

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**

**CONTAMINACION BACTERIANA POR ESCHERICHIA COLI
EN LECHE PASTEURIZADAS**

**Estudio prospectivo realizado durante los meses de Agosto y
Septiembre de 1984, en la Ciudad de Guatemala.**

TESIS

**Presentada a la Junta Directiva de la
Facultad de Ciencias Médicas de la
Universidad de San Carlos**

Por:

ERICH DANILU REYES

En el Acto de su Investidura de

MEDICO Y CIRUJANO

I

INTRODUCCION

En los últimos años las personas se han preocupado por lo que pasa a su alrededor: de que el aire que respiramos contiene productos tóxicos como el óxido de carbono y los residuos de combustibles; se enteró de que muchos de los alimentos que ingería, si no eran elaborados con higiene podían ser el habitat de infinidad de microorganismos capaces de provocar enfermedades infecciosas en personas susceptibles.

De todos los alimentos la leche es uno de los que tiene más significado psicológico. Para muchos significa bienestar, fortaleza y vitalidad. Al mismo tiempo puede indicar subordinación y desamparo, sobre todo en períodos de tensión cuando un individuo rememora épocas anteriores de mayor seguridad.

Se ha definido a la leche como "el alimento casi completo para el ser humano". Su excepcional valor nutritivo se debe a sus principales componentes: proteínas, carbohidratos, grasas, minerales, vitaminas y agua. Pero por sus mismos nutrientes se convierte en un excelente medio de cultivo para las bacterias.

La leche se puede contaminar por el animal de ordeño, el hombre o por el medio ambiente, siendo los principales factores: estado sanitario del ganado lechero, condiciones de salud e higiene del personal encargado de manipular la leche, uso de utensilios y accesorios, máquinas, válvulas, medios de refrigeración, etc. Puesto que son pocos los coliformes que sobreviven a una pasteurización adecuada, una prueba positiva indica siempre contaminación.

El presente estudio determinó que sí había contaminación

por *Escherichia coli* en la leche pasteurizada de consumo en las diferentes zonas de la capital, para lo cual se analizaron microbiológicamente 100 muestras de leche, por medio del recuento de bacterias coliformes fecales sembrados en caldo lactosado bilitis 2% verde brillante y en Mc Conkey.

Las muestras se obtuvieron de diferentes establecimientos de consumo popular, tales como: tiendas, abarroterías y misceláneas.

Posteriormente las muestras fueron numeradas y transportadas en una hielera, para ser analizadas el mismo día en el laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia.

Para el tratamiento de los datos, se usó estadística descriptiva, presentándose los resultados en cuadros, y al final se hace un análisis de los mismos, así, como las conclusiones y recomendaciones del estudio.

II ANTECEDENTES

En el año de 1975, en un estudio sobre la higiene de la leche cruda de consumo en 4 municipios de la cuenta del río Samalá, se encontró una alta contaminación bacteriana. (4).

En el mismo año se investigó, la relación entre el índice sanitario y el manejo con la calidad de la producción láctea en el departamento de Guatemala, encontrándose que del 25 al 63% de los establos, disponían bien del estiércol, que del 8 al 55%, tenían un lugar adecuado para el ordeño y que sólo el 22% de los trabajadores tenían tarjeta de salud. (24).

En 1979, se investigó la presencia de microorganismos en el queso, encontrándose una alta incidencia de *Stafilococos* y *coliformes* en el 100% de las muestras. (17).

En el año de 1983, se realizó en el lactario del Hospital San Juan de Dios, una evaluación bacteriológica de 100 muestras de leche materna, habiéndose aislado *Stafilococos epidermidis* en el 100%, *Stafilococos aureus* en el 18% y *Escherichia coli* en el 17.8%. (16).

Durante el mismo año, el departamento de Control de Alimentos, dependencia del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, realizó un control de calidad a 100 muestras de leche pasteurizada, muestreándose al azar igual número de expendios, encontrándose que el 49% de las muestras eran de mala calidad, pues contenían recuentos bacterianos elevados, adulteración con agua y su contenido de grasa y de sólidos no eran adecuados.

III DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

Se considera alimento contaminado, aquel que contiene organismos patógenos, impurezas, minerales u orgánicas inconvenientes o repulsivas; el que contenga un número de organismos superiores a los límites fijados por las normas de alimentos y el que ha sido manipulado en condiciones defectuosas durante la producción, manufactura, elaboración, transporte, tráfico y expendio. (2)

En estudios realizados en Guatemala, se ha encontrado una alta contaminación bacteriana en la leche de vaca cruda. (4, 16, 17, 24)

La leche es un excelente medio para la proliferación de bacterias, las cuales al ser ingeridas pueden ocasionar enfermedades, específicamente, la *Escherichia coli* se ha relacionado con trastornos gastrointestinales en recién nacidos y pre-escolares. (1, 7, 8).

En las pasteurizadoras que abastecen a la capital, el Departamento de control de alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, ha reportado que éstas presentan pisos inadecuados, ventanas destapadas, mantas que se mezclan con el contenido de los baldes, cedazos sucios que intervienen en la fabricación de quesos, tambos que son limpiados inadecuadamente y presencia de moscas en los alrededores, por lo cual fumigan, pero por estar descubiertos los baldes ambos contaminan la leche.

Debido a las condiciones insalubres, que se observan en las pasteurizadoras junto con las características propias de los coliformes fecales y siendo los productos lácteos un medio excelente

de cultivo, es factible que la leche pasteurizada que se expende y consume en la ciudad de Guatemala, esté contaminada con Escherichia coli.

IV JUSTIFICACION

Debido a las condiciones antihigiénicas de los países del tercer mundo para la producción y manipulación de la leche y sus derivados, se necesitan de controles periódicos, que demuestren la calidad de los productos lácteos pasteurizados, para garantizar el consumo de alimentos adecuados, protegiéndose así la salud de los consumidores.

En Guatemala, no se han realizado estudios, que demuestren la calidad de los productos lácteos pasteurizados que se consumen en nuestro país, por lo que en la actualidad desconocemos si el consumo de estos representa o no riesgos para la salud de los guatemaltecos.

Se investigó la *Escherichia coli*, porque: a) siempre está presente junto con otros contaminantes bacterianos en la leche cruda y derivados, b) pueden sobrevivir los tratamientos de limpieza y desarrollarse en lugares oscuros del equipo defectuoso, c) crecen rápidamente a temperaturas adecuadas tanto en equipo mal desinfectado como en productos lácteos contaminados por dicho equipo, d) son fácilmente destruidos en un 99% con una pasteurización adecuada, e) su hallazgo indica contaminación fecal y f) es el índice de contaminación más exacto y confiable - actualmente.

V REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A) GENERALIDADES

En el Departamento de Salud Pública de los Estados Unidos de Norteamérica se define a la leche como: "secreción láctea, prácticamente libre de calostro, obtenida por ordeño completo - de una o más vacas en buen estado de salud, dicha secreción láctea no debe tener menos de 3,35% de grasa de leche y no menos de 8,25% de sólidos no grasos de leche. (22)

La leche de vaca es la que más se consume en la mayoría de los países del mundo.

En 1970 la producción mundial se estimó en 400 millones de toneladas, el 70% en países desarrollados, el 20% en la U.R.S.S. y Europa Oriental y 10% en países subdesarrollados, en los cuales las condiciones físicas, técnicas y económicas son desfavorables para una producción eficaz de la leche y se ve limitada por el poder adquisitivo. (12, 15).

B) COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA (22, 23)

Es de interés conocer la calidad y clase de los nutrientes que la leche contiene. Los constituyentes de la leche se encuentran en tres estados físicos: solución, dispersión coloidal y emulsión. (ver tabla 1).

TABLA I

Concentraciones aproximadas de los constituyentes de la leche de vaca

Constituyentes	Concentración aproximada peso por litro/leche.
1. Agua	860-880 g
2. Lípidos	
a) Grasa (triglicéridos)	30-50 g
b) Fosfolípidos	0.3 g
c) Cerebrósidos	? g
d) Esteroles	0.1 g
3. Proteínas:	
a) Caseína	25 g
b) β -lactoglobulina	3 g
c) α -lactalbúmina	0.7 g
d) Albúmina	0.3 g
e) Euglobulina	0.3 g
f) Pseudoglobulina	0.3 g
g) Otras albúminas y globulinas	0.3 g
h) Mucinas	? g
i) Enzimas:	
1. Catalasa	
2. Peroxidasa	
3. Xantina Oxidasa	
4. Fosfatasa	
5. Aldolasas	
6. Amilasas	
7. Lipasas	
8. Proteasas	
9. Anhidrasa carbónica	
4. Materiales disueltos:	
a) Carbohidratos	50 g
1. Lactosa	50 mg.
2. Glucosa	Huellas
3. Otros	
b) Iones y sales	
1. Calcio	1.25 g
2. Magnesio	0.10 g
3. Sodio	0.50 g
4. Potasio	1.50 g
5. Fosfatos	2.10 g
6. Citratos	2.00 g
7. Cloruros	1.00 g
8. Bicarbonato	0.20 g

Fuente: Revilla A.R. (22).

TABLA I

Continuación

Constituyentes

Concentración aproximada
peso por litro/leche.

c. Vitaminas liposolubles	
1. Vitamina A	0.10 mg.
2. Vitamina D	0.10 mg.
3. Vitamina E	1.00 mg.
4. Vitamina K	Huellas
d. Vitaminas hidrosolubles:	
1. Tiamina	0.4 mg.
2. Riboflavina	1.5 mg.
3. Niacina	1.2 mg.
4. Piridoxina	0.7 mg.
5. Acido Pantoténico	3.0 mg.
6. Biotina	50. mg.
7. Acido Fólico	1.0 mg.
8. Colina	150. mg.
9. Vitamina 12	7.0 mg.
10. Inositol	180. mg.
11. Acido Ascórbico	20. mg.
e. Materiales nitrogenados no protegidos ni vitamínicos	
1. Amonía (como N)	250. mg.
2. Aminoácidos (como N)	12 mg.
3. Urea (como N)	3.5 mg.
4. Creatinina (como N)	100. mg.
5. Metilguanidina	15 mg.
6. Acido Úrico	? mg.
7. Adenina	7 mg.
8. Guanina	
9. Hipoxantina	
10. Xantina	
11. Acido hipúrico	
12. Tiocinate	
f. Gases. (leche expuesta al aire)	
1. Anhídrido carbónico	100 mg.
2. Oxígeno	7.5 mg.
3. Nitrógeno	15. mg.
g. Varios.	
a. Generalmente presentes.	Trazas
Rb, Li, Ba, Sr, Mn, Al, Zn, Cu, Fe, Co, I.	
b. Ocasionalmente presentes	Trazas
Pb, Mo, Cr, Ag, Sn, Ti, v.	

Fuente: Revilla A.R. (22).

1) AGUA DE LA LECHE

El contenido de agua en la leche puede variar de 84-89% en algunos casos, una leche normal puede exceder estos límites.

El porcentaje de agua es también afectado por la variación en contenido de cualquiera de los otros constituyentes de la leche.

El contenido del agua, relativamente alto, en la leche hace que algunas personas duden de su valor alimenticio, cabe agregar que gracias a esa cantidad de agua, la distribución de sus componentes es bastante uniforme y permite que en pequeñas cantidades de leche contenga casi todos los nutrientes proporcionados en ésta.

2) LA GRASA

La grasa de la leche es uno de los componentes más importantes de ésta; interviene directamente en la economía, nutrición y en las propiedades físicas de la leche.

La grasa de la leche se compone de triglicéridos, que resulta de la unión de un glicerol con uno o más ácidos grasos. Además ayuda a la absorción de las vitaminas liposolubles A.D.E.K.

3) PROTEINAS:

Son los más complejos entre los compuestos orgánicos, contienen carbón, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y algunas veces fósforo.

Entre las proteínas de la leche, la caseína es la más común y representa el 80% de las proteínas, esta proteína es exclusiva de la secreción de la glándula mamaria. Estas desempeñan una

gran variedad de funciones que van desde la estructura hasta la reproducción de todo ser viviente.

4) LACTOSA

Es el carbohidrato más importante de la leche, formado de una molécula de glucosa y otra de galactosa, las cuales por hidrólisis pueden ser separadas. Se usa como ingrediente de los alimentos para niños y dietas especiales.

5) OTROS

Además hay minerales como: el zinc, cobre, fósforo, calcio, magnesio, etc. Fosfolípidos como: la lecitina que se ha mencionado que reduce los niveles de colesterol en el ser humano.

C) FUENTES DE MICROORGANISMOS DE LA LECHE DE VACA (8, 10, 15, 18, 19)

1) INTERIOR DE LA UBRE

Se creía que la leche de una vaca salía estéril, mediante investigaciones se ha demostrado que es falso.

El recuento de microorganismos encontrados varía entre los 1,000 y 2,000 por cc. Se supone que las bacterias pasan por el canal de la teta hacia la cisterna.

Los organismos comunmente encontrados en la leche son:

- a) Staphilococos.
- b) Streptococos.
- c) Corynebacteria.

2) CUERPO DE LA VACA

Se sabe que el cuerpo de la vaca es caliente y es un buen lugar para el crecimiento de las bacterias. Comúnmente los flancos, cola y ubre son los lugares que se deben de mantener limpios para evitar el aumento de bacterias, ya que en condiciones ordinarias el cuerpo de la vaca contribuye con cerca de 10,000 organismos. Enfermedades transmitidas de vaca a leche a hombre:

1. Tuberculosis
2. Brucelosis
3. Leptospirosis
4. Antrax
5. Fiebre Aftosa
6. Fiebre de Montaña
7. Diarreas.

3) LA ATMOSFERA

La atmósfera se consideró como no importante. Hoy en día la consideran como el problema principal en la contaminación de la leche con esporas de hongos, donde hay polvo generalmente la contaminación es mayor, por esto, cuando se alimenta el ganado con pasto seco se debe de hacer al finalizar el ordeño.

4) UTENSILIOS Y EQUIPO

Los utensilios y el equipo es el más importante medio de contaminación de la leche y en cuanto al número de organismos es el que más contribuye. Un tanque inapropiadamente lavado, esterilizado o húmedo contribuirá con millones de bacterias por cc. Otras fuentes de contaminación son las máquinas ordeñadoras, descremadoras, batidoras de mantequilla, helados, quesos, etc. Debe tomarse en cuenta a las tuberías sobre todo en las

uniones, como fuente de contaminación.

Inclusive los recipientes donde se coloca la leche para ser expendida al consumidor, son demasiado difíciles si no imposibles de ser esterilizados.

5) PERSONAL

El personal es la llave de todo cuanto concierne a sanidad, ya que están en contacto directo o indirecto con la leche y sus derivados, éstos son los que van a controlar los otros factores. Si el trabajador es descuidado nunca se producirá un producto de primera clase. El hombre es el medio de contaminación más peligroso debido en mayor parte al tipo de bacterias que puede introducir en la leche y no tanto el número de bacterias. Muchas de las enfermedades pueden ser transmitidas del hombre a la leche y de ésta al hombre.

Ejemplos:

1. Fiebre tifoidea.
2. Difteria.
3. Tuberculosis.

Por lo que no se debe permitir al operador:

- a) Malos hábitos o hábitos sucios.
- b) Manos mojadas durante el ordeño.
- c) Ninguna persona enferma con afecciones infecciosas, transmisoras del germen causante, debe ser permitida a manejar la leche ni encargarla de la limpieza del equino.

6) INSECTOS

Los insectos son los principales vectores de enfermedades -

intestinales y de otras enfermedades, por tal razón se les debe combatir en todo momento.

D) PROCESOS DE CONSERVACION DE LA LECHE DE VACA

1) PASTEURIZACION

Los términos de pasteurización, pasterizado, son tomados para referirse al proceso de calentamiento de cada partícula de la leche y sus derivados, a 143°F como mínimo y exponerlo constantemente a esta temperatura por treinta minutos. En el método rápido se requiere de 161°F por 15 segundos como mínimo.

El nombre de este proceso deriva del eminente científico LOUIS PASTEUR; quien en 1860-1870 encontró que calentando el vino hasta cierta temperatura permitía su almacenamiento por más tiempo. La pasteurización tal como se aplica a la leche, consiste en calentar la leche hasta 145°F por treinta minutos o a 165°F por 15 segundos, luego se enfría a 35-40°F ya sea para ser embotellada o puesta en tambo.

Mediante experimentos se ha demostrado que a 140°F por veinte minutos se destruyen todos los organismos patógenos y el 90-99% del total de organismos presentes en la leche.

2) HOMOGENIZACION

Es el proceso por medio del cual se hace una emulsión estable de la leche, por acción mecánica de la homogenizadora.

La Homogenizadora consiste en una bomba de alta presión complementada con una abertura pequeña y ajustable a través de

la cual salen los fluídos con alta presión ocasionando un marcado cambio en las propiedades físicas del producto y produciendo una mezcla muy íntima de sus ingredientes.

E) LA ESCHERICHIA COLI

La Escherichia coli, es un organismo que habita en el intestino del hombre, se excretan aproximadamente 100 billones a día por las heces fecales del hombre.

Fue descubierta por Escherich en 1886. Es un germen gram negativo, el cual forma colonias en forma de cadenas.

Crecen a un ph de 4,9-9,5, en medios desfavorables aparecen en forma de filamentos largos.

Estos microorganismos tienen una estructura antigénica muy compleja.

La Escherichia coli produce sustancias análogas a los antibióticos con poder bactericida llamadas colicinas.

F) LA ESCHERICHIA COLI COMO INDICADOR DE CONTAMINACION

Los coliformes fecales se usan como indicadores de sanidad, ya que éstos presentan una amplia dispersión y son destruidos en un 99% durante el proceso de la pasteurización, por lo que su presencia indica:

- a) Deficiente proceso de pasteurización.
- b) Recontaminación por utensilios con dudosa higiene o por el personal que manipula la leche.

Después de pasteurizadas la leche no debe de contener más de 10 coliformes por cc. En New York se han usado 2n normas distintas referentes a la población coliforme en la leche pasteurizada; de 1/ml. durante el verano y de 0.1 por ml. durante el invierno. (3, 5, 6).

El Departamento de control de alimentos nos proporcionó la norma que rige en Guatemala, para el control de calidad de la leche de vaca pasteurizada. La cual reproducimos a continuación.

G) NORMA PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD DE LECHE PASTEURIZADA EN GUATEMALA

1. Objeto.

Esta norma tiene por objeto definir las características y establecer las normas sanitarias que debe obedecer la leche.

2. Definición.

Leche sin otra especificación, es el producto normal, fresco, procedente del ordeño de las vacas.

3. Designación.

El producto será designado "leche", seguido de su clasificación y tipo.

4. Clasificación.

De acuerdo con la cantidad de grasa, la leche será clasificada en:

a) Leche Integral

Es aquella que mantiene su contenido original de grasa. Deberá tener las características mínimas normales de su composición, sobre todo en relación a su proporción de lípidos y densidad.

b) Leche parcialmente desgrasada

Es aquella que por un proceso adecuado, ha sufrido alteraciones en su cantidad de lípidos.

De acuerdo con el tratamiento físico sufrido, la leche será clasificada en:

a) Leche cruda:

Es aquella que no ha sido sometida a procesos de pasteurización y cuya venta está prohibida para el consumo humano.

b) Leche pasteurizada:

Es aquella que ha sido sometida a procesos de selección, filtración, seguidos de pasteurización.

c) Leche esterilizada:

Es aquella que ha sido sometida a tratamientos físicos, que destruyen totalmente los gérmenes que contiene.

d) Leche homogenizada:

Es aquella que, por tratamiento mecánico sufren modificaciones en sus propiedades físicas, particularmente en la estructura y dimensiones de sus glóbulos de grasa.

5. Normas de calidad y características:

5.1. Características generales. El producto deberá presentar aspecto normal, fresco y debe ser obtenida del ordeño ininterrumpido de vacas lecheras sanas, realizado en perfectas condiciones higiénicas. La inspección de los rebaños deberá ser periódica. La leche deberá estar libre de impurezas y estar debidamente filtrada antes de cualquier operación de beneficio, sea cual fuera la especie productora, no se podrá aprovechar para el consumo la leche de la fase final de gestación (último mes) y de la fase calostrala (8 días después del parto). La leche destinada al consumo o a la industrialización, deberá ser debidamente controlada. En el primer caso por los establecimientos de beneficio; en el segundo caso por las fábricas de los productos derivados de ella. La leche debe ser mantenida en condiciones adecuadas de temperatura después de ordeñada, pasteurizada y durante el transporte y almacenamiento.

5.2. Características Organolépticas:

Aspecto - líquido opaco, coloidal
Color - blanco y marfil
Olor - propio
Sabor - propio

5.3. Características físicas y químicas: Será considerada normal, el producto con base a las siguientes características:

Lípidos, mínimo 3%
Acidez en ácido láctico 0.15 a 0.20
Densidad a 15°C. de 1.028 a 1.035
Lactosa, mínimo 4.3%
Extracto seco total, mínimo 11.5. gm.%
Índice crioscópico, mínimo 8,5 gm.%
Índice refractométrico del suero cúprico a t 20°C.
mínimo 37°Zeiss.

Dadas las variaciones de las características físicas y químicas que pueden presentar las leches provenientes de zonas diferentes, sólo podrán ser consideradas fuera del estandar, las leches que presenten resultados más bajos que los exigidos en esta norma, al efectuar tres pruebas de rutina y una de precisión, o una de rutina y otra de rutina y otra de precisión para su clasificación. Serán consideradas pruebas de precisión:

1. La determinación del índice de refracción del suero cúprico.
2. La determinación del índice crioscópico.

5.4. Características microbiológicas. Las leches deberán presentar las siguientes características:

Leche certificada tipo A.

- a) Antes de pasteurizados 10,000 gérmenes comunes por ml.
- b) después de pasteurizados 500 gérmenes comunes por ml.

- c) no debe contener un número mayor de un coliforme por ml.

Leche tipo B.

- a) antes de pasteurizados 50,000 gérmenes comunes por ml.
- b) después de pasteurizados 5,000 gérmenes comunes por ml.
- c) Ausencia de microorganismos del grupo de los coliformes en un ml. de muestra.

Leche tipo C.

- a) Después de pasteurizados 10,000 gérmenes comunes por ml.
- b) Ausencia de microorganismos del grupo coliformes en un ml. de muestra.

Sólo podrá ser beneficiada la leche considerada normal. Será prohibido beneficiar la leche que revele en la prueba de oxidasa, contaminación excesiva por decoloración en un tiempo inferior a 5 horas para tipo A; de 3 horas para tipo B; y de 2 horas y media para los demás tipos.

5.5. Medios de Conservación: Es la pasteurización. Después de la pasteurización deberá ser mantenida en refrigeración; serán permitidos otros medios de conservación tales como: esterilización, refrigeración, congelación. Se prohíbe el empleo de conservadores.

6. Normas de envase y acondicionamiento.

Toda vasija empleada en el ordeño, en la recolección o para mantener la leche en depósito, deberá ser de un material que no ataque al producto; debe mantener condiciones higiénicas adecuadas y estar debidamente cerrada. Para ser puesta al consumo la leche debe estar protegida de contaminaciones y descomposiciones. El material de envase no deberá alterar las condiciones organolépticas del producto ni su composición. El envase debe estar hecho de un material resistente a la acción de la leche.

7. Rotulación.

El rótulo deberá llevar la denominación leche pasteurizada seguida de su clase, tipo, marca comercial, nombre y dirección del productor, volumen neto en unidades del sistema métrico decimal y fecha de producción.

8. Muestreo e inspección.

La inspección se efectuará tanto en las fábricas, como en los establecimientos de ventas al consumidor y siempre por un inspector competente, de preferencia Médico Veterinario.

La recolección de muestras se hará tomando al azar, un número adecuado de unidades de acuerdo con las normas técnicas generales de muestreo. Como lote deberá entenderse el total de unidades que comprende una transacción comercial.

9. Paradigma.

Inspección del envase en cuanto al aspecto interno y externo.

Determinación del espacio libre.

Caracteres organolépticos: aspecto, color, olor y sabor.

Lípidos.

Densidad.

Acidez de titulación.

Índice de refractométrico del suero cúprico.

Extracto seco total.

Extracto seco desgrasado.

Cenizas.

Alcalinidad de las cenizas.

Investigación de sustancias extrañas.

Aditivos.

Reacción de nitratos.

Glucidos reductores en lactosa.

Examen: Microscópico y microbiológico.

10. Métodos. (Físicos, químicos, microbiológicos).

11. Conclusiones del dictamen analítico.

Deberán efectuarse de acuerdo con lo especificado en la publicación científica No. 84 de la OPS de 1963.

VI
MATERIALES Y METODOS

A) MATERIALES

1) EQUIPO DE LABORATORIO:

Medios de cultivo.

Agar cuenta gérmenes.

Incubadoras bacteriológica.

Refrigeradora.

Centrífuga.

Cajas de petri descartables.

Tubos de ensayo.

Pipetas graduadas estériles.

Baño de María.

Termómetro.

2) RECURSOS HUMANOS

1. Laboratorista.

1. Médico Veterinario y Zootecnista.
Especializado en Inspección sanitaria de los alimentos.

1. Estudiante de medicina.

3) RECURSOS FISICOS

Laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia.

B) METODOLOGIA

1) SUJETO DE ESTUDIO

Durante el período comprendido entre el 27 de agosto al 30 de septiembre del corriente año, se analizaron 100 muestras de leche pasteurizada, entendiéndose como tal la selección de líquido blanco, segregado por las mamas de una o más vacas, que sirve como alimento gracias a la riqueza de sus nutrientes y que fue sometida a un proceso de selección, filtración seguido de un calentamiento en condiciones de temperatura y tiempo que asegure la total destrucción de la microflora patógena y no patógena.

2) TAMAÑO DE LA MUESTRA

En el Directorio Estadístico Comercial 1983 se buscó y encontró el número de expendios de consumo popular (tiendas, supermercados, minimercados, misceláneas, abarroterías, distribuidores de productos lácteos) asignándoles a cada uno un número ordinal de 1 hasta 8,200, posteriormente se aplicó la fórmula siguiente:

$$N = \frac{n(8,200) p(50\%) q(50\%) = 2,050}{(e=10\%/z=2)^2(n=8,200-1) + p \cdot q(0.25) = 20.75} = 98$$

N = Muestra.

n = No. de expendios.

p = % de éxito. (50% = 0.5)

q = % de no éxito. (50% = 0.5)

e = Error. 10% = 0.1

z = Nivel de confiabilidad 95% = 2.

Al resultado se le agregó el 12% por posibles pérdidas durante el proceso de las muestras, siendo el total de 110.

3) SELECCION DE LAS MUESTRAS

La selección de los establecimientos que fueron muestreados, se determinaron por medio de números aleatorios, para lo cual se usó la tabla correspondiente, leyéndose de derecha a izquierda, las cifras menores al número de expendios totales (8,200). Cada número aleatorio indicaba el número de establecimiento, al cual se le asignaba un número de orden correlativo a medida que iban apareciendo, hasta reunir los 110 expendios, a continuación se hizo una lista con el número de orden, nombre del expendio y su dirección.

Se obtuvo una muestra de leche por establecimiento (tiendas, abarroterías y misceláneas), siguiendo el mismo orden determinado.

Se investigó bacteriológicamente la leche que se expende en bolsas plásticas y en cartón, que estaban exentos de desperfectos (cierre hermético), no se tomó como fin de la investigación, una marca específica, ni la fecha de expendida, ni el tipo de refrigeración empleado en su mantenimiento, ya que, el muestreo fue sólo para control de calidad.

Los días lunes, martes y miércoles, se obtuvieron de 8 a 9 muestras diarias de leche, las cuales fueron transportadas y procesadas el mismo día, con un intervalo de 3 a 6 horas.

Los días miércoles, jueves y viernes, se utilizaron para la lectura de los cultivos y para sembrar en Mc Conkey.

Al obtenerse las muestras, se identificaron y se anotó en una boleta (ver anexos), los datos siguientes: No. - de orden, lugar, fecha, hora de muestreo, nombre, dirección, tipo de establecimiento, marca comercial, tipo de envase y los días entre pasteurizada y expendida. La misma boleta se usó, para anotar los resultados de los cultivos.

Posteriormente las muestras se transportaron al laboratorio, para lo cual se usó una caja rígida impermeable de Duroport, con capacidad adecuada y con tapadera, para proteger las muestras de lesiones y de la luz solar. También estuvo provista con hielo desmenuzado, que cubría totalmente las muestras.

En el laboratorio, el personal se cercioró de que las muestras no estaban adulteradas. (cierre hermético).

El personal encargado de procesar las muestras, estuvo exento de enfermedades infectocontagiosas, para que no se contaminaran las muestras al procesarlas.

4) PROCESO DE LAS MUESTRAS

Se utilizó el método de Harrigan y Mc Cance, que es el recomendado por el servicio de Salud Pública de los Estados Unidos, para la detección de coliformes fecales en productos lácteos.

Se utilizaron las siguientes diluciones para la leche pasteurizada: 10^1 , 10^2 , 10^3 para lo cual se tomó con una pipeta calibrada, 1 cc de la muestra de leche, disolviéndose en 99 cc de agua destilada amortiguada a un ph de 7,2 (10^1 , 10^2) agitando-se posteriormente con la mano de 25 a 50 veces por 7 segundos, - para que la muestra se homogenizara, luego se tomó 1 cc de ésta disolviéndose en 99 cc de agua destilada. (10^3)

Se sembraron 1 ml (10^1) 0.1 ml (10^2) 1 ml (10^3) en caldo lactosado bilis 2% verde brillante, 5 tubos por cada dilución, incubándose a 44°C .

El resultado se leyó a las 48 horas, siendo positivo cuando se observaba en la campana de Durham producción de gas. (PRUEBA POSITIVA CONFIRMADA)

Para obtener el NMP (NUMERO MAS PROBABLE DE ORGANISMOS) por ml, se buscó el NMP que correspondiera al número de tubos positivos de cada dilución, (ver anexos) seguidamente se usó la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{NMP DE LA TABLA}}{100} \times \text{FACTOR DE DILUCION INTERMEDIA.}$$

En este caso el factor de dilución intermedio fue: 10^2 .

Para realizar el diagnóstico microbiológico y completar el estudio, a los tubos que presentaban gas, se les tomó con el asa

bacteriológica dos muestras de 0.01 ml, cada muestra se sembró en una placa con 15 ml de Mc Conkey (peptona, caseína, lactosa, rojo neutro, sales biliares y agar), que se había previamente fundido y enfriado en baño de maría a una temperatura de 44°C, luego ambos se agitaron suavemente sobre una superficie plana con un movimiento circular, lo que permitió que tuvieran un espesor uniforme y que las bacterias se distribuyeran bien, facilitándose así su identificación.

Posteriormente se dejaron enfriar por 15 minutos, al final de este tiempo se procedió a colocar las placas boca abajo en la incubadora a una temperatura de 44°C.

Se consideró positivo el cultivo, cuando después de 18 horas de incubación, aparecían las típicas colonias coliformes rojas de 0.5 mm, planas y con brillo metálico.

VII PRESENTACION DE LOS RESULTADOS

NOTA

Se consideraron como contaminadas, las muestras de leche que tuvieran más de un coliforme fecal/ml, que es, lo establecido por la norma sanitaria, para el control de calidad de la leche pasteurizada en Guatemala.

RESULTADOS

En el presente estudio, se observó que el 48% de las muestras de leche pasteurizada, obtenida de: tiendas, abarroterías y misceláneas, durante los meses de agosto y septiembre, estaban contaminadas con Escherichia coli. El 6% presentó recuentos calificados como de máxima contaminación, con 2,400 coliformes fecales por ml.

Tanto las muestras de menos, como las de más de 3 días entre pasteurizada y expandida, estaban contaminadas en un 19 y 29% respectivamente.

El 42% de las muestras, tenían entre 5 y 50 microorganismos por ml, de ellos, el 32% entre 5 y 10, el 7% entre 11 y 20 y el 3% restante entre 20 y 50 coliformes fecales por ml.
VER CUADRO No. 1.

Del 48% de las muestras de leche pasteurizada, contaminadas por Escherichia coli, el 22% estaban en bolsa plástica y el 26% restante en recipiente de cartón.

Las muestras en bolsa plástica, con menos de 3 días entre pasteurizada y expandida, estaban contaminadas en un 16% y en más de 3 días el 6%.

Del 26% de muestras contaminadas en cartón, el 3% estaba

en menos de 3 días entre pasteurizada y expendida y el 23% restante en más de 3 días.

VER CUADRO No. 2.

CUADRO No. 1

RELACION ENTRE EL NUMERO DE MICROORGANISMOS ENCONTRADOS POR PASTEURIZADORAS Y NUMERO DE DIAS ENTRE PASTEURIZADA Y EXPENDIDA.

ESTUDIO PROSPECTIVO. GUATEMALA. AGOSTO-SEPTIEMBRE 1985.

COLIFORMES FECALES/ML	DIAS ENTRE PASTEURIZADA Y EXPENDIDA						T O T A L
	< 3			> 3			
	A	B	C	D	E	F	
0	2	1	2	5	8	6	52
1-10	3	1	2	3	2	-	32
11-20	2	-	2	-	1	-	7
21-50	1	-	-	2	-	-	3
51 >	-	-	-	-	-	-	6
TOTAL	8	2	6	10	11	6	100

FUENTE: Boleta de recolección de datos.

RELACION ENTRE EL NUMERO DE DIAS ENTRE PASTEURIZADA Y EXPENDIDA POR TIPO DE RECIPIENTE CON EL NUMERO DE MUESTRAS CONTAMINADAS.

ESTUDIO PROSPECTIVO. GUATEMALA. AGOSTO-SEPTIEMBRE 1985

DIAS ENTRE PASTEURIZADA Y EXPENDIDA	CONTAMINADAS		NO CONTAMINADAS		TOTAL
	BOLSA	CARTON	BOLSA	CARTON	
< 3	16	3	21	3	43
> 3	6	23	3	25	57
TOTAL	22	26	24	26	100

FUENTE: Boleta de recolección de datos.

VIII DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En la presente investigación, se encontró que el 48% de las muestras de leche de vaca pasteurizada, obtenida de tiendas, abarroterías y misceláneas de la ciudad capital, estaban contaminadas por: Escherichia coli. (ver cuadro No. 1)

La presencia de los coliformes fecales indica:

- Deficiente proceso de pasteurización.
- Recontaminación por el equipo, condiciones antihigiénicas del medio ambiente y que el personal que manipula la leche presenta hábitos sucios.

Respecto al proceso, Gálvez (1963); realizó un control de calidad de la leche antes y después del proceso de la pasteurización, concluyendo en que éste era adecuado. (9). Pero, las condiciones del medio ambiente de las pasteurizadoras cambian constantemente, que en la actualidad sus resultados carecen de validez. Además, hay mayor demanda del producto y podría ser que a mayor demanda menor calidad, con la consiguiente aparición de los coliformes en el producto investigado.

Por otra parte, las condiciones antihigiénicas del equipo y del medio ambiente de las pasteurizadoras, parecen ser los mayores responsables de la contaminación, porque estas presentaron: pisos inadecuados, ventanas destapadas, mantas que se mezclan con el contenido de los baldes, tambos que son limpiados inadecuadamente, gran cantidad de basura, excretas, moscas y cucarachas en sus alrededores. (17). Los cuales favorecen la diseminación, crecimiento y multiplicación de los microorganismos.

También el operario está involucrado, porque se ha reportado que favorece la contaminación de la leche con organismos patógenos para el hombre, cuando no tiene hábitos limpios y no man tiene un control sanitario adecuado. (22)

Los recipientes no parecen influir en la contaminación, porque presentaron cierre hermético y sin lesiones. Además, no hubo mucha diferencia en el número de microorganismos, tanto en las muestras de menos y más de 3 días entre pasteurizada y expendida. (ver cuadro No. 1). Tal vez, se deba a que se contaminó poco, la temperatura en el transporte no los afectó demasiado o que permanecieron poco tiempo en los establecimientos.

Por otra parte, en más de 3 días entre pasteurizada y expendida, hay 6 muestras en recipientes de cartón que tienen 2,400 coliformes por ml, que son catalogados como de máxima contaminación. (ver cuadro No. 1) Siendo, posiblemente más afectados por el tiempo de permanencia en los establecimientos, los que algunas veces desconectan sus refrigeradoras a ratos en el día o durante la noche con el fin de economizar energía eléctrica.

En cuanto al transporte de las pasteurizadoras a los expendios, favorece la proliferación de los microorganismos, porque el producto debería ser transportado a una temperatura entre 0 y 5° C, pero no ocurre así.

El control sanitario de la leche pasteurizada no ha sido adecuado, ya que idealmente se acepta un 3% de muestras contaminadas y hasta el 10%, pero nosotros estamos en un nivel crítico del 48%. Si agregamos que, nuestros resultados son similares a los obtenidos por el Departamento de Control de Alimentos en el año de 1983 (49%); podemos darnos cuenta de que aún prevalecen las condiciones que causaron la contaminación de la leche, sin que se hayan tomado las medidas necesarias para contrarrestar

y erradicar los condicionantes de la contaminación.

Siendo finalmente, el consumidor el más afectado, tanto en su economía como en su salud, ya que, paga por un producto que no tiene las condiciones sanitarias adecuadas para su consumo y corre el riesgo de que al ingerirlos sufra intoxicaciones bajo la forma de Gastroenteritis aguda producida por bacterias o sustancias derivadas de ellas, con el consiguiente perjuicio a su salud.

IX CONCLUSIONES

1. El 48% de las muestras de leche pasteurizada, obtenida de: tiendas, abarroterías y misceláneas de la ciudad de Guatemala, estaban contaminadas con Escherichia coli.
2. El 6% del total de muestras de leche, presentó recuentos calificados como de máxima contaminación, con 2,400 coliformes fecales por ml.
3. Tanto las muestras de menos, como las de más de 3 días en tre pasteurizada y expandida, estaban contaminadas en un 19 y 29% respectivamente.
4. Del 48% de las muestras de leche pasteurizada, contaminadas por Escherichia coli, el 22% estaban en bolsa plástica y el 26% restante en recipientes de cartón.
5. No hay un adecuado control sanitario de la leche pasteurizada en nuestro país.

X RECOMENDACIONES

1. Que el Ministerio de Salud Pública, por medio del Departamento de Control de Alimentos, tenga un control sanitario adecuado de los productos lácteos, para que se provea a las plantas pasteurizadoras de leche fresca, obtenida de vacas libres de enfermedades y asegurar además, que los productos manufacturados con esa leche sean saludables y libres de contaminantes.
2. Que el Ministerio de Salud Pública, establezca controles periódicos, por lo menos de uno cada mes, de muestras representativas de productos lácteos u otros alimentos, tal como se expenden, y que al mismo tiempo, eduque e informe, tanto a: productores, operarios, expendedores y consumidores, sobre la forma como se debe de elaborar, manejar, preservar y mantener en condiciones aptas los productos lácteos u otros.
3. Que los productores mejoren las condiciones del medio ambiente de sus pasteurizadoras, y que identifiquen e informen claramente en sus envases, la fecha de elaboración y/o vigencia del producto.
4. Que tanto el Departamento de Control de Alimentos como los productores, determinen las causas que favorecieron la entrada y multiplicación de los contaminantes bacterianos y se promueva su eliminación, para proteger la salud de los consumidores.

5. Que la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos, promueva, por su Centro de Investigaciones, la realización de diversos estudios, sobre otro tipo de contaminantes, tanto en productos lácteos como en otros alimentos, para que desarrollemos nuestra propia tecnología y se aporten soluciones a nuestra problemática social.

XI RESUMEN

Durante el período comprendido entre el 27 de agosto y el 30 de septiembre del corriente año, se analizaron microbiológicamente 100 muestras de leche pasteurizada, las cuales se obtuvieron de diferentes establecimientos de consumo popular, tales como: tiendas, abarroterías y misceláneas, que se encuentran distribuidas en las diferentes zonas de la ciudad capital.

El objetivo de la investigación, era determinar si había contaminación por Escherichia coli en la leche, para lo cual se utilizó el método de Harrigan y Mc Cance, para la detección de organismos coliformes fecales en productos lácteos.

Todas las muestras fueron recolectadas y procesadas el mismo día, con un intervalo de 3 a 6 horas. Las muestras, una por establecimiento, fueron recolectadas y transportadas en una hielera de Duroport, a razón de 8 a 9 diarias, los días lunes, martes y miércoles.

Siendo los días miércoles, jueves y viernes, utilizados para leer los cultivos y sembrar en Mc Conkey.

Se encontró que el 48% de la leche pasteurizada investigada, presentaba contaminación bacteriana por Escherichia coli y el 6% recuentos calificados como de máxima contaminación.

Lo cual nos indicó:

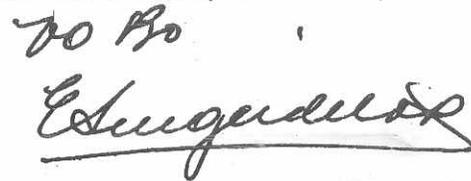
- a) Deficiente proceso de pasteurización.
- b) Recontaminación por utensilios de dudosa higenes, condiciones antihiigiénicas del medio ambiente y que el personal que manipula la leche presenta hábitos sucios.

Concluimos en que no hay un adecuado control sanitario de la leche pasteurizada en nuestro país.

XII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abdussalam, M. U. y E. Barber. *Higiene de la leche*. - Ginebra, OMS, 1966, 838p. (pp. 13-21)
2. Acha, P. *Consumo e higiene de los alimentos*. Buenos Aires, OPS Centro Panamericano de Zoonosis, 1971. - 21p. (Publicación científica OPS No. 2)
3. Adams, h. S. *Milk and food sanitation practice*. 11th. ed. New York, The Commonwealth Found, 1947. - 311p. (p. 156)
4. Arriola, J. *Estudio sobre la higiene de la leche de consumo en 4 municipios de la cuenca del río Samalá*. Tesis (Veterinario y Zootecnista)-Universidad de San Carlos, Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Guatemala, 1975. 19p.
5. Bagley, S. R. y R. Seddler. Significance of fecal coliform positive and Klebsiella. *Apple and Environ Microbiol* 1977 Mar; 33(3):590-594
6. Bissonnette, G. et al. Evaluation and recover methods to detect coliforms water. *Apple and Environ Microbiol* 1977 May; 33(5):1141-1148
7. Cooke, M. E. *Escheriquia coli and man*. London, Livingstone, 1974. 96p.
8. Foster, E. M. *Microbiología de la leche*. México, Herre-ra, 1965. 490p. (pp. 1-27)

9. Gálvez, G. O. Control de leches pasteurizadas. Tesis (Veterinario y Zootecnista)-Universidad de San Carlos, Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Guatemala, - 1963. 32p.
10. Hall, O. W. and J. Hendricks. Drying of milk and milk products. 3rd. ed. Connecticut, AVI, 1971. 338p. (p. 56)
11. Harrigan, W. F. Laboratory methods in food and dairy microbiology. New York, Academic Press, 1970. 482 p. (p. 90)
12. Henderson, J. D. The fluid milk industry. 3rd. ed. Connecticut, AVI, 1971. 677p. (pp. 1-78)
13. Jawetz, E. et al. Manual de microbiología médica. 6. ed. México, Manual Moderno, 1977. 658p. (p. 96)
14. Karl, D. J. Lactobacteriología. Zaragoza, Acribia, - 1969. 375p. (pp. 1-50)
15. Kon, S. K. La leche y los productos lácteos en la nutrición humana. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación, 1972. - 90p.
16. Lange, F. A. Evaluación bacteriológica de la leche materna en un lactario de un hospital. Tesis (Químico Biólogo)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1983. 59p.
17. Lara, M. W. Contaminación por estafilococos en productos lácteos en Guatemala. Tesis (Químico Biólogo)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1979. 47p.
18. Lerche, M. Inspección veterinaria de la leche. Zaragoza, Acribia, 1969. 376p. (pp. 15-75)
19. Lincoln, L. M. Modern dairy products. 3rd. ed. Connecticut, AVI, 1970. 418p. (pp. 15-75)
20. Merchant, I. A. Bacteriología y virología veterinaria. 3. ed. Zaragoza, Acribia, 1969. 804p. (pp. 80-90)
21. Padilla, M. L. Calidad e higiene de la leche cruda. Tesis (Químico Biólogo)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1981. 41p.
22. Revilla, A. R. Tecnología de la leche. 7.ed. México, Herrera, 1983. 160p. (pp. 1-60)
23. Rodwell, W. S. Manual práctico de nutrición. México, Pax, 263p. (pp. 15-68)
24. Sobalbarro, E. J. Leche cruda de consumo en la ciudad de Guatemala. Tesis (Veterinario y Zootecnista)- Universidad de San Carlos, Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Guatemala, 1973. 41p.



BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

FECHA _____ NUMERO DE ORDEN _____

ESTABLECIMIENTO _____

DIRECCION _____

HORAS ENTRE MUESTREO Y PROCESO _____

MARCA _____ PRESENTACION _____

DIAS ENTRE PASTEURIZADA Y EXPENDIDA _____

TEMPERATURA DE MANTENIMIENTO _____

OBSERVACIONES _____

RESULTADO DE TEXT LIQUIDO RESULTADO DEL MAC CONKEY

COLIFORMES NMP/ML _____

BACTERIAS COLIFORMES

CUADRO DE LOS NÚMEROS MÁS PROBABLES (NMP) POR 100 ML DE MUESTRA**

Usando 5 tubos
con volúmenes de 10, 1 y 0,1 ml

Pos*	NMP										
10, 1, 0,1		10, 1, 0,1		10, 1, 0,1		10, 1, 0,1		10, 1, 0,1		10, 1, 0,1	
000	0	100	2	200	4,5	300	7,8	400	13	500	23
001	1,8	101	4	201	6,8	301	11	401	17	501	31
002	3,6	102	6	202	9,1	302	13	402	21	502	43
003	5,4	103	8	203	12	303	16	403	25	503	58
004	7,2	104	10	204	14	304	20	404	30	504	76
005	9	105	12	205	16	305	23	405	36	505	95
010	1,8	110	4	210	6,8	310	11	410	17	510	33
011	3,6	111	6,1	211	9,2	311	14	411	21	511	46
012	5,5	112	8,1	212	12	312	17	412	26	512	64
013	7,3	113	10	213	14	313	20	413	31	513	84
014	9,1	114	12	214	17	314	23	414	36	514	110
015	11	115	14	215	19	315	27	415	42	515	130
020	3,7	120	6,1	220	9,3	320	14	420	22	520	49
021	5,5	121	8,2	221	12	321	17	421	26	521	70
022	7,4	122	10	222	14	322	20	422	32	522	95
023	9,2	123	12	223	17	323	24	423	38	523	120
024	11	124	15	224	19	324	27	424	44	524	150
025	13	125	17	225	22	325	31	425	50	525	180
030	5,6	130	8,3	230	12	330	17	430	27	530	79
031	7,4	131	10	231	14	331	21	431	33	531	110
032	9,3	132	13	232	17	332	24	432	39	532	140
033	11	133	15	233	20	333	28	433	45	533	180
034	13	134	17	234	22	334	31	434	52	534	210
035	15	135	19	235	25	335	35	435	59	535	250
040	7,5	140	11	240	15	340	21	440	34	540	130
041	9,4	141	13	241	17	341	24	441	40	541	170
042	11	142	15	242	20	342	28	442	47	542	220
043	13	143	17	243	23	343	32	443	54	543	280
044	15	144	19	244	25	344	36	444	62	544	350
045	17	145	22	245	28	345	40	445	69	545	430
050	9,4	150	13	250	17	350	25	450	41	550	240
051	11	151	15	251	20	351	29	451	48	551	350
052	13	152	17	252	23	352	32	452	56	552	540
053	15	153	19	253	26	353	37	453	64	553	920
054	17	154	22	254	29	354	41	454	72	554	1600
055	19	155	24	255	32	355	45	455	81	555	2400+

* Número de tubos positivos con cada uno de los 3 volúmenes usados.
Nota—Todas las cifras bajo NMP en este cuadro pueden ser divididas por 100 al informarse el "NMP/ml". (o/g).

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(C I C S)

CONFORME:

[Handwritten signature]

Dr. Mario Augusto ~~Moreno~~ **RAMIREZ L.**
ASESOR. MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
Colegiado No. 114



SATISFECHO:

[Handwritten signature]

Dra. Soledad Valdez G.
REVISOR Dra. Soledad Valdez
Colegiada 3162
MEDICO Y CIRUJANO

APROBADO:

[Handwritten signature]

DIRECTOR DEL CICS

IMPRIMASE:

Dr. Mario René Moreno Cambará
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS.
U S A C .



Guatemala, 7 de Mayo de 1985.

Los conceptos expresados en este trabajo son responsabilidad únicamente del Autor. (Reglamento de Tesis, Artículo 44).