

ESCUELA NACIONAL DE AGRICULTURA Y GANADERIA

PREVALENCIA DE BACTERIAS EN TERICAS EN LECHE
CRUDAS DEL DEPARTAMENTO DE MANAGUA

TESIS

RIGOBERTO PEREZ OSORIO

MANAGUA NICARAGUA

1966

PREVALENCIA DE BACTERIAS ENTERICAS EN LECHE
CRUDAS DEL DEPARTAMENTO DE MANAGUA

POR

RIGOBERTO PEREZ OSORIO

TESIS

Presentada a la consideración del Honorable
Tribunal Examinador, como requisito
parcial para obtener el Título de

INGENIERO AGRONOMO

ESCUELA NACIONAL DE AGRICULTURA Y GANADERIA
MANAGUA, NICARAGUA, C. A.

1966

PREVALENCIA DE BACTERIAS ENTERICAS EN LECHE
CRUDAS DEL DEPARTAMENTO DE MANAGUA

POR

RIGOBERTO PEREZ OSORIO

TESIS

Presentada a la consideración del Honorable
Tribunal Examinador, como requisito
parcial para obtener el Título de

INGENIERO AGRONOMO

ESCUELA NACIONAL DE AGRICULTURA Y GANADERIA
MANAGUA, NICARAGUA, C. A.

1966

DEDICATORIA

A MI MADRINA:

Sra. María Cardenal de Argüello (q.e.p.d.)

AL:

Sr. José Argüello Cervantes.

Sra. Doraldina de Argüello Cervantes.

Sr. Néstor Argüello Cardenal y Sra.

Sr. Silvio Argüello Cardenal y Sra.

Sr. José Argüello Cardenal y Sra.

Sra. Lyla Argüello de Ramírez.

Sra. Gloria Argüello de Rivas.

A MI ESPOSA:

Sra. Alba María Paguaga de Pérez.

A MI ASESOR TECNICO:

Dr. Juan Lorenzo Eguaras A.

AL:

Ing. Orlando Lindo E.

A MIS AMIGOS.

AGRADECIMIENTO

El agradecimiento sincero para el Dr. Juan Lorenzo Eguaras que gracias a sus consejos hizo posible la realización de este trabajo.

A todos mis profesores de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería de manera especial al Ing. Orlando Lindo E.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS.....	vi
INTRODUCCION Y OBJETIVOS.....	1
LITERATURA REVISADA.....	3
MATERIALES Y METODOS.....	26
RESULTADOS.....	39
DISCUSION.....	55
CONCLUSIONES.....	59
RESUMEN.....	60
BIBLIOGRAFIA.....	61

LISTA DE CUADROS

		Página
CUADRO No.1	Reacciones Típicas de varios Organismos en tubos de Medios Diferenciales.....	42
CUADRO No.2	Enterobacterias Aisladas en Leches Crudas.	45
CUADRO No.3	Origen del Aerobacter encontrado en muestras de Leche cruda del Departamento de Managua.	49
CUADRO No.4	Porcentaje de Aislamientos de Enterobacterias de 37 muestras de Leches crudas del Departamento de Managua.....	51
CUADRO No.5	Comparación entre horas de Reducción de Azul de Metileno y Enterobacterias encontradas...	52

INTRODUCCION

Desde tiempos remotos el hombre ha reconocido en la leche el alimento más completo que se encuentra en la naturaleza. Con el avance de la ciencia se ha podido llegar a tener un conocimiento más exacto de los elementos que entran en su composición y que son tan necesarios para el mantenimiento de la vida, tales como: Proteínas, Hidratos de Carbono, Grasa, Vitaminas, Hormonas, Anticuerpos y gérmenes beneficiosos. (6).

Pero así como es un alimento indispensable en la dieta humana, puede convertirse en fuente de infecciones y enfermedades cuando no se le maneja con las debidas normas de higiene. Se favorece su contaminación con microorganismos que encuentran en ella un medio que reúne todos los principios para su crecimiento y desarrollo. Entre los microorganismos que pueden contaminar la leche cruda se encuentran las bacterias entéricas causantes de muchos trastornos y enfermedades en el hombre. Al mismo tiempo ocasionan trastornos tanto al productor como a las plantas que procesan el producto. (6).

Conociendo la importancia de la leche en la dieta de los habitantes de Nicaragua, en nuestro caso de Managua, así como de los trastornos que puede causar una leche contaminada tanto al productor como al comprador, y como hasta la fecha no se ha efectuado ningún estudio en este campo, se llevó a efecto el presente trabajo. Teniendo como objetivos los siguientes.

- 1o. Determinar la Prevalencia de Enterobacterias en leches crudas en el Departamento de Managua.
- 2o. Determinar los géneros de Enterobacterias que contaminan las leches crudas del Departamento de Managua.
- 3o. Comparar si existe alguna relación entre la prueba de reducción del Azul de Metileno y las Enterobacterias encontradas.

El estudio se llevó a efecto con 37 productores de leche del Departamento de Managua habiéndose efectuado las pruebas en los Laboratorios de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería entre los meses de Junio a Septiembre de 1965.

LITERATURA REVISADA

El grupo de microorganismos entéricos abarca un gran número de bacilos gram-negativos que morfológicamente están estrechamente relacionados entre sí, pero que sin embargo pueden distinguirse fácilmente por medio de pruebas bioquímicas y serológicas. En cuanto a su patogenicidad para el hombre, puede decirse que existen desde los relativamente patógenos, como sucede con el Aerobacter aerógenes, hasta los altamente patógenos como Salmonella typhosa.

El Escherichia coli y el Aerobacter aerógenes son habitantes normales del intestino del hombre; en cambio otros microorganismos sólo utilizan al intestino como vía de entrada. (17).

Reciben el nombre de entéricos debido a que la mayoría de sus miembros son habitantes normales tanto del intestino del hombre como de los animales. (8).

La familia Enterobacteriaceae incluye gran número de parásitos animales y algunos vegetales (9) causándoles reblandecimiento y podredumbre en las raíces. (10).

Los miembros de esta familia son bastoncillos rectos o curvos con dimensiones de 1 a 2 micras de diámetro y de tres a diez micras de largo, gram-negativos, aerobios facultativos, no forman esporas, la mayoría de ellos poseen movilidad (8) y esta movilidad se la dan flajelos peritricos (10), pero también algunos son inmóviles como las Shigellas. (8).

Atacan la glucosa con formación de ácido o ácido y gas, reducen los nitratos a nitritos con algunas excepciones en el género *Erwinia* (9). Para su crecimiento y desarrollo se pueden usar medios de cultivo sencillos, sin sangre y aún crecen y se desarrollan en alimentos corrientes como leche, condimentos para ensaladas, relleno de emparedados, etc., a temperaturas desde los 15° C a 40° C. Algunos son resistentes al frío y se pueden encontrar en leche, agua, hielo, aguas negras, suelo, etc., viviendo en ellos según las especies y el ambiente desde unas horas a algunas semanas (8). Es muy frecuente que se presenten estas bacterias como saprófitos naturales (9).

Se les puede destruir fácilmente por ebullición de cinco minutos, pasteurización y desinfectantes debido a que no forman esporas (8).

Según el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, la familia *Enterobacteriaceae* pertenece al orden Eubacteriales, clase Esquizomicetos de la división Protófitos. (21).

La clasificación de *Enterobacteriaceae* según dicho manual es la siguiente (9).

Tribu 1. *Eschericheae* - Fermentan la lactosa.

Género 1. *Escherichia* - Habitantes del intestino de los animales.

Género 2. *Aerobacter* - Algunas veces se encuentran en el intestino de los animales.

Género 3. *Klebsiella* - Se encuentra en los aparatos respiratorios, intestinal y urogenital.

- Tribu 2. Erwineae - Fermentan la lactosa.
Género 1. Erwinia - Parásitos de los vegetales.
- Tribu 3. Serrateae - Fermentan la lactosa, licúan rápidamente la gelatina.
Género 1. Serratia - Bacterias cromógenas, no patógenas.
- Tribu 4. Proteae - No fermentan la lactosa. Descomponen la urea.
Género 1. Proteus - Rara vez patógenos.
- Tribu 5. Salmonelleae - Rara vez fermentan la lactosa. No descomponen la urea.
Género 1. Salmonella - Salmonelosis del hombre y de los animales.
Género 2. Shigella - Shigelosis del hombre.

También pueden dividirse en dos grandes grupos atendiendo a si fermentan o no la lactosa; estos grupos son: Grupo de fermentadores de la lactosa y grupo no fermentadores de la lactosa.

Grupo de fermentadores de la Lactosa

En este grupo se encuentran miembros de los géneros Escherichia, Aerobacter, Klebsiella, Erwinia y Serratia. Como habíamos dicho los del género Erwinia no son patógenos para los animales, lo mismo que el grupo cromógeno Serratia.

Escherichia coli.

En los animales de sangre caliente este organismo se encuentra normalmente en las porciones inferiores del intestino. En el intestino de los animales de sangre fría y en los peces no se encuentra por lo general. En el estómago y parte superior del intestino es raro encontrarlo.

Las cepas comunes de E. coli, según Kauffman, serológicamente se dividen en varios tipos, siendo algunos de ellos patógenos, produciendo en los animales diversas enfermedades.

Morfología y reacciones tintóreas. El E. coli presenta una morfología variable bajo diferentes condiciones, es un organismo pequeño en forma de bastón corto y algo grueso, algunas veces forma filamentos largos. Algunas cepas forman cápsulas pero no todas, lo que nunca forma son esporas. Es gram-negativo y se tiñe fácilmente con los colorantes ordinarios.

Caracteres de Cultivo. La temperatura óptima en la cual se desarrolla es a la del cuerpo humano con amplios límites y lo hace en todos los medios ordinarios. Se presenta como aerobio y anaerobio facultativo. Presentan una movilidad de tipo lento la mayoría de las variedades.

Cuando se siembra en caldo, después de incubarlo por 12 a 18 horas, se observa un enturbiamiento uniforme. (9). En agar Mc Conkey se presentan las colonias de color rojo y pueden estar rodeadas de una zona de sales biliares precipitadas.

En agar S.S. cuando logran desarrollarse, ya que son inhibidas, se reconocen las colonias porque son de un color rojo, aunque a veces no es rojo totalmente sino que rosadas o casi sin color con un centro rosado.

En agar E.M.B. se forman las colonias de un color negro y con aspecto metálico.

En agar Citrato no se desarrollan colonias.

En placas de gelosa sangre, algunas cepas forman amplias zonas de beta-hemólisis alrededor de las colonias, en cambio otras no producen hemólisis.

Todas las cepas forman ácido y gas atacando la glucosa y la lactosa.

Generalmente el Indol lo forman en gran cantidad, los Nitratos los reducen fuertemente, la reacción Rojo de Metilo es positiva y la Voges-Proskauer es negativa.

Las pruebas de Citrato, Indol, Rojo de Metilo y Voges-Proskauer, son de mucho valor para diferenciar el E. coli del A. aerógenes como se puede observar en el siguiente cuadro:

	<u>Citrato</u>	<u>Indol</u>	<u>MR</u>	<u>VP</u>
E. coli	-	+	+	-
A. aerógenes	+	-	-	+

Resistencia:

El E. coli presenta bastante resistencia a la acción de varios desinfectantes y también a la desecación, pero es destruido por la pasteurización, aunque existen cepas termoresistentes que soportan altas temperaturas.

Patogenicidad. Antiguamente se tenía la idea que el E. coli era un parásito inofensivo, pero luego se supo que es patógeno en algunas ocasiones o bien que algunas cepas son las patógenas y aún los que se encuentran normalmente en el intestino llamados inofensivos se aprovechan, después de una intervención quirúrgica o cualquier rotura

intestinal, produciendo peritonitis. (9).

Hasta la fecha no se ha demostrado la presencia del *E. coli* en la naturaleza sin una contaminación fecal. (1).

Debido a que es uno de los más frecuentemente encontrado en cultivos de tejidos de animales, sobre todo si se toman unas horas después de muerto, se ha planteado el dilema de que si actúa como invasor secundario o como agente causal de la enfermedad. Aún no se conoce el número de infecciones que causan éstos habitantes normales del intestino. En cambio a los llamados serotipos patógenos si se les conoce que clase de infección producen.

El *E. coli* se ha aislado de mastitis, infecciones urogenitales, abortos, diarreas en recién nacidos tanto en el hombre como en los animales, etc.

Toxina del Colibacilo: El *E. coli* es considerado como no productor de toxinas. Pero Smith y Little llevando a cabo varios experimentos demostraron la formación de toxina aunque no pudieron demostrar la naturaleza del material tóxico. (9).

Aerobacter aerógenes. Fue descrito por Escherich en 1885. Es una bacteria aerobia, se encuentran frecuentemente lo mismo que *E. coli* en el intestino del hombre y de los animales pero también puede encontrarse en tierra, granos, aire, etc. Aún no se ha comprobado que produzca alguna enfermedad. No se debe confundir con el *E. coli* ya que no poseen el mismo significado sanitario. Se ha comprobado que produce la coagulación de la leche y de la crema. El *A. aerógenes* puede hacer viscosa la

leche. Figura entre las bacterias lactoacidógenas. (18),

Caracteres de Cultivo. Es gram-negativo, móvil, licúa la Gelatina, puede producir o no Indol, utiliza el carbono del medio de Citrato, la reacción Voges-Proskauer es positiva y la de Rojo de Metilo negativa.

A. aerógenes con el E. coli y Klebsiella se les conoce también como grupo coliforme. (20).

El "Standard Methods" da la siguiente definición del grupo coliforme: "El grupo coliforme incluirá todas aquellas bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gram-negativas, que no forman esporas las cuales fermentan la lactosa formando gas".

La presencia de estos organismos en agua, leche y otros alimentos se considera como signo de contaminación fecal y por lo tanto la posible existencia de otras bacterias intestinales patógenas.

Ultimamente se ha dado en considerar de cierta consecuencia sanitaria la presencia del grupo coliforme en la leche pasteurizada.

Se pueden encontrar coliformes en leches recientemente pasteurizadas, y posiblemente se debe a las siguientes posibilidades o a una combinación de ellas.

- 1) La presencia de uno o más tipos de Coliformes termorresistentes en la leche cruda.
- 2) La contaminación de la leche cruda con gran cantidad de organismos coliformes, que, aún con una eficaz destrucción (más de un 99.5%),

puede sobrevivir cierto número de organismos suficientes para que quede contaminada la leche.

- 3) Que no se efectúe una buena pasteurización, sea porque no se le dé la temperatura debida, porque se le dé un tiempo deficiente, por una cámara de calentamiento descompuesta o por introducir durante el proceso leche cruda.
- 4) Recontaminación de la leche perfectamente pasteurizada. (1).

En el período comprendido entre Abril y Diciembre de 1959 se examinaron 7.432 muestras de leche pasteurizada en Northern Ireland por el Ministerio de Agricultura y la Universidad de Queen's de Belfast.

Se obtuvieron 165 clases de E. coli y ninguno de ellos resultó ser de serotipo patógeno.

En el cuadro siguiente se exponen los resultados obtenidos mostrando los resultados positivos a 37° y 44° C en 9 meses consecutivos. Evidentemente la incidencia es de tendencia estacional en los cultivos positivos a 37° y 44° C y su número se mantiene alto durante el período de verano (12).

La incidencia de las bacterias coli-aerógenas en leche pasteurizada durante nueve meses consecutivos en 1959

Meses	No. de Muestras Examinadas	Muestras Positivas en 1 o más tubos			
		37°C		44°C	
		No.	%	No.	%
Abril	890	115	12.9	5	0.6
Mayo	922	139	15.1	0	0
Junio	891	181	20.3	12	1.3
Julio	720	187	26	36	5.0
Agosto	571	159	27.8	23	4.0
Septiembre	947	230	24.3	18	1.9
Octubre	834	151	18.1	52	6.2
Noviembre	933	129	13.8	9	1.0
Diciembre	724	103	14.2	10	1.4
Total y porcentajes	7.432	1.394	18.76	165	2.22

De las 165 clases de E. coli obtenidas ninguna era de serotipo patógeno.

Klebsiella. Se ha encontrado que varios miembros de este grupo no son patógenos, pero existen algunos patógenos como los encapsulados que se les encuentra en mastitis, infecciones urogenitales del hombre, infecciones respiratorias e infecciones de los genitales de los animales. Los miembros del grupo Klebsiella son denominados tipos mucoides.

Morfología. Es un bastoncillo gram-negativo que no forma esporas, pero sí forma cápsulas, inmóvil. En los medios de cultivo puede observarse perfectamente el desarrollo mucoso debido a las cápsulas.

Caracteres de cultivo. Se desarrolla bien en cultivos sencillos. El crecimiento típico en cabeza de clavo, sin licuefacción se observa perfectamente en la gelatina. Ataca los nitratos reduciéndolos a nitritos y a amoníaco.

co. Es Indol negativo. La reacción Rojo de Metilo es negativa y Voges-Proskauer positiva en la mayoría de las cepas.

Patogenicidad. Cuando se encuentra en los conductos genitales de la yegua le produce metritis grave, pero es muy raro que se encuentre en esas partes. Cuando invade el útero es muy difícil eliminarlo. Por el coito, manos e instrumentos se trasmite fácilmente. En mastitis se ha encontrado en ganado vacuno y en metritis, mastitis y septicemia en los renos.

Serratia. Durante generaciones se ha considerado en el laboratorio como saprófito inocuo. Las colonias son fácilmente reconocibles debido a que toman un color rojo o rosado. Existen algunas especies que en los animales se les reconoce algún poder patógeno.

El Serratia marcesens se está volviendo patógeno para el hombre, esto ha coincidido con el uso de las sulfamidas y antibióticos, por lo cual se cree que a eso sea debido.

A los antibióticos de amplio espectro hay cepas que son susceptibles pero en poco tiempo adquieren resistencia. (20).

Organismos entéricos no fermentadores de la lactosa

Morfológicamente y por numerosas pruebas bioquímicas estos organismos se parecen a las bacterias anteriores; pero tienen la diferencia de que no fermentan la lactosa. Los organismos que componen este grupo son: Proteus, Salmonella y Shigella; últimamente se sabe que algunos miembros del grupo Shigella fermentan la lactosa. Se diferencia el Proteus de Salmonella y Shigella por la facilidad que posee de descomponer la Urea. (9).

Proteus. Este organismos está ampliamente distribuido en la naturaleza. Fue aislado por Hanser en 1885 de las heces, aguas y materiales de descomposición.

Es un bacilo gram-negativo, móvil y aerobio. Morfológicamente y en caracteres de cultivo se asemeja mucho al E. coli, pero tiene la particularidad de que en la superficie del agar las cepas móviles cubren toda la placa en 24 horas, en forma de una capa pseudomembranosa fina y delicada. Es difícil aislar colonias de este organismo. (20). En ocasiones puede llegar a desarrollarse en el organismo animal pero por lo general no son de importancia en patología animal.

Caracteres de cultivo. No fermenta la lactosa, produce H_2S en agar T.S.I. (agar Triple Azúcar y Hierro), descomponen la Urea y esta es su principal característica, es Indol positivo y puede o no utilizar el Citrato (3).

Salmonella. Esta bacteria fue vista por primera vez en 1880 por Eberth y en 1884 lo aisló Gaffky.

Uno de los miembros especializados de este genero es el bacilo tífico, causante de la fiebre tifoidea, puede ser albergada por el hombre y animales.

Un medio práctico y sencillo para diferenciarle de los miembros más comunes del grupo es que no produce gas en los medios con Carbohidratos.

Morfología y tinción. Es un bacilo corto y grueso con .5 a .8 micras de grosor y 1 a 3.5 micras de longitud. Fácilmente se t iñe con los colorantes de anilina, gram-negativo, aerobio, móvil (aunque existen formas inmóviles) (10). No forman esporas ni cápsulas.

Caracteres de cultivo. Se desarrolla fácilmente en los medios comunes de laboratorio a temperaturas desde 15° C a 41° C., pero se desarrollan mejor a una temperatura de 37.5°C. (20).

En agar Mc Conkey da colonias incoloras lo mismo que en agar EMB.

(3).

No fermenta la lactosa ni la sacarosa, fermenta la glucosa con formación de gas, no produce Indol ni licúa la Gelatina, tampoco produce acetilmetil-carbinol.

Resistencia. Si posee humedad puede permanecer vivo en los cultivos por meses y años. Hiss después de trece años encontró los microorganismos vivos en tubos de agar cerrado herméticamente. En aguas telúrica pueden sobrevivir por dos o tres semanas, pero en materias fecales durante uno o dos meses. En el hielo y la nieve sobrevive por lo menos tres meses.

Se pueden destruir en 5 minutos con bicloruro de mercurio en dilución de 1:500 o también con fenol al 5%. La temperatura de pasteurización las destruye y frente a los antisépticos usuales son susceptibles.

Shigella. Los verdaderos productores de disentería. Es posible que los hayan aislado en 1888 Chantemesse y Widal en Francia y en Rusia Grigosiew en 1891, pero sin establecer la relación etiológica.

En 1898 Shiga en el Japón aisló el primer miembro del grupo Shigella.

La causa más frecuente de disentería son los organismos del grupo Shigella.

Los organismos del grupo *Shigella*, con algunas raras excepciones se encuentran sólo en el hombre, trasmitiéndose por enfermos convalecientes o portadores sanos.

Morfología y tinción. Son bacilos en forma de bastones cortos (de 0.5 a 0.7 micras de grueso y 2 a 3 micras de longitud), gram-negativos y se tiñen con facilidad con los colorantes usuales de anilina, no forman cápsula, son inmóviles y no forman esporas.

Caracteres de cultivo. Los miembros del género *Shigella* son aerobios y anerobios facultativos. Pueden desarrollarse fácilmente a temperaturas de 10°C a 40°C, siendo 37°C la temperatura óptima.

Es más importante que el tipo de medio empleado la recolección y selección de las muestras que se han de sembrar.

En agar S. S. y E.M.B. las colonias que aparecen incoloras pueden ser de *Shigella*. A las 24 horas de incubación se presentan las colonias incoloras, un poco traslúcidas, circulares, convexas, de bordes enteros.

Los organismos del género *Shigella* tienen las siguientes reacciones bioquímicas: No fermentan la lactosa, con excepciones como la *Shigella sonnei* después de larga incubación, pero sí fermentan todos la glucosa. No producen gas de los carbohidratos con raras excepciones. No hidrolizan la Urea, ni licúan la Gelatina. No forman acetil-metil carbinol ni se desarrollan en agar Citrato.

Resistencia. En agua corriente pueden vivir hasta seis meses, en hielo unos dos meses y en agua de mar de dos a cinco meses.

En la leche fresca es bien sabido que se desarrolla el microorganismo. En la ropa sucia y aun la que aparenta limpieza pueden vivir varios días. Resisten el fenol al 0.5% pero a la concentración de 1% mueren entre los 16 y 30 minutos.

Por medio de la temperatura de pasteurización son destruídos.

La leche siempre se ha considerado como un alimento completo para el hombre, así como ideal e indispensable para los niños. Ello se debe a la gran cantidad de elementos nutritivos necesarios para la vida que contiene tales como: proteínas, hidratos de carbono, grasas, minerales, vitaminas, hormonas, gérmenes beneficiosos y anticuerpos.

Por contener esa gama de elementos nutritivos la convierte en un medio ideal para el crecimiento y desarrollo de todo tipo de microorganismos que la afectan en diferentes aspectos, siendo el más importante el que la convierte en trasmisora de muchas enfermedades para el hombre y que puede llegar a producir la muerte en los niños. (6).

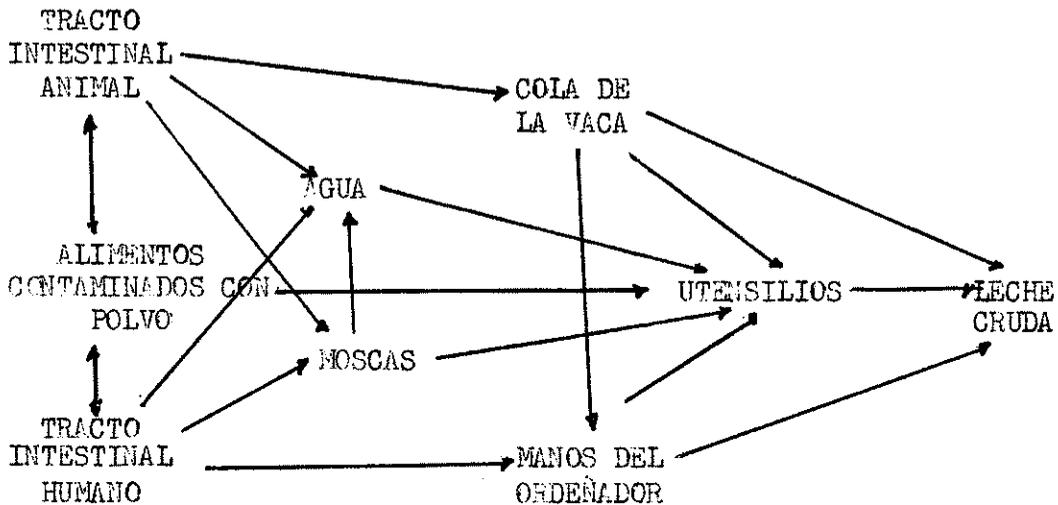
La Industria Láctea, además de manejar la leche y sus productos derivados, trata también de sus microorganismos.

Cuando la leche llega a las plantas pasteurizadoras o a los consumidores, cuando se ingiere cruda, lleva siempre microorganismos asociados a ella y siempre se presentan en los productos derivados si no es sometida al proceso de pasteurización. Estos microorganismos constantemente actúan sobre los componentes de la leche tales como caseína, albúmina, grasa, lactosa, citratos, lecitinas, etc.

Los gérmenes pueden contaminar la leche cruda principalmente de dos maneras:

- a) Cuando los animales se encuentran enfermos y los agentes causantes de dichas enfermedades pueden ser expulsados por la leche como sucede con la Tuberculosis, Brucelosis, Mastitis, etc. Lo mismo sucede cuando existen infecciones locales en la ubre.
- b) Cuando la contaminación es producida por el medio ambiente donde se realiza ordeño, ya sea por polvo, pelos del animal, suciedad de los utensilios, manos del ordeñador, etc. (18).

A continuación se pueden observar en el siguiente cuadro todas las posible fuentes de contaminación externa para la leche cruda. (4).



La leche cruda se puede contaminar cuando partículas o salpicaduras de excrementos, paja y basura sucia de estiércol, etc. caen en la leche. (18).

Las moscas tienen un papel importante en la transmisión de enfermedades intestinales debido al hábito de criarse y alimentarse de las inmundi-

cias, contaminan los pesones de las vacas, utensilios de ordeño, lo mismo que la propia leche. (14).

Cuando las vacas tienen diarreas las oportunidades de que los excrementos lleguen a la leche cruda son más numerosas, asimismo puede ser más peligrosa la contaminación puesto que dicha diarrea puede ser producida por algún microorganismo entérico patógeno. (18).

Los microorganismos entéricos en su mayor parte, pueden contaminar la leche ya sea porque el mismo animal posea la infección, porque la contaminación provenga de portadores humanos o por factores del ambiente. (14).

La leche impurificada en el ordeño por la penetración en ella de partículas de polvo, paja, forraje, pelos de vaca, estiércol, moscas, manos del ordeñador o por contener suciedades el interior de los recipientes, tiene escaso valor para el consumo o para procesarla debido a los siguientes efectos:

- 1) Las materias impurificantes antes dichas poseen bacterias que al encontrarse en la leche comienzan a difundirse y proliferan de manera que al poco tiempo comienzan su acción destructora.
- 2) Debido a que el colar o filtrar la leche, sólo se están eliminando las partículas visibles y en ningún momento las bacterias, ni aún centrifugándola.
- 3) Cuando la leche se encuentra contaminada con bacterias su poder de conservación disminuye y a la temperatura ordinaria se agría rápidamente.
- 4) Cuando se consume leche cruda que ha sido contaminada con determinadas especies bacterianas, puede causar trastornos y enfermedades en los - adultos y en los niños de corta edad representa un peligro mortal y más

aún para los lactantes. Cuando se observa la elevada cifra de mortalidad infantil, puede asegurarse que en gran parte, es debido al consumo de leche contaminada.

- 5) Si la leche cruda contaminada con ciertas bacterias nocivas se va a dedicar a la elaboración de quesos, se malogran éstos.
- 6) Al elaborar mantequilla de la nata de esa leche sin pasteurizar, su sabor será desagradable, se enrancia rápidamente y puede llegar a ser nociva.
- 7) Con la pasteurización de la leche sólo se elimina una parte del contenido bacteriano. Cuando la leche cruda ha tenido un alto grado de contaminación la pasteurización no elimina todas las bacterias por lo cual se conservará muy poco. Aún esterilizándola no se consigue un cien por ciento de destrucción de las bacterias y menos aún de las esporas aunque se caliente a 110-120°C, afectando por lo tanto su conservación.
- 8) La cocción casera no destruye todas las bacterias y en modo alguno las esporas de las bacterias esporógenas. Este tipo de leche casi no se conserva sobre todo en verano, por el rápido desarrollo de los gérmenes esporógenos, los cuales no la agrian, pero la leche tiene un sabor amargo y a veces hasta pútrido. Cuando es ingerida por lactantes, puede causarles enfermedades y hasta la muerte. La leche que sufre la cocción casera, se recontamina rápidamente debido a microorganismos que se encuentran en el aire, en el interior de los recipientes, etc. (18).

Cuando no se guarda una estricta higiene en la producción de la leche y los productos lácteos, los seres humanos que la consumen pueden sufrir enfermedades.

En la leche deben guardarse medidas higiénicas tales como higiene de los animales productores de leche, medidas higiénicas convenientes en la producción, manipulación y elaboración de la leche y productos lácteos; debe de someterse la leche cruda a la pasteurización o cualquier otra forma de tratamiento térmico para destruir los gérmenes patógenos y luego evitar la recontaminación posterior.

Frecuentemente se detectan recontaminaciones de bacterias coliformes en leches recién pasteurizadas, siendo un problema en las instalaciones elaboradoras. Los motivos de éstas recontaminaciones deben buscarse en las operaciones de limpieza, desinfección y otras relacionadas. Como prueba de lo dicho anteriormente, se efectuaron recuentos rutinarios de coliformes en dos instalaciones elaboradoras de leche que poseían esencialmente la misma magnitud, el mismo tipo de operaciones y teniendo una misma fuente de abastecimiento de leche cruda.

Los resultados se pueden observar en el siguiente cuadro, en el cual A y B son las dos instalaciones en las cuales se hicieron los recuentos rutinarios en las mismas fechas. En la instalación B no se guardaban las debidas normas higiénicas. En B¹ se puede observar la misma instalación B después de haber aplicado métodos higiénicos buenos.

Recuentos coliformes de (2 ml) de varios productos procedentes de dos instalaciones elaboradoras de leche ²

Fecha	Tipo de Producto				
	Leche con crema	Crema	Leche descremada	HP ^a	VDHP ^b
Instalación A (que emplea métodos higiénicos buenos)					
5 abr.	0	0	0	0	0
12 abr.	0	0	0	0	0
9 may.	0	0	0	0	0
29 may.	0	0	0	0	0
11 jun.	0	0	0	0	0
25 jun.	0	0	0	0	0
2 jul.	0	0	0	0	0
19 jul.	0	0	0	0	0
Instalación B (que emplea métodos higiénicos deficientes)					
12 abr.	35	5	2	14	25
23 abr.	92	1	24	1100	210
9 may.	0	13	1	80	64
22 may.	0	19	33	3000	3000
6 jun.	0	3	1	4	3
19 jun.	5	0	3	2	6
2 jul.	0	0	0	230	420
19 jul.	5	25	4	420	6
Instalación B ¹ (al emplear buenos métodos higiénicos)					
5 agt.	0	0	0	0	0
20 agt.	0	0	0	0	0
3 sep.	0	0	0	0	1
15 sep.	0	0	0	0	2
2 oct.	0	0	0	0	0
27 oct.	0	0	0	0	1
10 nov.	2	0	0	0	0
28 nov.	0	0	0	0	0

a HP⁻ Leche homogenizada en envase de papel.

b VDHP Leche homogeneizada, con vitamina D, en envase de papel.

Con la pasteurización adecuada también se destruyen los organismos psicrófilos (prolifera entre 1.7°C a 10°C) presentes en la leche cruda o por lo menos los reducen a tal grado que no llegan a constituir un factor determinante en el deterioro del sabor de la leche, durante un tiempo prolongado de almacenamiento. Prueba de lo anterior son los datos obtenidos al hacer recuentos bactericos de leche mezclada de un hato antes y después de la pasteurización experimental. Los resultados podrán observarse en el siguiente cuadro. (7).

Recuentos bactericos de leche mezclada de un hato, antes y después de la pasteurización experimental (a 143°F= 63.9°C durante 30 minutos) por tubo sellado e inmersión total.

Prueba	Recuento Normal En Placa		Recuento Coliformes	Recuento Psicofilos 7°C
	32°C	35°C		
1. Cruda	730,000	630,000	18,000	200,000
1. Pasteurizada	—	—	—	0
2. Cruda	710,000	830,000	22,000	130,000
2. Pasteurizada	9,100	—	—	0
3. Cruda	3,000,000	370,000	8,000	150,000
3. Pasteurizada	30,000	30,000	0	0
4. Cruda	1,600,000	1,600,000	890,000	680,000
4. Pasteurizada	8,400	4,400	—	0
5. Cruda	360,000	480,000	5,400	62,000
5. Pasteurizada	330,000	110,000	—	—

Para la producción de la leche en condiciones higiénicas deben de tomarse en cuenta varios factores, siendo uno de ellos el de evitar la contaminación externa de la leche tanto en el momento del ordeño como en el local en que efectúa esta operación, procurando evitar en todo momento la penetra-

ción en la leche de microorganismos y suciedades. Muchos productores tienen la idea errónea de creer que con las operaciones subsiguientes de colar, filtrar, refrigerar y tratar térmicamente la leche pueden sustituir la limpieza en su producción, lo cual debe de combatirse enérgicamente.

Al someterse la leche cruda sumamente contaminada a tratamiento térmico, desde el punto de vista bacteriológico, se puede obtener un producto inocuo, sin embargo esta leche presenta varios inconvenientes tales como mal aspecto, tiempo de conservación menor y de un sabor menos agradable, esto en cuanto a la leche en sí, pero además en los centros de recogida e instalaciones de pasteurización hace más complicadas las medidas higiénicas y así mismo en individuos sensibles causa trastornos gastrointestinales no específicos (14), los cuales son muy generalizados especialmente durante el verano. Y los pueden producir aún cuando la leche sólo contenga organismos muertos; esta enfermedad por lo general se presenta en adultos susceptibles y en los niños pequeños.

Por eso se debe insistir en la limpieza y en lo conveniente que resulta eliminar a los suministradores la leche que se encuentra muy contaminada con materias fecales, lo mismo que con sustancias extrañas, aun cuando vaya a ser sometida a tratamiento térmico adecuado, (14).

La leche puede transmitir un gran número de enfermedades habiéndose hecho una división en dos grupos: a) Enfermedades del hombre en las que los animales actúan como fuente primaria de infección a través de la leche. b) Las enfermedades originalmente humanas, pero que pueden ser transmitidas por la leche. (14). Las infecciones gastrointestinales son frecuentemente tras-

mitidas por la leche.

Por otra parte cuando se contamina la leche con ciertos microorganismos productores de enterotoxinas, pueden causarle enfermedades a las personas que la consumen. Estas enterotoxinas, por lo general suelen ser resistentes al calor y ni siquiera la ebullición las neutraliza o destruye.

Cuando el número de bacterias en la leche cruda es muy elevado puede causar trastornos gastrointestinales aún cuando se haya sometido la leche a un tratamiento para destruir bacterias.

Otro factor que debe de tomarse en cuenta es que además de los trastornos y enfermedades que puede causar una leche contaminada con bacterias, esta se agria y se echa a perder rápidamente lo cual tiene consecuencias importantes para el productor ya que el comprador se la rechaza, disminuyendo con esto, el suministro a los consumidores y entorpeciendo el normal funcionamiento de los centros de tratamiento. (14).

Es por eso que tanto los productores como su personal, deben tener siempre presente que el tratamiento a que se somete el producto nunca podrá ser, ni ha pretendido serlo, un sustituto de la higiene en ninguna de las fases de producción, manejo y elaboración, es decir desde el productor al consumidor. (15).

En el período comprendido entre Marzo y Diciembre de 1960 fueron examinadas unas 1.114 muestras de leche cruda en Northern Ireland por el Ministerio de Agricultura y la Universidad de Queen's de Belfast.

Fueron obtenidas 262 muestras presuntamente positivas en caldo de

McConkey's a 37°C y 44°C. Ninguna de las clases de E. coli resultaron ser serotipos patógenos.

Las técnicas usadas muestran que es posible detectar en leche un pequeño grado de contaminación por serotipos patógenos de E. coli en presencia de gran número de clases no patógenos de E. coli.

Los resultados obtenidos del examen de las 1.114 muestras de leche cruda se muestran en el cuadro siguiente, mostrando los resultados positivos a 37° y 44°C en diez meses sucesivos.

Incidencia de bacterias coli-aerógenas en
leche cruda, durante diez meses sucesivos en 1.960

Meses	No. de Muestras Examinadas	Muestras Positivas en 1 ó mas tubos			
		37°C		44°C	
		No.	%	No.	%
Marzo	117	60	51.3	39	233.3
Abril	117	61	52.1	33	28.2
Mayo	126	52	41.3	31	24.6
Junio	115	69	60	26	22.6
Julio	92	58	63	29	31.5
Agosto	96	56	58.3	26	27.1
Septiembre	115	66	57.4	26	22.6
Octubre	127	59	46.5	19	15
Noviembre	105	53	50.5	19	18.1
Diciembre	104	50	48.1	14	13.5
Total y porcentajes	1114	584	52.4	262	23.5 (13)

MATERIALES Y METODOS

Los medios para aislamiento primario que se usaron para el desarrollo del trabajo fueron: Agar Mc Conkey, Agar S. S. y Agar E.M.B., los cuales se presentan en el comercio en forma de polvo (deshidratado). Para su reconstrucción se siguieron las indicaciones del fabricante.

A continuación se dará una reseña de las propiedades de los medios empleados.

Agar McConkey

Peptona.....	17 g.
Protensa Peptona.....	3 g.
Lactosa.....	10 g.
Sales Biliares No.3.....	1.5 g.
Cloruro de Sodio.....	5 g.
Agar.....	13.5 g.
Rojo Neutro.....	0.03 g.
Cristal Violeta.....	0.01 g.

Para la detección e identificación de todos los tipos de bacterias de disentería, tifus y paratifus de muestras de heces, orina o cualquier otro material contaminado con estos microorganismos se recomienda usar un medio diferencial como el Agar McConkey.

En este medio las bacterias Gram-Positivas son inhibidas, en cambio las Gram-Negativas se desarrollan y se pueden diferenciar los bacilos Gram-Negativos fermentadores de la lactosa, siendo un excelente sustrato para detectar tifus y otros organismos de Salmonella en heces y materiales infectados.

Cuando se va a inocular es importante que el medio se encuentre solidificado y seco.

Las colonias de Coliformes se identifican por tener un color rojo-ladrillo y estar rodeadas de una zona de bilis precipitada.

Esta reacción es debida a la acción de los ácidos, producidos por la fermentación de la lactosa, sobre las sales biliares con la sub-siguiente absorción del rojo neutro. Los bacilos que no fermentan la lactosa como los de la tifoidea, paratifoidea y disentería dan una reacción alcalina y las colonias se presentan incoloras y transparentes.

Para la detección cultural de organismos de tifoidea en material infectado, es recomendado usar el agar Mc Conkey con un medio más selectivo como Agar S. S. (5).

Agar S. S.

Estracto de Carne.....	5	g.
Proteosa Peptona.....	5	g.
Lactosa.....	1	g.
Sales Biliares No.3.....	8.5	g.
Citrato de Sodio.....	8.5	g.
Tiosulfato de Sodio.....	8.5	g.
Citrato Ferrico.....	1	g.
Agar.....	13.5	g.
Verde Brillante.....	.0033	g.
Rojo Neutro.....	0.025	g.

Es un medio altamente selectivo, recomendado para el aislamiento de Salmonella y Shigella de heces y otras materias sospechosas de contenerlas.

Provee una exitosa diferenciación entre los no fermentadores de lactosa y los fermentadores, lo mismo que la inhibe al máximo el crecimiento de los Coliformes, sin restringir el crecimiento de bacilos patógenos gram-negativos que ocurren en la muestra.

Los no fermentadores de lactosa como Salmonella y Shigella forman colonias opacas, transparentes, generalmente lisas.

Si se desarrollan organismos fermentadores de lactosa, son detectados rápidamente, debido a que forman colonias de color rojo o rosadas y aún casi incoloras con centro rosado. Cuando crecen tipos aerógenos desarrollan colonias mucoides características, largas, blancas o crema opacas. En ciertas condiciones algunos tipos de Salmonella y Proteus forman colonias con centro negro.

En agar S. S. pueden usarse inóculos grandes, debido a su gran selectividad, debiendo ser distribuidos por toda la superficie del medio. Si incuban los platos por 24 horas y a 37°C, luego se toman por lo menos de 3 a 4 tipos de cada una de las colonias sospechosas, se toman de cada plato para la identificación. Este medio inhibe el crecimiento de microorganismos contaminantes pero no los destruye. Para transferencias se tomará solamente el centro de la colonia. Las colonias sospechosas se trasladan a tubos con medios diferenciales apropiados tales como: Kligler Iron agar, Triple Sugar Iron agar, para determinar el grupo al cual pertenece. El T.S.I. se emplea como un medio simple de separar Salmonella de Shigella, además como Salmonella no puede producir Indol del Triptone se puede diferenciar aún más.

Como en el agar Mc Conkey crecen aún los más fastidiosos patógenos intestinales gram-negativos y el agar S.S. es un medio selectivo particularmente para aislamiento de Salmonella y Shigella, se recomienda que se usen al mismo tiempo. (5).

Agar E. M. B.

Peptona.....	10 g.
Lactosa.....	5 g.
Sacarosa.....	5 g.
Fosfato Dipotásico.....	2 g.
Agar.....	13.5 g.
Eosina.....	0.4 g.
Azul de Metileno.....	0.065 g.

Es un medio diferencial mediano empleado para determinación y aislamiento de bacterias entéricas patogénicas gram-negativas.

Las colonias de coli-aerógenes se presentan negras con centros oscuros mostrando una decoloración perisférica transparente, en cambio las de tifoidea y otras de organismos no fermentan la lactosa o sacarina y quedan incoloras.

El agar E.M.B. es recomendado para la detección de los más fastidiosos organismos de Salmonella y Shigella. Se recomienda usar en conjunto con agar Mc Conkey y agar S. S.

Agar T. S. I.

Estracto de Carne.....	3 g.
Estracto de Levadura.....	3 g.
Peptona.....	15 g.
Protensa Peptona.....	5 g.
Lactosa.....	10 g.
Sacarosa.....	10 g.
Dextrosa.....	1 g.
Sulfato Ferroso.....	0.2 g.
Cloruro de Sodio.....	5 g.
Agar.....	12 g.
Tiosulfato de Sodio.....	0.3 g.
Rojo de Fenol.....	0.024 g.

Para la diferenciación de Enterobacterias y organismos similares, el primer paso es inocular en pendiente del agar Triple Azúcar Hierro.

El inóculo se toma generalmente de colonias del plato original, aunque puede ser usado cualquier cultivo puro. Para inocular el agar T.S.I. con una aguja recta de inocular, se pesca la colonia, luego se hiere la pendiente y se raya la superficie, incubándose luego por 24 horas a 37°C.

El agar T. S. I. contiene glucosa al .1%, sacarosa al 1% y para indicar la fermentación de éstos azúcares contiene rojo de fenol. Posee también ferrosulfato de amonio para detectar la producción de ácido sulfídrico.

A continuación se indican los cambios del medio cuando se inocula en el fondo y la pendiente, al fermentar las tres azúcares y la producción de ácido sulfídrico.

- 1) El medio no inoculado tiene una coloración de anaranjado a rojo.
- 2) Si la lactosa es fermentada, el medio muestra un color amarillo (ácido) en el fondo de la pendiente.
- 3) Si es fermentada la sacarosa, muestra un color amarillo (ácido) en el fondo y la pendiente.
- 4) Si es glucosa la fermentada da reacción ácida (color amarillo) solamente en el fondo y la superficie es alcalina (roja) más pronunciada que el medio no onoculado.
- 5) En caso de que no se fermente ningún azúcar, la superficie de la pendiente es alcalina, igual a la anterior y en el fondo no muestra ningún cambio de color y como es menos alcalino que la pendiente, pudiera interpretarse mal, creyendo que dá una reacción ácida.

- 6) Si se fermentan los azúcares hay producción de gas y se forman burbujas de aire en el fondo de la pendiente.
- 7) Cuando se produce ácido sulfídrico el fondo se ennegrece inmediatamente debajo de la superficie del agar. (19).

Medio de Motilidad

Triptosa.....	10	g.
Cloruro de Sodio.....	5	g.
Agar.....	5	g.

Para la prueba de motilidad de las bacterias se emplea un medio semi-sólido.

La inoculación se hace en el medio estéril, perforándolo en el centro e inoculándolo a la temperatura que requiera el organismo estudiado, observándolo a las 8, 24 y 48 horas. Macroscópicamente se puede determinar la motilidad al observar el crecimiento de una zona difusa a través de toda la línea de inoculación.

Según el tipo de bacterias móviles algunas muestran un crecimiento difuso a través de todo el medio, mientras que otras muestran el crecimiento solamente de uno o dos puntos, observándose sobre crecimiento en forma de nódulos en todo lo largo de la herida.

Para la prueba de motilidad también es recomendado el medio SIM. En este medio se pueden observar también la producción de Indol y ácido sulfídrico. (5).

Agar Citrato de Simmons

Sulfato de Magnesio	0.2	g.
Fosfato Monoamónico.....	1	g.
Fosfato Dipotásico.....	1	g.
Citrato de Sodio.....	2	g.
Cloruro de Sodio.....	5	g.
Agar.....	15	g.
Azul de Bromotimol.....	8	g.

En base a la utilización del Citrato el agar Citrato de Simmons tiene la capacidad de diferenciar los grupos aerógenos del coli-fecal. Para la diferenciación de ciertos géneros de Salmonella, puede usarse este mismo medio. Es preparado siguiendo la fórmula de Simmons.

El coli-fecal no puede desarrollarse en un medio que contenga como fuente de nitrógeno sales inorgánicas de amonio y como fuente única de carbono, el Citrato. En cambio las cepas de aerógenos crecen sin restricción en éste medio tal como fue descrito por Koser.

La preparación del medio se hace con pendiente de agar y la inoculación por perforación y rayado incubándolo a 37°C. Puede usarse el medio en platos de Petrie.

Cuando existe crecimiento en el medio, se observa la formación de colonias y un cambio de coloración en el medio por el indicador, debido a la producción de ácido o álcali.

En agar Citrato crecen exuberantes las cepas de aerógenos, con producción de álcali y por lo tanto un cambio de color del verde inicial a azul profundo en 24 a 48 horas.

Cuando se siembra coli-fecal en este medio, o crece tampoco que no cambia aparentemente la reacción o no crece del todo.

Agar Urea Base

Peptona.....	1	g.
Dextrosa.....	1	g.
Cloruro de Sodio.....	5	g.
Fosfato Monopotásico.....	2	g.
Urea.....	20	g.
Rojo de Fenol.....	0.012	g.

Es un medio diferencial para la detección de Proteus, así como también para gran parte de los grupos Paracolon intermedio, Paracolon aerobac-

ter. Cuando se están identificando patógenos intestinales, este medio ayuda a la eliminación de éstos grupos.

La Urea es atacada rápidamente en el término de 2 a 4 horas de incubación por el *Proteus* mostrando un cambio de color debido a la producción de amoníaco que penetra hasta muy dentro del medio. Cuando transcurren 24 horas de incubación la reacción es alcalina en todo el fondo del tubo. En cambio el Paracolon-Ureasa positivo para cambiar la reacción en todo el fondo del tubo necesita de 3 a 5 días y a las 6 horas muestra apenas una leve penetración de la reacción alcalina en el fondo del medio con lo cual puede observarse que hidroliza la Urea más lentamente.

Paracolon-*Escherichia* es Ureasa negativo, en cambio la mayoría de los Paracolon-intermedio y Paracolon-*Aerobacter* son positivos, *Salmonella* y *Shigella* fallan en producir siquiera trazas de alcalinidad en el medio,

Otros grupos que pueden dar reacción positiva en éste medio son: Algunos Cocos gram-negativos y Difteroides, lo mismo que ciertos pigmentos producidos por miembros del grupo *Pyocianico*. (5).

Caldo Púrpura Base

Estracto de Carne.....	1	g.
Proteosa Peptona No.3.....	10	g.
Cloruro de Sodio.....	5	g.
Púrpura de Bromocresol.....	0.015	g.

Se emplea como base en la preparación de caldos de carbohidratos para estudios de fermentación, por medio de los cuales se identifican microorganismos, especialmente miembros del grupo entérico.

Este caldo contiene como indicador el bromo cresol púrpura y es ajustado a una reacción final de Ph 6.8 para aquellos bacteriólogos que desean los

caldos de carbohidratos diferenciales con una reacción un poco ácida. Asimismo contiene un indicador sensitivo de sulfaneptaleina que registra minuciosamente los cambios en la reacción. Además está libre de carbohidratos fermentables que pudieran dar resultados erróneos.

La capacidad para atacar un determinado carbohidrato es una característica definida de las especies bacteriales y, si se controlan las condiciones, permanece constante para los organismos a través de generaciones, cultivaciones y medios. Por esa razón se emplean en los medios de cultivo los carbohidratos, tanto para proporcionar una fuente de energía como para diferenciar los géneros e identificar las especies. (5).

Medio Indol

Buscando una peptona particularmente usable para que las bacterias elaboren Indol, fue desarrollado Bacto Triptone. Es de gran valor para la clasificación y eliminación de las bacterias observar la presencia de Indol como sub-producto en el metabolismo bacterial.

Solamente cuando el medio contiene Triptofano es posible la producción de Indol, y el Bacto Triptone es muy rico en esta forma de nitrógeno, está capacitado para usarse en dicha prueba. Después de una incubación del cultivo por 15 a 16 horas, en una solución de 1% de Bacto Triptone es posible encontrar pruebas fuertes de Indol.

La reacción será más pronunciada cuando el cultivo es incubado por 4 a 5 días. (5).

Prueba de Indol.

Se efectúa después de una incubación de 18 a 48 horas ya sea por la técnica de Kovac's o según la de Ehrlich-Bohme, usando el reactivo para dimetil-aminobenzaldeido.

La prueba se lleva a efecto agregándole al medio, después de incubado por 18 a 48 horas, 0.5 ml. de una solución de para-dimetil-aminobenzaldeido, dejando transcurrir 5 minutos antes de leer la prueba.

Positivo	-	Color rojo.
Negativo	-	Color amarillo. (2).

Para llevar a efecto este trabajo se tomaron 37 muestras de leche cruda a igual número de productores del Departamento de Managua. Las muestras se tomaron en las Pasteurizadoras en el momento en que era pesada toda la leche cruda del productor.

Las muestras de leche cruda sometidas a la prueba primeramente se sembraron en medios para aislamiento primario, de los cuales los que usé fueron: agar Mc Conkey, agar Salmonella Shigella y agar Eosine Azul de Metileno.

Como cada muestra contenía 3 cc., se sembró 1 cc. en cada uno de los medios antes dichos, procediendo de la forma siguiente:

Se tomó 1 cc. de la muestra de leche cruda poniéndolo en un plato de Petrie estéril y luego se le vierten 1 cc. de medio a una temperatura de 45°C, luego se agita el plato para que se mezclen bien el medio y la leche y se identifica el plato según el número de la muestra.

Después de sembrada cada muestra de leche cruda en los tres medios para aislamiento primario se incubaron a 37°C por 24 horas, al término de los cuales las colonias características del grupo entérico aparecen de la siguiente manera:

Colonias rojas. E. coli ó A. aerógenes.

Mc Conkey:

Colonias incoloras y transparentes. Salmonella,
Shigella ó Proteus.

Colonias rojas. E. coli ó A. aerógenes (blancas o
crema opacas).

S. S.:

Colonias opacas, transparentes. Salmonella ó
Shigella.

Colonias incoloras. Salmonella, Shigella ó
Proteus.

E.M.B.:

Colonias negras con aspecto metálico. E. coli
ó aerógenes.

De los medios de aislamiento primario, las colonias pertenecientes al grupo entérico se pasaron a los medios diferenciales primarios y secundarios los cuales se incubaron por 24 horas a 37°C.

Se tomaron los resultados y se compararon con las reacciones bioquímicas características de los gérmenes entéricos.

El método seguido para la identificación de las bacterias entéricas existentes en las leches crudas que se sometieron a la prueba, fue por comparación de los resultados obtenidos con las reacciones bioquímicas características de las bacterias entéricas.

Las colonias que resultaron positivas para A. aerógenes se les sometió

a una segunda prueba para determinar si la contaminación de este microorganismo provenía del tracto intestinal o del medio ambiente (suelo, agua, aire).

Cada muestra que salió positiva para A. aerógenes se sembró en dos tubos conteniendo agar Citrato. Como se sabe este medio cuando es positivo para A. aerógenes toma una coloración azul, incubándose uno de ellos a 37°C por 24 horas y el otro a 2°C por 24 horas. El resultado se interpreta de la manera siguiente: Los A. aerógenes provenientes del aire crecerán mejor a 2°C dando una mayor coloración azul que el incubado a 37°C. En cambio los que provienen del tracto intestinal crecerán mejor a 37°C dando mayor coloración azul que los incubados a 2°C.

Esta es una forma cualitativa de hacer la prueba aunque se puede hacer cuantitativamente por contaje del número de colonias que crecen en un medio nutritivo incubando la muestra a las dos temperaturas antes dichas. (20).

Como en el Centro Experimental de La Calera, División de Ganadería, se efectúa la prueba de reducción de Azul de Metileno a cada productor una vez por semana, se utilizaron esos datos para compararlos con los resultados obtenidos e investigar si existe alguna relación entre la contaminación por gérmenes entéricos encontrada y las horas de reducción del Azul de Metileno.
Prueba de Azul de Metileno.

Esta prueba está basada en la acción decolorante de las bacterias sobre un tinte. Da una indicación satisfactoria tanto del número de bacterias como de su actividad, y por tanto de la calidad de conservación de la leche.(16).

Procedimiento:

- 1) Se coloca 1 cc. de Azul de Metileno en cada tubo estéril con tapón de hule.

- 2) Se añaden 1.0 cc. de la leche a probarse, con una pipeta estéril. Se identifican los tubos.
- 3) Luego se colocan los tubos en una gradilla y se colocan en baño maría a 4°C, procurando que se alcance esa temperatura en un período de 5 minutos. Para esto se coloca un termómetro en un tubo piloto.
- 4) Cuando la temperatura llega a 4°C se invierten los tubos para asegurar una mezcla uniforme del colorante con la leche, lo mismo que la grasa. Luego se incuban en baño maría a 37°C más o menos 5°C y se anota el tiempo en que comienza la incubación.
- 5) Observar los tubos a intervalos regulares de 1,2,3,4,5 y 6 horas o más y se van anotando y eliminando los tubos que han sido reducidos desde la observación anterior. (11).
- 6) Para esto se compararon los resultados obtenidos con el promedio de horas de reducción del Azul de Metileno obtenido durante el lapso de tiempo en que se efectuaron los trabajos de laboratorio y con el número de horas de reducción del Azul de Metileno obtenidas en las mismas semana en que se le efectuó la prueba a las distintas muestras.

Como a los productores de leche solamente se les tomó una muestra, ya que se buscaba la Prevalencia de las bacterias Entéricas, no se obtuvieron datos suficientes para efectuar un análisis estadístico y comprobar si existía alguna relación entre las bacterias entéricas encontradas y la prueba de reducción del Azul de Metileno.

Lo que se hizo fue una comparación objetiva y ver si aparentemente había alguna relación.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en éste trabajo provienen del examen bacteriológico de 37 muestras de leche cruda tomadas a productores de leche del Departamento de Managua, para buscar en ellas la Prevalencia de Bacterias Entéricas.

Como es sabido, estas bacterias pueden contaminar la leche cruda en cualquier fase de la producción y manejo causando estragos tanto al productor como al consumidor, tal como se ha podido apreciar en páginas anteriores.

Los organismos entéricos pueden ser aislados de cualquier muestra contaminada por métodos bacteriológicos e identificarlos por sus reacciones serológicas o bioquímicas.

En el presente trabajo se utilizaron las reacciones bioquímicas para la identificación de los organismos pertenecientes al grupo entérico. La identificación se llevó hasta el género.

Cuando los microorganismos se encuentran en determinados medios de cultivo, desarrollan reacciones bioquímicas características, según las cuales pueden identificarse. En el cuadro No.1 podrán observarse las reacciones bioquímicas características de los organismos entéricos.

A partir de éstas reacciones, fue posible identificar los géneros de los organismos entéricos que se presentaron al desarrollar el presente trabajo.

Del total de muestras examinadas se aislaron cinco géneros de Enterobacterias, habiéndose encontrado más frecuentemente unos que otros, según el siguiente orden:

Aerobacter	en 23	muestras
Escherichia	en 4	muestras
Salmonella	en 1	muestra
Shigella	en 1	muestra
Proteus	en 1	muestra

Habiendo casos que en una misma muestra se presentaron dos géneros.

En el cuadro No.2 podrán observarse: el nombre de la finca, el nombre del dueño y la localización de las fincas del Departamento de Managua sometidas a la prueba, las que resultaron positivas para uno o más géneros de ~~enté-~~ **robéricos** y las Enterobacterias aisladas.

Como podrá observarse el Aerobacter fue el más frecuentemente encontrado, pero como éste se puede encontrar tanto en el tracto intestinal como en agua, suelo, etc., las muestras que dieron positivo para Aerobacter se sometieron a otra prueba para determinar si el Aerobacter encontrado provenía del tracto intestinal o del suelo, agua, etc.

Los resultados de esta prueba pueden observarse en el cuadro No.3, en el cual de 23 muestras positivas para Aerobacter, se demostró que tres provenían de contaminación por agua, suelo o aire, y las 20 restantes del tracto intestinal o sea de contaminación fecal.

El cuadro No.4 presenta el porcentaje de aislamiento de Enterobacterias en las 37 muestras estudiadas, indicándonos que el Escherichia que se aisló en cuatro muestras presenta un porcentaje de aislamiento de 10.8%, el Aerobacter que se aisló en 23 muestras, el porcentaje de aislamiento es de 62.1%.

Tanto Salmonella como Shigella y Proteus se aislaron en 1 muestra y presentan un porcentaje de aislamiento del 2.7%.

Al comparar los resultados obtenidos con el promedio de horas de reducción de Azul de Metileno que presentó cada muestra de las sometidas a examen no se encontró aparentemente ninguna relación, ya que la mayoría de las muestras en las cuales se aislaron Enterobacterias, el promedio de las horas de reducción fue bajo o sea baja contaminación bacteriana y en las que presentaban el promedio de horas de reducción alto, no se encontraron Enterobacterias. Además se comparó con las horas de reducción del Azul de Metileno que presentaron las muestras en la misma semana en que se efectuó el examen bacteriológico, dando los mismos resultados que con el promedio, lo cual puede observarse en el cuadro No.5.

CUADRO No. 2

ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE LECHE CRUDAS

Finca	Dueño	Lugar	Enterobacterias Aisladas				
			Escherichia	Aerobacter	Salmonella	Shigella	Pro
Las Delicias	Carlos Báez M.	K. 9½ C. Norte	+	-	-	-	-
Las Delicias	Tomás Martínez	K. 9½ C. Norte	-	+	-	-	-
Panamá	Carlos Molina	K. 18 C. Norte	-	+	+	-	-
Las Mercedes	Sucre. de A. Sotoza	Fte. Aeropuerto to Las Merc.	-	-	-	-	-
El Paraíso	Adela de Stathgen	K. 16 C. Norte	+	-	-	-	-
Los Puentes	Humberto Vigil	K. 9 C. Norte	-	+	-	+	-
Santa Ana	Francisco Solórzano	K. 19 C. Norte	-	+	-	-	-
Santa Eugenia	Sebas Arnold	Las Maderas	+	-	-	-	-
Piedras Azules	Angel Gutiérrez	Mateare K. 5 C. Nagaroto	-	+	-	-	-
San Rafael		Mateare K. 2 C. Nagaroto	-	+	-	-	-

CONT. CUADRO No. 2

ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE LECHE CRUDAS

Finca	Dueño	Lugar	Enterobacterias Aisladas				
			Escherichia	Aerobacter	Salmonella	Shigella	Prot
San Cristóbal	María de Knopffler	Los Mercedes K.14 C. Norte	-	+	-	-	-
San Ildefonso	Willia Báez Díaz	Pipitana K.29 C. Norte	-	+	-	-	-
El Chajarral	Angélica v. de Saborio	Los Brasiles	-	-	-	-	-
El Chajarral	Pedro J. Saborio	Los Brasiles	-	-	-	-	-
La Chinita	Alfredo Enriquez	K.28 C. León	-	+	-	-	-
La Ilusión	Egberto Barón	Caujachillo 9 K. ab. del Ran- cho Grande	-	+	-	-	-
El Ojoch	Solidad L. Argüello	K.16 C. Norte	-	+	-	-	-
Santa María	Enrique Heret	San Andrés de la Palanca	-	+	-	-	-
El Rosario	Alfonso Sánchez	San Andrés de la Palanca	-	+	-	-	-
El Delirio	Santos Morales	San Andrés de	-	+	-	-	-

CONT. CUADRO No. 2

ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE LECHE CRUDAS

Finca	Dueño	Lugar	Enterobacterias Aisladas				
			Escherichia	Acrobacter	Salmonella	Shigella	Prote
La Campaña	Abraham Gorn	Ti. itaja K.28 C. Norte	-	-	-	-	-
Argentina	Mercedes de Román y Rojas	K.5 C. Granada	-	+	-	-	-
San Juan	Seras. Soloza	Ti. itaja K.34 C. Norte	-	-	-	-	-
Argentina	Natila E. Woolock	K.15 C. Norte	-	+	-	-	-
El	Solórzano Martínez Co. Ltda.	Los Brasiles	-	+	-	-	-
Rancho Grande	Orlando María	Ti. itaja K.14 C. Norte	-	+	-	-	-
El Zotal	Rafael Cabrera	Ti. itaja K. 17½ C. Norte	-	+	-	-	-
El Rolco	Padro Cabrera	K.11 C. Norte	-	+	-	-	-
Don Camilo	Mercedes de Martínez	K. 18 C. León	-	-	-	-	-
Santa Anita	Seras. A. Soloza	K. 12 C. Sur	-	-	-	-	-

CONT. CUADRO No. 2

ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE LECHE CRUDA

Finca	Dueño	Lugar	Enterobacterias Aisladas				
			Escherichia	Aerobacter	Salmonella	Shigella	Proteus
Esperanza	Miriam Mendoza	K.18 C. Brasileño	-	+	-	-	-
Corpus	Humberto Carrión	K.72 C. Brasileño	-	+	-	-	-
Esperanza	Fernando Mendoza	K.18 C. Brasileño	-	-	-	-	-
Rancho Motastoye	Maria A. Estrada	K.17 C. León y la Rancho Grande	-	+	-	-	-
El Escobillal	Eduardo Montealegre	Mateare	+	-	-	-	-
La Trinidad	Niels Gron	C. San Andrés de la Palanca	-	-	-	-	-
Los Robles	Teresa de Hurtado	K.17 C. Norte	-	+	-	-	-

CUADRO No. 3

ORIGEN DEL AEROBACTER ENCONTRADO EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA DEL
DEPARTAMENTO DE MANAGUA

Nombre de la Finca	Nombre del Dueño	Del Tracto Intestinal	Del Medio Ambiente Suelo, Agua, Etc.
Las Delicitas	Tomás Martínez	+	-
Santa Ana	Francisco Solórzano	+	-
Los Puentes	Humberto Vigil	-	+
La Chinampa	Alfredo Enriquez	+	-
El Escobillal	Eduardo Montealegre	+	-
Los Robles	Teresa de Hurtado	+	-
Piedras Azules	Angel Gutiérrez	+	-
San Rafael	Orlando Román	+	-
San Cristóbal	María de Knoegfler	+	-
San Ildefonso	William Béez Díaz	-	+
La Ilusión	Egberto Bernúdez	+	-
El Ojocho	Soledad de Argüello	+	-
Santa María	Enrique Neret	+	-
El Delirio	Santos Morales	+	-

CONT. CUADRO No. 3

ORIGEN DEL AEROBACTER ENCONTRADO EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA DEL
DEPARTAMENTO DE MANAGUA

Nombre de la Finca	Nombre del Dueño	Del Tracto Intestinal	Del Medio Ambiente Suelo, Agua, Etc.
Argentina	Matilde E. Wheelock	+	-
Argentina	Mercedes de Román y Rojas	-	+
El Rancho	Solórzano Martínez, Cía. Ltda.	+	-
Rancho Grande	Orlando María	+	-
El Zapotal	Rafael Cabrera	+	-
El Rodeo	Pedro Cabrera	+	-
Esperanza	Niriani Mendoza	+	-
Corpus	Humberto Carrión	+	-
Rancho Notastepe	María A. Estrada	+	-

CUADRO No. 4

PORCENTAJE DE AISLAMIENTOS DE ENTEROBACTERIAS DE 37 MUESTRAS
DE LECHE CRUDAS DEL DEPTO. DE MANAGUA

ENTEROBACTERIAS	No. de AISLAMIENTOS	PORCENTAJE
Escherichia	4	10.8
Acrobacter	23	62.1
Salmonella	1	2.7
Shigella	1	2.7
Proteus	1	2.7

CUADRO No. 5

COMPARACION ENTRE HORAS DE REDUCCION DE AZUL DE METILENO Y ENTEROBACTERIAS ENCONTRADAS

Finca	Dueño	Enterobacterias encontradas	Promedio de Hrs. de Reducción	Horas de Reducción (La misma semana)
Las Delicias	Carlos Baáz M.	Escherichia	5.46	6
Las Delicias	Tomás Martínez	Aerobacter	5.66	6
Panamá	Carlos Molina	Aerobacter Salmonella	5.26	5
Las Mercedes	Sers. A. Somoza	-	5.73	6
El Paraíso	Adela de Stathagen	Escherichia	5.06	3
Los Puentes	Humberto Vigil	Aerobacter Shigella	5.60	6
Los Robles	Teresa de Hurtado	Aerobacter	5.92	6
Santa Ana	Francisco Solórzano	Aerobacter	5.26	5
La Trinidad	Niels Gron	-	4.93	5
El Chaparral	Angélica v. de Saborío	-	4.46	4
El Chaparral	Pedro J. Saborío	-	4.53	5
La Chinampa	Alfredo Enriquez	Aerobacter	3.69	6
Rancho Motasene	María A. Estrada	Aerobacter	4.60	2
La Ilusión	Egberto Bernúdez	Aerobacter	5.20	2
El Ojocho	Soledad de Argüello	Aerobacter	5.66	5

CONT. CUADRO No. 5

COMPARACION ENTRE HORAS DE REDUCCION DE AZUL DE METILENO Y ENTEROBACTERIAS
ENCONTRADAS

Finca	Dueño	Enterobacterias encontradas	Promedio de Horas de Reducción Hrs. de Reducción	(La misma semana)
La Campana	Abraham Gorn	-	4.26	4
Argentina	Matilde E. Wheelock	Aerobacter	5.88	6
Argentina	Mercedes de Román y Reyes	Aerobacter	5.20	5
San Ildefonso	William Báez Díaz	Aerobacter	6	6
El Zapotal	Rafael Cabrera	Aerobacter	5.93	6
Rancho Grande	Orlando Marín	Aerobacter	4.53	4
Sta. Eugenia	Sabas Arnold	Escherichia	4.73	4
San Cristóbal	Ma. de Knoepfler	Aerobacter	5.79	6
	Solórzano Martínez y Cía. Ltda.	Aerobacter	6	6
Piedras Azules	Angel Gutiérrez	Aerobacter	3.53	3
San Rafael	Orlando Román	Aerobacter	3.26	3
El Rodeo	Pedro Cabrera	Aerobacter	4.13	4
Santa María	Enrique Norset	Aerobacter	5.40	6
El Rosario	Alfonso Sánchez	-	4.46	5
El Delirio	Santos Morales	Aerobacter	3.60	3

CONT. CUADRO No. 5

COMPARACION ENTRE HORAS DE REDUCCION DE AZUL DE METILENO Y ENTEROBACTERIAS ENCONTRADAS

Finca	Dueño	Enterobacterias encontradas	Promedio de Hrs. de Reducción	Horas de Reducción (La misma semana)
Santa Anita	Suc. de A. Somoza	-	4.37	4
Don Casilo	Mercedes de Martínez	-	5.20	6
Esperanza	Mirian Mendoza	-	5.73	6
El Escobillal	Eduardo Montealegre	Escherichia	5.11	
Corpus	Humberto Carrión	Aerobacter	1.80	5
Esperanza	Fernando Mendoza	Aerobacter	5.53	6
San Juan	Suc. Somoza	-	4.73	6

DISCUSIÓN

Siendo la leche un alimento básico en la dieta de los habitantes del Departamento de Managua que en su mayoría la consumen como leche pasteurizada, debido al gran número de Pasteurizadoras que se encuentran en el Departamento, pero que también existen lugares donde se consume cruda o se elaboran derivados lácteos a partir de leche cruda, se pone de manifiesto la importancia que pueden tener los resultados obtenidos en el presente trabajo tanto para el productor, como para las plantas pasteurizadoras y aún para los consumidores.

Los grandes y medianos productores son los que tienen las facilidades, aún cuando su finca se encuentre muy alejada, de vender su leche a las plantas Pasteurizadoras, y los pequeños productores como no tienen esas facilidades algunos se la venden al productor grande y otros la venden como leche cruda, crema, quesos, etc.

En el total de muestras examinadas se encontraron cinco géneros de Enterobacterias: Escherichia, Aerobacter, Salmonella, Shigella y Proteus.

El género Shigella es muy raro encontrarlo fuera del canal intestinal y por eso es frecuente encontrarlo en las heces, en cambio Escherichia y Salmonella aunque son habitantes normales del tracto intestinal, también se les puede encontrar invadiendo otros tejidos.

El género Proteus tiene un mayor campo ambiental ya que se le puede encontrar en la sustancia animal y vegetal en putrefacción, así como en la tierra y en las heces.

El género *Aerobacter* se puede encontrar tanto en el tracto intestinal como en el suelo, agua, polvo, etc.

De lo expuesto anteriormente se puede deducir que por encontrarse normalmente en el intestino las bacterias entéricas aisladas y por lo tanto en las heces, la contaminación de la leche cruda puede haber ocurrido cuando partículas o salpicaduras de excremento por diversas causas cayeron en ella, y esto ocurre frecuentemente en el momento del ordeño, cuando no se guardan debidamente las medidas higiénicas necesarias.

Hay que tomar en cuenta que la contaminación puede haber ocurrido por otras causas, tales como en el caso de que uno o varios ordeñadores estuvieron padeciendo enfermedades del tipo de la tifoidea, paratifoidea, trastornos gastrointestinales, etc., causadas por gérmenes entéricos y que por falta de higiene llevaron los microbios en las manos y ropas contaminando de este modo la leche cruda ya sea en el momento del ordeño (al tocar las ubres o la leche con las manos) o en cualquiera de las fases de enfriar, colar y envasar.

En las fincas cuando las heces tanto de animales como de humanos portadores llegan a tal grado que contaminan el polvo, éste puede contaminar la leche cuando se encuentra expuesta.

Pero el *Aerobacter* puede contaminar la leche sin provenir del tracto intestinal ya que se puede encontrar también en el agua, suelo o aire y como este género se presentó en 23 de las 37 muestras examinadas, se les sometió a una nueva prueba consistente en determinar si provenían del tracto intestinal o del medio ambiente. Dando por resultado que 21 de las muestras provenían del tracto intestinal y las tres restantes del suelo, agua o aire.

El porcentaje de enterobacterias encontradas fue alto ya que dió un 81.08%, lo que indica una alta contaminación fecal.

Resumiendo podemos decir que las leches crudas provenientes de productores del Departamento de Managua sometidas a examen, nos indican una alta contaminación por bacterias entéricas, las cuales siendo habitantes normales del tracto intestinal y estando por lo tanto presentes en las heces, nos hacen pensar que en la mayoría de las fincas estudiadas no se guardan las debidas medidas higiénicas, permitiendo que partículas de excrementos lleguen a la leche cruda contaminándola.

Al comparar los resultados obtenidos de las muestras examinadas con la prueba de reducción de Azul de Metileno a que fueron sometidas las mismas muestras durante el lapso de tiempo en que se llevó a efecto el presente trabajo (Promedio de horas de reducción del Azul de Metileno), se observó que en general no existe relación aparente entre las bacterias entéricas aisladas y el promedio del número de horas de reducción.

Asimismo se comparó con los resultados obtenidos el número de horas de reducción que presentaron las muestras en la misma semana en que se llevó a efecto la prueba, no habiendo encontrado en general ninguna relación.

El hecho de que no exista relación, puede explicarse sabiendo que el número de horas de reducción depende tanto de la cantidad de bacterias presentes en la leche cruda, como de su actividad, pero perfectamente puede suceder que una muestra altamente contaminada y por lo tanto con pocas horas de reducción, no contenga bacterias entéricas, lo mismo que una muestra con poca contaminación o sea con muchas horas de reducción, entre las

bacterias que contenga pueden estar presentes las entéricas.

Pero es de esperarse que en una leche altamente contaminada existen mayores oportunidades de encontrar las bacterias entéricas y es por ese motivo que se llevó a efecto ésta investigación.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los datos obtenidos, después de llevar a efecto la presente investigación se pueden formular las siguientes conclusiones:

- 1) De las bacterias entéricas, cuya prevalencia se deseaba determinar, se identificaron cinco géneros.
- 2) Los géneros que con mayor frecuencia se presentaron fueron Aerobacter y Escherichia, presentándose los géneros Salmonella, Shigella y Proteus en igual número de veces.
- 3) Las muestras de leche cruda examinadas estaban contaminadas con organismos entéricos en un 81.28%.
- 4) Los géneros encontrados como contaminantes de la leche cruda, se presentaron en los porcentajes siguientes: Aerobacter 62.1%; Escherichia 16.8%; Salmonella 2.7%; Shigella 2.7%; Proteus 2.7%.
- 5) En el presente trabajo no se encontró en general ninguna relación aparente entre la contaminación de gérmenes entéricos con las pruebas de reducción de Azul de Metileno efectuadas en La Calera.

RESUMEN

Con el objeto de investigar la Prevalencia de Bacterias Entéricas en leches crudas del Departamento de Managua se llevó a efecto el presente trabajo entre Junio y Octubre de 1965.

La investigación se llevó a efecto con 37 productores de leche del Departamento de Managua, los cuales la venden a las distintas Pasteurizadoras del Departamento.

Las muestras fueron tomadas en el momento en que los productores entregan la leche a las Pasteurizadoras, sometiéndolas luego a las pruebas bacteriológicas necesarias para el aislamiento é identificación de las bacterias entéricas presentes.

Se encontraron cinco géneros de Enterobacterias, siendo los más frecuentemente encontrados: Aerobacter en un 62.1%, Escherichia 10.8%, y los géneros Salmonella, Shigella y Proteus en un 2.7%.

Se encontró que las muestras examinadas estaban contaminadas con gérmenes entéricos en un 81.08%.

No se encontró ninguna relación aparente entre la contaminación de los gérmenes entéricos y la prueba de reducción de Azul de Metileno.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABELE, C.A. El Control de los Organismos Coliformes. Industrias Lacteas. Texas. Tunell Publications INC., 1965. p. 20.
- 2.- BALTIMORE BIOLOGICAL LABORATORY. Productos para Laboratorios de Microbiología. Primera edición en Español. Baltimore. 1959. p.64.
- 3.- CLARKS, LAURENCE. Laboratorio de Microbiología. Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería. 1964. Mimeografiado. p. 5.
- 4.- DAIRY TECHNOLOGY. Manual de Laboratorio. A.1.21. p.28.
- 5.- DIFCO LABORATORIES INCORPORATED. Difco Manual of Dehydrated culture media and Reagents. 9a.ed. Michigan. 1953. pp.(131-138)-160-161-171-182-184-189-260.
- 6.- EGUARAS, J. L. Curso de Industrias Lacteas. Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería. 1965. Mimeografiado. p.1.
- 7.- FOSTER, EDWIN M., NELSON, F. EUGENE., et al. Microbiología de la leche. 1era.ed. en Español. México, Centro Regional de Ayuda Técnica (A.I.D.). 1965. pp.218-221.
- 8.- FROBISHER, M., SOMERMAYER, L. y GOODALE, R. Microbiología y Patología. 5ta. ed. en Español. México. Editorial Interamericana, S.A., 1962. p. 288.
- 9.- HAGAN, WILLIAM A. y BRUNER, DORSEY E. Las enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 2da.ed. México. La Prensa Médica Mexicana. 1952. pp. 164-173.
- 10.- KELSER, RAYMOND y SCHOENING, HARRY. Manual de Bacteriología Veterinaria. Traducción de la 4a.ed. Inglesa. Madrid. Editorial Espasa-Calpe, S.A. 1946. p.267.
- 11.- MILK INDUSTRY FOUNDATION. Laboratorio Manual. Third ed. Washington D.C. 1959. p. 176.
- 12.- MURRAY, J.G. The incidence of pathogenic serotypes of Escherichia coli, in Pasteurized Milk and Washed Bottles. Journal of applied Bacteriology. Northern Ireland. Ministry of Agriculture for Northern Ireland and The Queen's University of Belfast. 1960. pp. 191-194.
- 13.- MURRAY, J.G. Of pathogenic serotypes of Escherichia in Milk for Human Consumption. International Dairy Congress. Northern Ireland. Ministry of Agriculture for Northern Ireland and The Queen's University of Belfast. 1962. p. 372-376.

- 14.- ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Higiene de la Leche. Primer Informe. Informe técnico No.124. Roma. 1957. pp.7-9-11-12-18-20-21.
- 15.- ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Higiene de la Leche. Segundo Informe. Informe técnico No.197. Roma. 1960.p.50.
- 16.- ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Principios de la Legislación y el Control Lechero. Cuaderno de Fomento **Agroneoario** No. 59. Roma. 1956. p.64.
- 17.- ROBBINS, STANLEY L. Tratado de Patología con Aplicación Clínica. 2da. ed. México. Editorial Interamericana,S.A. 1963. p.280.
- 18.- ROSELL, JOSE MARIA y SANT S, IGNACIO D.S. Métodos Analíticos de Laboratorio Lactológico. Tomo II. Barcelona. Editorial Labor S.A. 1952. pp. 1-215-216-444-445-446.
- 19.- SCHAUB, ISABELLE GILBERT y FOLEY, M. KATHLEEN. Diagnostic Bacteriology. 4a. ed. Saint Louis. The C.V. Mosby Company. 1952. pp. 156-158.
- 20.- SMITH, DAVID T., CONANT, NORMAN F., et al. Bacteriología de Zinsser. 2a. ed. en Español. México. Editorial Hispanoamericana. 1964. pp. 490-494.
- 21.- WALTER, WILLIAM G. y Mc BEE, RICHARD H. Microbiología general. 2a. ed. México. Compañía Editorial Continental. 1965. p.171.