli* y *Salmonella* se les determinó la susceptibilidad antimicrobiana con el empleo del método de disco. Todas las muestras estuvieron fuera de los límites tomados como referencia para los microorganismos aerobios mesófilos, coliformes totales, hongos filamentosos y levaduras viables. En 7 muestras (25 %) se aislaron coliformes fecales y en 4 *Escherichia coli* para un 14% de positividad, ninguna cepa fue positiva a los grupos serológicos asociados con patogenicidad para el hombre. También se obtuvo crecimiento de *Staphylococcus* coagulasa positiva y *Salmonella spp* en 4 muestras para un 14 % de positividad, respectivamente. No se aisló *Pseudomonas aeruginosa* ni *Clostridium perfringens*. Comparando estos resultados con los del polen antes del secado, se pudo apreciar que en general este no disminuyó la carga microbiana hasta alcanzar los límites de permisibilidad para la mayoría de las determinaciones realizadas. Los coliformes fecales redujeron la carga hasta alcanzar el límite de aceptabilidad en 11 de las muestras. Las cepas de *E. coli* y *Salmonella* aisladas resultaron sensibles a los antibióticos probados.

**Introducción:**

El polen constituye la fuente primaria de obtención de proteínas, lípidos, carbohidratos de las abejas *Apis mellifera*, las cuales lo almacenan bajo condiciones de anaerobiosis y temperatura que conllevan a la ocurrencia de cambios bioquímicos y hacen que se incremente la acidez obteniéndose de esta forma un alimento conocido como pan de abejas natural (Gilliam, 1979). El mismo, en sentido general, supera el valor nutricional del polen y es utilizado por las abejas en su alimentación bajo condiciones normales en lugar de las pelotas de polen en estado fresco (Astaruskene, 1990).

Para la producción de pan de abejas a nivel de laboratorio es necesaria la colección del polen apícola, para su posterior secado, beneficio y fermentación a través de un proceso de ensilaje.

El polen una vez seco, disminuye su contenido de agua, siendo este factor determinante en su conservación, y mantiene todas sus propiedades nutricionales. Según se plantea, el secado es la fase fundamental de este proceso, ya que la reducción de la humedad influye en el crecimiento de bacterias, hongos y retrasa en lo posible el desarrollo de ácaros e insectos.

El objetivo del presente trabajo es determinar la calidad microbiológica de muestras de polen colectadas en el apiario del Centro de Investigaciones Apícolas después del proceso de secado.

**Materiales y Métodos:**

Se realizó un estudio de la calidad microbiológica a 28 muestras de polen que fueron colectadas entre los meses de diciembre 2006 a mayo 2007 en el apiario del Centro de Investigaciones Apícolas de Cuba. El mismo se secó de forma artificial a 40 °C durante 24 horas en estufa con recirculación de aire forzada.

Se realizaron determinaciones cuantitativas de los indicadores de la calidad sanitaria aplicando las normas vigentes: microorganismos aerobios mesófilos (NC ISO 4833:2002), coliformes totales (NC ISO 4832:2002), coliformes fecales (NC 38-02-14:1989), *Escherichia coli* (ISO 7251: 2005), hongos filamentosos y levaduras viables (NC ISO 7954:2002); así como la determinación de microorganismos patógenos: *Salmonella* en 30 g (ISO 6579:1993), *Staphylococcus* coagulasa positiva (NC ISO 6888:2003), *Clostridium perfringens* (ISO 7937:2004) y *Pseudomonas aeruginosa* (ISO/CD 13720).

A las cepas presuntivas del E. coli se les realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: agar hierro Kligler, asimilación de citrato, producción de indol, reacción de rojo de metilo y Voges Proskauer, producción de ácido a partir de celobiosa, sorbosa y sorbitol. Posteriormente se realizó el estudio serológico tomando en cuenta los serogrupos de *E. coli* patógenas que más circulan en nuestro país.

A las cepas de *E. coli* y *Salmonella* se les determinó, además, la susceptibilidad antimicrobiana por el método de disco (National Committee of Clinical Laboratory Standards, 2002), los antibióticos probados fueron: ácido nalidíxico, cloranfenicol, kanamicina, trimetropin-sulfametoxazol, tetraciclina, ciprofloxacina, ampicilina/sulfbactan, amikacina, ceftriazona, cefotaxima y ceftazidima.

**Resultados y Discusión**

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos para microorganismos indicadores de la calidad sanitaria y para los microorganismos patógenos estudiados en el polen seco.

Tabla 1. Resultados obtenidos para microorganismos indicadores de la calidad sanitaria y para microorganismos patógenos en muestras de polen seco.

| Muestras | MAM | CT | CF | HF | Lev | St | Ec | Salm. en 30g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (UFC/g) | | | | | | (NMP/g) | |
| **1** | >3 x $10^6$ | 3.5x$10^3$ | <10 | 3.8 x $10^5$ | 3.5x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **2** | >3.0x$10^6$ | 1.6x$10^4$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | 3 | Ausencia |
| **3** | >3.0x$10^6$ | 5.1x$10^3$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | 5 x10 | <0.3 | Ausencia |
| **4** | 2.5x$10^4$ | 1.3x$10^3$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **5** | 1.1x$10^6$ | 7.6x$10^3$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **6** | >3.0x$10^6$ | 1.6x$10^4$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | 0.36 | Ausencia |
| **7** | 1.1x$10^6$ | 4.6x$10^4$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **8** | >3.0x$10^6$ | 2.1x$10^4$ | <10 | >3.0x$10^6$ | <$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **9** | >3.0x$10^6$ | 2.7x$10^4$ | <10 | 4.1 x $10^5$ | 6 x $10^4$ | 5 x 10 | <0.3 | Ausencia |
| **10** | 5.2x$10^5$ | 5.3x$10^4$ | <10 | 3.6x$10^5$ | 1.0x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **11** | 8.4x$10^5$ | 2.3x$10^4$ | 9.3x$10^2$ | 3.4x$10^5$ | 3.0x$10^4$ | 2.3x$10^2$ | 3 | Ausencia |
| **12** | 1.1 x $10^5$ | 1.9x$10^4$ | <10 | >3 x $10^6$ | <$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **13** | 6.6x$10^5$ | 7.1x$10^3$ | <10 | 7.0x$10^5$ | 9.5x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **14** | 1.0x$10^6$ | 4.1x$10^4$ | <10 | 5.4x$10^5$ | 7.5x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **15** | 1.7x$10^6$ | 1.5x$10^5$ | 4 x $10^2$ | 1.2x$10^6$ | 2x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | **Presencia** |
| **16** | 1.7x$10^5$ | 4.5x$10^3$ | <10 | 2.4x$10^5$ | 1.9x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **17** | 3.5x$10^4$ | 2.4x$10^3$ | <10 | 1.3x$10^5$ | 2.5x$10^2$ | <$10^2$ | <0.3 | **Presencia** |
| **18** | 1.5x$10^4$ | 2.2x$10^3$ | <10 | 6.8x$10^4$ | 4.5x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **19** | 6.9x$10^4$ | 1.6x$10^4$ | 7.2x$10^2$ | 7.8x$10^4$ | 4.0x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **20** | 1.0x$10^5$ | 3.2x$10^4$ | >1.5x$10^3$ | 1.0x$10^5$ | 6.1x$10^4$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **21** | 1.4x$10^5$ | 1x$10^4$ | <10 | 7.2x$10^5$ | 2.4x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | **Presencia** |
| **22** | 1.4x$10^5$ | 8.4x$10^2$ | <10 | 7x$10^4$ | 8.5x$10^3$ | <$10^2$ | 3 | Ausencia |
| **23** | 3.7x$10^6$ | 1.2x$10^2$ | <10 | 1.1x$10^5$ | 3.2x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **24** | 3.3x$10^4$ | 2.6x$10^3$ | 8.0x10 | 1.6x$10^5$ | 2x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **25** | 1.0x$10^6$ | 9.8x$10^4$ | 1.7x$10^2$ | 3.8x$10^5$ | 1.2x$10^4$ | 5.0x10 | <0.3 | Ausencia |
| **26** | 6.6x$10^4$ | 1.2x$10^4$ | 3.8x$10^2$ | 5.2x$10^4$ | 3x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **27** | 3.2x$10^6$ | 1.8x$10^4$ | <10 | 1.3x$10^5$ | 2x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | **Presencia** |
| **28** | 5.4x$10^7$ | 2.7x$10^4$ | <10 | 4.3x$10^5$ | 6.9x$10^3$ | <$10^2$ | <0.3 | Ausencia |

Tabla 2 Resultados obtenidos para microorganismos indicadores de la calidad sanitaria y para microorganismos patógenos en las mismas muestras de polen antes del secado (Puig y col. 2008 y Martino y col. 2008).

| Muestras | MAM | CT | CF | HF | Lev | St | Ec | Salm. en 30g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (UFC/g) | | | | | | (NMP/g) | |
| **1** | $1.3 \times 10^6$ | $1.4 \times 10^4$ | $2 \times 10^3$ | $>3 \times 10^5$ | $>3 \times 10^5$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **2** | $2.5 \times 10^5$ | $2 \times 10^4$ | $2.9 \times 10^3$ | $>3 \times 10^5$ | $>3 \times 10^5$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **3** | $1.9 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^4$ | $3.7 \times 10^3$ | $>3 \times 10^5$ | $>3 \times 10^5$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **4** | $5.2 \times 10^5$ | $1.8 \times 10^4$ | $1.9 \times 10^2$ | $>3 \times 10^5$ | $3.9 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **5** | $>3 \times 10^6$ | $1.2 \times 10^4$ | $6.4 \times 10^2$ | $>3 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^5$ | $2.0 \times 10^2$ | 0.36 | Ausencia |
| **6** | $>3 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^4$ | $6 \times 10^3$ | $>3 \times 10^5$ | $<10^4$ | $<10^2$ | 0.36 | Ausencia |
| **7** | $8.8 \times 10^5$ | $>1.5 \times 10^5$ | <10 | $>3 \times 10^6$ | $<10^4$ | $<10^2$ | 1.1 x10 | Ausencia |
| **8** | $8.8 \times 10^5$ | $7{,}7 \times 10^4$ | $4.3 \times 10^4$ | $>3 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^3$ | $<10^2$ | 0.92 | Ausencia |
| **9** | $>3 \times 10^6$ | $4.2 \times 10^4$ | <10 | $4.1 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **10** | Presencia en$10^4$ | $1.0 \times 10^5$ | <10 | $2.7 \times 10^5$ | $<10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **11** | $9.2 \times 10^5$ | $3.8 \times 10^4$ | $2.1 \times 10^2$ | $2.5 \times 10^5$ | $7.5 \times 10^4$ | $<10^2$ | 3 | Ausencia |
| **12** | $4.7 \times 10^5$ | $8.9 \times 10^4$ | $2.5 \times 10^2$ | $2.5 \times 10^4$ | $<10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **13** | $4.1 \times 10^6$ | $5.6 \times 10^4$ | <10 | $7.6 \times 10^5$ | $4.2 \times 10^4$ | $2.2 \times 10^2$ | <0.3 | Presencia |
| **14** | $2.8 \times 10^7$ | $3.1 \times 10^4$ | <10 | $5.9 \times 10^5$ | $9.3 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **15** | $4.3 \times 10^6$ | $2.9 \times 10^4$ | $8.1 \times 10^3$ | $7.8 \times 10^5$ | $3.3 \times 10^4$ | $<10^2$ | 3.6 | Ausencia |
| **16** | $2.4 \times 10^6$ | $3.7 \times 10^4$ | $4.7 \times 10^2$ | $1.8 \times 10^5$ | $4 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **17** | $2 \times 10^7$ | $3.5 \times 10^4$ | $>1.5 \times 10^3$ | $1.4 \times 10^5$ | $2.8 \times 10^4$ | $<10^2$ | 3 | Ausencia |
| **18** | $1.7 \times 10^6$ | $>1.5 \times 10^5$ | $>1.5 \times 10^3$ | $2.5 \times 10^5$ | $5 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **19** | $4.9 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^4$ | $2 \times 10^3$ | $1.5 \times 10^5$ | $5.5 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **20** | $1.6 \times 10^5$ | $1 \times 10^4$ | $5.8 \times 10^2$ | $5.5 \times 10^4$ | $1.9 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **21** | $9.5 \times 10^5$ | $5 \times 10^2$ | <10 | $5.3 \times 10^5$ | $3.7 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **22** | $1 \times 10^6$ | $8.5 \times 10^3$ | <10 | $3.4 \times 10^5$ | $2.6 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **23** | $1 \times 10^7$ | $1.3 \times 10^3$ | <10 | $6.9 \times 10^4$ | $2.5 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **24** | $1.2 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^3$ | $9 \times 10^2$ | $1.7 \times 10^5$ | $1.1 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **25** | $1.7 \times 10^7$ | $3.2 \times 10^3$ | <10 | $3.3 \times 10^5$ | $2 \times 10^4$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **26** | $2.9 \times 10^4$ | $3.1 \times 10^4$ | $7.6 \times 10^2$ | $1.3 \times 10^5$ | $6.7 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **27** | $3.5 \times 10^6$ | $>1.5 \times 10^5$ | <10 | $5.7 \times 10^4$ | $2.5 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |
| **28** | $1.8 \times 10^7$ | $>1.5 \times 10^5$ | <10 | $4.7 \times 10^5$ | $8.6 \times 10^3$ | $<10^2$ | <0.3 | Ausencia |

MAM: Microorganismos aerobios mesófilos, CT: Coliformes totales, CF: Coliformes fecales, HF: Hongos filamentosos, Lev: Levaduras, St: *Staphylococcus* coagulasa positiva,
Ec: *Echerichia coli,* Salm: *Salmonella*, NMP: Número más probable

Indicadores de la calidad sanitaria

Los resultados microbiológicos expuestos en la tala 1 para el polen seco y comparados con los obtenidos por Yamila y col. (2008) y Tamara y col. (2008) para las mismas muestras de polen antes de secar (Tabla 2), develan la influencia de este proceso sobre la microbiota del polen en general.

En la determinación de microorganismos aerobios mesófilos, hubo en 12 muestras una reducción de la microbiota inicial para un 43 % (Figura 1), en general, la reducción fue de 1 logaritmo. En 11 muestras el conteo permaneció constante y en 5 se detectó un aumento. Todas estuvieron fuera de los límites propuestos por Aranda para el polen (1999) (Tabla 3).

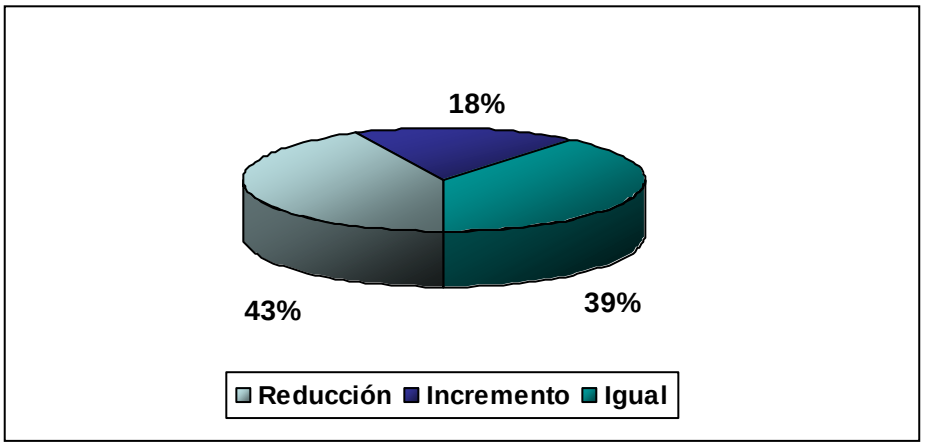


Figura 1. Porcentajes de los niveles de concentración obtenidos en polen seco con relación al polen fresco para microorganismos aerobios mesófilos.

Tabla 3. Límites de aceptabilidad para polen según Aranda (1999)

| | |
|---|---|
| Aerobios | Máximo de colonias10 000/g |
| Coliformes | Ausencia en 0.1g |
| *E. coli* | Ausencia en 1g. |
| *Salmonella* | Ausencia en 30g |
| *Staphylococcus* coagulasa positiva | Ausencia en 0.1g |
| Levaduras y hongos filamentosos | Máximo 300 colonias/g |

En el comportamiento de los coliformes totales hubo una mayor reducción con relación a los microorganismos aerobios mesófilos, en 14 muestras la reducción fue de 1 logaritmo para un 50 % (Fig. 2). En 11 no se apreció cambio y en 3 hubo un incremento. Los microorganismos coliformes son el grupo indicador con mayor tradición en la microbiología sanitaria. Inicialmente su presencia fue asociada con contaminación fecal por la posibilidad de aislamiento dentro de este grupo de *Escherichia coli*, ya que lo que caracteriza a este conjunto es la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas (Fernández, 2000). Posteriormente se destacó la no asociación de este con contaminación fecal puesto que se conoce que las

enterobacterias más prominentes que lo conforman son: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, siendo *Escherichia coli* la representante genuina de origen fecal. En estudios microbiológicos realizados por otros investigadores al polen fresco se han aislado bacterias coliformes tales como *Klebsiella*, *Enterobacter* así como otros géneros de la familia *Enterobactereaceae* como por ejemplo *Yersinia spp.* (García, Rojas y Sánchez, 2006).

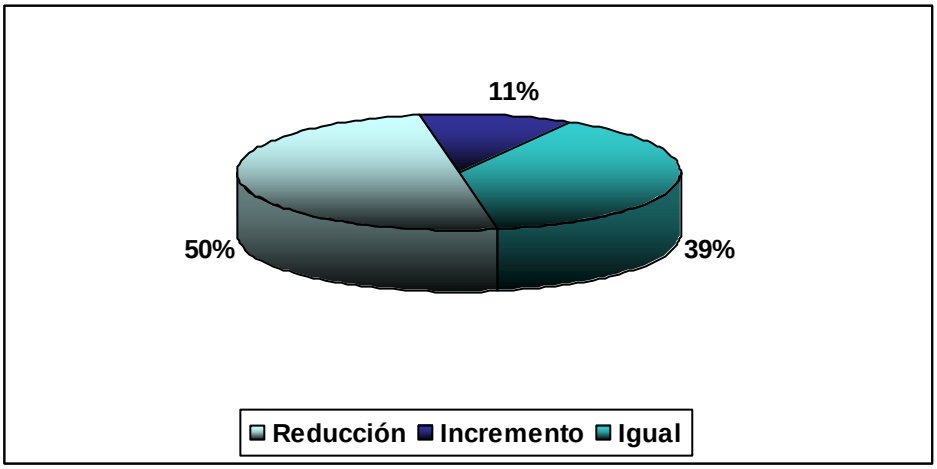


Figura 2. Porcentaje de los niveles de concentración obtenidos en polen seco con relación al polen fresco para coliformes totales.

En el indicador de coliformes fecales se pudo observar un mayor decremento entre los resultados del polen fresco y el del polen seco, ya que de las 17 muestras en las que se obtuvo crecimiento inicial (polen húmedo) hubo reducción en 14 (82 %), 11 de ellas redujeron esta carga hasta los límites de aceptabilidad lo cual representa un 65 % y en las 3 restantes la reducción fue de 1 logaritmo. En dos muestras se mantuvieron los mismos niveles de crecimiento y en una se apreció un aumento (Fig. 3).

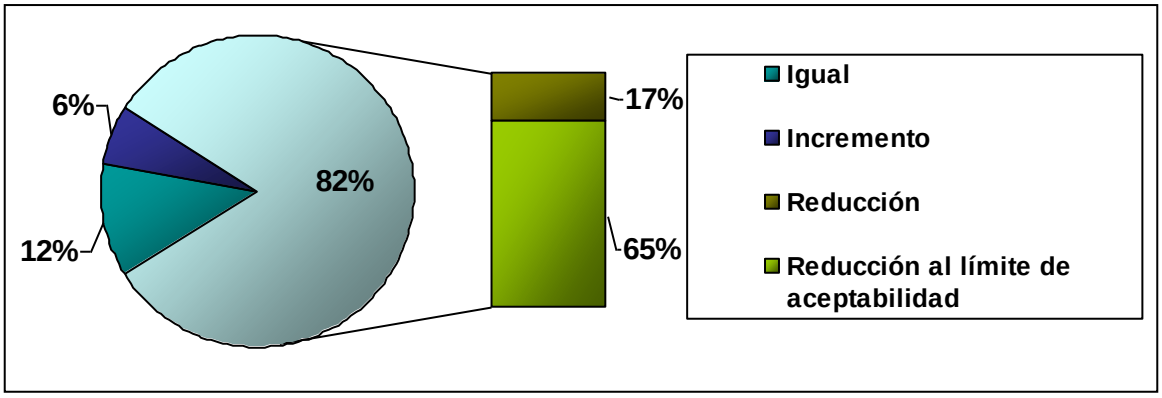


**Figura 3. Porcentaje de los niveles de concentración obtenidos en polen seco con relación al polen fresco para coliformes fecales.**

Con relación a la influencia del secado sobre *Escherichia coli*, el microorganismo persistió en 2 muestras de las 7 que fueron positivas inicialmente por lo que se redujo en el 29 %. También se aisló este microorganismo en dos muestras de polen seco aunque no en las muestras homólogas de polen fresco. A las cepas aisladas se les realizaron algunos estudios de patogenicidad, los resultados de las pruebas bioquímicas arrojaron que no respondían al fenotipo de enterohemorrágica, ni al de enteroinvasiva. Tampoco se ubicaron dentro del grupo de las enteropatógenas atendiendo a la batería de antisueros existentes en el INHA. Estudios posteriores serológicos más amplios y de biología molecular podrán constatar y perfeccionar el resultado obtenido. Todas las cepas de *E. coli* fueron sensibles a los antibióticos probados.

No se observó influencia en el decremento de hongos filamentosos de las muestras sometidas a secado con relación a sus homólogas frescas ya que 20 de ellas se mantuvieron en los mismos niveles de concentración. En 5 se obtuvo un incremento de 1 logaritmo y solo en 3 un decremento en 1 logaritmo lo que corresponde a un 75, 18 y 7 % respectivamente. El comportamiento de las levaduras viables fue similar. Ambos indicadores representan la misma connotación para la calidad del polen puesto que están relacionados con el deterioro del mismo. Todas las muestras estuvieron fuera de los límites de aceptabilidad tomados como referencia. Existen otras investigaciones en las que se han aislado y caracterizado abundantes cepas de hongos en polen, con resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo. (Gilliam, 1979 y 1989)
En general la reducción microbiana fue muy baja lo que puede estar dado por el proceso de secado que no alcanzó los niveles de humedad esperados (5-8 %). El intervalo de humedad alcanzado con el secado del polen fue de 7.9-16.1%

Microorganismos patógenos

No se obtuvo aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* ni de *Clostridium perfringens* en ninguna de las muestras analizadas. En un estudio realizado por García (2006), se obtuvo presencia de *Pseudomonas spp*, en muestras de polen fresco.

De las 4 muestras de polen fresco con aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa positiva, se obtuvo un decremento de este microorganismo, en una de ellas la concentración no bajó hasta los límites de permisibilidad. También se aisló este patógeno en tres muestras de polen seco y sin embargo no se encontró en las muestras homólogas de polen fresco. Es de denotar que a lo largo de todo el estudio se pudo apreciar crecimiento de hongos filamentosos en muchas de las placas del medio agar Baird Parker utilizado para el estudio de *Staphylococcus*, lo que pudo influir en el recobrado de este microorganismo en algunas muestras.

Se detectó *Salmonella* en 1 muestra de polen fresco y en 4 de polen seco, sin que hubiese correspondencia entre estos hallazgos, la cepa de *Salmonella* aislada del polen fresco correspondió al grupo somático “D” y a la serovariedad *Salmonella* j*aviana* (9,12; l, $Z_{28}$; 1,5). A las cepas aisladas del polen seco no se les ha podido realizar aún el estudio de serovariedad, sin embargo todas las cepas aisladas, incluyendo la del polen fresco pertenecen al grupo somático D, por lo que pudiera existir coincidencia en el serovar.

Los resultados de *Salmonella* difieren del resto de los discutidos anteriormente, en cuanto al recobrado obtenido en el polen seco con relación al fresco. Hay que tener en cuenta que cuando el número de microorganismos a determinar es escaso, cabe esperar que la cantidad de análisis con resultados positivos sea pequeña y viceversa, lo cual se debe entre otros, a la cantidad de muestra ocupada y a la microbiota acompañante. (ICMSF 2).

**Conclusiones**

El proceso de secado no conllevó a la reducción de los indicadores estudiados hasta los límites permisibles con la excepción de los coliformes fecales.

Ninguna de las muestras de polen seco, cumplió con los límites de aceptabilidad tomados como referencia.

La microbiota imperante fue de hongos filamentosos

La presencia de *Salmonella spp*, *Staphylococcus* coagulasa positiva, el aislamiento de *Escherichia coli* y el recobrado tan alto de los indicadores estudiados, denotan que el polen no solo tiene una alta carga microbiana sino que entre ella están presentes además microorganismos que son patógenos para el hombre.

**Bibliografía**


- Aranda M. L., 1999. El polen, control sanitario, normas legales. Vida Apícola. No. 94. pág. 56-58.
- Astaruskene, A. E., 1990. Que sabemos del pan de abejas. Traducción al español por Caridad García Speck. URSS No. 7
- Bilash N. G., 1990. Influencia de las reservas de pan de abejas en la calidad de la miel. Edi. Agropromizdat. No. 4, pág 6-7. URSS.
- Fernández E., 2000: Inocuidad de los alimentos. Cap. 1 Microorganismos de interés sanitario. 1ra edición. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, México. p: 13-14..
- Fernández E., 2000: Inocuidad de los alimentos. Cap. 1 Microorganismos de interés sanitario. 1ra edición. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, México. p: 13-14..
- García D., Rojas M. A. y Sánchez J., 2006. Contenido microbiológico cultivable del tracto intestinal y polen almacenado de *Apis mellifera*. Acta Biológica Colombiana, Vol. 11 No. 1, pág. 123 – 129. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- Gilliam, M., 1979. Microbiology of pollen and bee bread: The Yeast Apidology, 10(3): 269-274.
- Gilliam, M y colb., 1989. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds. Apidology 20: 53-68.
- ISO 6579:1993. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la detección de ***Salmonella*.**
- ISO 7251: 2005. Microbiology-General guidance for enumeration of presumptive ***Escherichia coli***- Most Probable Number Technique.

- ISO 7937:2004. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of ***Clostridium perfringens***-Colony Count Technique.
- ISO/CD 13720. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of ***Pseudomonas spp.***
- Martino T. K., Del Risco Ríos C., Leyva V., Puig Y., y Col. Determinación de bacterias patógenas para el hombre en polen. Ciencia y Abejas, junio 2008, Nº 64.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards: Methods for disk diffusion, M100-S12 (M2-A7) January 2002; 22 (1):27-72
- NC ISO 6888:2003. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de ***Staphylococccus*** coagualasa positiva (***Staphylococccus aureus*** y otras especies. Parte 1: Técnica utilizando el medio agar Baird Parker.
- NC-38-02-14: 1989. Sistema de normas sanitarias de alimentos. Determinaciones cuantitativas de coliformes fecales. Método de ensayos microbiológicos.
- NC-ISO 4832: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida
- NC-ISO 4833: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de microorganismos. Técnica de placa vertida a 30° C
- NC-ISO 7954: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica de placa vertida a 25° C
- Puig Y., Del Risco Ríos C., Leyva V., Martino T. K., y Col. Determinación de microorganismos indicadores de la calidad sanitaria en muestras de polen. Ciencia y Abejas, marzo 2008, Nº 63, pag. 2-5.