

DEDICATORIAS

A DIOS: Por darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida.

A MIS PADRES:

José Ortíz Sánchez, "Chepe". Por brindarme todo su apoyo incondicional para que yo finalizara mis estudios. Sin su ayuda no habría sido posible llegar hasta aquí. ste triunfo quiero compartirlo contigo apá. Ya se terminaron los: "apá lléveme a éste lugar", eso creo...

Rosalía Peralta Quiñónez, "Chalía". Por ser mi sostén durante toda mi vida, en mi formación profesional y no dejarme caer. Siempre impulsándome a salir adelante, por apoyarme en todo y darme sus sabios consejos cuando mas lo necesitaba. Te lo agradezco mamá. Ya se terminaron los: "amá ayúdeme hacer ésta tarea", eso creo...

A MI HIJA: Una personita muy especial.

Nicole Gpe. Heredia Ortíz. Por ser mi inspiración a seguir adelante. Por estar ahí para jugar conmigo haciéndome reír cuando me encontraba muy estresada y presionada, ayudándome a sentirme mejor y contenta. **Te amo Kilito.**

A MI FAMILIA:

Por apoyarme cuando yo los necesitaba y brindarme de su atención. Gracias!

A MIS GRAN AMIGA Y COMPAÑERA:

Brenda, Te agradezco por todo tu apoyo y confianza que me brindaste durante la carrera y hasta el momento. Eres chila amiga!

A MI GRAN SABIO MAESTRO:

‡ *Chito Kay,* Gracias por tus asesorías y compartirme tus conocimientos durante toda la carrera. Me vas hacer mucha falta. Te extrañaremos. *Descanse en Paz.*

A MI MASCOTAS:

‡ A mis chuchos Donna, Gûera y a mi ratón Pinki, que fueron mi mejor compañía y me ofrecieron su ternura.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por permitirme finalizar mis estudios, por el momento... Por no abandonarme en la vida y abrigarme para sentirme segura en cualquier parte y seguir adelante echándole ganas.

AL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA. **Gracias...**

A mi asesor:

Ing. Anacleto Félix Fuentes. Por su gran apoyo y paciencia en la elaboración de este trabajo permitiéndome realizarlo en el laboratorio. Por compartirme sus conocimientos durante mi carrera y como siempre portándose muy afectuoso conmigo. **MUCHÍSIMAS GRACIAS INGE**

A mis revisores: Por formar parte de mi trabajo de investigación.

★ **Dra. Maritza Arellano.** Por su ayuda, paciencia y guiarme en mi trabajo de investigación. Por estar ahí siempre que la necesitaba cuando tenía alguna duda en mis tareas.
.
MUCHAS GRACIAS PROFE.

★ **Maestro Andrés.** Por su apoyo incondicional durante todo el tiempo que estuve asistiendo al laboratorio, gracias a ti conocí muchas cosas. Por compartirme sus consejos en mi trabajo de investigación.
MUCHAS GRACIAS ANDRÉS.

★ **Maestro Ernesto Cantú.** Por su apoyo, dedicación y compartirme sus ideas acerca de este trabajo, que me sirvieron de mucho. Por hacerme sentir positiva y alegre, gracias a su carácter activo y optimista. Sigue así!
MUCHAS GRACIAS ERNESTO.

A mis maestros del ITSON: Por sus enseñanzas y compartir sus conocimientos.

Laura Gassos, Olga Tavares, Olga Nidia, Ruth Ulloa, Rafael Angulo, Lupita Aguilar, Ma. Isabel Estrada, Raúl Holguín, Dalia Sánchez, Jaime López, Jorge Cabrera, Ana Ma. Rentarúa, Diana Patrón, Mayté Ruiz, Marisela Soto, Luís López, Roberto García, Cinthia Verduzco, Ramsés Cuevas, Martha Flores, Héctor Leyva, Rosa A. Beltrán. **GRACIAS.**

Al personal del laboratorio 500 Y 700: Por su amistad y grandes favores en el laboratorio.
Mario y Mariano. **GRACIAS.**

A mis maestros de la prepa (CBTa 197): Por brindarme su apoyo al necesitar sus asesorías.
Solano, Laura Esthela, Abel Márquez, Victorugo, Rosalinda Haro **GRACIAS.**



ITSON
Educar para
trascender

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

Depto. de Biotecnología y Ciencias Alimentarias

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA
LECHE CRUDA PRODUCIDA EN LA
POSTA DEL ITSON**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTA

MARÍA MARGARITA ORTÍZ PERALTA

CD. OBREGÓN, SONORA

SEPTIEMBRE DE 2007

ÍNDICE

	<i>Pág.</i>
<i>Dedicatorias</i>	
<i>Agradecimientos</i>	
LISTA DE TABLAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESÚMEN.....	vi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1 Antecedentes.....	1
I.2 Justificación.....	2
I.3 Planteamiento del problema.....	3
I.4 Objetivo general.....	4
I.5 Objetivos específicos.....	5
I.6 Hipótesis.....	5
CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	6
2.1 Importancia de la leche.....	6
2.2 Naturaleza y características.....	7
2.3 Características físico-químicas.....	8
2.3.1 Densidad.....	8
2.3.2 Viscosidad.....	8
2.3.3 Punto de congelación.....	8
2.3.4 Acidez y pH.....	9
2.4 Equipo y proceso de ordeño.....	9

ÍNDICE

2.4.1	Equipo de ordeño.....	9
2.4.2	Mantenimiento del sistema de ordeño.....	10
2.4.3	Proceso de ordeño.....	10
2.5	Microflora de la leche.....	11
2.5.1	Organismos mesófilos aerobios.....	12
2.5.2	Hongos y levaduras.....	12
2.5.3	Organismos coliformes fecales y totales.....	13
2.5.4	<i>Salmonella</i>	13
2.6	Focos de contaminación debidas al manejo inadecuado de la leche.....	14
2.6.1	Contaminación de la leche en el interior de la ubre.....	14
2.6.2	Contaminación de la leche en el exterior de la ubre.....	15
2.6.3	Contaminación del equipo de ordeño y los utensilios de lechería.....	15
2.6.4	Infecciones provocadas por leches contaminadas.....	16
2.7	Medidas de manejo para prevenir la contaminación microbiana de la leche.....	17
2.7.1	Lavado de la ubre.....	17
2.7.2	Medio ambiente.....	18
2.7.3	Enfriamiento.....	18
2.7.4	Transporte.....	19
2.8	Higiene de la Leche y Salud Pública.....	19
 CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS		 21
3.1	Descripción de la zona de estudio.....	21
3.2	Periodo de muestreo.....	21
3.3	Toma y transporte de muestra.....	23
3.4	Análisis microbiológico.....	24
3.4.1	Determinación de la cuenta total viable de mesófilos aerobios, por la técnica de vaciado en placa.....	24
3.4.2	Determinación de la cuenta total viable de hongos y levaduras.....	25

ÍNDICE

3.4.3	Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples.....	25
3.4.3.1	Coliformes Fecales.....	25
3.4.3.2	Coliformes Totales.....	26
3.4.4	Determinación del Numero Más Probable (NMP).....	27
3.4.5	Enriquecimiento y aislamiento de <i>Salmonella</i>	28
3.4.5.1	Enriquecimiento.....	28
3.4.5.2	Aislamiento.....	28
3.5	Pruebas bioquímicas confirmatorias.....	28
3.5.1	Interpretación de pruebas bioquímicas.....	29
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1	Cuenta total viable de mesófilos aerobios (UFC/mL).....	33
4.2	Cuenta total viable de hongos y levaduras.....	35
4.3	Número Más Probable (NMP) de Coliformes Totales.....	36
4.4	Número Más Probable (NMP) de Coliformes Fecales.....	37
4.5	Aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i>	39
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	40
	LITERATURA CITADA.....	42
	ANEXOS.....	46

LISTA DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCIÓN	PÁG.
1	Fechas de muestreo	21
2	Número Más Probable para coliformes totales y fecales	27
3	Resultados de la cuenta total viable de mesófilos aerobios (UFC/mL)	34
4	Resultados de la cuenta total viable de hongos y levaduras (UFC/mL)	35
5	Resultados de Coliformes Totales (NMP/mL)	36
6	Resultados de Coliformes Fecales (NMP/mL)	38
7	Resultados del aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i> .	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	NOMBRE DE LA FIGURA	PÁGINA
1	Sala de ordeño	22
2	Sitios de muestreo	23

RESÚMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias del Instituto Tecnológico de Sonora, durante el periodo de Septiembre de 2006 a Mayo de 2007.

Se realizaron muestreos mensuales a excepción del mes de octubre, en donde se efectuaron dos muestreos en el establo del ITSON, tomándose cuatro muestras de leche cruda cada mes de diferentes lugares, una muestra proveniente de la ubre de la vaca, una del recibidor de leche, y dos del tanque enfriador, en total fueron 40 muestras analizadas durante nueve meses.

Los análisis realizados fueron: determinación de la cuenta total viable de bacterias mesófilos aerobios, por la técnica de vaciado en placa (NOM-092-SSA1-1994), método para la cuenta de hongos y levaduras en alimentos (NOM-111-SSA1-1994), determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples (NOM-112-SSA1-1994), así como el aislamiento en medios selectivos e identificación por pruebas bioquímicas de *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994).

Los resultados obtenidos con respecto a mesófilos aerobios demuestran que el 50 por ciento de las muestras analizadas, no cumplen con la norma de la Secretaría de Salud que establece 30,000 UFC/mL.

RESÚMEN

Referente a hongos y levaduras se presentó desarrollo en un rango de 10 a 550,000 a excepción del mes de septiembre, marzo y mayo en muestras provenientes de la ubre de vaca, en donde no hubo desarrollo de estos microorganismos.

En lo que se refiere a coliformes totales el 57.5 por ciento de las muestras analizadas provenientes del tanque de refrigeración y 7.5 por ciento muestras procedentes del recibidor de leche, no cumplen con los parámetros establecidos por la Secretaría de Salud, en donde establece 10 NMP/mL. Mientras que para coliformes fecales el 75 por ciento hubo incidencia de estos microorganismos,

Respecto a *Salmonella*, no se detectó en ninguna de las 40 muestras, por lo que con respecto a este parámetro no representa ningún riesgo para el consumidor.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda tener precaución al consumir este producto sin la aplicación del proceso de pasteurización.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

I. I Antecedentes.

La obtención de leche, un producto altamente perecedero, varía desde el ordeño manual en establos con unos pocos animales hasta el uso de grandes y complejas maquinas ordeñadoras en explotaciones, de 3,000 cabezas bien equipadas, donde la operación del ordeño ocupa muchas horas al día. En las granjas de todo el mundo, las vacas se ordeñan dos veces al día. La calidad microbiológica inicial de la leche varía, por tanto, bajo cualquier tipo de situación, existen solo tres principales fuentes de contaminación microbiana de la leche: del interior de la ubre, del exterior de la ubre y pezones, del equipo de ordeño y otros utensilios de lechería (Robinson, 1987).

El Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) realizó por 10 años, análisis y monitoreos de leches, con el objetivo de determinar la calidad de la leche mexicana. El análisis bacteriológico efectuado a un poco menos del 10 por ciento de las leches que fueron muestreadas indicaron que solamente alrededor del 50 por ciento cumplían con el reglamento sanitario, por contener menos de 30 mil bacterias por mililitro; por lo que el panorama de la calidad de la leche hasta 1993, era preocupante; y en ese año algunas empresas decidieron establecer programas de mejoramiento de la calidad de la leche (Pérez, 2001).

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Payán (1998), menciona que la leche producida puede reunir los parámetros reglamentarios y de los contenidos nutricionales adecuados, sin embargo, los porcentajes obtenidos de varios estudios, mostraron que las instalaciones inadecuadas y las malas prácticas de higiene, dan como resultado la contaminación de la leche.

En la actualidad las principales industrias lácteas pagan el precio de la leche conforme a la calidad, pues se trata de un producto para consumo humano, capaz de producir enfermedades, aún en sus derivados, motivo por el cual los controles son cada día más severos, tanto para el comercio internacional como para el consumo en nuestro país (Kelly, 2003).

I. 2 Justificación.

En la región no existen estudios previos que determinen las causas de la contaminación y que evalúen la calidad microbiológica de la leche durante las diferentes etapas de producción.

La posta del ITSON cuenta con la infraestructura necesaria y las unidades de producción animal suficientes para la realización de estudios microbiológicos de la leche que sirvan para el diseño de un programa piloto que permita el monitoreo y la determinación de la calidad microbiológica que se está produciendo y de esta manera implementar las estrategias que permitan alcanzar los estándares de calidad establecidos por la Comisión Estatal de la leche.

El presente estudio se llevó a cabo con la intención de determinar la presencia y cantidad de microorganismos indicadores de contaminación y patógenos de leche cruda como *Salmonella* producida en la posta del ITSON. Ya que, al ser proveedor

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

de varias empresas lácteas, es de suma importancia identificar los puntos de contaminación y el tipo de microorganismo que contamina la leche.

Por tanto, esta investigación es de vital importancia debido a que en las plantas pasteurizadoras también han implementado castigos para aquellos establos que no cumplan los parámetros establecidos por la Secretaría de Salud, haciendo presión, motivando al dueño para que logren producir una leche de calidad

Con la realización de esta investigación será posible en un futuro próximo apoyar al establo de la posta del ITSON mediante pláticas referentes a la sanidad para la producción de leche de calidad bajo las condiciones de la región y cumpliendo con la normatividad establecida por la Secretaría de Salud.

I. 3 Planteamiento del Problema.

La leche, desde el momento mismo de su producción, está expuesta a que se le agreguen un sinnúmero de agentes microbianos. La cantidad y clase de estos agentes está en función de las prácticas de higiene y sanidad observadas en el manejo del producto durante su producción, transporte, procesamiento y venta.

Entre los grupos de contaminantes biológicos encontrados en la leche tenemos a las bacterias, los hongos, las rickettsias, los virus y las amibas. De éstos unos son patógenos para el hombre y otros saprófitos. La importancia de estos últimos estriba en el deterioro que causan la calidad de la leche y sus productos. La presencia de los primeros refleja la sanidad, y la de los segundos expresa el tratamiento higiénico de la leche (Robinson, 1987)

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Debido a lo anterior se plantea la siguiente pregunta:

¿La leche cruda obtenida de las ubres de la vacas en la posta del ITSON y que pasa por el recibidor de leche y el tanque de refrigeración, se sitúa dentro de los parámetros microbiológicos establecidos por la Secretaría de Salud?

Es por eso, el interés de realizar este estudio, el cual se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias del Instituto Tecnológico de Sonora, durante el periodo Septiembre-Mayo 2006-2007 y consiste en la realización de análisis a la leche cruda en distintas etapas de su proceso, producida en la posta del ITSON sobre el recuento de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras, determinación de coliformes fecales y totales, así como el aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas de los diferentes microorganismos que pudieran estar presentes en la leche como *Salmonella*, comprobar si cumple con la NOM-091-SSA1-1994, concretar su calidad sanitaria y determinar si es apta para consumo humano.

I. 4 Objetivo General.

Realizar análisis microbiológicos a la leche cruda que se produce en la posta del ITSON, mediante técnicas microbiológicas, con el fin de evaluar su calidad sanitaria, y determinar si cumple con los parámetros establecidos por la Secretaría de Salud.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

I. 5 Objetivos Específicos

- Localizar los sitios de muestreo en la posta del ITSON.
- Realizar la determinación de bacterias mesófilas aerobias en la leche cruda producida en la posta del ITSON, por la técnica de vaciado en placa.
- Realizar la determinación de hongos y levaduras en la leche cruda producida en la posta del ITSON, por la técnica de vaciado en placa.
- Determinar el número más probable (NMP) de coliformes fecales y totales en la leche cruda producida en la posta del ITSON, utilizando la técnica de tubos de fermentación múltiple.
- Determinar la presencia de *Salmonella* en la leche cruda producida en la posta del ITSON, mediante el aislamiento e identificación por pruebas bioquímicas.

I. 6 Hipótesis.

La leche cruda que se produce en la posta del ITSON, presenta contaminación microbiológica, debido al deficiente manejo sanitario del establo, tanto de las instalaciones como en los animales.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 Importancia de la leche.

La leche es el único material producido por la naturaleza para funcionar exclusivamente como fuente de alimento (Magariños, 2000). Es la materia prima de todos los productos lácteos por lo que la alteración de su calidad, en especial en cuanto a composición y propiedades físicas, influye sobre la aptitud de la misma para su transformación y/o elaboración, y puede afectar las características e inocuidad de los productos terminados (Reyes, 2007).

Un factor fundamental que influye sobre el valor de aceptación universal de la leche es la imagen que ésta representa, a saber, que constituye una fuente nutritiva, no superada por ningún otro alimento conocido por el ser humano (Magariños, 2000).

La leche y los productos lácteos son alimentos consumidos a diario por amplios sectores de la población, especialmente niños, por esta razón los ordenamientos legales de todos los países establecen que la leche destinadas a consumo humano no debe contener ninguna sustancia extraña o productos que influyan negativamente sobre su estado higiénico, valor nutritivo o características tecnológicas (Reyes, 2007).

La producción y comercialización de la leche constituye la principal actividad y representa prácticamente la única fuente de ingresos de las explotaciones lecheras, a través de la venta directa al consumidor o a empresas especializadas para su industrialización.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

El mercado para el productor en la actualidad, es poco atractivo por la inestabilidad de precios, tanto en los insumos necesarios como de la leche misma. Debido en parte a esto, la producción de la leche sigue siendo insuficiente para satisfacer las necesidades de la población, requiriéndose prioritariamente de una mayor producción y del establecimiento de campañas sanitarias y de programas para el control de la calidad de la leche producida, tanto para la industrialización como para ofrecer al mercado de leche fluida un producto calidad (Blanco, 2001).

2.2 Naturaleza y Características.

La leche es la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos, es un líquido de composición compleja, de color blanquecino y opaco, con un pH cercano al neutro y de sabor dulce, exento de calostro y que cumple con las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas (González, 2003).

Pérez (2001), explica que la calidad depende, por un lado, de la proporción de los componentes de la leche: grasas, proteínas, lactosa, vitaminas y minerales, y por otro lado, de la presencia de materiales o sustancias que pueden ser nocivas para la salud humana, o que pueden alterar la producción de derivados, alterar su sabor o bien reducir su duración en anaquel.

La contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos, alteración físico-química de sus componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas tales como pesticidas, antibióticos, metales, detergentes, desinfectantes, partículas de suciedad, etc. Todos éstos, ya sea en forma aislada o en conjunto, afectan negativamente la calidad higiénica y nutricional del producto y, consecuentemente, conspiran en contra de la salud pública y la economía (Magariños, 2000).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.3 Características Físico-Químicas.

A continuación se describen algunas características fisicoquímicas de la leche:

2.3.1 Densidad.

Es el peso específico de la leche, y la escala denominada como normal es de 1.027 a 1.032. Cuando es inferior se considera que la leche ha sido adicionada de agua o sustraída de sólidos, y si es superior la leche puede haber sido adicionada o contener residuos calostros. La densidad de la leche recién ordeñada es inestable y se eleva un poco después. El aumento es del orden de 0,001 (o sea 1 grado del lactodensímetro).

2.3.2 Viscosidad.

Se refiere a la resistencia que ofrece un fluido al movimiento relativo de sus moléculas. La leche es mucho más viscosa que el agua. Esto se debe, sobre todo la materia grasa en estado globular y a las macromoléculas proteicas; las sustancias en solución solo intervienen en una pequeña parte. Toda modificación que actúe sobre la grasa o las proteínas, tendrá un efecto sobre la viscosidad.

2.3.3 Punto de congelación.

La leche se congela por debajo de 0°C, ya que las sustancias disueltas rebajan el punto de congelación de los disolventes puros (crioscópica). El punto real de congelación es -0.536°C y se toma como media -0.550°C con un rango considerado entre -5.535 y -0.575°C.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.3.4 Acidez y pH.

Es la medición titulable del contenido de ácido en la leche. La mayoría de las muestras frescas de leche tienen entre 1.4 y 1.9 mili equivalentes de ácido láctico por cada 100 mililitros. La determinación de ácido láctico se vuelve importante para detectar las contaminaciones bacterianas puesto que las bacterias utilizan la lactosa de la leche convirtiéndola en ácido láctico y por lo tanto aumentando la acidez titulable. El pH normal de la leche esta entre 6.4 y 6.7 (Alais, 1998).

2.4 Equipo y Proceso de Ordeño.

Desde el punto de vista sanitario, la forma de ordeñar al ganado, representa un papel importante en el estado de salud de las ubres y en la calidad de la leche que se produce (Ávila *et al.*, 2003).

2.4.1 Equipo de ordeño.

El equipo de ordeño más simple es el cubo utilizado en el ordeño manual. Las máquinas ordeñadoras constan de uno o más juegos de pezoneras que conducen la leche como: cántaras o cubos, directamente a tuberías de conducción y a recipientes de registro que posteriormente descargan la leche a tuberías. Las tuberías transportan la leche a tanques colectores desde donde se bombea al tanque de refrigeración (Robinson, 1987).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.4.2 Mantenimiento del sistema de ordeño.

Según Harmon, (2001) el mantenimiento mensual, la revisión del vació, la limpieza de conductos, pulsaciones y mamilas, así como la supervisión en el funcionamiento del sistema de enfriamiento, aseguran una correcta obtención de la leche.

No todos los ranchos sanitizan previamente o realizan correctamente un proceso de sanitización rutinario previo al siguiente ordeño. Con lo cual se da inicio a un ordeño con un equipo contaminado. Para una correcta limpieza y sanitización del equipo del ordeño se deben utilizar la temperatura, pH, tiempo y volumen de agua adecuada. La temperatura del agua para el lavado alcalino y ácido debe ser de 80°C aunado al sistema de pulsaciones durante el proceso de lavado y desinfección del sistema, ayudará a desincrustar tanto la grasa de la leche, como la proteína, minerales y el detergente, de todas las cuarteadoras de la tubería (Aguado, 1999).

2.4.3 Proceso de ordeño.

Kelly, (2003) maneja el proceso de ordeño de la siguiente manera: Inicia específicamente con el trato que reciben los animales en ordeño y los controles sanitarios que deben realizarse en la sala de ordeño. Aquellos caminos por los que transitan las vacas deben estar en el mejor estado posible, es decir, consolidados. Los problemas de barro son frecuentes y lo que debemos evitar es que las ubres lleguen embarradas a la sala de ordeño. En el caso de que esto no sea posible, hay que tener la precaución de lavar solamente los pezones y no toda la ubre, para evitar que se chorree agua adentro de la pezonera. Por otro lado, si se lava toda la ubre, nos llevaría demasiado tiempo para que quedaran en condiciones higiénicas adecuadas y consecuentemente, se alargarían los tiempos de ordeño. Después de esta operación es conveniente hacer un secado de los pezones con toallas de papel descartable.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

El siguiente paso es despuntar de dos o tres chorritos de cada cuarto antes de que se conecte la máquina, estimulará aun más la bajada de leche (Kelly, 2003). Es importante señalar que la leche acumulada en el pezón tiene una gran cantidad de bacterias, ésta es baja en grasa y es mejor mantenerla fuera del tanque (Seykora, 2004).

Después se coloca la pezonera. Según Fernández, (2000) es primordial que el tiempo transcurrido entre la entrada de la vaca a la sala de ordeño y la colocación de las unidades de ordeño no sea mayor de 90 minutos.

Antes que la vaca abandone la sala de ordeña se puede aplicar un desinfectante (conocidos como “selladores de pezones”) para disminuir la entrada de bacterias por el esfínter del pezón, ya que este permanece abierto durante unas dos horas aproximadamente debido al proceso de apertura y cierre del ordeño (Kelly, 2003).

Luego es necesario evitar la echada post ordeño, sobre todo en corrales, con el fin de evitar que la ubre entre en contacto con la tierra, foco de alta contaminación por bacterias (Kelly, 2003).

2.5 Microflora de la Leche.

La leche, es un producto que fácilmente corre el riesgo de contaminación microbiana, que se deriva de una cadena de malas practicas, que van desde el momento en que se obtiene de la glándula mamaria de la vaca, hasta su distribución del producto elaborado, y por ende en cada una de las etapas del proceso de industrialización (Payán,1998).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.5.1 Organismos mesófilos aerobios.

Algunos de los microorganismos que puede presentar la leche inicialmente pueden ser micrococos, *streptococos*, *bacillus*. Diferentes observadores han informado que existen amplias variaciones en la incidencia de microorganismos termodúricos y psicrotrofos en la leche cruda; algunas pueden ser de carácter regional y estacional y otras están asociadas a los métodos de limpieza y desinfección del equipo empleado en los establos (Robinson, 1987).

Adams y Moss, (1997) encontraron que la brucelosis ha sido relacionada por el consumo de leche fresca o productos lácteos de un animal infectado, aunque el riesgo es menor. Estos organismos del género *Brucella* son destruidos por calentamiento a 63°C durante 7-10 minutos, pero cuando se eliminan en un animal infectado puede sobrevivir durante varios días con tal de que la acidez permanezca baja.

2.5.2 Hongos y levaduras.

Estos microorganismos pertenecen indiscutiblemente al reino vegetal por su estructura celular; la célula está rodeada de celulosa y contiene un núcleo bien diferenciado. Las levaduras son generalmente unicelulares y las actividades bioquímicas de las levaduras son similares a las de ciertas bacterias heterótrofas, a las cuales se encuentran a veces asociadas. Los mohos son, en general más complejos en su morfología y en su modo de reproducción. Levaduras y mohos son facultativamente aerobios; crecen más fácilmente en presencia de aire. La sensibilidad de estos microorganismos a los agentes antibacterianos, y más especialmente a los antibióticos, es diferentes a las de las bacterias. Por el contrario, su sensibilidad al calor es del mismo orden que la de las bacterias no esporuladas (Alais, 1998).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.5.3 Organismos coliformes fecales y totales.

La incidencia de coliformes y *Escherichia coli* en la leche cruda ha recibido una atención considerable por diversas razones. Por una parte, debido a su asociación a las contaminaciones de origen fecal; por otra a consecuencia de que su crecimiento en leche a temperatura ambiente puede dar lugar a la alteración y una tercera, debido a la mastitis producida por *E. coli*. (Robinson, 1987).

Estas bacterias se encuentran, en el suelo, tierra, agua y aire, y se incrementan los números en el lodo, estiércol y ciertos tipos de “camas” para las vacas. Una característica importantísima es que su incremento se potencializa cuando existe humedad, y trae como consecuencia lógica, pensar que los establos con gran acumulación de lodo y estiércol, sobre todo en época de lluvias, favorecen grandemente la proliferación de coliformes (Payán, 1996).

2.5.4 *Salmonella*.

Los varios serotipos que conforman el género *Salmonella* son ahora, posiblemente el grupo más importante de bacterias que afectan a la salud pública. Los microorganismos son bacilos Gram negativos que no forman esporas, de 0.5 a 0.7 de ancho por 1 a 3 micras de largo. Poseen flagelos peritricos y son anaerobias facultativas. Los síntomas típicos de la salmonelosis son gastroenteritis aguda, diarrea, fiebre, náuseas, vómitos y dolor de cabeza. Sin embargo las enfermedades más serias desarrolladas por serotipos específicos son la fiebre tifoidea (*Salmonella Typhi*) y la paratifoidea (*Salmonella paratyphi* y *Salmonella schottmuelleri*) (Pelczar, 1993).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Se ha demostrado que *Salmonella Typhi* puede infectar la ubre, por tanto, los portadores humanos pueden ser también el origen de infección en los brotes producidos por el consumo de leche y así se ha descrito para infecciones por *Salmonella* (Robinson, 1987).

2.6 Focos de Contaminación debidas al Manejo Inadecuado de la leche.

Los microorganismos que se encuentran en la leche tienen tres orígenes: el interior de la ubre, el exterior de los pezones y sus alrededores próximos, del equipo de ordeño y los utensilios de lechería (Adams y Moss, 1997).

2.6.1 Contaminación de la leche en el interior de la ubre.

Aún en el caso de que la glándula mamaria se encuentre sana, se reconoce que las primeras porciones de leche ordeñada contienen microorganismos, disminuyendo su número a medida que el ordeño avanza. Esto explica porque el canal del pezón se encuentra colonizado por muchos microorganismos, como por ejemplo, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *E. coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, etc.

Esta contaminación se incrementa por el reflujo producido por la máquina ordeñadora, que arrastra los microorganismos que colonizan la punta del pezón, hacia el interior de la ubre (Magariños, 2000). Después del ordeño, la válvula muscular que rodea el esfínter del pezón permanece abierta por el curso de 1 a 2 horas y cualquier bacteria que este presente durante este tiempo puede ingresar al interior del pezón. Una vez infiltradas en el canal del pezón, las bacterias se multiplican en número y producen toxinas que causan la destrucción del tejido mamario (Loor *et al.*, 2002).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.6.2 Contaminación de la leche en el exterior de la ubre.

Durante el ordeño, las bacterias pueden estar presentes cerca del esfínter del pezón. Estas bacterias pueden originarse debido a la presencia de lodo, tierra, estiércol y humedad cerca de o en el esfínter del pezón. La colonización bacteriana también puede ocurrir si la piel del pezón tiene alguna lesión, si la superficie de las pezoneras o mangueras de conducción de leche están sucias, y principalmente si el procedimiento de preparación pre-ordeño no es lo suficientemente sanitario e higiénico (Loor *et al.*, 2002).

La eliminación de los pelos de la ubre reduce la cantidad de suciedad y heces adheridas, que pueden contaminar la leche. Las ubres sucias son más difíciles de limpiar y el ordeño con pezones húmedos o sucios aumenta el riesgo de contaminación bacteriana en la leche (González, 2003).

2.6.3 Contaminación del equipo de ordeño y los utensilios de lechería.

Las vacas se ordeñan normalmente dos veces al día y las máquinas ordeñadoras han de limpiarse después de cada ordeño. Debido a la complejidad de estas máquinas y a la de algunos de sus componentes, la limpieza y, en particular, la desinfección de las mismas puede que siempre no sea perfecta por lo que los residuos de leche y las bacterias asociadas a ellos no se eliminan totalmente del equipo tendiendo a acumularse diariamente. Excepto cuando el clima es muy frío, las bacterias que han pertenecido en el equipo se multiplican entre ordeño y ordeño, incrementándose sus tasas rápidamente antes que se hagan visibles los residuos. Por ellos la contaminación microbiana no puede detectarse, desgraciadamente, mediante una simple inspección visual.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Cuando las vacas se ordeñan manualmente es probable que las operaciones del ordeñador destinadas a la eliminación del polvo y suciedades den lugar a un incremento de la contaminación aérea en el entorno de la ubre. Por otra parte, el contacto con las manos puede originar una adición de microorganismos en la leche. Los riesgos de contaminación de la leche a partir del ordeñador son mucho menores que los de las máquinas ordeñadoras (Robinson, 1987).

2.6.4 Infecciones provocadas por leches contaminadas.

Las intoxicaciones alimentarias de origen bacteriano, deben señalarse aquellas enfermedades que se producen debido a una intensa contaminación de la leche, como es el caso de *Escherichia coli* que ocasiona gastroenteritis y el Síndrome Hemolítico Urémico; *Clostridium perfringens* causante de gastroenteritis; *Salmonella* que ocasiona gastroenteritis y fiebre tifoidea; y *Staphylococcus aureus* que causa vómito, etc., (Marth y Steele, 2001).

Las enfermedades más importantes y graves producidas como consecuencia del consumo de leche cruda son la tuberculosis y brucelosis. En ambos casos las bacterias responsables son: *Mycobacterium Boris* o *M. tuberculosis* y *Brucella abortus*, *B. melitensis* o *B. suis*, pueden ser excretadas en la leche de los animales infectados (Robinson, 1987).

En México las enfermedades transmitidas por alimentos contribuyeron en un 7.6 por ciento de la mortalidad total en el país, actualmente no figuran entre las primeras diez. Sin embargo, en los últimos 10 años se han registrado 363 brotes, la mitad de ellos por intoxicación alimentaria, le siguen en frecuencia la fiebre tifoidea, hepatitis y salmonelosis. Estos brotes afectaron 14,412 personas y se notificaron 249 defunciones. Los alimentos reportados son muy variados y resaltan por su frecuencia el queso, la leche, el pastel, el pollo y la carne de res (Torres, 1999)

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.7 Medidas de Manejo para Prevenir la Contaminación Microbiana de la leche.

Evitar la contaminación y posterior proliferación de los microorganismos en la leche, es un constante problema en la producción y elaboración de este producto. Debido a esto, se han creado métodos para lograr bajar los niveles de contaminación, mediante un manejo más higiénico, lo que ha posibilitado un mejoramiento de la calidad higiénica (Magariños, 2000).

2.7.1 Lavado de la ubre.

Antes de iniciar el ordeño, las manos deben limpiarse con jabón y agua (González, 2003). Los pezones deben estar limpios y secos antes de colocar la unidad de ordeño. Se recomienda el uso de desinfectantes para lavar las ubres y usar toallas individuales para la limpieza. Seykora, (2004) considera que las esponjas y trapos se vuelven rápidamente un campo fértil para bacterias y no tienen lugar en una explotación lechera moderna.

Harmon, (2001) ha demostrado que el presellado; es decir, el uso de germicidas para sumergir pezones y desinfectantes antes del ordeño, reduce hasta 50 por ciento la contaminación. Al final del ordeño debe aplicarse un sellador germicida efectivo en todos los pezones para eliminar las bacterias que se depositan en la piel durante el ordeño.

El sellado es una práctica muy importante de que no realizarse correctamente se ve reflejado inmediatamente en el conteo de células somáticas que se realiza una vez al mes en cada vaca, o diariamente en el tanque de almacenamiento (Harmon, 2001).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.7.2 Medio ambiente.

Las áreas de descanso limpias previenen la contaminación de las puntas de los pezones de fuentes ambientales y reducirán el tiempo de preparación antes del ordeño, por lo que tienen una influencia directa en la calidad de la leche. Detalles de interés son un buen drenaje, remoción rutinaria del estiércol y una ventilación adecuada.

Se sabe que las moscas transportan bacterias de un lugar a otro. Con frecuencia transportan patógenos causantes de heridas y mordeduras en las puntas de los pezones que pueden generar sitios de infección en las vacas. El control básico de moscas involucra la prevención de los sitios de reproducción, sacando frecuentemente el estiércol y alimentos en descomposición. Los aretes insecticidas y los aerosoles también suelen ser útiles (Payán, 2000).

2.7.3 Enfriamiento.

Para mantener las características organolépticas, y la buena calidad microbiológica por un tiempo de 2 a 3 días es necesario contar con un sistema de enfriamiento. Mientras más rápido sea éste, menos oportunidad tendrán las bacterias de multiplicarse y mayor será el periodo de tiempo que la leche pueda ser almacenada.

La agitación de la leche tiene un triple propósito: a) Colocar la leche en movimiento de manera tal que la transferencia calórica con el evaporador sea la adecuada; b) Para prevenir el congelado de la leche y c) Para asegurar que la grasa de la leche permanezca proporcionalmente distribuida de manera tal que no haya formación de una capa de crema en la superficie (Mayora, 2003).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Factores como enfriamiento, agitación y lavado del tanque enfriador juegan un papel importante especialmente con relación al almacenaje de la leche. En general, se puede decir, que el tanque enfriador de leche debe ser capaz de mantener la calidad de la leche tal cual fue extraída. (Mayora, 2003).

2.7.4 Transporte.

Cuando la cantidad de leche recogida por kilómetro recorrido es baja, el periodo de transporte se hacen muy largos con graves consecuencias sobre la calidad de la leche debido a la agitación prolongada y a la elevación de la temperatura.

La mejor alternativa, en cuanto a los recipientes para transportación se refiere, son aquellos botes construidos de acero inoxidable y sin duda, el método de recolección más racional es el que cuenta con tanque refrigerado en el establecimiento productor y el camión cisterna, reduciéndose la manipulación a un mínimo y simplificándose las operaciones de limpieza (Magariños, 2000).

2.8 Higiene de la Leche y Salud Pública.

Hoy en día los consumidores están cada vez más preocupados en la salubridad de los alimentos que se consumen. Además los consumidores están más alejados del campo y entienden menos las prácticas modernas de la producción de alimentos. Cuando se desarrollan preocupaciones por parte de los consumidores, los productores de leche (como participantes de la cadena de producción de alimentos) deben reaccionar y responder. Los productores de leche pueden mejorar la sanidad de los productos alimenticios haciendo mejoras en el manejo para consumidores (Ruegg, 2004).

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Reyes y Soltero, (2006) afirman que las condiciones de higiene y sanidad en las explotaciones lecheras tienen un efecto importante en la calidad microbiológica de la leche, cuanto mayores sean los cuidados aplicados a la obtención higiénica de la leche y a la sanidad de los animales productores de leche, menores serán los contenidos microbianos en la misma. Asimismo, corrales libres de estiércol y lodo, salas de ordeño limpias, equipo de ordeño funcionando de manera adecuada y una rutina de ordeño correcta, resultarán en una baja incidencia de contaminantes.

No obstante, este alimento cuando no es manejado de manera adecuada, es un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades al hombre, tanto las de carácter zoonótico como las ocasionadas por patógenos que se producen por la contaminación de los productos durante los procesos de obtención y transformación de la leche (Reyes y Soltero, 2006).

Debido en parte a esto, la producción de leche sigue siendo insuficiente para satisfacer la demanda de la población, por lo que necesita de una mayor producción y del establecimiento de campañas sanitarias y de programas para el control de la calidad de la leche que se produce (Blanco, 2001). Sin embargo, ahí entran otros procesos que van entrelazándose para lograr mejor calidad de leche y para asegurar la calidad participan varias autoridades, como la Secretaría de Salud, SECOFI y Profeco. (García, 1996).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción de la Zona de Estudio.

El estudio se realizó en el establo de la posta del ITSON (Figura 1), localizado en la calle 1 y prolongación de la calle 200, block 204 del Valle del Yaqui. Coordenadas geográficas 27°20'40'' latitud norte, 110°13'4'' longitud oeste ubicado a 35 metros de altura sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio anual de 38.68°C y mínima de 17.41°C, precipitación pluvial de 520.1 milímetros (INIPAF 2001).

3.2 Periodo de Muestreo.

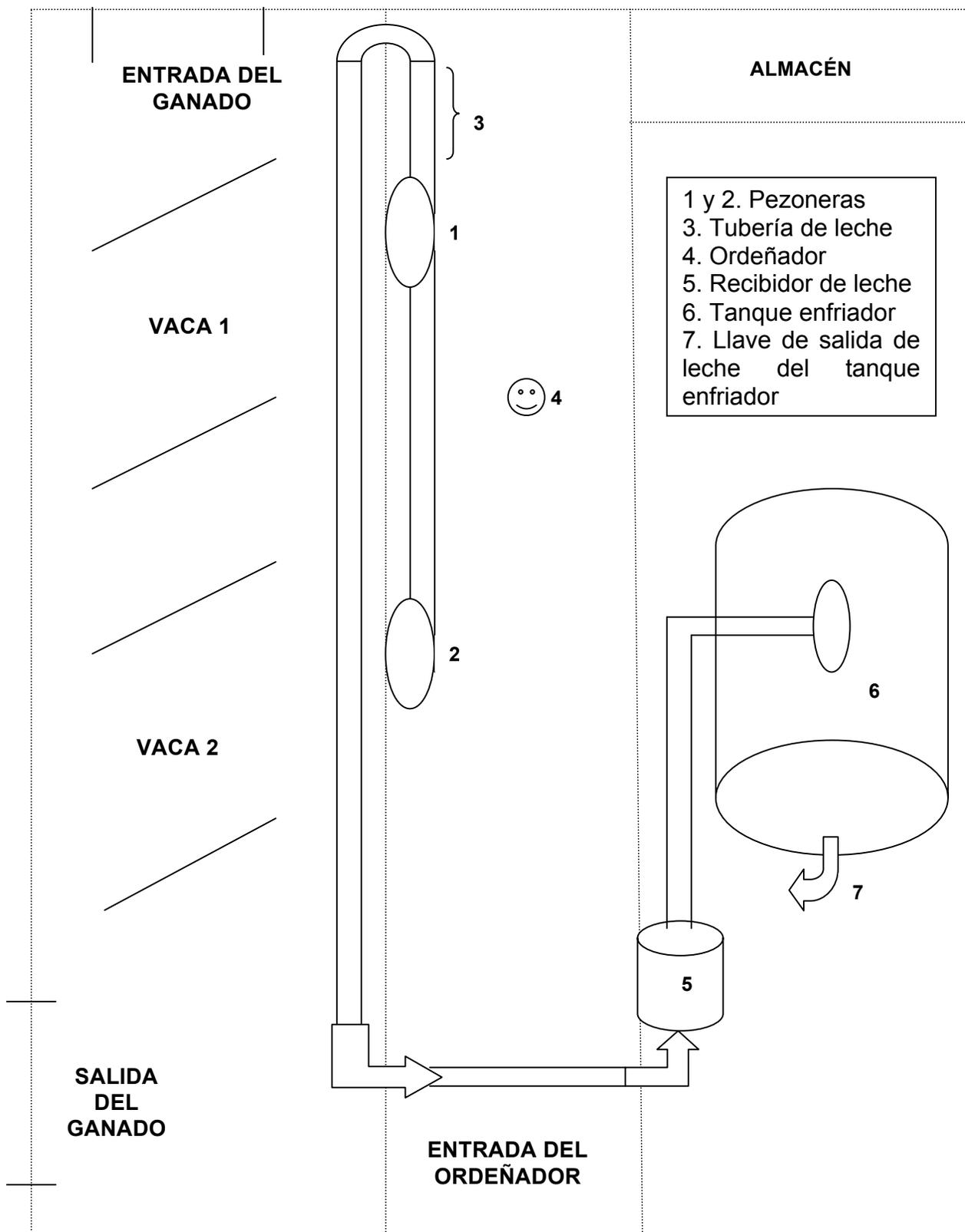
Se realizaron muestreos durante nueve meses en el periodo de Septiembre de 2006 a Mayo del 2007, las fechas exactas de muestreo se observan en la Tabla 1.

Tabla 1. Fechas de muestreo

Muestreos	Fechas
1	28 de Septiembre de 2006
2	11 de Octubre de 2006
3	24 de Octubre de 2006
4	15 de Noviembre de 2006
5	05 de Diciembre de 2006
6	23 de Enero de 2007
7	13 de Febrero de 2007
8	18 de Marzo de 2007
9	24 de Abril de 2007
10	7 de Mayo de 2007.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 1. Sala de Ordeño. (Posta del ITSON, 2007)



CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3 Toma y Transporte de Muestra.

Las muestras se recolectaron por la mañana durante la ordeña, se utilizaron frascos de vidrio limpios y esterilizados. Se tomaron 10 muestras de la ubre de la vaca (sitio I), 10 del recibidor de leche (sitio II) y 20 del tanque enfriador (sitio III y IV) completando un total de 40 muestras (Figura 2). Para la toma de muestra se abrió el frasco cuidando de no tocar la boca del mismo con las manos u otro material; posteriormente se recolectaron 300mL aprox. para el análisis.

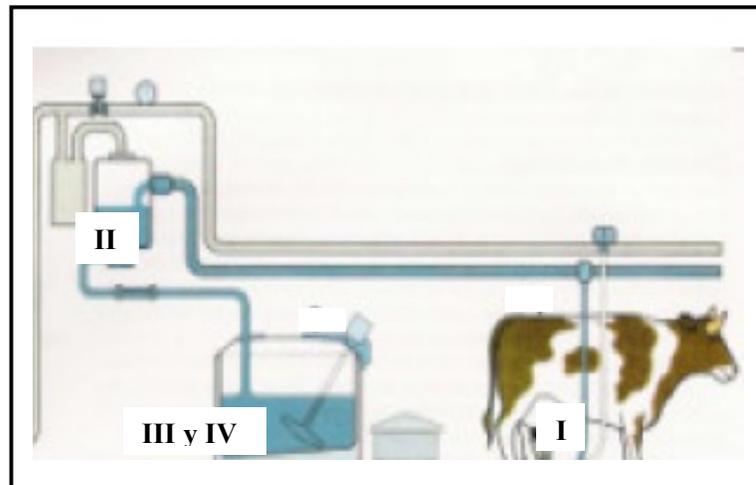


Figura 2. Sitios de muestreo

Se colocaron en una hielera para su transporte, conservándolas aproximadamente 4°C con suficiente hielo, cuidando que el éste cubriera hasta la altura de la leche; el análisis se realizó en un tiempo no mayor de 6 horas, a fin de evitar resultados erróneos (NOM-109-SSA1-1994).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4 Análisis Microbiológico.

Los muestreos conectados para esta investigación se procesaron de acuerdo con las siguientes normas:

- NOM-092-SSA1-1994, Determinación de la cuenta total viable de mesófilos aerobios, por la técnica de vaciado en placa.
- NOM-111-SSA1-1994, Método para la cuenta de hongos y levaduras.
- NOM-112-SSA1-1994, Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples.
- NOM-114-SSA1-1994, Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.

3.4.1 Determinación de la cuenta total viable de mesófilos aerobios, por la técnica de vaciado en placa.

Para llevar a cabo este análisis se utiliza la técnica de diluciones de vaciado en placa. Primeramente la muestra se homogeniza agitándola alrededor de 25 veces, se toma una alícuota de 10 mL y se agregan a 90 mL de solución buffer de fosfato para obtener la dilución 10^{-1} , posteriormente se toma 1 mL de la dilución homogenizada y se añade a un tubo con 9 mL de solución buffer de fosfato y se obtiene la dilución 10^{-2} , y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-5} .

Luego se toma 1 mL de la muestra 10^{-1} hasta la dilución 10^{-5} , y se depositan en cajas Petri respectivamente. Así se añaden de 15-20 mL de agar cuenta estándar métodos previamente esterilizado y se dejan solidificar para posteriormente incubar a 35-37°C durante 24-48 horas. Durante este periodo se realizan conteos de las colonias desarrolladas en cada placa a las 24 y 48 horas. Para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC/mL), se multiplica el número de colonias por la inversa de la dilución correspondiente (NOM-092-SSA1-1994).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.2 Determinación de la cuenta total viable de hongos y levaduras.

Para llevar a cabo este análisis se utiliza la técnica de diluciones de vaciado en placa. Primeramente la muestra se homogeniza agitándola alrededor de 25 veces, se toma una alícuota de 10 mL y se agregan a 90 mL de solución buffer de fosfato para obtener la dilución 10^{-1} , posteriormente se toma 1 mL de la dilución homogenizada y se añade a un tubo con 9 mL de solución buffer de fosfato y se obtiene la dilución 10^{-2} , y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 10^{-5} .

Luego se toma 1 mL de la muestra 10^{-1} hasta la dilución 10^{-5} , y se depositan en cajas Petri respectivamente. Así se añaden de 15-20 mL de agar dextrosa de papa previamente esterilizado y se dejan solidificar para posteriormente incubar en posición invertida a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24 a 48 horas. Durante este periodo se realizan conteos de las colonias desarrolladas en cada placa a las 24 y 48 horas. Para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC/mL), se multiplica el número de colonias por la inversa de la dilución correspondiente (NOM-111-SSA1-1994).

3.4.3 Determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y coliformes fecales por la técnica de fermentación de tubos múltiples.

3.4.3.1 Coliformes Fecales.

Prueba presuntiva. Se agita la muestra a fin homogenizada agitándola alrededor de 25 veces, se toma una alícuota de 10 mL y se agregan a 90 mL de solución buffer de fosfato para obtener la dilución 10^{-1} hasta 10^{-3} , posteriormente se toma 1 mL de cada dilución homogenizada y se inocula a tres tubos con 10 mL de caldo lauril sulfato triptosa, realizarlo por triplicado. Para posteriormente incubar los tubos a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 2 horas. Examinar los tubos a las 24 ± 2 horas y observar si hay producción de gas en la campana de fermentación y turbidez en el medio, si no hay seguir incubando hasta las 48 ± 2 horas.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

Prueba confirmativa. Agitar suavemente los tubos de caldo lauril sulfato triptosa, que resultaron positivos en la prueba presuntiva. Transferir de 2 a 3 asadas de cada tubo al caldo EC (Eijkman). Posteriormente incubar los tubos de $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ en baño de agua y observar si hay producción de gas y turbidez a las 24 ó 48 horas

Considerar la prueba positiva si hay formación de gas y turbidez en cualquier cantidad y determinar el número de organismos coliformes de acuerdo con la Tabla 2, tomando como base el número de tubos positivos.

3.4.3.2 Coliformes Totales.

Prueba presuntiva. Se agita la muestra a fin homogenizada agitándola alrededor de 25 veces, se toma una alícuota de 10 mL y se agregan a 90 mL de solución buffer de fosfato para obtener la dilución 10^{-1} hasta 10^{-3} , posteriormente se toma 1 mL de cada dilución homogenizada y se inocula a tres tubos con 10 mL de caldo lauril sulfato triptosa, realizarlo por triplicado. Para posteriormente incubar los tubos a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 2 horas. Examinar los tubos a las 24 ± 2 horas y observar si hay producción de gas en la campana de fermentación y turbidez en el medio, si no hay seguir incubando hasta las 48 ± 2 horas.

Prueba confirmativa. Agitar suavemente los tubos de caldo lauril sulfato triptosa, que resultaron positivos en la prueba presuntiva. Transferir de 2 a 3 asadas de cada tubo al caldo lactosa bilis verde brillante. Al efectuar la reinoculación, sostener el tubo primario (lactosado) en ángulo tal que se pueda tomar la asada evitando la película que existiera en el medio, sacar el asa en sentido perpendicular a su superficie de manera que se forme un menisco bien definido, después incubar el caldo lactosa bilis verde brillante a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

Considerar la prueba positiva si hay formación de gas en cualquier cantidad y determinar el número de organismos coliformes de acuerdo con la Tabla 2, tomando como base el número de tubos en el que se observe producción de gas y turbidez (NOM-112-SSA1-1994).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.4 Determinación del Número Más Probable (NMP).

Los resultados de las pruebas para organismos coliformes totales y fecales por la técnica del Número Más Probable (NMP). A cada una de las series se le determina el número de tubos que fueron positivos en su producción de gas y turbidez (prueba confirmativa). Estas cifras significativas, se llevan a la tabla del Número Más Probable (NMP) y se determina el índice de coliformes por ml de muestra (Tabla 2).

Tabla 2. Número Más Probable para coliformes totales y fecales.

Número Más Probable de microorganismos y límites de confianza para diferentes combinaciones de tubos positivos, cuando se inoculan tres tubos con 1 mL de la dilución 10^{-1} , tres con 1 mL de la dilución 10^{-2} y tres con 1 mL de la dilución 10^{-3} de la muestra.

Combinación de tubos positivos			NMP/mL de muestra	Límites de confianza al 99%		Límites de confianza al 95%	
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Inferior	Superior	Inferior	Superior
0	1	0	3.0	<1	23	<1	17
1	0	0	4.0	<1	28	1	21
1	0	1	7.0	1	35	2	27
1	1	0	7.0	1	36	2	28
1	2	0	11.0	2	44	4	35
2	0	0	9.0	1	50	2	38
2	0	1	14.0	3	62	5	48
2	1	0	15.0	3	65	5	50
2	1	1	20.0	5	77	8	61
2	2	0	21.0	5	80	8	63
3	0	0	23.0	4	177	7	129
3	0	1	40.0	10	230	10	180
3	1	0	40.0	10	290	20	210
3	1	1	70.0	20	370	20	280
3	2	0	90.0	20	520	30	390
3	2	1	150.0	30	660	50	510
3	2	2	200.0	50	820	80	640
3	3	0	200.0	100	1,900	100	1,400
3	3	1	500.0	100	3,200	200	2,400
3	3	2	1.100.0	200	6,400	300	4,800

Fuente: (NOM-112-SSA1-1994).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.5 Enriquecimiento y aislamiento de *Salmonella*

3.4.5.1 Enriquecimiento.

A partir de la muestra problema homogenizada, se toma directamente una alícuota de 15 mL y se inocula en 125 mL de Caldo Selenito-Cistina posteriormente se incuban a 37°C por 24 horas.

3.4.5.2 Aislamiento.

A partir del medio anterior, se siembra por estrías por agotamiento en agar McConkey o SS y se incuban a 35-37°C por 24 horas. Se seleccionaron de uno a dos colonias sospechosas (colonias transparentes con centro negro), para su identificación mediante pruebas bioquímicas (NOM-114-SSA1-1994).

3.5 Pruebas Bioquímicas Confirmatorias.

Se realizó a cada una de las colonias las siguientes pruebas:

- Aprovechamiento del carbono de la glucosa
- Aprovechamiento del carbono de la lactosa.
- Producción de gas a partir de la glucosa.
- Producción de indol.
- Movilidad.
- Hidrólisis de la gelatina.
- Utilización del citrato como fuente de carbono.
- Producción de ureasa.
- Producción del ácido sulfhídrico.
- Prueba del rojo de metilo.
- Prueba de Voges-Proskauer.
- Prueba de la oxidasa.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

- Prueba de la catalasa.
- Aprovechamiento del malonato.
- Reacción oxidativa y fermentativa.
- Descarboxilación de la lisina.
- Descarboxilación de la ornitina.
- Desaminación oxidativa de la lisina.

Para llevar a cabo las pruebas anteriores se requirió de los siguientes medios de cultivo.

- Agar citrato de Simmons.
- Agar de hierro triple azúcar.
- Agar LIA.
- Medio SIM.
- Medio MIO.
- Medio basal OF
- Caldo urea
- Caldo MR-VP.
- Gelatina Nutritiva.
- Caldo malonato de Swing modificado.

La siembra de los diferentes medios de cultivo se realizó según las necesidades para cada prueba utilizando las siguientes técnicas: por adición directa, por picadura, por estría y en algunos casos utilizando las dos técnicas. Se manejó un asa recta de platino para tal fin.

3.5.1 Interpretación de pruebas bioquímicas.

Agar Citrato de Simmons. El agar Citrato de Simmons determina si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, provocando alcalinidad. Este medio es inoculado por picadura en el fondo y por

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

estrías en la superficie, se incubaba a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 96 ± 2 horas. La prueba es positiva si existe un crecimiento acompañado de un cambio de color verde a azul, y si hay ausencia de crecimiento y sin vire de color, es negativa (Mac Faddin, 1984).

Medio SIM. Es útil para la identificación de bacilos entéricos. La interpretación de este tipo de medio es de la siguiente manera: la movilidad, si es positiva existe un crecimiento a lo largo de la punción y en el seno del medio de cultivo, y es negativo cuando a lo largo de la punción hay crecimiento solamente; producción de H_2S , un desarrollo de color negro en la punción que puede extenderse a todo el medio es positiva, en cambio si es negativa hay ausencia de color negro; Indol, positivo cuando se presenta un anillo de color rojo, y negativo sin cambio de color, esto es, adicionándole al medio 5 gotas de éter y 5 gotas de reactivo de Kovacs (Mac Faddin, 1984).

Prueba del rojo de metilo y Voges-Proskauer. Este tipo de pruebas se llevan a cabo por separado, esto con el fin de diferenciar microorganismos, donde algunos producen y mantienen estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad amortiguadora del sistema (rojo de metilo); la otra se trata de determinar la capacidad de obtener un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa. Prueba de Voges-Proskauer; se le adiciona 0.6 ml de solución de α -naftol y 0.2 mL de solución de NaOH 40 por ciento; la prueba es positiva si después de 2 horas se desarrolla un color rojo ladrillo, y será negativa cuando no haya vire en color. Rojo de metilo: 2 o 3 gotas de solución de rojo de metilo (con una incubación de 96 horas con anterioridad); prueba positiva si se desarrolla el color rojo y negativa cuando se de color amarillo (Mac Faddin, 1984).

Caldo Malonato de Swing modificado. Este tipo de medio determina la capacidad de un organismo de utilizar Malonato de sodio como única fuente de carbono, con la alcalinidad. La interpretación es, si hay desarrollo de color azul intenso y negativo si no hay cambio de color (Mac Faddin, 1984).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

Medio MIO. Esta prueba determina si un organismo es móvil o inmóvil, si es capaz de producir indol y descarboxilación de la ornitina. Si se observa crecimiento únicamente a lo largo de la picadura es negativa, en cambio es positiva si hay crecimiento a lo largo de la punción y en el seno del medio de cultivo; descarboxilación de la ornitina, el cambio de color en el medio de violeta a púrpura indicará una prueba positiva, y en cambio si nada existe presencia de color amarillo en el medio es negativa; la producción de indol se observa agregándole 5 gotas de reactivo de Kovacs, donde un anillo de color rojo indica prueba positiva y la ausencia de éste es negativa (Mac Faddin, 1984).

Agar LIA. Este medio mide la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para tomar una amina, se emplean fundamentalmente para determinar grupos bacterianos entre las Enterobacteriaceae. La interpretación es la siguiente: morado el fondo del medio indica descarboxilación de la lisina (positiva); amarillo en el fondo del medio (negativo); la desaminación es positiva cuando la superficie del tubo es de color rojo y negativa es superficie púrpura o sin cambio de color (Mac Faddin, 1984).

Medio basal OF. Este medio determina el metabolismo oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono. Se utiliza para diferenciar géneros intestinales no entéricos, Gram negativos de las Enterobacteriaceae.

Para la realización de esta prueba se inoculan dos tubos por picadura. A uno de ellos una vez inoculado se le agrega una capa de aceite mineral estéril, 1 mL aproximadamente. Interpretación: la oxidación se puede ver con una producción de gas y de color amarillo (tubo no cubierto de aceite); la fermentación, con producción de ácido y de color amarillo (tubo cubierto de aceite) (Mac Faddin, 1984).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

Gelatina Nutritiva. Determina la capacidad de un organismo de producir enzimas de tipo proteolítico que licuan la gelatina. La interpretación es la siguiente: positiva, se licua el medio (organismo en estudio) y el tubo control se mantiene sólido; negativo, si el organismo en estudio se mantiene sólido, y el tubo control también se mantiene sólido (Mac Faddin, 1984).

Caldo Urea. Este sirve para determinar la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco. Interpretación: prueba positiva se da un viraje a color rosado y negativa si no hay cambio de color (Mac Faddin, 1984).

Prueba de la oxidasa. Se toma un poco de muestra y se coloca en las placas reactivas “Dry slide oxidase”, se espera 20 segundos: la prueba positiva dará un color púrpura dentro de los 20 segundos y la prueba negativa no hay cambio de color (Mac Faddin, 1984).

Prueba de la catalasa. Se realiza en un portaobjetos colocando una colonia y añadiendo una gota de peróxido de hidrógeno al 3 por ciento. La prueba es positiva si se forma de inmediato burbujas bien visibles, y negativa si no hay formación de burbujas (Mac Faddin, 1984).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se discuten los resultados obtenidos en el presente estudio en la posta del ITSON, comprendido en el periodo de Septiembre de 2006 a Mayo de 2007, analizándose un total de 40 muestras de leche, diez proceden de la ubre de la vaca (sitio I), diez del recibidor de leche (sitio II) y veinte del tanque enfriador (sitio III y IV), a los cuales se les determinó la cuenta total viable de mesófilos aerobios, cuenta total viable de hongos y levaduras, el NMP de coliformes totales y fecales; Además el aislamiento e identificación de *Salmonella* sin encontrarse en ninguna de las muestras.

Los resultados obtenidos se compararon con las normas establecidas por la Secretaría de Salud para la leche cruda de vaca (NOM-091-SSA1-1994).

4.1 Cuenta total viable de mesófilos aerobios (UFC/mL).

En la Tabla 3, se presentan los resultados de la cuenta total viable de mesófilos aerobios de cada una de las muestras analizadas. Los valores variaron en un rango de 10 a 889,000 UFC/mL.

Las muestras de la ubre de la vaca (I) y del recibidor de leche (II) durante los diez muestreos no rebasaron los parámetros establecidos por la norma, lo que indica condiciones de limpieza y buenas prácticas de higiene. Cabe mencionar que la leche contiene pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana, sin embargo, durante el ordeño, se puede contaminar a partir del animal, especialmente de las zonas externas de la ubre y áreas próximas (Reyes, 2006).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respecto a las muestras procedentes del tanque enfriador (III y IV) en el 100 por ciento, de las muestras rebasaron las 30,000 UFC/mL, límite permisible que establece la NOM-091-SSA1-1994.

Los altos recuento de mesófilos aerobios, se deben a malas condiciones higiénicas de los establos, de los sitios de ordeño, falta de higiene en las manos de los operarios, falta de implementación de prácticas de higiene previo al ordeño como la realización de prácticas de higienización de los pezones, calidad bacteriológica del agua, secado de los pezones y manejo del ternero en sistemas doble propósito, una inadecuada rutina de limpieza y desinfección de los recipientes usados en el ordeño, falta de implementación de redes de frío para la conservación de la leche (Calderón *et al.*, 2006).

Tabla 3. Resultados de la cuenta total viable de mesófilos aerobios (UFC/mL)

SITIOS DE MUESTREO				
FECHA	I (ubre de la vaca)	II (recibidor de leche)	III (tanque enfriador)	IV (tanque enfriador)
28/09/2006	950	2,000	350,000*	330,000*
11/10/2006	880	7,700	360,000*	400,000*
24/10/2006	460	1,830	780,000*	889,000*
15/11/2006	220	980	210,000*	230,000*
05/12/2006	10	285	100,000*	121,000*
23/01/2007	200	190	200,000*	181,000*
13/02/2007	800	1,000	210,000*	180,000*
18/03/2007	10	320	250,000*	213,000*
24/04/2007	100	120	220,000*	240,000*
07/05/2007	40	150	288,000*	225,000*

*: Fuera de norma

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2 Cuenta total viable de Hongos y levaduras.

Referente a este parámetro, como se observa en la Tabla 4, se presentó desarrollo de estos microorganismos en un rango de 0 a 550,000 UFC/mL; cabe resaltar que al igual que en mesófilos aerobios las muestras que presentaron mayor incidencia fueron las del tanque enfriador (III y IV).

Estos microorganismos, por su carácter saprofitico se encuentran diseminados en la naturaleza por intermedio de portadores y el viento. Son muy abundantes en el suelo, de manera que la salida de leche del tanque enfriador se encuentra a corta distancia del piso y el polvo llega fácilmente a través del aire; de ahí se podría explicar los conteos encontrados en el presente estudio.

Tabla 4. Resultados de la cuenta total viable de hongos y levaduras (UFC/mL)

SITIOS DE MUESTREO				
FECHA	I (ubre de la vaca)	II (recibidor de leche)	III (tanque enfriador)	IV (tanque enfriador)
28/09/2006	0	1,000	320,000	300,000
11/10/2006	250	2,340	300,000	320,000
24/10/2006	300	1,450	415,000	550,000
15/11/2006	20	460	130,000	200,000
05/12/2006	10	2,430	90,000	101,000
23/01/2007	20	120	170,000	187,000
13/02/2007	120	160	200,000	150,000
18/03/2007	0	300	224,000	131,000
24/04/2007	10	10	200,000	228,000
07/05/2007	0	120	270,000	200,000

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3 Número Más Probable (NMP) de Coliformes Totales.

Los resultados obtenidos de coliformes totales mostrados en la Tabla 5, se determinaron con la utilización de la Tabla 2 del Número Más Probable (NMP), en donde se puede observar que el 57.5 por ciento de las muestras de leche (40 muestras), tuvieron incidencia de este grupo de indicadores.

Referente al sitio de muestreo I que corresponde a la leche resultante de la ubre de la vaca, en ninguno de los muestreos sobrepasó dicho parámetro por la norma y en el sitio de muestreo del recibidor de leche (muestra II), solamente tres muestras rebasaron ligeramente el límite permisible establecida por la norma.

En el tanque enfriador (III y IV), el 100 por ciento de las muestras sobrepasaron el límite establecido por la NOM-091-SSA1-1994, que nos marca 10 NMP/mL de coliformes totales.

Tabla 5. Resultados de Coliformes Totales (NMP/mL)

SITIOS DE MUESTREO				
FECHA	I (ubre de la vaca)	II (recibidor de leche)	III (tanque enfriador)	IV (tanque enfriador)
28/09/2006	0	40*	1,100*	1,100*
11/10/2006	0	4	1,100*	1,100*
24/10/2006	4	23*	1,100*	1,100*
15/11/2006	4	9	1,100*	1,100*
05/12/2006	0	4	500*	200*
23/01/2007	0	0	1,100*	1,100*
13/02/2007	4	20*	500*	200*
18/03/2007	0	9	1,100*	1,100*
24/04/2007	0	4	1,100*	1,100*
07/05/2007.	0	0	200*	1,100*

*: Fuera de norma

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4 Número Más Probable (NMP) de Coliformes Fecales.

Se aplicó la Tabla 2 del Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales y totales, para estipular los resultados obtenidos, como se muestra en la Tabla 6, observando que del 100 por ciento en total de las muestras analizadas, el 75 por ciento tuvieron presencia de estos microorganismos, en donde los tubos con caldo EC (eijkman) presentaron turbidez y gas en la campana Durham.

Algunas de las principales fuentes de contaminación puede ser debido a su asociación a las contaminaciones de origen fecal, ya que la atmósfera de los establos esta siempre cargadas de microorganismos procedentes de excremento, paja y alimentos, los cuales son transportados por el aire, con el consecuente riesgo para la calidad sanitaria de la leche (Payán, 1996).

En cuanto al sitio de muestreo (I) correspondiente a la leche que proviene de la ubre de la vaca, durante los muestreos realizados, se tuvo presencia en dos muestras, y en el caso de las muestras provenientes del recibidor de leche (II) ocho muestras presentaron incidencia de este tipo de microorganismos.

Referente al tanque de enfriamiento (III y IV), el desarrollo de estos microorganismos se presentó en el 100 por ciento de las muestras, en un rango de 200 a 1,100 NMP/mL, lo que indica las malas prácticas de higiene en esta parte del proceso.

Cabe mencionar que la presencia de coliformes en la leche no constituye un indicio de contaminación fecal directa y, por lo tanto, no se puede confiar en su determinación para detectar la falta de limpieza de las ubres antes del ordeño. Los coliformes crecen rápidamente en residuos de leche y en el equipo de ordeños húmedos, constituyendo las principales fuentes de contaminación de la leche. Sin embargo, un recuento relativamente bajo de coliformes no indica necesariamente una eficaz limpieza y desinfección del equipo (Robinson, 1987).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6. Resultados de Coliformes Fecales (NMP/mL)

SITIOS DE MUESTREO				
FECHA	I (ubre de la vaca)	II (recibidor de leche)	III (tanque enfriador)	IV (tanque enfriador)
28/09/2006	0	40	1,100	1,100
11/10/2006	0	4	1,100	1,100
24/10/2006	4	23	500	1,100
15/11/2006	4	9	1,100	1,100
05/12/2006	0	4	500	200
23/01/2007	0	0	500	500
13/02/2007	0	15	200	200
18/03/2007	0	7	1,100	1,100
24/04/2007	0	4	500	1,100
07/05/2007	0	0	500	500

Es importante señalar que el 24 de Octubre de 2006, durante la ordeña estuvo lloviendo y así se efectuó el muestreo. Por tanto, los valores resultantes ponen en manifiesto los efectos que provoca la lluvia. Obviamente durante la temporada de lluvias la contaminación por heces, lodo y humedad en general, provoca corrales húmedos, pezones sucios, mayor población de mosca, suciedad en la sala de ordeño, etc., favoreciendo la elevación de microorganismos en esas áreas (Castillo, 2002).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.5 Aislamiento e identificación de *Salmonella*.

De las 40 muestras analizadas en ninguna se detectó la presencia de *Salmonella* (Tabla 7), indicando que el 100 por ciento de las muestras cumplen con la NOM-091-SSA1-1994, la cual nos indica ausencia total para estos microorganismos sin representar ningún riesgo para la salud del consumidor en lo que se refiere a este parámetro.

Tabla 7. Resultados del aislamiento e identificación de *Salmonella*

SITIOS DE MUESTREO				
FECHA	I (ubre de la vaca)	II (recibidor de leche)	III (tanque enfriador)	IV (tanque enfriador)
28/09/2006	(-)	(-)	(-)	(-)
11/10/2006	(-)	(-)	(-)	(-)
24/10/2006	(-)	(-)	(-)	(-)
15/11/2006	(-)	(-)	(-)	(-)
05/12/2006	(-)	(-)	(-)	(-)
23/01/2007	(-)	(-)	(-)	(-)
13/02/2007	(-)	(-)	(-)	(-)
18/03/2007	(-)	(-)	(-)	(-)
24/04/2007	(-)	(-)	(-)	(-)
07/05/2007	(-)	(-)	(-)	(-)

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos durante los nueve meses de estudio en la posta del ITSON, se concluye lo siguiente:

- Referente a los resultados de la cuenta estándar de mesófilos aerobios, el 50 por ciento de las muestras analizadas no cumplen con la norma para leche cruda de vaca, poniendo en manifiesto las inadecuadas condiciones higiénicas durante el ordeño.
- Respecto a la cuenta total de hongos y levaduras hubo incidencia en un rango de 10 a 550,000 a excepción del mes de septiembre, marzo y mayo en muestras proveniente de la ubre de vaca en donde no hubo crecimiento de estos microorganismos.
- En cuanto a la incidencia de coliformes totales la mitad de las muestras analizadas proveniente del tanque de refrigeración con 50 y 7.5 por ciento de las muestras procedentes del recibidor de leche, no cumplen con la norma establecida por la Secretaría de Salud. Mientras que para coliformes fecales en las muestras analizadas, el 75 por ciento tiene elevada incidencia de estos microorganismos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- En el caso al aislamiento e identificación de *Salmonella*, en ninguna de las muestras que se analizaron se encontró la presencia de estos microorganismos, por lo que con respecto a este parámetro no representa ningún riesgo para el consumidor.

En general, con los resultados obtenidos se recomienda darle un tratamiento térmico a la leche antes de ser consumida, esto es, para evitar posibles daños a la salud.

Recomendaciones

Con el presente estudio se recomienda lo siguiente:

- Es recomendable realizar procesos de sanitización rigurosos e implementar un programa de mantenimiento mensual de conductos, pezoneras, así como del sistema del enfriamiento, para asegurar la obtención de leche de calidad.
- De igual importancia es que se lleve a cabo una adecuada limpieza en la sala de ordeña así como el manejo correcto del chorro de agua utilizado para el lavado del piso y el equipo de ordeño.
- Otro punto primordial es la capacitación de los trabajadores mediante la implementación de cursos de capacitación en los procesos operativos de una sala de ordeña, y programa de evaluación y seguimiento de productos sanitizantes.

ANEXOS

Reactivos y medios de cultivo

- Agar de hierro y lisina marca Bioxon.
- Agar citrato de Simmons marca Merck.
- Gelatina nutritiva marca Bioxon.
- Caldo RM-VP marca Merck.
- Caldo Urea marca Merck.
- Caldo malonato de Swing modificado marca Bioxon.
- Medio SIM marca Bioxon.
- Medio TSI marca Merck.
- Medio MIO marca Bioxon.
- Medio OF basal marca Bioxon
- Caldo lauril sulfato triptosa marca DIBICO.
- Caldo lactosa bilis verde brillante al 2% marca Merck.
- Caldo EC marca Merck.
- Caldo selenito y cistina marca Bioxon.
- Agar McConkey marca Bioxon.
- Agar para estándar métodos DIFCO.
- Agar dextrosa de papa marca DIFCO.



POSTA DEL ITSON (Vista externa)



ORDEÑO MECÁNICO



RECIBIDOR DE LECHE



TANQUE ENFRIADOR

LITERATURA CITADA

- 📖 Adams M. R. y M. O Moss. 1997. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. España. pp. 133, 198-199.
- 📖 Aguado S. J. 1999. Aumente sus utilidades disminuyendo el conteo bacteriano. **México-Holstein**. 30(11): 12
- 📖 Alais Ch. 1998. Ciencia de la leche; principios de técnica lechera. Décima segunda edición. Compañía editorial continental, México. pp. 178-186.
- 📖 Ávila T. S., Gutiérrez Ch. A., Sánchez G. J. y Canizal J. E. 2003. La calidad sanitaria de la leche de vacas ordeñadas manual y mecánicamente. **Ganadería intensiva; carne y leche**. No. 4, pp. 7.
- 📖 Blanco O. M. A. 2001. Eficiencia del Gliguconato de Clorhexidina al 0.5% utilizando como desinfectante después del ordeño considerando la prevalencia de mastitis subclínica. **Acontecer lechero**. 2(16):25-26.
- 📖 Calderon A., Garcia F. y Martinez G. 2006. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. **MVZ Cuba Córdova**. 11(1): 729.
- 📖 Castillo C. R. 2002. Lluvias Holstein. **México Holstein**, 33(5): 16-17.
- 📖 Fernández S. 2000. El ordeño en sistemas de pastoreo. **Acontecer lechero**. 4(17): 67.

LITERATURA CITADA

- 📖 García M. M. 1996. Omiten información al consumidor algunas empresas. **México Holstein**, 27(10): 9.
- 📖 González N. O. 2003. Recomendaciones sobre la rutina de ordeño. **Ganadería intensiva; carne y leche**. No. 9, pp. 24.
- 📖 Harmon R. J. 2001. Mastitis por patógenos contagiosos, formas de control. **Ganadería intensiva; carne y leche**. No. 6. pp.16, 22.
- 📖 INIPAF, 2001. Guía para los cultivos del área de influencia del campo experimental Valle del Yaqui. CEVY-CIRNO-INIPAF-SAGARPA: 90-94.
- 📖 Kelly Álvarez L. 2003. Buscando la mejor leche. **Ganadería intensiva; Carne y leche**. No. 1. pp. 11.
- 📖 Loor J.J., Jones G. M. y Baley T. L. 2002. Aspectos básicos sobre el desarrollo de mastitis. **Ganadería intensiva; carne y leche**. No. 3. pp. 6-8.
- 📖 Mac Faddin, Jean F. 1984. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Panamericana. México, D.F. pp. 27-193.
- 📖 Magariños H. 2000. Calidad de la Leche Cruda.
(Ver http://introducción a la Calidad de la Leche Cruda_archivos/Producción Higiénica de la Leche Cruda-Cap_1.htm). 29/08/2006.
- 📖 Marth E. H. y J. I. Steele. 2001. Applied Dairy Microbiology. Segunda Edición. Editorial Borrada. USA. pp. 60.

LITERATURA CITADA

- 📖 Mayora V. F. 2003. Leche, enfriamiento y tanques enfriadores. **Acontecer lechero**. 3(17): 39,41.
- 📖 NOM-091-SSA-1994. Bienes y Servicios. Leche Pasteurizada de Vaca. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias.
- 📖 NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- 📖 NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
- 📖 NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- 📖 NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del Número Más Probable.
- 📖 NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.
- 📖 Payán Robert M. E. 2000. Prevenga en base a principios la mastitis. **México Holstein**, 31(7): 19-20.
- 📖 Payán Robert M. E. 1998. La leche producto delicado. **México Holstein**, 29(3): 14
- 📖 Payán Robert M. E. 1998. Pensemos con fisiología. **México Holstein**, 29(1): 31

LITERATURA CITADA

- 📖 Payán Robert M. E. 1996. Mastitis por coliformes. **México Holstein**, 30(2): 19, 22.
- 📖 Pelczar, Michael. 1993. Microbiología; Editorial McGraw Hill. México. pp. 528.
- 📖 Pérez Domínguez M. E. 2001. Revisión sobre la calidad de la leche en México. **Ganadería intensiva; carne y leche**. No. 6. pp. 5.
- 📖 Reyes A. R. y S. Soltero. 2007. Medidas para prevenir la presencia de sustancias indeseables en la leche. **México Holstein**, 38 (3): 5.
- 📖 Reyes A. R. y S. Soltero. 2006. Microbiología de leche cruda de vaca. **México Holstein**, 37 (7): 14.
- 📖 Robinson R. K. 1987. Microbiología Lactológica. Editorial Acribia. España. pp. 116, 122-123, 133.
- 📖 Ruegg P. 2004. Enlace en la calidad lechera. **México Holstein**, 35(10):23.
- 📖 Seykora T. y M. Wilson. 2004. Buen manejo de la ordeña. **México Holstein**, 35(8): 12-13.
- 📖 Torres V. M. 1999. Agentes patógenos transmitidos por alimentos Vol. I. Universidad de Guadalajara. México. pp. 17.