

CALIDAD BACTERIOLÓGICA Y RELACIÓN ENTRE GRUPOS BACTERIANOS EN LECHE DE TANQUE DE FRÍO*

MOLINERI, A. I.²; SIGNORINI, M. L.^{2,3}; CUATRIN, A. L.²; CANAVESIO, V. R.²;
NEDER, V. E.²; RUSSI, N. B.¹; BONAZZA, J. C.⁴ & CALVINHO, L. F.^{1,2}

RESUMEN

El objetivo fue caracterizar la calidad bacteriológica de la leche de tanque producida en 27 establecimientos lecheros ubicados en diferentes cuencas lecheras de Argentina y determinar la correlación entre los grupos bacterianos analizados. Se tomaron muestras de leche de tanque a las cuales se les realizó el recuento de mesófilos totales (RMT), coliformes (RCT), termodúricos (ROT), psicrotrofos totales, proteolíticos y lipolíticos, detección de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*. La correlación entre el recuento de los microorganismos asociados con fuentes de contaminación fue baja. Una alta proporción de las muestras presentaron RMT (64,4%), RCT (30,3%) y ROT (49,4%) que excedieron los valores para una leche de buena calidad microbiológica. El 1,1% superó los valores de RMT fijados en la actualidad por el CAA. No se aisló *Salmonella* spp., aunque la mitad de las muestras fueron positivas para *E. coli*. Dada la diversidad bacteriana contaminante presente en la leche almacenada en tanques de frío, deben examinarse varios grupos bacterianos en conjunto para realizar un diagnóstico y determinar las fuentes potenciales de contaminación y de esta forma realizar las acciones para remediar las desviaciones.

Palabras clave: calidad bacteriológica, leche de tanque.

SUMMARY

Bacteriological quality and corelations between bacterial groups counts in bulk tank milk

The objective of this study was to characterize the bacteriological quality of bulk tank milk produced in 27 dairy farms located in different areas of Argentina and to determine the correlation between the different groups of evaluated organisms. Standard plate count (SPC), total coliform count (TCC), *Escherichia coli* count, laboratory pasteurization count (LPC), total psychrotrophic count, proteolytic psychrotrophic count, lipolytic psychrotrophic count and *Salmonella* spp. detection was performed on bulk tank milk samples. The correlation between different organisms associated with

1.- Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805. Esperanza, provincia de Santa Fe.

2.- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela. Ruta 34 km 227. Rafaela, Santa Fe.

3.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

4.- Actividad Privada. Humboldt, Santa Fe

*Trabajo financiado con fondos del Proyecto Nacional INTA N° 52:22007.

Manuscrito recibido el 31 de agosto de 2009 y aceptado para su publicación el 30 de septiembre de 2009.

diverse contamination sources was low. A high proportion of samples showed SPC (64.4%), TCC (30.3%) and LPC (49.4%) that exceeded microbiological excellence values. However, only 1.1% yielded SPC above the legal value currently set by the Argentine Codex Alimentarius. *Salmonella* spp. was not detected in any sample; although *E. coli* was found in half of the samples evaluated. Due to the bacterial diversity present in bulk tank samples, the presence and numbers of several bacterial groups should be determined simultaneously to detect potential contamination sources and to be able to propose sound corrective actions.

Key words: Bacteriological quality, bulk tank milk.

INTRODUCCIÓN

La calidad microbiológica de la leche tiene su origen a nivel de la producción primaria. La salud e higiene de las vacas, el ambiente en el cual se encuentran y ordeñan los animales, las prácticas de ordeño (lavado y desinfección de pezones, correcto funcionamiento de la ordeñadora, limpieza del equipamiento que toma contacto con la leche) y el almacenamiento de la leche, son factores fundamentales que impactan en la contaminación de la leche producida (Murphy & Boor, 1998).

Las usinas lácteas en nuestro país, brindan al productor información sobre la calidad sanitaria y bacteriológica de la leche de tanque, medida por los recuentos de células somáticas y de organismos mesófilos, respectivamente. Ambas pruebas son indicativas de la calidad, pero no cumplen la función diagnóstica de establecer el origen de los problemas. Considerando que los factores que influyen en la calidad de la leche, tanto higiénicos como sanitarios, están íntimamente relacionados, es necesario contar con instrumentos que permitan determinar la contribución relativa de cada uno de ellos a la calidad del producto. Una de las estrategias más empleadas para evaluar la calidad de la leche a nivel de los tambos es el recuento

de bacterias indicadoras de contaminación (Hayes *et al.*, 2001).

El análisis de la leche de tanque, como parte de un sistema de monitoreo de la calidad, puede brindarle al veterinario información acerca de la extensión de las mastitis subclínicas en el rodeo, los patógenos involucrados, el nivel de higiene en el ordeño y la efectividad del programa de sanitización del equipamiento (Guterbock *et al.*, 1984). Esta metodología permite monitorear los efectos de los cambios en las prácticas de ordeño, por lo que, además de orientar a la toma de decisiones, es una importante herramienta educativa para los tamberos y productores lecheros (Fransworth, 1993; Jarayao *et al.*, 2004).

Existe poca información generada en forma independiente de las usinas lácteas sobre la calidad bacteriológica de la leche a nivel de establecimientos lecheros en Argentina. En un estudio realizado en la cuenca lechera central de Argentina el 78% de las muestras tuvieron RMT inferiores a 100.000 UFC/mL (Calvinho *et al.*, 2000). En otro estudio realizado desde 1993 a 2002 en la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero la calidad bacteriológica de la leche de tanque fue medida como recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales. En el mismo se observaron disminuciones

de los valores de 320.000 UFC/mL (1993) a 32.000 UFC/mL (2002), lo cual es indicativo de correcciones en los aspectos higiénicos y de conservación (Revelli *et al.*, 2004).

El objetivo de este estudio fue caracterizar la calidad bacteriológica de la leche de tanque producida en 27 establecimientos lecheros ubicados en diferentes cuencas lecheras de Argentina y determinar la correlación entre los distintos grupos bacterianos presentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los tambos utilizados en este trabajo estaban incluidos en un estudio que involucraba a 45 establecimientos estratificados sobre la base de su concentración de materia grasa y proteína, siendo además seleccionados por su predisposición a colaborar en esta investigación. De los 27 tambos incluidos, 12 establecimientos pertenecían al área central de Santa Fe, 3 al sur de Santa Fe, 3 a Villa María (Córdoba), 4 al área de Paraná (Entre Ríos) y 5 a Tandil (Buenos Aires).

Todos los tambos que participaron en el estudio poseían algún tipo de sistema de enfriamiento de la leche: un 60,3% tenía equipo de frío tipo tanque, un 15,5% tipo cuba y un 24,1% tipo serpentina. En cuanto a la tecnología aplicada al tambo, el 97,7% poseía lavado automático de la máquina de ordeño y un 88% del tanque de frío.

Si bien la rutina de ordeño variaba según el establecimiento, la prueba de los primeros chorros se practicaba en el 70,68% de los tambos. El 24,39% lavaban y secaban pezones, un 62,19% lavaban y no secaban los pezones; el 57,83% practicaba desinfección de pezones post ordeño y sólo el 4,8% realizaba desinfección de pezones pre ordeño.

Se realizaron tres muestreos de leche de tanque por tambo empleando recipientes

estériles de acuerdo a metodología estándar (FIL-IDF 50C: 1995). Algunos establecimientos fueron muestreados más de una vez en un mismo período. Los muestreos se efectuaron en los siguientes momentos: a) noviembre 2003 a marzo 2004 (verano), b) abril a agosto 2004 (otoño-invierno) y c) septiembre a diciembre 2004 (primavera). Las muestras fueron refrigeradas hasta su procesamiento, practicándose los siguientes análisis: recuento de mesófilos totales (RMT) (Petrifilm, Método AOAC 990.12), recuento de coliformes totales (RCT) y *Escherichia coli* (REC) (Petrifilm, Método AOAC 991.14), recuento de organismos termodúricos (ROT) (Petrifilm, Método AOAC 990.12) luego de calentamiento a 62,8°C por 30 minutos, recuento de organismos psicrotrofos totales (RPT) (FIL-IDF 101A:1991), recuento de organismos psicrotrofos lipolíticos (RPL) y proteolíticos (RPP) (Hayes *et al.*, 2001) y presencia de *Salmonella* spp. (FIL-IDF 93B:1995).

Los valores de corte tomados para los distintos grupos bacterianos en este estudio fueron los siguientes: mesófilos <10.000 UFC/mL; coliformes totales <100 UFC/mL; termodúricos 200 a 300 UFC/mL. Estos valores son considerados de excelencia para leche de tanque de frío (Guterbock & Blackmer, 1984, Murphy & Boor, 1998). Para el caso de psicrotrofos totales se utilizó un límite de 50.000 UFC/mL (Murphy, 1997). Al igual que ocurre con psicrotrofos totales, en el caso de psicrotrofos lipolíticos y proteolíticos no existen valores de referencia en cuanto a la calidad de leche, por lo que se fijó para este estudio el valor de 1.900 UFC/mL para ambos casos, utilizando los percentiles 50 de la distribución de valores para ambos grupos.

La existencia de correlación entre los distintos grupos bacterianos, fue realizada mediante un análisis de correlación lineal

de Pearson (Infostat, Universidad Nacional de Córdoba) entre los logaritmos de los recuentos de los distintos grupos bacterianos analizados.

RESULTADOS

Calidad Bacteriológica de leche de tanque

Para el total de los tambos en estudio la media del RMT fue de 102.059 UFC/mL (5 logUFC/mL). El 35,6% de las muestras mostró valores inferiores a las 10.000 UFC/mL. Las muestras que contenían recuentos superiores a las 350.000 UFC/mL y por lo tanto con baja calidad bacteriológica, fueron 1,1% del total (Fig. 1).

La media del RCT fue de 424 UFC/mL y un 70,5% de las muestras estuvieron por debajo de 100 UFC/mL de coliformes totales

(Fig. 2). En el caso de REC la media fue de 44 UFC/mL y el 49,4% de las muestras mostraron ausencia de *E. coli* (Fig. 3). No se detectó presencia de *Salmonella* spp. en ninguna de las muestras analizadas.

El ROT presentó una media de 451 UFC/mL, encontrándose el 69,6% de las muestras en valores inferiores a 300 UFC/mL (Fig. 4).

El RPT tuvo una media de 66.719 UFC/mL. Un 73,8% de las muestras estuvo por debajo de 50.000 UFC/mL. Las medias del RPL y del RPP fueron de 20.690 UFC/mL y 27.153 UFC/mL, respectivamente. El 50% de las muestras arrojaron valores superiores a 1.900 UFC/mL (Fig. 5).

El 8% de las muestras analizadas presentaron, simultáneamente, RMT, RCT, REC, ROT y RPT que excedieron los parámetros considerados como de excelencia desde el punto de vista microbiológico.

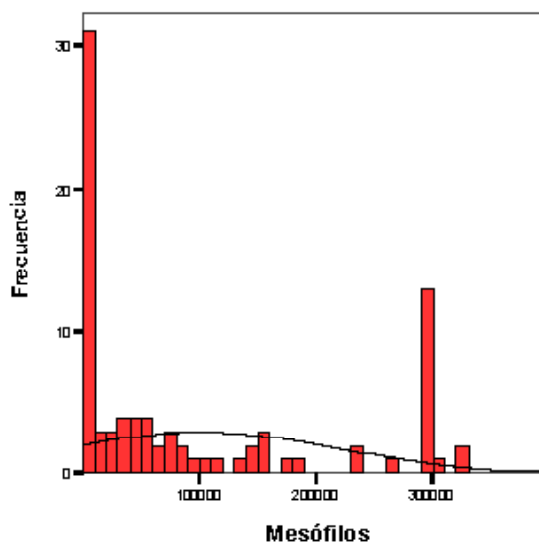


Fig. 1: Distribución de frecuencias de los recuentos de Mesófilos en leche de tanque (UFC/mL). La línea azul indica el valor límite para una leche de calidad microbiológica de excelencia (10.000 UFC/mL).

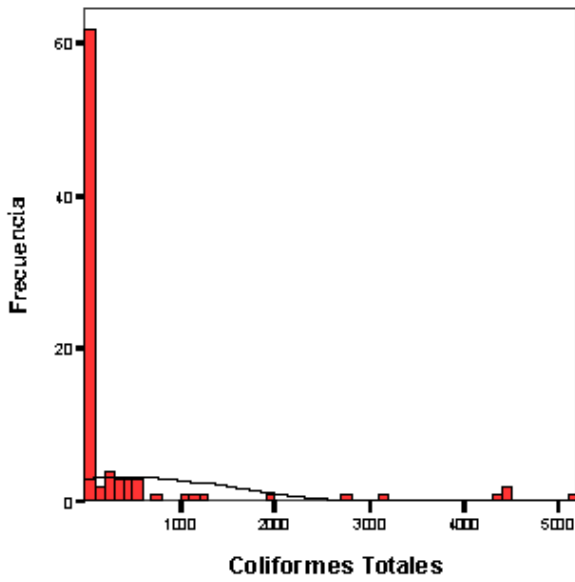


Fig. 2: Distribución de frecuencias de los recuentos de Coliformes Totales en leche de tanque (UFC/mL).

La línea azul indica el valor límite para una leche de calidad microbiológica de excelencia (100 UFC/mL).

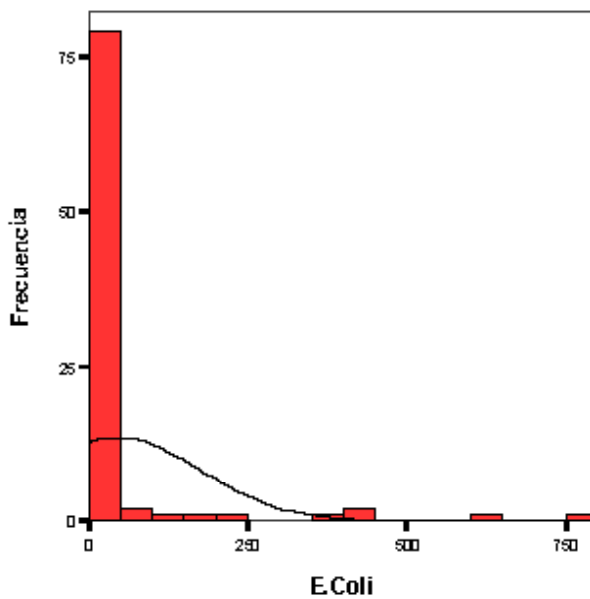


Fig. 3. Distribución de frecuencias de los recuentos de E. coli (UFC/mL)

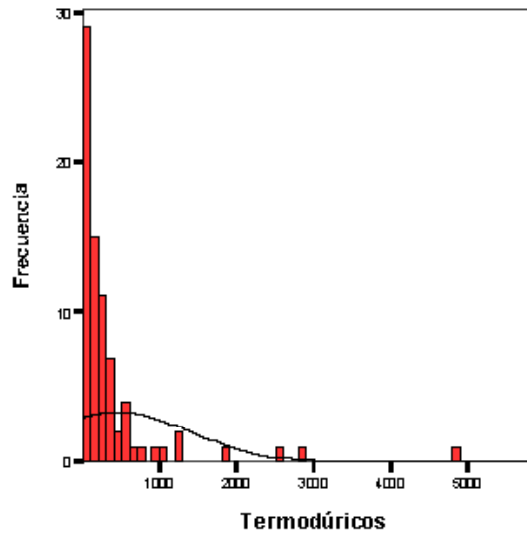


Fig. 4: Distribución de frecuencias de organismos Termodúricos (UFC/mL)
La línea azul indica el valor límite para una leche de calidad microbiológica de excelencia (200 - 300 UFC/mL).

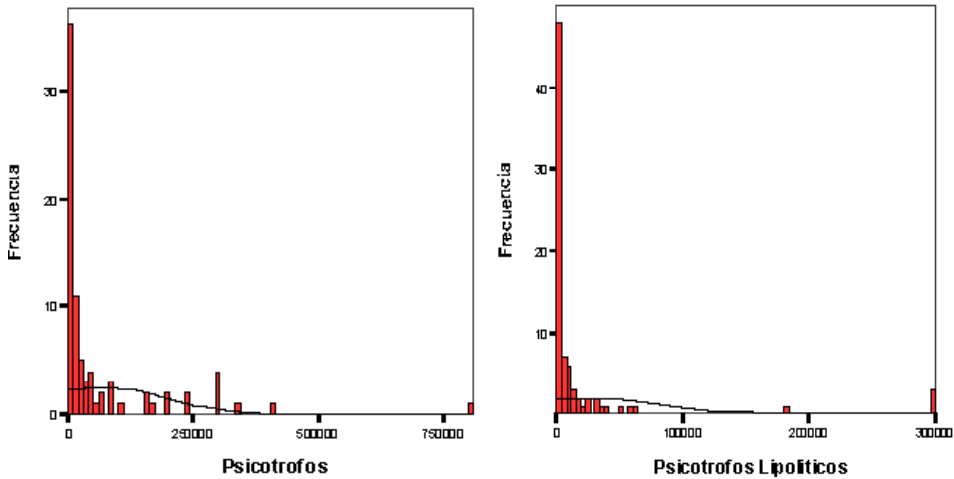


Fig. 5: Distribución de frecuencias de RPT, RPL y RPP (UFC/mL).
La línea azul indica el valor límite para una leche de calidad microbiológica de excelencia (RPT=50.000 UFC/mL, RPP y RPL=1.900 UFC/mL).

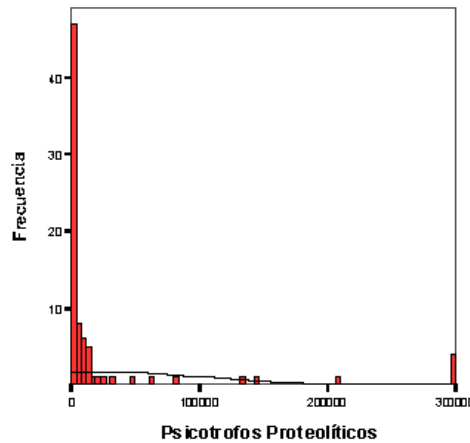


Fig. 5: Continuación.

Correlación entre grupos bacterianos

En el Cuadro 1 se observan los valores de correlaciones y el nivel de significancia obtenido entre los diferentes recuentos de organismos indicadores de calidad de la leche de tanque. Se analizaron 80 muestras de un total de 93, dado que 13 fueron excluidas del análisis por ausencia de uno o más de los parámetros microbiológicos.

Solo se obtuvo un coeficiente de correlación superior a 0,8 entre RPT y RPP. Las correlaciones más importantes fueron entre RPT y RPL, RPP y RPL y RCT y REC. Todas las demás correlaciones tuvieron coeficientes menores a 0,5. La correlación entre los RMT y el resto de los recuentos de microorganismos fue baja. Los RCT mostraron baja correlación con todos los otros grupos salvo con los REC. Los ROT mostraron baja correlación con los recuentos de todos los organismos estudiados. Además, hubo falta de correlación de RPT con otros grupos bacterianos (RCT, REC y ROT); mientras que fue alta con los dos grupos de organismos psicrotrofos (lipolíticos y proteolíticos) evaluados en este estudio.

DISCUSIÓN

La industria láctea tiene como objetivo lograr productos de la más alta calidad microbiológica que le permita prolongar su vida útil y satisfacer de esta manera los requerimientos del mercado y proteger la salud de los consumidores. Debido a que esta calidad tiene su origen en la producción primaria, el monitoreo de la carga bacteriológica de la leche cruda resulta esencial (Hayes *et al.*, 2001). Cuanto más simple sea el análisis microbiológico, más fácil será su incorporación como parte de un sistema integral de control de la calidad del producto. Por esa razón se analizó la correlación que podría haber entre el RMT con el resto de los grupos microbianos de importancia. Nuestros datos, en concordancia con otros autores (Boor *et al.*, 1998, Signorini *et al.*, 2008), no mostraron una clara correlación entre las determinaciones microbiológicas en leche cruda. Este hecho demuestra un escaso valor predictivo entre los diferentes microorganismos estudiados y, por lo tanto, dificulta la reducción del número de marcadores utilizados para definir la calidad higiénica de la

Cuadro 1: Coeficientes de correlación de logaritmos de los recuentos de distintos grupos bacterianos en leche de tanque de establecimientos lecheros de distintas cuencas de Argentina

	RMT	RCT	REC	ROT	RPT	RPL	RPP
RMT	1						
RCT	0,233*	1					
REC	0,304*	0,534*	1				
ROT	0,204	0,261*	0,144	1			
RPT	0,294*	0,054	-0,03	0,04	1		
RPL	0,214	0,123	0,068	0,085	0,764*	1	
RPP	0,19	0,045	0,043	0,136	0,831*	0,715*	1

* Significativo ($p < 0,05$). RMT: recuento de mesófilos totales; RCT: recuento de coliformes totales; REC: recuento de E.coli; ROT: recuento de organismos termodúricos; RPT: recuento de psicotrofos totales; RPL: recuento de psicotrofos lipolíticos; RPP: recuento de psicotrofos proteolíticos.

leche cruda. Consecuentemente, para poder tener una visión global de la calidad bacteriológica de la leche, se deberían analizar los diferentes grupos microbianos indicadores. Conociendo la utilidad específica de cada grupo microbiano indicador es posible realizar un diagnóstico preciso de la calidad del producto obtenido en los tambos.

Cabe aclarar que las muestras fueron tomadas en un período prolongado de tiempo y en una región geográfica extensa, lo cual genera una mayor dispersión de resultados al comparar muestras con realidades microbiológicas disímiles. Lo anterior reduce la correlación entre los diferentes recuentos de microorganismos indicadores, debiendo tener presente estas consideraciones a la hora de analizar las conclusiones.

El RMT es una estimación general de la calidad higiénica de la leche y es usualmente utilizado por las empresas lácteas dentro de los esquemas de pago de la leche (Murphy & Boor, 1998). Elevados RMT son indicativos de deficiente limpieza de los pezones y del ambiente durante el ordeño, así como de presencia de vacas con mastitis (especialmente por *Streptococcus agalactiae*). Una

alta proporción de las muestras analizadas (64.4%) presentaron RMT superiores a los establecidos como referencia para una leche de excelente calidad a nivel de tanque de frío (<10.000 UFC/mL) pero sólo el 1,1% de las mismas superó los límites legales de 350.000 UFC/mL (CAA, 2006). Si bien son escasos los informes de estudios independientes realizados para determinar la calidad bacteriológica de la leche, los valores obtenidos son superiores a los observados en la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero en el año 2002 (32.000 UFC/mL) (Revelli *et al.*, 2004) y sólo el 66,7% de las muestras en nuestro ensayo tuvieron RMT menores a 100.000 UFC/mL, a diferencia de lo observado en otro estudio, realizado en la cuenca lechera central de la Argentina donde el 78% de las muestras estuvieron por debajo de ese valor (Calvinho *et al.*, 2000). Otro estudio (Taverna *et al.*, 2001) realizado en la misma cuenca con base en el análisis de leche de camiones cisternas previo a la entrada a la industria y de leche de tanque de tambos reportó niveles promedios de RMT de 74.000 UFC/mL y 74.100 UFC/mL, respectivamente, los cuales son inferiores a

los del presente estudio, aunque en ambos casos la proporción de muestras con RMT por debajo de las 100.000 UFC/mL fue, aproximadamente, del 66%.

En muchos casos un aumento del RMT está correlacionado con malas condiciones de higiene durante la rutina de ordeño, asociado a ubres sucias antes del ordeño, pezones mal higienizados pre y post ordeño y mala limpieza y sanitización del equipo de ordeño (Jarayao *et al.*, 2004); sin embargo, no es indicativo de una fuente de contaminación específica. Los recuentos de coliformes totales y de *E. coli* en particular indican contaminación fecal de la leche, generalmente a través de higiene deficiente de la rutina de ordeño o del equipo de ordeño (Murphy & Boor, 1998, Verdier-Metz, *et al.*, 2009). En el presente estudio, el 75% de las muestras que presentaron RCT elevados, también mostraron altos RMT, mientras que el 12,6% de las muestras presentaron RCT, RMT y ROT simultáneamente fuera de los parámetros bacteriológicos considerados de excelencia. Cabe destacar que el 70,5% del total de las muestras presentó un RCT inferior a 100 UFC/mL, considerado como valor de excelencia en leche de tanque de frío (Guterbock & Blackmer, 1984, Murphy & Boor, 1998).

Si bien se observaron marcadas variaciones dentro de cada estación de muestreo, el 49,4% de las muestras mostraron ausencia de *E. coli* y ninguna de las mismas evidenció la presencia de *Salmonella* spp., concordando con estudios similares realizados en Argentina (Signorini *et al.*, 2008). No todas las cepas de *E. coli* poseen un potencial patogénico, por lo que su sola presencia no puede ser interpretada como indicativo de leche no segura para el consumo humano. No obstante, su hallazgo en muestras de leche cruda está relacionado con la contaminación de origen fecal y, por lo tanto, es un indicio de

la presencia de microorganismos patógenos de dicho origen. Uno de los tipos patógenos de *E. coli* que entraña un alto riesgo a la salud pública es el productor de verotoxinas (VTEC), especialmente la cepa O157:H7, responsables del Síndrome Urémico Hemolítico. La principal vía de transmisión son los alimentos contaminados, siendo la leche una de las fuentes del patógeno (Rivas *et al.*, 2006). En estudios realizados en Argentina (Meichtri *et al.*, 2004) se demostró que la prevalencia de bovinos que liberan VTEC en sus heces es cercana al 40%. Estudios realizados en Argentina analizando leche de tanque (Roldán *et al.*, 2007) no pudieron aislar cepas de *E. coli* O157:H7. La elevada prevalencia del patógeno en los rodeos bovinos nacionales resalta la importancia de continuar con las investigaciones para evaluar la presencia de VTEC (O157 y no-O157) en la leche producida en Argentina.

La correlación entre el RCT y REC fue alta, lo cual es predecible considerando que *E. coli* es uno de los integrantes de este grupo bacteriano (Cuadro 1).

Los organismos termodúricos provienen del medio ambiente y se caracterizan por resistir la pasteurización estándar. Están relacionados con deficiencias en la rutina de ordeño, presencia de piedra de leche, pobre higiene del equipo de ordeño, piezas de goma agrietadas y viejas (Murphy, 1997; Murphy & Boor, 1998). Los ROT dentro del valor de excelencia, son indicativos de buena higiene del equipo de ordeño (Guterbock & Blackmer, 1984). En el presente estudio el 69,6% de las muestras tuvieron valores inferiores a 300 UFC/mL. Elevados ROT en confluencia con elevados RCT son indicativos de problemas en el lavado de la máquina ordeñadora (Guterbock & Blackmer, 1984), situación que fue observada en este estudio en el 16,1% de las muestras analizadas.

Los organismos psicrotrofos crecen a

temperaturas de refrigeración de la leche y están asociados a higiene deficiente durante el ordeño y del propio equipo de ordeño, reduciendo el tiempo de conservación de la leche (Murphy & Boor, 1998). Si bien no existen estándares de referencias para el recuento de estos organismos, se considera que los recuentos mayores a 50.000 son preocupantes (Murphy, 1997). La leche cruda mantenida bajo refrigeración, previo a su procesamiento, está sujeta a la pérdida de calidad y posible deterioro por las bacterias psicotrofas. Cuando estos gérmenes se desarrollan en gran número antes del tratamiento de la leche, alcanzando recuentos superiores a 10^7 UFC/mL, secretan enzimas termorresistentes (proteasas y lipasas) que originan defectos de sabor (sabores amargos, enranciamiento) o problemas de estabilidad física durante el almacenamiento de los productos pasteurizados, aún cuando los microorganismos hayan sido destruidos durante el tratamiento térmico (Larpen, 1994, Neaves & Langridge, 2000). La correlación entre los grupos de psicotrofos estudiados es alta, según lo esperado (cuadro 1). En un estudio realizado en el área de Santa Fe, el 65% de las bacterias psicotrofas aisladas presentaron actividad hidrolítica (lipolítica, proteolítica o ambas) (Reinheimer *et al.*, 1990).

CONCLUSIONES

Los distintos grupos bacterianos analizados tuvieron baja correlación con RMT. No fue posible establecer correlaciones entre los resultados de los diferentes análisis microbiológicos con el que actualmente se realiza sobre leche cruda.

Una alta proporción de las muestras presentaron RMT que excedieron el límite establecido para una leche de excelente

calidad microbiológica (10.000 UFC/mL), aunque debe considerarse que el límite legal actualmente en vigencia de acuerdo con el Código Alimentario Argentino es de 350.000 UFC/mL. El mismo será, a partir del 2011 de 200.000 UFC/mL (CAA, 2006).

No se aisló *Salmonella* spp., aunque la mitad de las muestras fueron positivas para *E. coli*. El análisis conjunto de diferentes microorganismos indicadores resulta fundamental para realizar un diagnóstico de la calidad bacteriológica de la leche cruda que permita identificar potenciales fuentes de contaminación y de esta forma guiar a la toma de acciones para remediar las desviaciones.

AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Emilio Walter por la coordinación de la toma y remisión de muestras al laboratorio.

Este estudio fue financiado por un subsidio Proyecto Nacional INTA. N° 52-5222007.

BIBLIOGRAFÍA

- BOOR, K. J.; D. P. BROWN; S. C. MURPHY; S. M. KOZLOWSKI; D. K. BANDLER.** 1998. Microbiological and chemical quality of raw milk in New York State. *Journal of Dairy Science*, 81:1743-1748.
- CALVINHO L. F.; V. R. CANAVESIO; N. P. AGUIRRE; R. A. ALMEIDA; S. P. OLIVER.** 2000. Bacteriological bulk tank milk quality from dairy farms with high and low somatic cell counts in the central dairy area of Argentina. *Proc. 39th Annual Mtg. N.M.C.* Pág. 174-175.

- CAA. 2006. Art. 556 tris, cap. VIII: Alimentos Lácteos.
- FIL-IDF.** 1995. Milk and milk products. Methods of sampling. Standard 50C. Brussels, Belgium. International Dairy Federation.
- FIL-IDF.** 1991. Enumeration of psychrotrophic microorganisms coloni count technique at 6.5°C. Standard 101A. Brussels, Belgium. International Dairy Federation.
- FIL-IDF (93B:1995)** Milk and milk products. Detection of Salmonella. Bull.: 41 International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- FRANSWORTH, R. J.** 1993. Microbiologic examination of bulk tank milk. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract., 9:469-474.
- GUTERBOCK, W. M. & P. E. BLACKMER.** 1984. Veterinary Interpretation of bulk tank milk. Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice-Vol. 6, n°2, July 1984. 257-268.
- HAYES, M. C.; R. D. RALYEA; S. C. MURPHY; N. R. CAREY; J. M. SCARLETT; K. J. BOOR.** 2001. Identification and Characterization of Elevated Microbial Counts in Bulk Tank Raw Milk. J. Dairy Sci., 84:292-298.
- JARAYAO, B. M.; S. R. PILLAI; A. A. SAWANT; D. R. WOLFGANG; N.V. HEDGE.** 2004. J. Dairy Sci., 87:3561-3573.
- LARPENT, J. P.** 1994. Leche y productos lácteos no fermentados. En: Microbiología alimentaria, Volumen I. Aspectos microbio-lógicos de la seguridad y calidad alimentaria, por C.M. Burgeois, J.F. Mescle, y J. Zucca (Eds). Zaragoza, Acribia, 209-220 pp.
- MEICHTRI, L.; E. MILIWEBSKY; A. GIOFFRÉ; I. CHINEN; A. BASCHKIER; G. CHILLEMI et al.** 2004. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. Int. J. Food Microbiol.; 96:189-198.
- MÉTODOS OFICIALES AOAC.** (990.12) Conteo con placa de aerobios en alimentos, Método con película rehidratable seca).
- MÉTODOS OFICIALES AOAC** (Método de lámina rehidratable 991.14 para recuento de coliformes y *E. coli* en alimentos).
- MURPHY S.C.** 1997. Raw milk bacteria tests: Standard plate count, preliminary incubation count, lab, pasteurization count and coliform count-What do they mean for your farm? Pág.: 34-41 In Nat. Mastitis Council. Reg. Mtg., Syracuse, New York. National Mastitis Council, Inc., Madison, WI.
- MURPHY, S. C. & K. J. BOOR.** 1998. Raw milk bacteria tests and elevated bacteria counts on the farm: A review. En: Proceedings of the Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality. Mérida, Yucatán (México), 23-27 de marzo, págs.232-235.
- NEAVES, P. & E.W. LANGRIDGE.** 2000. Controles analíticos en la elaboración de productos lácteos. En: Tecnología de los productos lácteos, Early, R. (Ed). Zaragoza, Acribia. 335 pp.
- REINHEMER, J. A.; M. R. DEMKOW; L. A. CALABRESE.** 1990. Characteristics of psychrotrophic microflora of bulk-collected raw milk from the Santa Fe area (Argentina). Australian Journal of Dairy Technology, Nov. 1990, págs 41-46.
- REVELLI, G. R.; O. A. SBODIO; E. J. TERCERO.** 2004. Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. Revista Argentina de Microbiología, 36: 145-149.
- RIVAS, M.; E. MILIWEBSKY; I. CHINEN; N. DEZA; G.A. LEOTTA.** 2006. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. Medicina; 66 (Supl. III): 27-32.
- ROLDÁN, M. L.; I. CHINEN; J. L. OTERO; E. S. MILIWEBSKY; N. ALFARO; P. BURNS; M. RIVAS.** 2007. Aislamiento,

caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. *Rev Arg Microbiol*, 39:113-119.

SIGNORINI, M. L.; G. J. SEQUEIRA; J. C. BONAZZA; R. DALLA SANTINA; L. E. MARTÍ; L. S. FRIZZO; M. R. ROSMINI. 2008. Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias en la producción primaria de leche. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XVIII(2):207-217.

TAVERNA, M.A.; L. F. CALVINHO; V. R. CANAVESIO; L. M. NEGRI; R. B. PÁEZ; V. CHARLÓN; A. L. CUATRÍN. 2001. Caracterización de la calidad higiénico sanitaria de la leche producida en la cuenca lechera central de la Argentina. *Revista Argentina de Producción Animal*. Vol. 21-Supl. 1: 270-271.

VERDIER-METZ I.; V. MICHEL; C. DEL-BES; M. C. MONTEL. 2009. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiology*, 26:305-310