

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA ZOOTECNIA

Estimación Bacteriana y Aislamiento
de Gérmenes Aerobios en Leche
no Pasteurizada.

T E S I S

Que para obtener el título de:

Médico Veterinario y Zootecnista

p r e s e n t a :

LAURA IMELDA OROZCO SANCHEZ

*A mis queridos padres
como prueba de gratitud*

Con cariño a mis hermanos

*Marcelino J.
José Francisco
M. Berenice
M. Rosario
M. Cristina
M. de la Luz
Bertha L.
J. Antonio
J. Tereza
Martín G.*

A mis compañeros

*Con estimación y agradecimiento al M.V.L.
Ramón Fernández Cevallos*

*Respetuosamente a todos mis
maestros*

y especialmente al

*Dr. Javier Rivera Hernández
por su valiosa ayuda al dirigirme esta tesis*

I n d i c e

<i>Introducción</i>	<i>1</i>
<i>Material y Métodos</i>	<i>4</i>
<i>Resultados</i>	<i>7</i>
<i>Discusión</i>	<i>16</i>
<i>Conclusiones</i>	<i>26</i>
<i>Resumen</i>	<i>27</i>
<i>Bibliografía</i>	<i>28</i>



INTRODUCCION

Considerando que en la ciudad de Guadalajara se consumen diariamente 480,000 litros de leche integrados por:

210,000 litros de leche Pasteurizada.

270,000 litros de leche no Pasteurizada (1) creemos que es de vital importancia conocer cual es la cantidad y la tipificación de bacterias en leches no pasteurizadas.

Tomando en consideración estos datos y que en la cuenca lechera de Guadalajara tenemos unas condiciones higiénicas pobres, tanto en la función de ordeña como en el manejo de la leche, que van a repercutir en la salud humana, ya que mientras la leche ha hecho más que cualquier otro alimento para obtener y mantener la salud, también la leche de mala calidad ha sido responsable de más enfermedades y muertes que todos los demás alimentos juntos. (2) La razón es que por medio de la leche pueden presentarse una mayor variedad de infecciones, ya que éste es un medio de cultivo natural. (3)

En 1857 el Dr. Taylor observó numerosos casos de fiebre tifoidea que tuvieron como fuente común a la leche.

En el año de 1867 el mismo Dr. Taylor observó que la leche era una fuente de infección para la escarlatina.

Después en 1865 algunos Autores Ingleses consideraron que la leche de las cabras era un factor importante en la transmisión de la enfermedad de Brucellosi entre personas. Y en subsiguientes estudios indicaron que las cabras fueron afectadas

fácilmente y el 50% de ellas adquirieron la enfermedad y que el agente causal se eliminaba en leche y orina.

Hedrich reportó botes de leche con el bacilo de la Difteria.

Un excesivo número de varios tipos de bacterias en leche están envueltos en lo que se denomina Disentería de los infantes. Además de que en la leche pueden estar presentes Virus de: Poliomiелitis, Rabia, Fiebre Aftosa, etc. (4)

Al tiempo que es sacada de la ubre de un animal sano, la leche tiene organismos que han entrado en el canal de la teta a través de la abertura de la misma. Ellos son mecánicamente arrojados hacia afuera mediante el proceso de producción. El número presente ha sido reportado entre unos cientos y algunos miles por mililitro. Las cuentas varían entre vacas y entre las cuentas de la misma vaca, son más altas durante los estadios de la producción láctea. Desde que la leche deja la ubre hasta que es embotellada, cualquier cosa con la que entre en contacto contribuirá a más microorganismos.

Pasar por alto las prácticas sanitarias resultará una alta contaminación bacteriana de la leche y se perderá fácilmente. Sin embargo la leche obtenida bajo condiciones higiénicas; con estricta condición de prácticas sanitarias rendirá en leche con bajo contenido bacteriano y buena calidad. (1) Las precauciones que deben ser tomadas para minimizarlas son las siguientes:

LA VACA.—La salud del ganado lechero es de importancia. Gran número de enfermedades del ganado incluyendo infecciones por: Tuberculosis, Brucelosis, Fiebre Q, Estreptococos y Staphilococos pueden ser transmitidas al hombre a través de la leche. Los organismos causantes de la mayoría de las enfermedades, pueden estar presentes en la leche de los animales infectados o pueden entrar por subsecuente contaminación de descargas corporales infectadas.

EL AIRE DEL AREA DE LA ORDEÑA. La acumulación de suciedad o mugre en el área de ordeña añadirá de población microbiana al aire, el cual puede contaminar la leche. Las actividades que crean polvo, no pueden ser efectuadas durante el período de ordeña.

UTENSILIOS DE ORDEÑA U OTROS EQUIPOS.—La fuente más importante de contaminación de la leche es el equipo con que entra en contacto, empezando con la máquina ordeñadora hasta la llenadora de botellas y las botellas de leche dentro de las cuales es finalmente almacenada después de la pasteurización. Si el equipo no es limpiado y efectivamente tratado con una substancia bactericida, la leche que queda de residuo será como un medio para el crecimiento bacteriano. Entre las ordeñas, grandes cuentas de bacterias son añadidas a la leche cuando se deposita en equipo usado muy seguido.

PERSONAL.—Personas concernientes con la ordeña y el manejo de la leche pueden ser culpables de su contaminación. Deben ser informados acerca de los requerimientos para una producción láctea sanitaria y es de enorme importancia que ellas estén libres de enfermedades o infección alguna. (5)

MATERIAL Y METODOS

Material.—

- a).—Tubos de cultivo.
- b).—Pipetas. 10 c.c. 5 c.c. 1 c.c.
- c).—Cajas petri.
- d).—Matraces Erlenmeyer.
- e).—Cuentacolonias Quevec.

Medios de cultivo.—

- a).—Agar nutritivo.
- b).—Mac-conkey.
- c).—Gelosa-sangre.
- d).—TSI (Triple azúcar hierro)
- e).—Urea agar.
- f).—Cittrato de simons.
- g).—Limuts - Milk.

Azúcares.—

- a).—Sucrosa.
 - b).—Inulina.
 - c).—Raffinosa.
 - d).—Trealosa.
 - e).—Manitol.
 - f).—Lactosa.
- Reactivos para tinción de Gram.
Agua Oxigenada.

METODOLOGIA

Se toma 1 c.c. de leche que se deposita en un primer tubo bacteriológico conteniendo 9 c.c. de agua destilada estéril, se agita varias veces; se toma 1 c.c. de la dilución contenida en el primer tubo y se deposita en un segundo tubo conteniendo la misma cantidad de agua destilada estéril; y así sucesivamente hasta el octavo tubo.

De cada uno de ellos se toma 1 c.c. y se deposita en cajas de petri estériles, tomándolos de derecha a izquierda.

Se vacía el medio de agar nutritivo previamente esterilizado y enfriado a una temperatura de 45°C, se dejan solidificar, posteriormente se meten las cajas a una estufa bacteriológica a incubar durante 24 horas a 37°C. Colocando a la vez dos cajas extras conteniendo en una de ellas solamente medio de cultivo y en la otra, 1 c.c. de agua destilada estéril utilizada para las diluciones más el medio de agar nutritivo. Usados éstos como testigos de esterilidad.

Al cabo de las 24 horas se observan las cajas y se hace el conteo de las colonias por medio de un cuentacolonia Quevec de campo obscuro.

En seguida se seleccionan las colonias que se van a reseñar; unas a un medio de Mac-conkey y otras a Gelosa-sangre, se incuban a 37 grados centígrados durante 24 horas. Al cabo de las cuales se observa el crecimiento en gelosa-sangre: tamaño y tipo de las colonias, producción de hemólisis, se procede a la tinción de gram de dichas colonias.

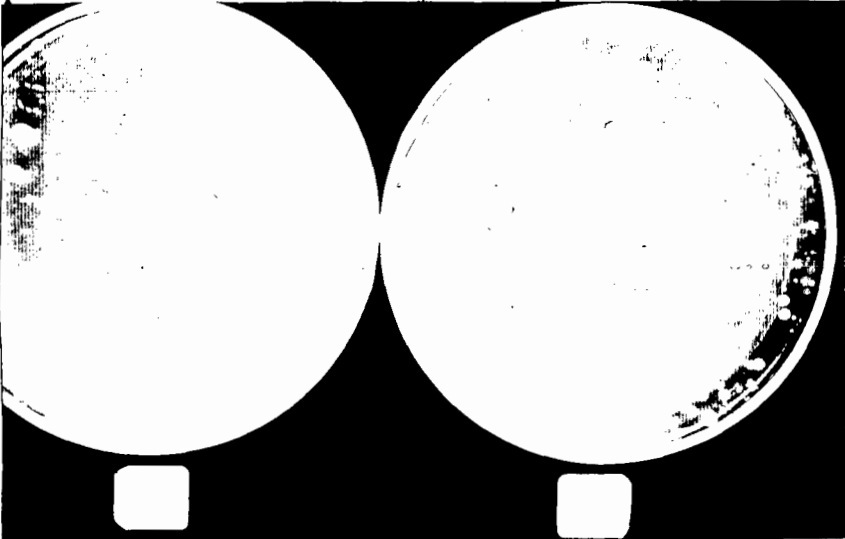
En caso de ser colonias pequeñas, transparentes, hemolíticas y cocos gram-positivos se someten a una reacción bioquímica con los siguientes azúcares: Sucrosa, Inulina, Raffinosa, Trealosa, Manitol, Lactosa e incluyendo Limuts-milk.

De las colonias de color blanquecinas o con pigmento dorado se procede a hacer una tinción de gram, prueba de la catalaza y manitol para diferenciar entre Staphilococos y Micrococos.

Con relación a las colonias que se han obtenido en Mac'conkey, siendo éstas pequeñas, circulares y de color rojo, se describen como Escherichia coli.

Colonias mucoides y de bordes continuos, de color rojo son del tipo Aerobacter-Klebsiella.

Colonias transparentes o con pigmentos azulosos se resiembran en los medios TSI (triple azúcar hierro), Urea, Simons, para diferenciar Pseudomona y otras especies de Escherichia.



Placas de agar después de 24 horas de incubación. (Nótese el gran crecimiento de colonias de Bacterias) Delución 1:100,000 y 1:1'000,000

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Staphi-lococo.	Strepto-coco.	Pseudo-mona	Escheri-chia	Proteus	Aerobacter Klebsiella
1	3'000,000	X	X		X		
2	4'000,000		X		X	X	
3	800,000	X	X		X		
4	300,000		X	X			
5	8'000,000	X	X		X		
6	9'000,000	X	X	X	X	X	
7	840,000		X		X		
8	400,000	X	X	X	X	X	
9	900,000			X	X		
10	9'000,000	X	X				
11	1,500'000,000	X	X		X		X
12	100'000,000	X	X	X	X		X
13	300'000,000		X	X	X		X
14	1,300'000,000	X	X	X			X
15	840'000,000	X	X	X	X		X
16	500'000,000		X	X	X		X
17	800,000			X	X		
18	400,000		X		X		
19	600,000		X		X		
20	900,000			X	X		
21	650'000,000	X		X	X		
22	400,000				X		X
23	800,000		X				
24	400,000		X		X		
25	800,000		X				
26	3'800,000	X			X		
27	400,000				X		X
28	320'000,000		X		X		
29	200,000		X		X		
30	500,000		X		X		
31	350'000,000		X		X		
32	300,000		X		X		
33	650'000,000	X		X	X		
34	4'000,000		X		X		

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Staphi-lococo.	Strepto-coco.	Pseudo-mona	Escheri-chia	Proteus	Aerobacter Klebsiella
35	3'900,000	X			X		
36	5'000,000		X		X		
37	275'000,000			X	X		
38	280,000		X				
39	290'000,000		X	X			
40	6,000'000,000		X	X	X		
41	820'000,000		X		X	X	X
42	280,000		X				
43	1,080'000,000	X			X		X
44	380,000	X			X		
45	820'000,000	X			X	X	X
46	7,000'000,000		X	X	X		
47	420,000	X			X		
48	1,090'000,000	X			X		X
49	13'500,000			X	X		
50	4'400,000	X	X	X	X		
51	15'500,000			X	X		
52	22'000,000		X		X		
53	40'000,000	X	X	X	X		
54	25'000,000		X		X		
55	250,000	X	X		X		
56	320,000	X		X	X		
57	1,790'000,000		X		X		
58	290,000	X	X		X		
59	20,000'000,000	X		X	X		
60	380,000	X		X	X		
61	2,000'000,000		X	X			
62	12,400'000,000	X	X		X		
63	4'200,000			X		X	
64	11'500,000				X		
65	25'000,000				X		
66	5'000,000			X		X	
67	180,000	Salmonella (Tiphimurium)					
68	1'600,000	X	X		X		
69	12'000,000				X		
70	23'800,000				X		

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Staphi-lococo.	Strepto-coco.	Pseudo-mona	Escheri-chia	Proteus	Aerobacter Klebsiella
71	1'800,000	X	X		X		
72	34'500,000	X	X	X	X		
73	4'940,000	X		X	X		
74	5'100,000	X	X		X		
75	38'100,000	X	X		X		
76	5'000,000	X	X		X		
77	280'000,000	X	X	X	X		
78	5'000,000	X	X		X		
79	170'000,000	X	X	X			
80	240'000,000	X	X	X	X		
81	180'000,000	X	X	X			
82	51'000,000	X		X			X
83	780,000	X		X			
84	34'000,000		X		X	X	
85	60'000,000		X		X		
86	700,000	X	X		X		
87	43'000,000			X	X		
88	9,200'000,000		X	X			
89	5'400,000		X				
90	9,000'000,000				X		X
91	10'000,000		X				X
92	6'000,000	X				X	
93	10'000,000		X				X
94	340'000,000	X		X			
95	100'000,000	X	X	X	X		X
96	300,000		X		X		X
97	200'000,000	X	X	X	X		X
98	140'000,000				X		X
99	84'000,000			X	X		
100	250'000,000	X	X	X	X		X
101	500,000		X		X		X
102	11,000'000,000				X		X
103	150'000,000	X			X		X
104	80'000,000			X	X		
105	94'000,000		X				
106	80'000,000		X		X		
107	15,000'000,000	X			X		X
108	84'000,000		X				

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Staphi-lococo.	Strepto-coco.	Pseudo-mona	Escheri-chia	Proteus	Aerobacter Klebsiella
109	9'000,000		X	X			
110	70'000,000		X		X		
111	1,400'000,000		X		X		
112	2'600,000			X	X		
113	8'000,000		X				
114	4'800,000				X		
115	2'500,000			X	X		
116	1,400'000,000		X	X	X		
117	3'000,000				X		
118	180,000		X	X	X		
119	20'000,000	X	X	X		X	
120	140,000				X		X
121	29,000	X	X				
122	190,000		X	X	X		
123	280,000	X	X				
124	18'000,000		X	X		X	
125	3'400,000	X	X		X		
126	5'800,000	X	X		X	X	X
127	150,000				X		X

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Escherichia	Streptococo dysgalactie	Pseudomona	Aerobacter Klebsiella	Staphilococo aureus	Micrococo	Staphilococo albus	Streptococo agalactie	Streptococo uberis	Escherichia sfreundi
128	830,000	X					X	X		X	
129	58'000,000	X									
130	2,150'000,000	X			X				X	X	
131	51'000,000	X				X	X	X			
132	900,000	X					X			X	
133	85'000,000	X									
134	50'000,000	X				X	X	X			
135	200'000,000	X			X				X	X	
136	68'000,000	X									
137	60'000,000	X				X	X	X			
138	770,000	X			X	X					
139	700,000	X					X	X		X	
140	9'800'000,000	X					X				
141	800,000	X			X	X					
142	20'000,000	X			X				X	X	
143	34'000,000	X					X			X	
144	900,000	X			X	X					
145	9,200'000,000	X					X				
146	5'400,000						X				
147	40'000,000			X			X				X
148	600,000	X		X			X				
149	8'600'000,000	X					X				
150	4'900,000						X				
151	58'000,000			X			X				
152	1'000,000	X		X	X						
153	2'000,000	X		X	X						
154	4'500,000						X				
155	340'000,000	X	X	X	X						X
156	270'000,000	X	X	X	X						X
157	3'800,000	X		X	X						
158	290'000,000	X	X		X						X
159	980,000	X	X		X		X	X			
160	64'000,000	X	X				X			X	

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Escherichia	Streptococo dysgalactie	Pseudomona	Aerobacter Klebsiella	Staphilococo aureus	Micrococo	Staphilococo albus	Streptococo agalactie	Streptococo uberis	Escherichia sfreundi
161	600,000	X			X					X	
162	280,000'000,000	X	X				X			X	
163	800,000	X	X		X		X	X			
164	200,000'000,000	X	X				X			X	
165	430,000	X			X					X	
166	700,000	X	X		X		X	X			
167	150,000'000,000	X	X				X			X	
168	27,500'000,000	X		X	X						
169	890,000	X	X		X		X			X	
170	3,440'000,000	X			X		X		X	X	
171	900,000	X	X						X		
172	3,000'000,000	X			X		X	X	X		
173	1,300'000,000	X		X	X						
174	800,000	X	X						X		
175	2,300'000,000	X			X		X	X	X		
176	780,000	X	X						X		
177	1,200'000,000	X		X	X						
178	2'400,000	X					X	X			
179	2,700'000,000	X								X	
180	1'400,000	X					X	X			
181	1,600'000,000	X								X	
182	1'980,000	X					X	X			
183	1,550'000,000	X								X	
184	14'200,000	X	X			X		X			
185	2'420,000		X							X	
186	12'000,000	X	X			X		X			
187	2'370,000		X							X	
188	1'340,000									X	
189	110'000,000	X		X						X	
190	9'700,000	X		X				X		X	
191	11'000,000	X	X			X					
192	140,000	X	X				X				
193	170,000	X	X				X				
194	9'640,000	X			X					X	
195	275'000,000	X			X			X		X	

No. de Muestra	Evaluación de colonias/ml.	Escherichia coli.	Streptococo dysgalactie	Pseudomona	Aerobacter Klebsiella	Staphilococo aureus	Micrococo	Staphilococo albus	Streptococo agalactie	Streptococo uberis	Escherichia sfreundi
230	2'900,000	X	X					X	X		
231	170'000,000	X			X			X		X	
232	2'400,000	X	X					X		X	
233	14'200,000	X			X			X		X	
234	80,000										
235	100,000										
236	28,000'000,000	X			X				X		
237	14,600'000,000	X			X					X	
238	6'0'000,000				X	X	X	X		X	
239	10,400'000,000	X			X				X		
240	570'000,000				X	X	X	X		X	
241	390'000,000				X	X	X	X		X	
242	43'000,000				X						
243	1'450,000	X	X		X	X	X				grupo L
244	25'000,000				X						
245	1'250,000	X	X		X	X	X				grupo L
246	34'000,000				X						
247	1'300,000	X	X		X	X	X				
248	240,000				X	X	X				
249	590,000		X		X	X	X				
250	2'390,000				X	X	X				grupo L
251	960,000		X		X	X		X			
252	350,000		X		X	X		X			
253	830,000				X	X	X				grupo L

RESUMEN DE RESULTADOS

Grupo No. 1 de la Muestra 1 — 127

Staphilococo.	43%
Estreptococo.	63%
Pseudomona.	44.1%
Escherichia coli.	77.1%
Proteus.	10.2%
Aerobacter Klebsiella.	22%

Grupo No. 2 de la Muestra 178 a 253

Escherichia coli.	75.4%
Estreptococo dysgalactie.	27.7%
Pseudomona.	13.5%
Aerobacter Klebsiella.	57.9%
Staphilococo aureus.	20.6%
Micrococo.	34.1%
Staphilococo albus.	33.3%
Estreptococo agalactie.	20.6%
Estreptococo uberis.	36.5%
Escherichia sfreundi.	5.5%
Grupo L Estreptococo.	3.2%

PORCENTAJE GLOBAL DE LAS 253 MUESTRAS

Staphilococo.	45%
Estreptococo.	65%
Pseudomona.	28.8%
Escherichia coli.	75.8%
Proteus.	5.7%
Aerobacter Klebsiella.	42.9%
Estreptococo grupo L.	1.5%
Micrococo.	17%
Escherichia sfreundi.	2.7%

DISCUSION

Encontramos una gran variante en cuanto al número de colonias de bacterias presentes en las 253 muestras de leche no pasteurizada; oscilando entre 29,000 y doscientos ochenta mil millones de colonias/c.c.

Para demostrar mejor estas variantes hicimos las siguientes subdivisiones:

- a).—Muestras que contenían menos de un millón de colonias por c.c. corresponde a 26.8%.
- b).—Las cuentas que se encuentran entre un millón y noventa y nueve millones, obtienen un 31.2%.
- c).—Las muestras cuyas cuentas bacterianas tienen más de cien millones por c.c., se encuentran en un porcentaje de 41.8%.

Según el reglamento sobre producción, introducción, transporte, pasteurización y venta al público de la leche en el Distrito, territorios y zonas federales, en el capítulo III que trata sobre producción y clasificación de leches, en su artículo 22 clasifica a la leche en tres categorías sanitarias:

- I.—**Leche certificada, pasteurizada preferente.** La cual antes de ser pasteurizada, la media logarítmica de 6 muestras practicadas en un mes, no debe exceder de 100,000 colonias/c.c. en placas de agar.
- II.—**Leche certificada pasteurizada.** Antes de ser pasteurizada su media logarítmica de 6 cuentas practicadas en un mes no debe exceder de 500,000/colonias por centímetro cúbico en placas de agar.

III.—**Pasteurizada.** Antes de ser pasteurizada, su media logarítmica de 6 cuentas practicadas en un mes; no debe exceder de 1 millón de colonias/c.c. (6)

Dentro de la primera categoría, o sea muestras de leche antes de pasteurizar, contienen 100,000 colonias o menos, equivale al 1.5% de las muestras.

Dentro de la segunda categoría, o sea las leches cuyas cuentas bacterianas no exceden de 500,000 col./c.c., corresponde al 13% del total de las muestras trabajadas.

Y dentro de la tercera categoría, las leches cuyas cuentas bacterianas se encuentran en menos de 1 millón, corresponde a un 26.8%, pero las que se encuentran entre 500,000 a un millón es de 10.2%.

La ley sobre producción, tratamiento, venta de leche y sus derivados en el Estado de Jalisco. La clasificación a que se refiere es la siguiente: Artículo 3.

- I.—Leche Pasteurizada.
- II.—Leche Pasteurizada preferente.
- III.—Leche certificada cruda.



Artículo 8.—**La leche certificada cruda** a que se refiere la fracción III del artículo 3o., sobre leche certificada cruda, fracción II, por el análisis bacteriológico, no acusará más de 150,000 colonias/c.c. por el método de siembra en agar nutritivo. (7)

Artículo 240.—La cuenta bacteriana en la producción deberá dar los siguientes resultados:

- I.—Para la leche que se destine a la **pasteurización** de tipo común, no más de 150,000 col./c.c. en placas de agar nutritivo.

II.—Para la leche que se destine a la **pasteurización de tipo preferente**, no más de setecientos cincuenta mil colonias por c.c. en placas de agar nutritivo.

III.—Para la leche que se destine a la **certificación**, previos tres exámenes que se hagan en el transcurso de un mes y antes de ofrecerse al público, un número no mayor de ciento cincuenta mil colonias por centímetro cúbico en placas de agar nutritivo. (7)

Dentro de la clasificación para la leche que se destina a la pasteurización del tipo común, sólo se encuentran un 3.9%. En la clasificación de las leches para destinarla a la pasteurización del tipo preferente con un máximo de 750,000 col./c.c. con un mínimo de 150,000 col./c.c. que pertenecen a otra categoría, están 40 muestras que corresponde a un 15.7%.

Para la clasificación de leche certificada cruda se encuentran 9 muestras que están dentro de este margen correspondiendo al 3.9%.

En otros países las normas y la clasificación para las leches son más estrictas; y así tenemos por ejemplo en la República de Brazil una clasificación tomando en cuenta su propia bacteriana:

Tipo "A" antes de Pasteurizar no debe contener más de 10,000 colonias por c.c.

Tipo "B" antes de pasteurizar no debe contener más de 500,000 colonias por c.c.

Tipo "C". Sin límite. (8)

Como mencionábamos en la introducción, que las posibles contaminaciones o fuentes de microorganismos habíamos colocado en primer lugar a la ubre de la vaca; tal como lo demostró el Dr. Ward, citado por Hamer (4) al examinar 19 ubres notando que los conductos galactóforos albergan bacterias a través de todo su trayecto, él concluyó, que cuando la leche era secretada está estéril y que puede contaminarse inmediatamente por bacterias en los pequeños conductos de la ubre.

Debemos considerar que existe una gran variante en cuanto al número de colonias en leche tomadas acépticamente provenientes de animales sanos. Jensen y Patch, citados por Hamer (4) reportaron que de uno a otro día, la leche de una misma vaca puede variar de 1,000 a 16,000 col./c.c.

En los reportes que tratan del número de bacterias presentes en la leche cuando se ordeña acépticamente, encontramos informes de cifras variables, aunque los números que pueden darse son comparativamente bajos, se ha informado de recuentos que van de 100 a 10,000 col./c.c. (9) Foster.

Factores tales como la edad de la vaca; fase de lactación, tipo de alimento, y los distintos cuartos de la ubre han sido objeto de investigación respecto a los efectos que surten en el número de bacterias en leche (9); así Hensen y Patch, citados por Hamer (4) demostraron que existen variantes en los diferentes cuartos de la ubre encontrando 10 a 900 col./c.c. y de 150 a 3,400 col./c.c.

Slokin, citado por Hamer (4), estudió la influencia de la alimentación; para ello usó 10 vacas en 6 comparaciones y cuantificó los microorganismos por el método de placa. Cuando fueron ordeñadas antes de alimentarse el número de colonias fue de 2,096 y cuando se ordeñaban después de alimentarse fue la cuenta de 3,506 col./c.c.

En el Estado de UTAH, John y Stivens, citados por Hamer (4), seleccionaron 10 vacas que habían dado resultados negativos a Brucelosis y a Tuberculosis, y nunca habían tenido síntomas de mastitis infecciosa. Por un período de 4 meses la leche de cada uno de los cuartos de la ubre contenían de 45 a 511 colonias por c.c. con una media de 239 col./c.c.

Hay informes de vacas excepcionales cuya apariencia era normal y que sin embargo daban constantemente leche cuyo recuento rebasaba a los 100,000 col./c.c. (9).

Con relación a la muestra obtenida con una cuenta bacteriana de 29,000/c.c., que es la cuenta más baja, cabe aclarar que esta muestra fue tomada directamente de una ordeñadora mecánica cuando se demostró el funcionamiento de ésta en unas vacas que se encontraban en las instalaciones de la exposición ganadera; con ello demostramos que, las leches obtenidas lo más acépticamente posibles, las cuentas bacterianas son más bajas tal como lo hizo John y Stevens que mencionamos en el párrafo anterior.

Así las contaminaciones por las superficies externas son dadas por las bacterias que son agregadas en el acto de la ordeña. Tomando en cuenta que hay dos formas de ordeña: una manual y otra mecánica, existiendo problemas diferentes en cada una de ellas. En la ordeña a mano, que es la más frecuente en nuestro medio ganadero, la adición de bacterias a la leche puede ser:

- a).—Por contaminaciones ambientales.
- b).—La cola del animal.
- c).—Por equipo utilizado en la ordeña.
- d).—Y por otras contaminaciones; fundamentalmente moscas. (4)

Algunos autores han puesto cajas con medio de agar du-

rante un cierto período en el local de ordeña y las pusieron a incubar y después han calculado el número de colonias; esta forma es poco cierta para medir el grado de contaminación ambiental. (4)

Durante el proceso de ordeña la cola está bastante cerca de la cubeta, y de ella puede caer sobre la leche, tierra, células epiteliales, que provienen de la cola como portadora de éstos microorganismos. Podemos encontrar suciedad en la leche que provenga de la cola limpia que puede ser de: 17'814,000 colonias por gramo de suciedad, variando desde 184' hasta 4,592 millones. (4)

Otro tipo de contaminación es a través del estiércol (10). El contenido bacteriano de heces frescas varía de 434,000 hasta 73 millones por gramo de suciedad, con un promedio de 8 millones, siendo el número máximo de varios billones por gramo de materia fresca. Casi todos los microorganismos son formadores de gas.

La contaminación por medio de las manos está determinada por la pobre higiene del personal de la ordeña. (4)

En ciertos estudios se ha indicado la importancia de los utensilios de ordeña y lechería en la higiene de la leche como contaminantes. Prutch y colaboradores, citados por Hamer (4) encontraron en 150 utensilios recién lavados que podían encontrar de 157 a 2'557,000 colonias, es favorecido por equipo mal lavado conteniendo trazas de sólidos de la leche y que la temperatura especialmente en verano es satisfactoria para el rápido desarrollo bacteriano.

Otras fuentes de contaminación son las moscas, las cuales son responsables indirectamente porque pueden contaminar el equipo o directamente cuando se introducen dentro de ella.

Una serie de experimentos en 450 moscas, el número de bacterias presentes en el cuerpo de ellas variaba de 550 a 6'600,000 con una media de 1'222,570.

Cuando la ordeña es mecánica, podemos tomar en consideración en orden de importancia: 1.—mamilas, 2.—tubos, 3.—cubetas, 4.—condensación de la línea de vacuum, (vacío). 5.—distribución de aire, 6.—suciedad de las mamilas, si es que ellas estén sobre el piso.

Para poder demostrar las contaminaciones bacteriológicas en máquinas de ordeña, Dahlberg hizo pasar agua estéril a través de ella y encontró que podía haber de 10,000 o una media de 5,000 por ml. de agua. De la misma forma logró saber el contenido bacteriano a través de las mamilas, encontrando en diferentes lotes de ellas: 32,000, 9,000 y 5,000 col./ml.

Ellingsen obtuvo 100,000 col./ml. en el 17.39% de máquinas ordeñadoras y un 16% en mamilas.

Breed y Brighth, citados por Hamer (4), indican que en la condensación de la línea de vacuum no tiene una contaminación extensa.

En las identificaciones de las especies bacterianas, encontramos en nuestras muestras observadas que en un 80.5% encontramos *Escherichia*; aunando *Escherichia coli* y *Escherichia sfreundi*. Y encontramos *Aerobacter-Klebsiella* en un 42.9%. Estos resultados concuerdan con Levinc, citado por Hamer (4), que sumalizó de 1,383 aislamientos de leche, el 43.1% aisló gérmenes del tipo *Aerobacter*. Y después Hunter reporta que en 490 muestras encuentra un 66.2% y que en 169 cultivos de heces de bovino 95.2% de *Escherichia coli*.

Escherichia y *Aerobacter* son microorganismos que crecen rápidamente en leche cuando la temperatura es conveniente y la

multiplicación puede ser la causa de números excesivos en la cuenta bacteriana.

Hunter, citado por Hamer (4), investigó al respecto sobre *Escherichia* y *Aerobacter* en leche a 70°F (21.1°C) iban de 1,000 a 1,000 millones en 24 horas. Y a 60°F (15.5°C) las variantes iban de 0 a 10,000.

Sobre este punto cabe mencionar que las temperaturas promedio en la ciudad de Guadalajara, a partir del mes de abril hasta septiembre, oscila entre 20.1°C a 23°C que es la temperatura promedio mayor durante el mes de Junio. Siendo su temperatura media promedio anual de 18.8°C (11) y que las horas de exposición de la leche a esa temperatura oscila entre 4 y 5 horas, tomando en cuenta que éstas leches provienen de diferentes puntos del Estado; por lo cual puede ser ésta una causa del alto grado de multiplicación bacteriana. Además de que por ejemplo en el municipio de Zapopan, la temperatura promedio anual es de 23.5°C y oscila entre 19.9°C, en Enero hasta 27°C en el mes de Mayo. (11)

En México no están establecidos los valores reglamentarios (12) en cuanto a la tolerancia de presencia de "colis" en la leche.

Con relación al reglamento sanitario en la república de Brazil señala que en la categoría "A" debe haber ausencia de *Escherichia coli* en 1 ml.

Y en la categoría "B" una tolerancia en 5 ml.

Y en la categoría "C" una tolerancia en .2 ml.

En los Standar sobre la producción de leche certificada en New York el recuento bacterial está dado por:

Recuento normal en placa no más de 10,000/ml.

Recuento de coliformes no más de 10 por ml. (13)

Thornton, citado por Stablefort en 1938 (14), aisló *Salmonella* de leche y dice que la mayoría de las infecciones están causadas por brotes explosivos, existiendo una tendencia a ocurrir en verano y estar asociada con las condiciones pobres de higiene de la leche.

Podemos considerar que los *Staphilococos* cuyo porcentaje encontrado en las muestras analizadas fue de 45% incluyendo *Staphilococo albus* y *Staphilococo aureus*. Y los *Streptococos* cuyo porcentaje es de 65%, son gérmenes patógenos y que pudieron haber sido transportados a la leche por las diferentes formas de contaminación, o bien, a partir de vacas enfermas o también por portadores sanos.

Se ha identificado un cierto número de *Micrococos* en leche obtenida acépticamente (9)

En nuestros resultados encontramos que en 127 muestras obtuvimos un 34.1% aislamientos de *Micrococo*.

La presencia de *Micrococos* patógenos parece hallarse también limitada a animales infectados con *mamitis Staphilocócica*. Los casos subclínicos de *mastitis* han llevado a algunos investigadores a creer que había recolecciones de estas bacterias de ubres normales. (9)

En *Streptococo agalactye*, es el organismo que suele hallarse presente, aunque la vaca no presenta manifestación alguna de *mastitis*, así pues este microorganismo parece ser una habitante normal de la ubre sana. (9)

Es necesario mencionar que dentro de esa gran variedad de aislamientos que obtuvimos en una sola muestra de leche, aislamos hasta 6 diferentes especies bacterianas y así tenemos los siguientes porcentajes:

No. de aislamientos
diferentes por Muestra

Porcentaje

0	-----	1.18%
1	-----	10.27%
2	-----	26.27%
3	-----	33.20%
4	-----	18.18%
5	-----	9.08%
6	-----	1.00%



Aspecto de algunas condiciones de ordeña y manejo de la leche.

CONCLUSIONES

- 1.—Las cuentas de colonias por c.c. de leche son bastante altas; y sólo un bajo porcentaje de estas leches, o sea un 26.8% entran a una clasificación sanitaria, siendo el 1.5% del total de las muestras pertenecientes a la primera categoría, el 13% entra en la segunda categoría, y el 10.2% entra en la tercera categoría.
El 73.2% del total de las muestras se encuentran fuera de clasificación.
- 2.—Salta a la vista que el género *Escherichia* es una de las bacterias que más frecuentemente se aísla de la leche sin pasteurizar.
- 3.—Las cuentas excesivamente altas tienen como causa principal la falta de higiene en la producción de la leche, aunado esto a la temperatura relativamente alta en su transporte durante largos períodos.

La presencia de muestras con un alto contenido de colonias de bacterias tienen como causa la falta de higiene asociada a la temperatura que son sometidas durante su transporte

RESUMEN

Se trabajaron 253 muestras de leche no pasteurizada, de las cuales se hizo primeramente R.B.A. (recuento Bacterial en Agar). Encontrando que el 26.8% de las muestras contienen menos de un millón de colonias por c.c. y de ellas el 1.5% contenían menos de 100,000 colonias por c.c. El 13% no exceden de 500,000 y el 10.2% entre 500,000 y 1 millón de col./c.c. que pertenecen a la 1a. 2a. y 3a. categoría sanitaria, respectivamente.

Las leches cuyas cuentas bacterianas están entre un millón y 99 millones corresponde al 31.2% y las que contienen más de 100 millones es el 41.8% del total de las muestras.

En el aislamiento y la identificación de los gérmenes encontramos los siguientes porcentajes: Escherichia, 75%; Estreptococo, 65%; Staphilococo, 45%; Aerobacter-Blebsiella, 42.9%; Pseudomona, 28%; Micrococo, 17%; Proteus, 5.5%; Escherichia Sfreundi, 2.7%; Streptococo grupo L, 1.5% en las muestras.

Estos resultados son atribuibles a las diferentes fuentes de contaminación que influyen directamente, siendo las más frecuentes, la vaca, el cuerpo de la misma, utensilios de lechería, aire del área de la ordeña, el personal, moscas, etc.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Comunicación Verbal.
COMISION TECNICA DE LA LECHE.
- 2.—Instituto Nacional de la Leche.
REVISTA LACTEA. 1971.
Pág. 20. Vol. 1. Núm. 1.
- 3.—La leche, su valor alimenticio y la importancia de su higiene en la salud pública. 1970.
Secretaría de Agricultura y Ganadería.
Instituto Nacional de la Leche. Pág. 19.
- 4.—DAIRY BACTERIOLOGY. 4th. edition
1957. (Wiley) Editorial
Bernard W. Hamer, Frederich J. Babel.
Págs. 85, 86, 116,-120, 123, 125, 129, 132, 134, 135, 140,
141, 260,-266, 280 y 281.
- 5.—MICROBIOLOGIA por:
Michael J. Pelczar Jr., Roger D. Reir. 1965.
Segunda Edición. Pág. 532, 533.

ANONIMO.
- 6.—REGLAMENTO SOBRE PRODUCCION, INTRODUCCION, TRANSPORTE, PASTEURIZACION Y VENTA AL PUBLICO DE LA LECHE, EN EL DISTRITO, TERRITORIOS Y ZONAS FEDERALES.
Diario Oficial de 8 de Febrero de 1951.
Secretaría de Salubridad y Asistencia.

ANONIMO.
- 7.—DECRETO No. 5875. LEY SOBRE PRODUCCION, TRATAMIENTO, VENTA DE LECHE Y SUS DERIVADOS. 355.
En el Estado de Jalisco.
Guadalajara, Martes 3 de noviembre de 1953. No. 23.

- ANONIMO.
- 8.—DECRETO 30.691, Marzo de 1952, mod. en 1962.
REGLAMENTO DE INSPECCION INDUSTRIAL
SANITARIA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL
DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA
Y GANADERIA. Pág. 155. (República de Chile).
 - 9.—MICROBIOLOGIA DE LA LECHE
Foster, Nelson, Spek, Doetsch, Olson.
Pág. 156, 204, 158.
 - 10.—LA LECHE. Su producción y procesos industriales.
Henry F. Judskins, Harry A. Keener.
Enero 1963. Pág. 283.
Compañía Editorial Continental, S. A.
 - 11.—BOLETIN DE METEOROLOGIA No. 1
Plan Lerma.
Enero 1966. Pág. 151, 217.
 - 12.—LECHE, SU PRODUCCION HIGIENICA Y CONTROL
SANITARIO.
Segunda Edición. 1969.
Mario Ramos Córdova. Pág. 281.
 - 13.—METHODS AND STANDARDS FOR THE
PRODUCTION OF CERTIFIED MILK.
Nueva York; American Association Medical
Milk Commissions. 1954-1955.
 - 14.—DISEASES DUE TO BACTERIA
Volumen 2. 1959.
A. W. Stablefort, h I. A. Galloway.
Pág. 490.
London Butterwortsh Scientific Publications.