

Leji 83



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

CUANTIFICACION DE MICROORGANISMOS PSICROFILOS EN
LECHES DE BOVINOS PASTEURIZADAS, CONSERVADAS A
DIFERENTES TEMPERATURAS

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a

RAMON ENRIQUE ESCOTO QUAN



Asesora: M.V.Z. Theresita Legaspi Paul

México, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS	9
DISCUSION	20
ANEXO	23
LITERATURA CITADA.....	27

F

R E S U M E N

ESCOTO QUAN, RAMON ENRIQUE. Cuantificación de microorganismos -- psicrófilos en leches de bovinos pasteurizadas, conservadas a diferentes temperaturas (bajo la dirección de la M.V.Z. Theresita - Legaspi Paul).

Se analizó un total de 100 muestras, divididas en 3 grupos de la siguiente manera: 30 de leche cruda, 40 de leche pasteurizada con temperatura controlada a 4°C, y 30 leches pasteuriza--das sin control de temperatura de refrigeración, que fueron obtenidas en los centros de venta para consumo del público. Se practicaron a las 100 muestras conteo de microorganismos psicrófilos, pseudomonas, prueba del azul de metileno y de acidez, encontrando que las leches crudas presentan cantidades considerables de estas bacterias, las que deben ser destruidas cuando se lleva a cabo un buen control de temperatura y tiempo de pasteurización. El número de microorganismo psicrófilos se ve reducido en las leches pasteutizadas con temperatura controlada; sin embargo las leches pasteurizadas sin control de temperatura de refrigeración presenta--ron un elevado número de microorganismos psicrófilos y paseudomo--nas. Se determinó que el principal problema de esta contamina--ción es el manejo y la conservación que se da a la leche durante su comercialización, dando como resultado una deficiente calidad sanitaria del producto. En su aspecto químico no se encontraron variaciones importantes, ya que los valores de acidez y azul de metileno estaban dentro del rango marcado por el reglamento de le--ches.

INTRODUCCION

La presencia de microorganismos en la leche es un hecho comprobado, sin que ello signifique que todos pueden desarrollarse en ella. (2,12, 15).

Los microorganismos que se encuentran en la leche pueden tener dos orígenes:

- a). Endógeno (mamario) y
- b). Exógeno (originado por la contaminación durante la ordeña y después de ella.) (2)

En una glándula mamaria sana, aun tomándose rigurosas precauciones de asepsia, es difícil obtener una leche estéril, ya que tanto la mama como la leche que contiene, se encuentran prácticamente exentas de gérmenes hasta la cisterna, pero el canal galactóforo contiene gérmenes, constituyendo la primera fuente de contaminación. (2,15) La cantidad de estos microorganismos es muy importante, si se considera que la leche sale a una temperatura de -37°C , y que contiene todos los elementos necesarios para la multiplicación bacteriana, teniéndose por lo tanto un medio ideal para su desarrollo, por lo cual se producen alteraciones, que pueden provocar pérdidas del producto (5,15,18).

Estudios bacteriológicos efectuados en leches crudas y pasteurizadas, han demostrado que la flora bacteriana se encuentra formada en un 54% de esporas y 23% de micrococos y de estreptococos, siendo el resto principalmente corinebacterias (6,8,15).

La naturaleza de la flora microbiana de la leche refrigerada es muy diferente a aquella que se tiene cuando se deja la leche reposar en los bidones sin refrigerar. Esta flora está constituida básicamente por bacterias lácticas que alteran la leche produciendo su acidificación (3,4,16).

Si la leche se conserva a bajas temperaturas (4-6°C) las bacterias lácticas no se multiplican; sin embargo existen algunos microorganismos llamados "Psicrófilos", que sí se desarrollan a estas temperaturas (5,12,13,18).

La higiene durante la obtención de la leche es un factor importante si se desea obtener un producto limpio y bajo en microorganismos, el manejo de los animales lecheros antes del ordeño puede considerarse como un punto de partida para estudiar diversos aspectos de higiene en la leche; sin embargo, desde el punto de vista bacteriológicos, el estado higiénico del equipo, los ordeñadores y la temperatura a la que se exponga, son factores predisponentes en el aumento de la flora inicial de la leche (10,12,13,16,19).

Una pasteurización adecuada reduce el número de microorganismos, sin embargo un equipo mal desinfectado produce un aumento en el número de microorganismos a consecuencia de residuos sólidos en las tuberías (2,10,13,19,20) La leche cruda obtenida en buenas condiciones, contienen una pequeña cantidad de gérmenes termorresistentes, pero la contaminación ocasionada por el equipo, aumentará el número de microorganismos, o bien cabe la posibilidad de que existen bacterias termófilas que sean capa--

ces de multiplicarse a altas temperaturas (2,3,17) El producto puede contaminarse también después del tratamiento térmico y el origen suele residir en una mala refrigeración, o bien durante el envasado a través de la condensación de vapor en el local (11,13) Esta contaminación posterior a los tratamientos térmicos, está representada principalmente por coliformes y gérmenes psicrófilos - Estos gérmenes psicrófilos son organismos capaces de crecer a bajas temperaturas y se encuentran representados por *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* y *Micrococcos*. Su número depende de las condiciones higiénicas en las que se obtiene la leche, de la temperatura de refrigeración, de la pasteurización (tiempo-temperatura), del tiempo que transcurre desde la ordeña hasta el tratamiento, de la temperatura de transporte y venta. Puede considerarse que estos microorganismos son incapaces de sobrevivir con una buena pasteurización (2,12,13,19).

De estos microorganismos psicrófilos, los que más se desarrollan en la leche cruda son las *pseudomonas*, en particular: - Ps. Fluorescens y Ps. Fragi, ya que su temperatura de generación es a 4°C y en 6 a 8 horas puede duplicar su número, pudiendo decirse que su población se puede multiplicar por diez en 24 horas. - Algunas cepas resisten temperaturas de 90-100°C por varios minutos, mientras que otros microorganismos son destruidos por la pasteurización (1,9) Estas cepas resistentes son capaces de producir enzimas lipolíticas y proteolíticas muy activas que son termorresistentes. (5) Prácticamente todas las *Pseudomonas* son lipolíticas, que por lo general no producen lipólisis observable en la -

leche, a menos que se encuentren en gran cantidad los microorganismos 5×10^6 o 5×10^7 - ml. En cambio, si se encuentran en pequeñas cantidades (1×10^6 -ml) pueden afectar aquellos productos de larga conservación como: mantequilla, leche en polvo, queso, etc., provocando defectos en sus características (rancidez, sabor a jabón).(1,7).

Las enzimas proteolíticas de las pseudomonas son igualmente termorresistentes, incluso resisten temperaturas de ultrapasteurización: afectan principalmente aquellos productos de conservación prolongada como: queso cheddar, cottage, mantequilla. (7) A estas proteasas bacterianas se les atribuyen los efectos de gelificación en leches ultrapasteurizadas, pero es necesario saber - que la leche contiene proteasas naturales, también termorresistentes y que la acción puede afectar a la proteasa de las pseudomonas (1,7,15).

El número de bacterias psicrófilas, como un medio de evaluación de la eficiencia de la limpieza del equipo, de la higienización de la leche en la planta pasteurizadora y de las temperaturas de conservación es importante por dos razones:

- 1a. Los psicrófilos son organismos ampliamente difundidos en la naturaleza.
- 2a. Deben de ser destruidos por la pasteurización. (2,5,-13,15)

Sí existen estos microorganismos después de la pasteurización, es debido a una contaminación postpasteurización, frecuentemente por una deficiente limpieza del equipo, inadecuada refrigeración, (18) o mal manejo del producto después de su tratamiento de depuración.

Al poner en práctica un sistema de conservación de la leche, se requiere lo que algunos denominan una cadena frigorífica, es decir, una serie de medidas encaminadas a mantener la leche después de la pasteurización a una temperatura comprendida generalmente entre 4 y 8°C durante las operaciones de transporte, distribución y almacenamiento en los establecimientos de venta al por menor. Durante estas operaciones se trata de mantener fría a la leche y de evitar que tome calor del medio ambiente, para impedir la multiplicación bacterina.

La cantidad de bacterias psicrófilas en las leches pasteurizadas de bovinos se vió aumentada y modificada cuando la temperatura de conservación y transporte fueron mayores de 8° C.

Por lo tanto los objetivos alcanzados fueron: se cuantificó el grado de contaminación por bacterias psicrófilas en la leche, en el momento en que sale de la planta pasteurizadora y la que presenta cuando llega al consumidor bajo las condiciones de buen manejo de la cadena fría.

Se comparó el grado de contaminación bacteriana psicrófila de la leche cuando no es conservada adecuadamente, identificando el tipo de bacterias psicrófilas presentes en la leche, en

buenas y malas condiciones de higienes y evaluando su capacidad - de conservación.

MATERIAL Y METODOS

Se anotaron los registros de tiempo y temperatura de pasteurización cuatro semanas antes del trabajo y durante el mismo, para comprobar que el tratamiento térmico es adecuado; a la vez - se tomaron muestras de los tanques de refrigeración, antes y des- pués de la pasteurización así como antes del envasado y después - del mismo, manteniéndolas a 4°C para transportarla al Departamento de Medicina Preventiva y Salubridad Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (F.M.V. y Z), para efectuar - recuento de bacterias psicrófilas, (10,9,14) determinación de acidez y prueba del azul de metileno de media hora (9,14,18) con re- petición cada 24 horas durante tres semanas.

Se tomaron un número de diez muestras semanales de leches envasadas en la planta pasteurizadora de Tizayuca, Hgo., y siendo transportadas a 4° C. al laboratorio de Medicina Preventiva y - Salubridad Pública de la F. M. V. y Z. de la U. N. A. M.

Se investigó si los camiones que transportan el producto tiene el equipo adecuado de refrigeración, qué temperaturas proporcionan durante el transporte y en qué condiciones sanitarias se - encuentran.

Se anotaron los registros del laboratorio de la planta pas

teurizadora de las cuentas bacterianas de las leches procesadas, no procesadas y del equipo pasteurizador.

Se recogieron leches envasadas en los centros de venta - de leche Boreal, tomándose la temperatura de la refrigeración en donde se encontraban, y se anotaron las condiciones sanitarias de venta, transportándose de una manera similar a las que utiliza el público al Laboratorio de Medicina Preventiva y Salubridad Pública de la F.M. V. y Z. para efectuar recuentos de psicrofilos, determinación de acidez, prueba del azul de metileno de media hora - repitiéndolas cada 24 horas durante tres semanas.

Llegadas las muestras al laboratorio se procesarán inmediatamente de acuerdo a las técnicas seguidas por el Standard Methods of Ward and Raney's Medicine (10) para la determinación de pseudomonas y de acuerdo al Dairy Standard Methods para cuenta de psicrofilos y capacidad de conservación (9).

Se tomaron treinta muestras y al término de la operación se hizo la determinación de las medidas de tendencia central (media mediana y moda), medidas de dispersión (desviación estándar), para establecer los intervalos de confianza y poder reestimar el tamaño de la muestra.

La variable dependiente fué la calidad de la leche, conforme a cantidad y tipos de psicrofilos encontrados en las muestra examinadas.

Variables independientes. Una adecuada temperatura de refrigeración de las leche, en los tanques de recolección, en el

envasado, transportes y centros de ventas es aquella que fluctúa entre los 4 y 8°C, se considerará adecuadamente y la temperatura que sobrepase este será considerada como inadecuada o mal manejo.

RESULTADOS

Se tomaron los registros de tiempo y temperatura de pasteurización de la planta de leche de Tizayuca, Hidalgo, 4 semana antes de iniciarse el trabajo y durante el desarrollo del mismo, comprobando que se encontraban a 72.2°C, durante 15 segundos, sometiéndola después a una temperatura de refrigeración de 4°C, hasta ser envasada.

Se tomaron 30 muestras de leche antes de pasteurizar de los silos 1, 2, 3, y 4 a una temperatura media de 11°C, estas muestras fueron obtenidas y envasadas en tubos estériles y transportadas en refrigeración al laboratorio de Medicina Preventiva y Salubridad Pública, en donde se procedió a trabajarlas efectuando diluciones de 10^1 a 10^7 , incluyendo 1 ml, de cada dilución a cajas de Petri con agar, para bacterias mesófilas aerobias (agar de cuenta estándar), se incubaron a 4°C, y se efectuó la lectura diariamente durante 7 días de la incubación (Dairy Standard Methods) (9) (Cuadro 1 "A"; a los 7 días de incubación a 4°C, se picaron colonias rugosas, cremosas (forma de huevo), y se efectuó la prueba de oxidasa. Las colonias positivas se sembraron en agar nutritivo incubándolas 24 horas a una temperatura de 37°C, para proceder a efectuar las bioquímicas correspondientes de acuerdo al Standar Methods of Ward and Raney's Medicine (10).

para determinación de pseudomonas (Cuadro 1 "B").

De las 40 muestras de leche pasteurizada con temperatura controlada a 4°C, desde su salida hasta el laboratorio de Medicina Preventiva y Salubridad Pública, se obtuvo un menor crecimiento de colonias bacterianas a los 7 días de incubación a 4°C, observando una disminución de las colonias oxidasa positivas con respecto a la muestra anterior (Cuadro 2 "A").

De la leche pasteurizada y envasada puesta a la disposición del público, se tomaron 30 muestras de los centros de distribución encontrándose a 13°C, o bien a temperatura ambiente. Se transportaron al laboratorio de la Facultad en condiciones similares a las que utiliza el público (Sin control de temperatura).

Llegadas las muestras al laboratorio se procesaron inmediatamente de la misma manera que las anteriores (Cuadro 3 "A").

A cada una de las muestras obtenidas se les efectuó la prueba del azul de metileno de media hora y de acidez, encontrando que las leches eran negativas a la prueba del azul de metileno, con una acidez de 1.7 gramos de ácido láctico por litro de leche sin control de temperatura y una acidez de 1.4 gramos de ácido láctico por litro de leche en las muestras sin pasteurizar y recién pasteurizadas con temperatura controlada (10,14,18) (Cuadro 1 "B", 2 "B" y 3 "B").

CUADRO 1 "A"

CONTEO DIARIO DE COLONIAS MUESTRAS SIN PASTEURIZAR

Mues	Identif.	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	Media
1.-	MS-1	35X10 ⁴	39X10 ⁴	44X10 ⁴	47X10 ⁴	47X10 ⁴	47X10 ⁴	47X10 ⁴	437,143
2.-	MS-2	163X10 ²	51X10 ³	193X10 ³	197X10 ³	207X10 ³	207X10 ³	207X10 ³	686,329
3.-	MS-2	44X10 ²	53X10 ⁴	58X10 ⁴	552,857				
4.-	MS-4	36X10 ⁴	47X10 ⁴	56X10 ⁴	62X10 ⁴	62X10 ⁴	71X10 ⁴	71X10 ⁴	578,571
5.-	MS-4	80X10 ³	50X10 ⁴	84X10 ⁴	84X10 ⁴	91X10 ⁴	91X10 ⁴	91X10 ⁴	712,857
6.-	MS-4	43X10 ⁵	60X10 ⁵	63X10 ⁵	65X10 ⁵	65X10 ⁵	65X10 ⁵	65X10 ⁵	6085,714
7.-	MS-1	117X10 ³	117X10 ³	168X10 ³	168X10 ³	35X10 ⁴	35X10 ⁴	35X10 ⁴	231,429
8.-	MS-1	268X10 ²	45X10 ³	45X10 ³	49X10 ³	49X10 ³	49X10 ³	104X10 ³	552,543
9.-	MS-1	50X10 ²	51X10 ³	68X10 ³	71X10 ³	71X10 ³	71X10 ³	71X10 ³	58,286
10.-	MS-1	80X10 ²	80X10 ²	31X10 ³	33X10 ³	38X10 ³	38X10 ³	38X10 ³	27,714
11.-	MS-1	30X10 ³	99X10 ³	153X10 ³	153X10 ³	153X10 ³	153X10 ³	153X10 ³	127,714
12.-	MS-1	66X10 ³	175X10 ³	237X10 ³	32X10 ⁴	36X10 ⁴	36X10 ⁴	36X10 ⁴	268,286
13.-	MS-1	69X10 ³	121X10 ³	179X10 ³	155,000				
14.-	MS-1	114X10 ³	185X10 ³	185X10 ³	185X10 ³	183X10 ³	185X10 ³	36X10 ⁵	662,714
15.-	MS-1	48X10 ³	70X10 ³	73X10 ³	73X10 ³	73X10 ³	73X10 ³	101X10 ³	73,000
16.-	MS-1	32X10 ³	143X10 ³	209X10 ³	147,414				
17.-	MS-1	83X10 ³	83X10 ³	29X10 ⁴	230,429				
18.-	MS-1	62X10 ³	123X10 ³	162X10 ³	142,143				
19.-	MS-2	72X10 ⁴	46X10 ⁵	54X10 ⁵	461,143				
20.-	MS-2	78X10 ⁴	87X10 ⁴	92X10 ⁴	892,857				
21.-	MS-2	54X10 ⁴	74X10 ⁴	74X10 ⁴	77X10 ⁴	77X10 ⁴	77X10 ⁴	77X10 ⁴	728,571
22.-	MS-2	115X10 ⁴	125X10 ⁴	133X10 ⁴	138X10 ⁴	138X10 ⁴	138X10 ⁴	138X10 ⁴	1321,429
23.-	MS-2	98X10 ⁴	103X10 ⁴	105X10 ⁴	1037,143				
24.-	MS-2	79X10 ⁴	168X10 ⁴	168X10 ⁴	180X10 ⁴	180X10 ⁴	180X10 ⁴	180X10 ⁴	1621,429
25.-	MS-2	78X10 ³	78X10 ³	83X10 ³	81,571				
26.-	MS-2	36X10 ²	39X10 ²	31X10 ³	36X10 ³	40X10 ³	40X10 ³	40X10 ⁴	27,786
27.-	MS-2	32X10 ²	39X10 ³	41X10 ³	42X10 ³	42X10 ³	42X10 ³	42X10 ⁴	35,886
28.-	MS-2	34X10 ²	37X10 ²	34X10 ³	36X10 ³	36X10 ³	36X10 ³	36X10 ³	26,443
29.-	MS-2	29X10 ³	33X10 ³	38X10 ³	41X10 ³	41X10 ³	42X10 ³	42X10 ³	38,000
30.-	MS-2	32X10 ³	39X10 ³	42X10 ³	40,143				

MS= Muestras de Silos

CONTEO DIARIO DE COL. MUES. PASTEU. CON TEMP. CONTROLADA

Mues.	Identí.	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	Media.
32.-	MP	0	0	0	0	1×10^2	1×10^2	1×10^2	43
33.-	MP	0	0	0	0	2×10^2	2×10^2	2×10^2	86
34.-	MP	0	0	0	0	1×10^2	1×10^2	1×10^1	4
35.-	MP	0	0	0	0	0	0	0	0
36.-	MP	0	0	0	0	0	0	0	0
37.-	MP	0	0	0	0	0	0	0	0
38.-	MP	0	0	0	0	1×10^1	1×10^1	1×10^1	4
39.-	MP	0	0	0	0	0	0	0	0
40.-	MP	0	0	0	0	2×10^2	2×10^2	2×10^2	86

MP= Muestras Pasteurizadas

CUADRO 3 "A"

CONTEO DIARIO DE COL. MUES. PASTEU. SIN CONTROL DE TEMP.

Mues.	Identí.	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	D 6	D 7	Media
1.-	TP +	0	0	0	10560				10,560
2.-	TP +	0	0	0	11920				11,920
3.-	TP +	0	0	0	33000				33,000
4.-	TP +	0	0	0	83200				83,200
5.-	TP +	0	0	0	21600				21,600
6.-	TP +	0	0	0	26400				26,400
7.-	TP +	0	0	0	78000				78,000
8.-	TP +	0	0	0	27000				27,000
9.-	TP +	0	0	0	10000				10,000
10.-	TP +	0	0	0	15000				15,000
11.-	TP	0	0	0	168×10^2	12×10^3	40×10^3	42×10^3	15,829
12.-	TP	0	0	0	162×10^2	28×10^3	35×10^3	35×10^3	15,514
13.-	TP	0	0	0	9×10^2	9×10^3	9×10^3	9×10^3	514
14.-	TP ++	0	0	0	++				
15.-	TP	0	0	0	58×10^1	61×10^1	61×10^1	61×10^1	342
16.-	TP	0	0	0	9×10^2	13×10^2	13×10^2	13×10^2	686
17.-	TP	0	0	0	4×10^1	6×10^1	6×10^1	6×10^1	31
18.-	TP	0	0	0	10×10^1	1×10^2	2×10^2	2×10^2	86
19.-	TP	0	0	0	20×10^1	3×10^3	3×10^3	3×10^3	1,314
20.-	TP	0	0	0	7×10^3	7×10^3	7×10^3	7×10^3	4,000
21.-	TP	0	0	0	6×10^1	1×10^2	1×10^2	1×10^2	51
22.-	TP	0	0	0	4×10^1	1×10^3	3×10^3	3×10^3	1,006
23.-	TP	0	0	0	2×10^2	3×10^2	3×10^2	3×10^2	157
24.-	TP	0	0	0	2×10^1	9×10^2	9×10^2	9×10^2	389
25.-	TP	0	0	0	1×10^2	1×10^3	1×10^3	1×10^3	443
26.-	TP	0	0	0	5×10^1	3×10^2	3×10^2	3×10^2	136
27.-	TP	0	0	0	2×10^2	5×10^2	5×10^2	5×10^2	243
28.-	TP	0	0	0	2×10^2	7×10^3	7×10^3	7×10^3	3,029
29.-	TP	0	0	0	2×10^2	3×10^2	3×10^2	3×10^2	157
30.-	TP	0	0	0	4×10^2	6×10^2	6×10^2	6×10^2	314

TP + = Se tomó el primer conteo como media

TP ++ = Se contaminó.

TP = Muestras Pasteurizadas de Tetrapak

RESULTADOS DEL ANALISIS ESTADISTICO

Cuadro 1 "A":

Media = 701,427.66

Desviación Estándar = 1,343,987.84

Varianza = 1,159.30

Intervalos de Confianza

Límite Inferior

Límite Superior

700,994.78

701,860.54 Alfa = 0.05

700,844.27

702,011.05 Alfa = 0.01

Total = 21,042,830.

Cuadro 2 "A":

Media = 166.775

Desviación Estándar = 524.23

Varianza = 22.8961

Intervalos de Confianza

Límite Inferior

Límite Superior

156.9869

176.563 Alfa = 0.01

159.4932

174.0568 Alfa = 0.05

Total = 6671

Cuadro 3 "A":

Media = 12,431.76

Desviación Estándar = 21,199.80

Varianza = 145.60

Intervalos de Confianza

Límite Inferior	Límite Superior
1,188.3774	1,299.1426 Alfa = 0.05
1,169.0485	1,318.4715 Alfa = 0.01
Total = 360,521.	

Prueba de t = 449.62

Grados de Libert ad = 30

Alfa 0.01 = 2.457

Se analizarón los resultados del análisis estadístico a través de una prueba de t, encontrándose significativo al alfa 0.01, por lo tanto el incremento de la temperatura (arriba de 8°C), tiene una influencia directa sobre la cantidad de bacterias y el tipo de microorganismos psicrófilos presentes en las leches pasteurizadas de bovinos.

CUADRO 1 "B"

Microorganismos identificados en las muestras crudas.

Mues.	Col. Identif.	Tipo de Microorganismo	P.A.M	%
	50	<u>Ps. Fluorescens</u>	1.4g/LT.	33.33
	43	<u>Ps. Aeruginosa</u>		28.67
	5	<u>Ps. Maltophilia</u>		3.33
	4	<u>Ps. Mallei</u>		2.66
	4	<u>Ps. Alcaligenes</u>		2.66
30	3	<u>Ps. Pseudoalcaligenes</u>		2.
	3	<u>Ps. Acidovorans</u>		2.
	1	<u>Ps. Stutzeri</u>		0.67
	1	<u>Ps. Mendocina</u>		0.67
	18	<u>Enterobacter spp</u>		12.
	8	<u>Citrobacter spp</u>		5.33
	5	<u>Chromobacter spp</u>		3.33
	3	S.C		2.
Total = 150				100.00%

Abreviaturas:

Mues. = Muestra

Col. Identif. = Colonias Identificadas

S.C. = Sin Crecimiento

P.A.M. = Prueba Azul de Metilino

g/LT. = Gramos por litro

CUADRO 2 "B"

Microorganismos de las Mues. Pasteu. con Temp. Controlada

Mues.	Col. Identif.	Tipo de Microorganismo	P.A.M.	%
	8	<u>Ps. Aeruginosa</u>	1.4g/LT.	35.55
	4	<u>Ps. Mallei</u>		17.78
9	2	<u>Ps. Fluorescens</u>		8.89
	5	<u>Enterobacter spp</u>		22.22
	4	<u>Citrobacter spp</u>		17.78
				T=22.5
31	S.C.			T=77.5
T=40	T= 23			100.00

Abreviaturas:

Mues. = Muestras

Col. Identif. = Colonias Identificadas

S.C. == Sin Crecimiento

T. = Total

P.A.M. = Prueba de Azul de Metilino

g/LT. = Gramos por Litro

CUADRO 3 "B"

Microorganismos de las Mues. Pasteu. sin Temp. Controlada

Mues.	Col. Identif.	Tipo de Microorganismos	P.A.M	%
	42	<u>Ps. Fluorescens</u>	1.7g/LT.	46.6
	9	<u>Ps. Aeruginosa</u>		10.0
	4	<u>Ps. Mendocina</u>		4.4
	4	<u>Ps. Mallei</u>		4.4
	5	<u>Ps. Alcaligenes</u>		5.5
27	5	<u>Ps. Pseudomallei</u>		5.5
	2	<u>Ps. Maltophilia</u>		2.2
	1	<u>Ps. Stutzeri</u>		1.1
	35	<u>Enterobacter spp</u>		38.8
	3	<u>Citrobacter spp</u>		3.3
				T=90.0
3	S.C.			T=10.0
T= 30	T= 110			100.0

Abreviaturas:

Ver Cuadro 2 "B"

DISCUSION

En las leches sin pasteurizar los exámenes bacteriológicos muestran cuentas elevadas de bacterias psicrófilas y pseudomonas. Estas cuentas altas se deben a que la leche no ha sufrido ningún proceso de higienización, y por lo tanto la flora bacteriana normal presente en la leche puede desarrollarse en ella, al mismo tiempo que se desarrollan también aquellos microorganismos que se presentan en la leche a través de una contaminación exógena. La importancia que reviste la presencia de cuantas alta de microorganismos radica básicamente en que se les considera indicador de la condición higiénica durante su obtención y refrigeración antes de que se pasteurice. (Cuadro 1 "B").

La leche con cuenta bacteriana baja después de pasteurizar, es el producto que se mantiene en mejor condición, esto, aunado a una buena refrigeración, auspicia una mejor conservación del producto, de allí que las leches muestreadas recién pasteurizadas, con un control de temperatura durante su transporte y comercialización, fueron leches en donde se obtuvieron cuentas bacterianas y pseudomonas bajas siendo esto importante ya que las pseudomonas son organismos proteolíticos que reducen la calidad de la leche y por lo tanto su duración (Cuadro 2 "B").

Las temperaturas de pasteurización que se aplican a estas leches son adecuadas tanto en su tiempo y en temperatura, considerando que una pasteurización eficaz destruye el 90% de las células bacterianas y el total de microorganismos patógenos. Sin-

embargo la contaminación de psicrófilos presentes después de esta pasteurización llegan a la leche durante el envasado, y aunque -- sus cuentas son bajas, estos microorganismos son capaces de crecer a bajas temperaturas (4 a 8°C), pero con un buen control de temperatura de refrigeración durante su transporte y comercialización, se evita este crecimiento, ya que si se lleva a cabo, la -- mínima cantidad de microorganismos viables no podrá desarrollarse en la leche, cambiando su composición fisicoquímica.

Sucede lo contrario en las leches sin control de temperatura de refrigeración, donde se obtuvo cuentas altas de microorganismos psicrófilos, por consiguiente las pseudomonas que contaminaban el producto crecieron produciendo las alteraciones como la proteólisis de la leche. (Cuadro 3 "B").

La contaminación por microorganismos psicrófilos y -- pseudomonas en la leche, se debe fundamentalmente al manejo inadecuado del producto durante el transporte, siendo aquí donde se -- pierde la cadena fría, ya que carece de equipo de refrigeración.

El almacenamiento y la comercialización de la leche a temperatura ambiente, producen un aumento en la carga bacteriana. Existiendo una marcada diferencia en las cuentas de microorganismos psicrófilos y el % de pseudomonas, entre las leches en las que se controló la temperatura después de pasteurizadas y durante el transporte y las que no la tuvieron. (Comparar cuadros 1 "B" , 2 "B" y 3 "B").

Las pseudomonas aisladas con más frecuencia fueron:

A) Ps. Fluorescens 57% B) Ps. Aeruginosa 28 % y C) Otras 15 %, -- las que suman el 100% de los 3 muestreos.

El tamaño de las colonias en las muestras de leches --- crudas eran de 3 a 5 mm, aproximadamente, el cual se redujo a 0.5 y 1.0 mm, en las leches pasteurizadas.

Las leches que se comercializan en el D.F. no guardan una condición sanitaria adecuada siendo necesario mejorar las --- prácticas de higiene de la producción, sobre todo en el manejo y^a conservación de la leche durante su comercialización.

Es necesario hacer saber el público que la leche es un producto perecedero, que se descompone fácilmente si no se le da una buena refrigeración.

Los valores de acidez y prueba del azul de metileno se -- encontraron dentro de los rangos establecidos por el reglamento - de leches, sin embargo estas pruebas indican presencia de organismos ácido láctico, que son más fáciles de controlar mediante la --- refrigeración de 4°C. De importancia para la salud pública únicamente es la Ps. Aeruginosa la cual produce diarreas, dolor abdominal, náuseas, vómito, deshidratación y cianosis.

ANEXO

MATERIAL

- a). Determinación de psicrófilos. (9)
- b). Tipificación de Pseudomonas. (10)
- c). Prueba del azul de metileno. (18, 9 14)

METODOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

- a). Organismos Psicrófilos:

Agar para método estándar.

- b). Pseudomonas:

Bioquímicas:	Citrato de Simons	Oxidasa
	Kligler	Glucosa
	Movilidad	Maltosa
	Gelosa Nutritiva	
	Nitrato	

PROCEDIMIENTO PARA PSICROFILOS

- a). Distribuir las cajas de Petri estériles en la mesa de trabajo de manera que su inoculación, adición de los medios de cultivo y su rotación, se puedan realizar cómoda y libremente. - Marcar las tapas de las cajas con los datos pertinentes previamente a su inoculación.

b). Hacer diluciones decimales de la muestra 10^1 hasta 10^7 .

c). Transferir 1 ml de la muestra y de cada una de las diluciones a cajas de Petri estériles

d). Agregar 12 a 15 ml del medio de cultivo fundido y mantenido a temperatura de 45 a 48°C en baño de agua, mezclándolo con muestra y diluciones. (14)

e). Incubar las cajas en posición invertida el refrigerador por siete días a 5°C. (14)

f). Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 30 y 300 colonias. (14)

g). Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de hongos), incluyendo las colonias puntiformes. Hacer uso del microscopio para resolver los casos en los que no se puedan distinguir las colonias de pequeñas partículas de alimento.

h). Multiplicar por la inversa de la dilución para obtener el número de colonias por mililitro o gramo de la muestra.

i). Pseudomonas. Se picarán colonias cremosas y se transferirán a medios de:

Citrato de Simons: Estría

Kligler: Picadura y estría

King B.: Estría

Nitrato: Picadura

Oxidasa: Reactivo tetrametyl-parafenil-endiamina 2HCl.

Glucosa: Picadura

Maltosa: Estría

Movilidad: Picadura

Gelosa Nutritiva: Estría

j). Prueba de azul de metileno de media hora

TECNICA

En un tubo que contenga 10 ml de leche tomados de la -- muestra, se agregará 1 ml de la solución de azul de metileno. El tubo se cerrará asépticamente con un tapón de goma y se invertirá dos veces lentamente, de forma que toda la columna de aire se eleve por encima del nivel de la leche, en un período de cinco minutos el tubo se colocará en el baño maría a una temperatura de -- 37-38°C. (9, 14, 21)

Un tubo control será comparado con cada lote de tubos a-prueba. Este tubo control tendrá 10 ml de leche tomados de la -- misma muestra y 1 ml de agua destilada.

INTERPRETACION DE LA PRUEBA

La prueba será considerada satisfactoria para la leche- que no es capaz de decolorar el azul de metileno en treinta minutos.

Si la decoloración se produce en 15 minutos se considerará leche de mala calidad altamente contaminada; y leche de mediana calidad es aquella que decolore el azul de metileno en treinta minutos.

LITERATURA CITADA

1. Adams, D.M. and Brawley, T. G.: Factors influencing the heat resistance of a heat-resistant lipase of pseudomonas. J. Fd. Sci., 46 (3). 673-676 (1981).
2. Alais, Charles: Ciencia de la Leche. 2a. ed. C.E.C.S.A. -- México, D. F., 1980.
3. Auclair, J.: Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique. Rev. Laitière Française., 378: 37-39 (1980).
4. Brandt, M. J. and Ledford, R. A.: Influence on milk aeration on growth of psychotropic pseudomonas. J. Fd. Protec. 46 (2): 132-134 (1982).
5. Demeter, K. J. y Elbertzhagem, H.: Elementos de microbiología lactológica. Acribia. Zaragoza, España. 1971.
6. Foster, E. M., Eugene Nelson, D., Speck, M.L., Daetsh, R. N. y Olso, J.C.: Microbiología de la leche. ed. Herrero S. A. México, D. F. 1965.
7. Gebre- Egziabher, A. , Humbert, E. S. and Blankenagel G.: -- Heat-Stable proteases from psychrotrophs in milk. J. Fd. Protec., 43 (3) 197-200 (1980)
8. Goded, A.: Técnicas modernas aplicadas al análisis de la leche. ed. Dossat, S. A. Madrid, España 1966.

9. Hausles, W. J.: Standard methods for the examination of dairy product. A.P.H.A. 13 th ed. N. Y. 1972.
10. Harrigan, W. F. and McCance, M.E.: Laboratory Methods in -- Microbiology. Academic Press Lonnon. 1966
11. Lerche, M.: Inspección Veterinaria de la leche. Acribia. - Zaragoza España, 1969.
12. O.M.S.: Higiene de la leche, monografía No. 48. Organiza-- ción Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza, 1966.
13. O.N.U.: Tercer Informe del Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en higiene de la leche. Comité Mixto FAO-OMS. Roma, Italia, 1971.
14. S.S.A.: Técnica para el análisis bacteriológico de los alimentos. Dirección de Laboratorios de Salud Pública. Méxi-- co, D.F. 1982.
15. Thatcher, F.S. y Clark, D.S.: Análisis microbiológico de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España 1973.
16. Terrance, L. Smith and Witter, L.D.: Ivaluation of inhibi-- tors for Rapid Enumeration of Psychrotropic bacteria. J. Fd. Protec. 42 (2): 158-169 (1979).
17. Thomas, S.B.: Técnicas bacteriológicas para el control lac-- teológico. Acribia. Zaragoza, España 1971.

18. Veissyere, D.: Technologie du lait. 3a. ed. La Maison - - Rustique. Paris, France 1975.
19. Veran, M.: Cours de microbiologie des denrées alimentaires. Institute Pasteur de Lille. France (1980).
- 20 . Veran, M.: Cours de microbiologie des denrées limentaires. Instituto Pasteur de Lille. France. (1980).