

INVESTIGACION DE MICROORGANISMOS DE LA FAMILIA Enterobacteriaceae (Rahn, 1937) EN HELADOS

Por Fernando Rodríguez Ferri

6. DISCUSION

6.1. SIGNIFICADO HIGIENICO-BROMATOLOGICO DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS PRESENTES.

6.1.1. *Cifras de recuento en placa.*

La normativa legal vigente en nuestro país y que en materia de helados se refiere al aspecto microbiológico, contempla la presencia total de gérmenes en atención a criterios fundamentalmente distintos; así, y por respetar un orden cronológico, en tanto que el Código Alimentario atiende en tales requerimientos a que los helados estén o no elaborados con frutas ácidas, estableciendo como límites máximos de gérmenes presentes cifras de 50.000 y 100.000 respectivamente, el Decreto 2.130 /74, establece la diferenciación cuantitativa legal permitida, en atención a que el producto sea calificable como pasteurizado, o bien que sus ingredientes sean por el contrario no pasteurizables, permitiendo máximos respectivamente de 100.000 y 200.000 gérmenes banales /gramo. Puestas así las cosas, es difícil considerar cuál sea la postura más correcta en cada caso particular, puesto que un aspecto como puede comprenderse no contempla el otro, y viceversa.

A pesar de todo ello consideramos como más lógica la postura que se contempla en el Decreto 2130 /74, el cual hay que tener en cuenta además, constituye la reglamentación en estos momentos vigentes en materia de hela-

(Los capítulos 1, 2, 3, 4, 5 de esta Tesis fueron publicados en *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, XXII (2), 1976, 333-373.

dos. Es preciso advertir que si bien en el Código Alimentario y en el apartado correspondiente a las Condiciones Microbiológicas de los helados no se hace alusión alguna a la pasteurización, tal Código en la definición que de este producto nos ofrece en el apartado 1.º referido a helados, considera que la mezcla ha de estar debidamente pasteurizada y homogeneizada para que posteriormente al batido y congelación de la misma pueda recibir el nombre de helado.

Así pues, y por lo que a nuestro trabajo se refiere, teniendo en cuenta sobre todo que las muestras procedentes de empresas que por su volumen fueron calificadas en otra parte como «importantes» y que es lógico merezcan mayor confianza en cuanto a la perfección tecnológica y sanitaria de elaboración con mezclas pasteurizadas, que en el caso de pequeños fabricantes a los que el coste de las instalaciones no permite con seguridad la implantación de tales dispositivos de pasteurización en la mayoría de los casos, teniendo que utilizar materias primas proporcionadas por proveedores en los cuales recaiga esta obligación, con todas las dificultades que esto entraña, y en atención a las consideraciones anteriores parece lógico considerar como límite la cifra de 100.000 gérmenes /gramo, pudiendo establecerse además tres categorías, como mínimo, desde el punto de vista higiénico:

Bueno	menos de 50.000
Aceptable	de 50.000 a 100.000
Insuficiente	más de 100.000

De acuerdo con este baremo propio de clasificación, resulta que las muestras por nosotros estudiadas nos ofrecen resultados que dejan mucho que desear desde el punto de vista higiénico, ya que en 38 de ellas (el 38 %), la cifra de recuento permite calificar el producto como «bueno» y que una muestra más (el 1 %) encuadra dentro de la categoría «aceptable», es realmente triste pensar que el 61 % restante deben de ser calificados como «insuficientes» desde el punto de vista higiénico, por ofrecer recuentos superiores a 100.000 gérmenes /ml. Lo peor del caso, es que de esas 61 muestras, nada menos que 40, superan la cifra de 1.000.000, existiendo casos realmente fuera de lo común, en que tales cifras alcanzan cifras de hasta 720 millones, que no pueden responder más que a condiciones de elaboración y creemos que sobre todo de venta, completamente reñidas con lo que debe de entenderse en el caso de un producto de consumo especialmente promocionado y también apetecido por niños de modo particular.

Antes de pasar más adelante, queremos referirnos a que las legislaciones de otros países en la materia que nos ocupa, no difieren sustancialmente de la nuestra, pues el intervalo va (como ya expresábamos en el apartado de revisión bibliográfica) en líneas generales, de 50.000 a 300.000 gérmenes /ml., lo que hace pensar que el fallo no se encuentra en que la ley sea más o menos flexible

dentro o fuera de nuestras fronteras, sino más bien en la deficiente intervención para que tales leyes y requisitos se cumplan, ya que la situación como luego veremos, no es exclusiva de nuestro ámbito territorial.

Un somero repaso a la literatura nos proporciona datos por demás significativos, pues a pesar de que por ejemplo los trabajos sobre esta materia aparecidos a comienzos de siglo ofrecían muy elevadas cifras, que en un caso concreto alcanzaron incluso en su mayor expresión, los 3.800 millones (BUCHAN, 1910, cit. por FAY, op. cit.) y que cifras de 300 a 500 millones no eran infrecuentes por aquellos años (PENNINGTON y cols., STILES y cols. BAHLMAN, AYRES y cols., cit. por FAY op. cit.), hemos de pensar que la tecnología ha evolucionado lo suficiente como para permitir que en estos últimos años por ejem., sean de esperar índices mucho más favorables que aquéllos. La realidad de los resultados ofrecidos en estos últimos años por diversos autores en otros tantos países, confirman indudablemente tal suposición y hacen que las cifras por nosotros encontradas, puedan lamentablemente ser comparadas únicamente con países teóricamente de índices de desarrollo inferiores. Así, por ejem., un caso aislado resulta comparable. BAHTLA, en 1972 y en la India (op. cit.), obtuvo resultados máximos de 299 millones, con una media total de 17,3 millones, cifra que es aproximadamente la mitad de la encontrada por nosotros en León (33,5 millones). En el resto de las citas, los resultados máximos y medios son por regla general más discretos que los nuestros, siendo y por lo que al primer aspecto se refiere, cifras normales las de 30 a 60 millones, tal y como se desprende del cuadro XXXII.

Queremos aclarar que son bastantes los casos en que las escasas referencias de que disponemos no nos permiten más que indicar que la cifra máxima encontrada es superior o inferior a 100, 200 ó 300 mil gérmenes, consecuencia de que en muchos trabajos el autor o autores persiguen únicamente establecer el porcentaje de muestras que cumplen o incumplen los requisitos legales establecidos en tal o cual país, circunstancia que impide establecer comparaciones en este punto. Por otra parte, esta circunstancia lo que impide es precisamente esa comparación con la situación legal de nuestros hallazgos. Vemos así que mientras en nuestro caso únicamente el 39 % de las muestras cumplían tales requisitos, en la literatura se encuentran nuevamente resultados tan variados como las cifras referidas (Cuadro XXXIII).

Podemos observar de acuerdo con los datos del cuadro citado, cómo nuestros resultados son similares a los de CUSTOT (op. cit.), con la importante diferencia del distinto límite legal considerado, que en realidad nos coloca a nosotros con ventaja y muy lejos de resultados que en igualdad de circunstancias ofrecen GUARGUAGLINI (op. cit.) y sobre todo PALLADINO (op. cit.) acercándonos únicamente a los de TAMPIERI (op. cit.).

En nuestro propio país, podemos únicamente establecer discusión con los resultados de ALVAREZ GÓMEZ y SANZ PÉREZ (op. cit.). Tales autores, que

realizaron un estudio en que entre otras cosas se investigaba la carga microbiana total de helados vendidos en puestos fijos y ambulantes en nuestra propia provincia, expresan los resultados de los mismos en forma de media, sorprendiéndonos enormemente la disparidad de sus resultados con los nuestros, ya que mientras la media global de nuestros resultados alcanzó como ya se ha indicado un valor de 33,53 millones, las medias obtenidas por estos autores, en su máxima expresión y por lo que a las muestras procedentes de establecimientos fijos se refiere, ascendió únicamente a 130.000, mientras que la misma situación referida a establecimientos ambulantes de venta, alcanzó la cifra de 232.000.

Todo esto, por lo que se refiere a helados elaborados localmente, clasificación que en nuestro trabajo viene a coincidir con los procedentes de establecimientos pertenecientes a empresas calificadas como «de segundo orden», porque cuando tales resultados se refieren a helados foráneos, la cifra media máxima alcanzó 153.200.

Al buscar alguna explicación a tal disparidad, únicamente encontramos diferencias en cuanto a método se refiere, a dos hechos concretos; por un lado está el que los mencionados autores utilizaron una temperatura de incubación de las placas única, y que tal temperatura, de 30° C era sensiblemente inferior a las dos utilizadas por nosotros en las series correspondientes (37° C y 40° C respectivamente). Finalmente, la composición del medio de cultivo difiere también sensiblemente como puede apreciarse a continuación:

1) ALVAREZ GÓMEZ y SANZ PÉREZ, utilizaron el siguiente medio de cultivo: Extracto de carne, 3,00 gr.; Peptona, 5,00 gr.; Sacarosa, 10,00 gr.; y Agar, 15,00 gr.

2) El medio de cultivo para el recuento de totales, utilizado por nosotros (siguiendo normas de la F.I.L., op. cit.), fue: Extracto de levadura, 2,50 gr.; Triptona, 5,00 gr.; Dextrosa, 1,00 gr.; Leche descremada en polvo, 1,00 gr. y Agar, 18,00 gr.

Creemos al respecto, que uno y otro factores son importantes en el crecimiento de la flora presente en un alimento concreto, y que poseen perfecta capacidad condicionante del mismo.

6.1.2. Recuento de enterobacterias totales.

Hemos advertido en el lugar correspondiente, que la utilización de este índice higiénico-indicador propuesto por MOSSEL (op. cit.) como sustitución del recuento de coliformes, comporta una serie de ventajas tales como el eliminar los resultados negativos de coliformes, o el poner en evidencia la presencia de enterobacterias lactosa negativas como salmonelas o shigelas, que no sólo son indicadoras de contaminación fecal, sino que mantienen una mayor trascendencia en relación con la salud pública. A pesar de todo, dicha técnica analítica no ha adquirido carácter de innovación entre los distintos autores,

como las legislaciones respectivas no contemplan tal delimitación. En cualquier caso, pese a la carencia de datos al respecto, que permitiesen establecer discusión comparativa de los mismos, pensamos pudieran establecerse una serie de motivaciones al respecto en relación con este hecho. Así por ej., si adelantamos contenido, consideramos que de las enterobacterias identificadas, la mayor parte, con diferencia, se incluyen dentro del grupo coliforme, podríamos utilizar con el error consabido tal o cual resultado considerando su paralelismo con el índice coliforme. Por otra parte y en este caso particular, en lugar de llegar a determinar la cifra exacta de los mismos presentes en las muestras, como quiera que la cifra máxima que la reglamentación vigente establecía era de 20 coliformes /gramo (Código Alimentario, op. cit.) ampliada a 100 /gramo en la actual reglamentación, consideramos suficiente con el conocimiento de si desde este punto de vista, los helados cumplían o no con los standards legales.

Visto así el problema, nos encontramos con que de las 60 muestras en las que se llevó a cabo este estudio, únicamente en 8 casos (el 13,3 %) la cifra fue inferior a 100 /ml.; otros 6 casos más (el 10 %) incluían cifras entre 100 y 500 /ml., 2 casos más (el 3,3 %) alcanzaron valores entre 2.000 y 2.500 /ml. y el resto (44 casos, que supone el 73,3 %) alcanzaron o superaron la cifra de 16.090 /ml. Es fácil apreciar, que por muy flexible que sea el criterio que nos impongamos (flexibilidad impuesta en virtud del distinto índice utilizado) no pueden considerarse higiénicas desde el punto de vista que estamos considerando, más que el 23,3 % de las muestras, o lo que es lo mismo, el 76,7 % de las muestras superaron los límites higiénicos, cifra que según el cuadro XXXIV que resume los hallazgos obtenidos por los distintos autores revisados, parece bastante normal cuando comparamos nuestros resultados con los de CUSTOT (op. cit.), pero en general, nuestra situación es claramente deficitaria en relación a la mayoría, que ofrecen respecto a los mismos resultados, cifras entre el 20 y el 50 % aproximadamente.

En nuestro país, y volviendo a referirnos a los resultados de ALVAREZ GÓMEZ y SANZ PÉREZ (op. cit.), la comparación es deficiente por cuanto los mismos establecen medias de muestras tomadas en distintos establecimientos fijos y ambulantes, sin especificar el índice por muestra. Ahora bien, con las limitaciones consiguientes, creemos que tales resultados coinciden con bastante aproximación, con los obtenidos por nosotros.

6.2. ASPECTO SANITARIO Y VALOR INDICATIVO CORRESPONDIENTE A LOS DISTINTOS GÉNEROS DE LA FAMILIA *Enterobacteriaceae*.

El resumen de los géneros hallados pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* incluye los géneros *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* y *Erwinia*.

Dejando a un lado los géneros *Escherichia* y *Shigella*, que serán objeto de un apartado posterior de este mismo capítulo, queremos hacer mención ahora, de la importancia del hallazgo de los géneros señalados, así como también de la ausencia de otros géneros importantes encuadrados dentro de esta familia, tales como los *Salmonella* y *Yersinia*, cuyo interés sanitario queda fuera de duda por contener especies patógenas del mayor interés.

Concretándonos a los géneros que se hallan representados por especies aisladas a lo largo de nuestro estudio y de carácter probadamente patógeno para el hombre, en grado muy variable en razón de la estirpe y condiciones de infectividad, deberíamos subrayar los géneros *Klebsiella* y *Proteus*, además de los considerados *Escherichia* y *Shigella*.

En el género *Klebsiella*, la especie *K. pneumoniae* es responsable de infecciones respiratorias y genitourinarias humanas (13) y eventualmente se cita como causa de intoxicación alimentaria (93).

Las especies *K. rhinoscleromatis* (tipo 3) y *K. ozaenae* (tipos 4, 5, 6, 8, 9 y 10), podrían considerarse eventualmente patógenas⁷².

El género *Proteus* se considera en general como patógeno de vías urinarias y algunas especies (*P. morganii* y *P. mirabilis*) se consideran como causa de ciertos tipos de disentería en niños (BERGEY'S MANUAL, op. cit.) y por otra parte el género *Proteus* se ha asociado frecuentemente con intoxicación de tipo alimenticio en el hombre (DACK, op. cit.) (HOBBS, op. cit.).

Los géneros *Citrobacter* y *Enterobacter*, al igual que el *Hafnia*, son considerados por algunos autores como patógenos o tóxicos (BROWN y cols. op. cit.), pero tales afirmaciones parecen por el momento un tanto inconsistentes.

En consecuencia con lo expuesto anteriormente, las especies potencialmente patógenas aisladas de los géneros *Klebsiella* y *Proteus* son: 1) *K. pneumoniae*, con dos variedades típicas (I y II) desde el punto de vista bioquímico y una atípica, malonato negativa, integrando un total de 40 microorganismos de esta especie. 2) *K. rhinoscleromatis*, con cuatro individuos. 3) *K. ozaenae*, con una frecuencia de cinco aislamientos. 4) *P. morganii*, en número de 3, al igual que 5) *P. rettgeri*, con una frecuencia mínima de aislamiento para 6) *P. mirabilis* y 7) *P. vulgaris*, ya que se aisló un sólo individuo de cada una.

En el aspecto referente al valor indicativo de contaminación fecal, puede afirmarse que la presencia de microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* en alimentos, presupone un cierto grado de contaminación de este origen, al ser habitantes naturales del tracto intestinal de hombre y animales. Si bien en algunos casos (géneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Erwinia*) la significación es menor debido a la gran ubiquidad de los mismos. De cualquier forma, la presencia de enterobacterias, sean de uno u otro tipo, revela la práctica de una tecnología deficiente desde un punto de vista sanitario.

El que sea aconsejable proponer o no la investigación de una clase determinada de enterobacterias como germen indicador, habrá de depender principalmente de la facilidad y economía con que sea posible ponerla de manifiesto en el laboratorio, ya que los porcentajes y frecuencias de aislamiento encontrados no aconsejan otro grado de preferencias.

Teniendo en cuenta que la determinación del índice colibacilar resulta una práctica normal en el control higiénico-sanitario de los helados, pudiera pensarse que las anteriores consideraciones quedaban fuera de lugar; existen, sin embargo, algunas autorizadas opiniones en diferente sentido, como son las de BUTTIAUX y MOSSEL (cit. por MORENO, 81), SATO y cols. (op. cit.), ALEXANDER y cols. (op. cit.) y MOSSEL y cols. (op. cit.) de cuyas afirmaciones se infiere que la especie *E. coli* se inactiva por efecto del frío, en temperaturas de refrigeración y congelación, mucho antes que otros microorganismos patógenos de procedencia intestinal.

En este sentido, resultaría aconsejable ampliar el presente estudio para delimitar el efecto del frío en relación temperatura /tiempo que se utiliza en la tecnología del helado, en la significación del índice colimétrico, como medida de control sanitario y su comparación con métodos de investigación de los restantes géneros de enterobacterias, con y sin fase de pre-enriquecimiento. Este aspecto resultaría sugestivo, en principio, habida cuenta de posibles dificultades para la recuperación de gérmenes chocados térmicamente o por acción del frío.

En un sentido diferente debemos subrayar también la ausencia de microorganismos pertenecientes a los géneros *Salmonella* y *Yersinia*. Ambos géneros contienen especies patógenas bien conocidas como causa de graves infecciones específicas en el hombre y en especial el género *Salmonella*, que contiene además de las especies *S. typhi* y *S. paratyphi A* y *B*, patógenas específicas del hombre, centenares de otras especies capaces de originar toxiinfecciones de tipo alimenticio y cuya presencia en helados incriminados como causa de determinados brotes toxiinfecciosos, se ha comprobado repetidamente.

6.3. CONSIDERACIONES ESPECIALES ACERCA DE LOS GÉNEROS Y ESPECIES QUE CONTIENEN SEROTIPOS DE PROBADO SIGNIFICADO PATOLÓGICO

En los apartados correspondientes a los géneros *Escherichia* y *Shigella* en el capítulo de revisión bibliográfica, queda perfectamente claro el interés que, desde un punto de vista sanitario y médico, contempla a estos importantes grupos de enterobacterias.

1) Género *Escherichia*. En el momento de considerar el interés especial, de este género, cabe señalar una doble vertiente; por una parte, se trata de un germen patógeno con una relativa frecuencia para el hombre y, en segundo término, resulta un indicador idóneo de contaminación fecal, por la facilidad

con que puede detectarse a nivel del laboratorio de microbiología y a partir de todo tipo de alimentos, si bien en el caso que nos ocupa, con las posibles manifestaciones que ya se han manifestado.

Los resultados obtenidos por nosotros, podrían resumirse de la siguiente forma: *E. coli* caracterizados bioquímicamente sin confirmación serológica como enteropatógenos, se aislaron un total de 10 estirpes y 30 en los que fue posible dicha confirmación serológica, quedando caracterizados como enteropatógenos, con un total de 40 cepas de *E. coli*.

De las estirpes consideradas como *E. coli* enteropatógeno, la 015 : 11 se menciona como responsable de procesos diarreicos en el hombre, y fue aislada por nosotros una sola vez.

Algunos de los otros tipos, coinciden en su antígeno somático con serotipos considerados como patógenos para el hombre, tal como son el 018ab : H14; 06 : H49; 0125ac : H30 y 0125ab : H7. Estos tipos, dada la importancia que desempeña el antígeno 0 en la infectividad y liberación de endotoxinas en el canal intestinal, deben ser considerados como potencialmente patógenos para el hombre, pensando en términos de un adecuado rigor sanitario.

Esta coincidencia en el antígeno 0, somático, se observa también en serotipos que se juzgan patógenos para diferentes especies de animales domésticos. En el caso por ejemplo, del serotipo 08 : H5 y 08 : H10 en el ganado bovino y porcino, el 075 : H20 de los ovinos o el 01 : H1 de las aves. Si bien estos serotipos no han sido denunciados hasta el momento presente como enteropatógenos para el hombre, existe siempre la posibilidad de que esto suceda en el futuro, habida cuenta de la etiopatogenia de los procesos colibacilares.

2) Género *Shigella*. En el capítulo de revisión bibliográfica, quedaba probado para el género *Shigella* su poder infectante en todas las especies, si bien la *S. dysenteriae* tipo 1, principalmente (PUMAROLA, op. cit.) es la que origina procesos más graves en virtud de la posesión de una exotoxina neurotrófica, además de la endotoxina común a todos los tipos de este importante grupo. En nuestro estudio se aislaron cinco cepas, clasificadas como *S. dysenteriae*, confirmándose la caracterización bioquímica mediante el empleo de sueros polivalentes, lo que permitió además la formación de dos grupos que incluían los tipos 1 al 7 por una parte y 8ab8ac, 9, 10 y serotipo provisional 387350, por otra.

Otras especies de este género aisladas, fueron *S. boydii*, con un total de 3 cepas pertenecientes dos de ellas al grupo que incluye los tipos 1 al 7 y la tercera al grupo que incluye los tipos 12 al 15.

Si bien son muy escasas las citas que hacen referencia a la infección por shigelas debido al consumo de helados, no cabe duda que es éste un hecho probado y que la presencia de este tipo de microorganismos en cualquier

alimento, constituye un evidente peligro para la salud pública en atención a la gravedad de los procesos disintéricos que podrían originar y a la difusión rápida de éstos a partir de un foco inicial.

El hecho de que no se hayan declarado casos de disentería en nuestro país en los últimos años, no prueba que no exista el peligro y, además, debemos tener presente la frecuencia con que se originan procesos diarreicos de tipo estival, sin un diagnóstico preciso en la mayoría de los casos.

6.4. ESTUDIO CRÍTICO DE LOS RESULTADOS EN ORDEN A LA SOLUCIÓN DE DIFERENTES PROBLEMAS QUE AFECTAN AL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESTE GRUPO DE GÉRMESES.

El enunciado de este apartado establece ya la doble problemática que vamos a discutir a la vista de los resultados obtenidos: el aislamiento y la clasificación de los gérmenes entéricos.

Respecto al aislamiento, el primer problema que se planteaba era el evitar dar por válidos, resultados de aislamiento negativos, referidos a un grupo o a una especie concreta, mediante el empleo de un medio único de aislamiento. Habida cuenta de la amplitud de esta familia y de las peculiaridades que le son propias, planteamos su investigación mediante la utilización de dos tipos generales de medios de cultivos sólidos; por un lado, utilizamos un tipo de medios de cultivo de poder selectivo moderado, medios en los que la selectividad fuese por así decirlo general (para toda la familia) y otros en los cuales dicha característica estuviese orientada a clasificar presuntivamente algún género concreto dentro de la familia y que por sus características propias, en los medios anteriores se encontrase comprometido su crecimiento por causas de competencia frente a microorganismos pertenecientes a diferentes géneros o grupos de la familia. Además, las dos fases previas al aislamiento (preenriquecimiento y enriquecimiento), pretenden entre otros objetivos, facilitar la investigación de estos grupos de gérmenes a que aludimos y asegurar a un máximo la recuperación del mayor número de cepas posible.

El empleo simultáneo de varios medios selectivos, nos ha permitido asegurar los resultados por una parte, y por otra, nos posibilita el establecimiento de una discusión que se refiere a la propia selectividad de tales medios, que trataremos de analizar en relación a las condiciones de nuestro trabajo.

Respetando el orden de los géneros establecido a lo largo de todo el estudio, hemos de decir respecto al género *Escherichia*, que si bien en todos los medios se han obtenido representantes del mismo, el medio de McConkey ha sido el que mayor número de aislamientos nos ha proporcionado, juntamente con los de Levine, D. C. A. (desoxicolato citrato) y S.S. (*Salmonella-Shigella*), siendo más selectivos al respecto los medios de B. S. (Sulfito de bismuto) y B.G.N.R.L.A., lo que en líneas generales está de acuerdo con lo que de estos medios afirman sus autores, pero con una mayor flexibilidad por lo

que respecta a la inhibición de los gérmenes coliformes de la que cabría esperar, sobre todo de los medios S.S. y D.C.A., puesto que no inhiben completamente al *E. coli*.

El género *Edwardsiella* en su representante *E. tarda*, ha sido aislado de todos los medios a excepción del medio S.S.

El género *Citrobacter*, no ha encontrado dificultad alguna por lo que a inhibición se refiere, en ninguno de los medios utilizados. Únicamente una especie (*C. intermedium*, biotipo b) no se aisló de McConkey y S.S.

El género *Shigella* cumplió perfectamente su compromiso, por cuanto la mayoría de los aislamientos se obtuvieron en S.S. y D.C.A., y solamente en un caso se obtuvo a partir de McConkey.

Respecto al género *Klebsiella*, puede decirse que no hemos encontrado diferencias de selectividad apreciables en los distintos medios de cultivo; únicamente dos estirpes no se aislaron en S. S.

El género *Enterobacter*, se ha aislado de la totalidad de los medios, sorprendiendo en esto los medios S.S., D.C.A. y B.S., sobre todo, de los que cabría esperar mayor inhibición.

Los escasos representantes del género *Proteus*, han sido aislados de LEVINE, MCCONKEY, S. S. y B. S., lo que en virtud del pequeño número de especies obtenidas, no permite aventurar conjeturas acerca de la selectividad respecto a él, de los distintos medios.

Por último, las especies del género *Erwinia*, han crecido sin traba alguna en la totalidad de los medios, comportándose podríamos decir, del mismo modo los medios teóricamente escasamente selectivos, que los considerados muy selectivos.

El segundo aspecto que contemplábamos en este apartado, se refería a la clasificación de las especies aisladas. Hemos de recordar que ya en otro lugar, comentábamos la dificultad que suponía la identificación y clasificación de los individuos pertenecientes a una familia tan amplia como lo es la familia *Enterobacteriaceae*, en la que las constantes innovaciones hacen que continuamente aparezcan tendencias encaminadas, por ejemplo, a la inclusión o separación de un determinado género, cambios en la denominación, etc.

En el capítulo de revisión bibliográfica, expusimos las ventajas e inconvenientes de la utilización de algunos métodos de identificación de enterobacterias; el método que hemos utilizado nosotros, elaborado como ya se dijo a partir de los trabajos de EDWARDS y EWING (op. cit.) por un lado y los recientes aportes del BERGEY'S MANUAL (op. cit.) por otro, nos ha permitido la obtención de buenos resultados de identificación. Hemos de tener en cuenta, que utilizamos pruebas bioquímicas significativas, únicamente aquellas en las que los resultados positivos o negativos eran respecto a una determinada especie o género, del 100 % o se acercaban a este valor; en una palabra, hemos tratado de hacer uso en lo posible, de pruebas bioquímicas de valor absoluto, o casi

absoluto. Naturalmente, no se puede pretender que en un esquema de clasificación todas las pruebas utilizadas tengan este valor, máxime cuando se trabaja con una familia como la *Enterobacteriaceae*, que en su amplitud desborda muchas veces los límites pretendidos.

Todos estos considerandos hacen que en la mayoría de los trabajos de este tipo, y sobre todo teniendo en cuenta que cada habitat particular imprime fisonomía propia a la flora presente, aparezcan una serie de individuos que, reuniendo características propias de un género o una especie dada, no se adaptan en la totalidad de las reacciones a los resultados que cabría esperar si trabajásemos con material biológico más estable de lo que resultan este grupo de microorganismos en los que los procesos de variación genotípica y de recombinación genética son más frecuentes y espontáneos que en otros grupos bacterianos. Esto hace que la presentación de formas atípicas revistan una particular incidencia en esta familia. Los intentos clasificatorios con nuestros resultados y sistemas convencionales, daban así, una serie amplia de especies atípicas que reducidas a su mínima expresión mediante el método de clasificación utilizado, se contempla en el capítulo de resultados y que en resumen abarcan a cinco variedades atípicas de los géneros *Klebsiella* y *Enterobacter*, con un total de 27 especies, o lo que es lo mismo, el 8,28 % del total de las 326 especies (el 8,88 % si excluimos las cepas oxidasa positivas), lo que nos parece una cifra normal que coincide en líneas generales con los hallazgos de la mayoría de los autores.

En otras palabras, actuando sobre la microflora estudiada, hemos sentido la necesidad de mejorar un método de identificación determinado al no coincidir los resultados, que en definitiva avalan el éxito del propio sistema, con los de sus autores, de la misma manera que ellos mismos debieron modificar a su vez, un sistema anterior para obtener la clasificación de un mayor número de estirpes en unas determinadas condiciones de trabajo.

7. CONCLUSIONES

7.1. Desde un punto de vista higiénico-sanitario, los resultados obtenidos de carga microbiana total, son los más altos de cuantos se citan en estudios similares en estos últimos años. Tales valores, con un intervalo que va desde 70 millones a 720 millones de gérmenes /ml., alcanzan un valor medio de 33.522.102,42 gérmenes /ml.

7.2. Tomando como base legal la del vigente Decreto 2.130 /74, que regula la Elaboración, Circulación y Comercio de los helados, únicamente el 38 % de las muestras cumplen los requisitos de máximo de 100.000 gérmenes /gramo, superando 40 muestras la cifra de 1.000.000 de gérmenes /ml.

7.3. Las cifras de enterobacterias totales, están situadas también en términos que hablan de las deficientes condiciones higiénico-sanitarias de los

helados estudiados, pues únicamente en el 13,3 % de las muestras la cifra fue inferior a 100 /ml., mientras que un 73,3 % alcanzó o superó la cifra de 16.090 /ml.

7.4. La selectividad práctica de los distintos medios de aislamiento utilizados, coincide en general con las estimaciones que de ellos dan los distintos autores, con la salvedad y por cuanto a coliformes se refiere, en medios como S. S., Citrato desoxicolato y medio B. S. (sulfito de bismuto), de que la inhibición real no es tan acusada como cabría esperar.

7.5. La presencia de un 6,74 % de cepas oxidasa positivas, que por definición no pertenecen a esta familia, sugiere la necesidad de la práctica de esta reacción en las etapas iniciales, a fin de mejorar la orientación presuntiva inicial que facilitan los medios selectivos utilizados.

7.6. Se aíslan 304 cepas de *Enterobacteriaceae*, que se clasifican de la forma siguiente: género *Klebsiella*, 49; género *Enterobacter*, 100; género *Edwardsiella*, 11; género *Citrobacter*, 62; género *Erwinia*, 28; género *Shigella*, 8; género *Escherichia*, 40; y género *Proteus*, 6. En todos los géneros se llega a la identificación de especie o serotipo, por métodos bioquímicos y serológicos, según el caso.

7.7. La presencia de serotipos patógenos de *E. coli* y de otros, dentro de esta misma especie, en que cabe la posibilidad de que lo sean, pone de manifiesto la necesidad de un mayor control sanitario en las fases de elaboración y venta, habida cuenta del importante significado higiénico-sanitario que cabe atribuir a la presencia de serotipos enteropatógenos de *E. coli*, en helados.

7.8. Asimismo, queremos llamar la atención sobre el significado del aislamiento e identificación de especies del género *Shigella*, de diverso grado de patogenicidad.

7.9. Una especial significación reviste la presencia de especies de los géneros *Proteus* y *Klebsiella*, habida cuenta de la cada vez mayor frecuencia con que se les están atribuyendo casos de intoxicaciones alimentarias y procesos infecciosos de diversa índole.

7.10. Es de destacar como circunstancia higiénicamente favorable, la ausencia de microorganismos tan importantes como los pertenecientes a los géneros *Salmonella* y *Yersinia*.

7.11. Se aísla por vez primera a partir de helados, el serotipo de *E. coli* 015 : H11, considerado como importante causa etiológica de la colibacilosis humana.

7.12. Se consideran como especialmente importantes el aislamiento de los serotipos de *E. coli* con las fracciones de antígeno 0 : 18ab, 6, 125ac y 125ab, que integran el serotipo de diversas estirpes de *E. coli* enteropatógeno para el hombre.

7.13. Realizado el análisis estadístico de los resultados mediante el empleo de análisis de varianza, método de Student, determinación del coeficiente de correlación y recta de regresión, se concluye la existencia de diferencias significativas entre empresas «importantes» y «de segundo orden», en todos los aspectos estudiados: recuento en placa (número total de gérmenes), enterobacterias totales, número total de cepas aisladas y aislamientos reales. Los mayores valores corresponden a las empresas «de segundo orden», con la consiguiente significación higiénico-sanitaria.

7.14. En el mismo sentido, no se han encontrado diferencias significativas respecto de los resultados mencionados, entre los distintos grupos formados a expensas de los conceptos «formas de presentación» y «sabores».

8. RESUMEN

Sobre 100 muestras de helados obtenidos de diverso número de establecimientos expendedores, pertenecientes a empresas denominadas «importantes» y «de segundo orden» en la provincia de León, se han investigado: 1) número total de bacterias (recuento en placa), 2) número de enterobacterias totales (únicamente en 60 muestras, método N.M.P.) y 3) aislamiento y posterior identificación de los gérmenes pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*.

Mediante el empleo de medios y método recomendados por la F.I.L., las cifras obtenidas de recuento en placa del número total de gérmenes presentes van desde 70 /ml. a 720 millones /ml., con una media que sobrepasa los 33 millones /ml.

La investigación del número de enterobacterias totales por el método N.M.P. en el 60 % de las muestras, nos ha proporcionado los siguientes resultados: menos de 100 /gr., en 8 muestras (el 13,3 %); entre 100 y 500 en 6 muestras (10 %); entre 2.000 y 2.500 en 2 muestras (el 3,3 %) y 44 muestras (el 73,3 %) alcanzaron o superaron la cifra límite de 16.090 enterobacterias totales /gr.

El aislamiento en medio sólido, previo el enriquecimiento y preenriquecimiento de las muestras, fue llevado a cabo utilizando los siguientes medios de cultivo: medio de Levine, agar de McConkey, agar S. S., agar con Desoxicolato citrato, agar con Sulfito de bismuto y agar B.G.N.R.L.A. Tal metodología condujo a la obtención de 893 cepas que fueron probadas en primer lugar frente a la prueba Oxidasa, dando positivo a la misma un total de 45 cepas (el 5,04 %). Posteriormente, mediante el empleo de las reacciones bioquímicas: Fenilalanina desaminasas, producción de Indol, presencia del enzima Ureasa, crecimiento en Citrato de Simmons, crecimiento en K.C.N., producción de Ácido a partir de la Celobiosa, prueba del Rojo de Metilo, crecimiento en Tartrato, presencia de Lisina y Ornitina Descarboxilasas, reacción de Vogues-Proskauer, crecimiento en Malonato, prueba del Mucato, crecimiento

en Acetato de Sodio, fermentación del Sorbitol, de la Ramnosa, y de la Lactosa y el empleo de sueros anti-*Shigella* y anti-*E. coli*, fueron clasificadas tales cepas, permitiendo una reducción en el número de las mismas, hasta un valor de 304, de las cuales el resumen de los resultados a nivel de género, se indica a continuación: Género *Escherichia*: 13,16 %; Género *Edwardsiella*, 3,62 %; Género *Citrobacter*, 20,39 %; Género *Shigella*, 2,63 %; Género *Klebsiella*, 16,12 %; Género *Enterobacter*, 32,90 %; Género *Erwinia*, 9,21 % y Género *Proteus*, 1,97 %.

RESUME

En utilisant 100 échantillons de glaces obtenues de divers établissements vendeurs de glaces, appartenant à des firmes importantes de première catégorie ou à d'autres de deuxième catégorie, on a calculé le nombre total de bactéries (comptage sur des plaques), le nombre total d'entérobactéries (dans 60 échantillons seulement, par la méthode M.P.N.) et on a effectué l'identification des microorganismes présents appartenant à la famille *Enterobacteriaceae*.

En utilisant les milieux et la méthode recommandés par la F.I.L., les chiffres obtenus dans le comptage du nombre total de microorganismes présents, effectué sur des plaques, ont été de 70 microorganismes /ml. à 720 millions de microorganismes /ml., avec une moyenne de plus de 33 millions de microorganismes /ml.

La recherche du investigation du nombre total d'entérobactéries, par la méthode du M.P.N. dans le 60 % des samples nous a donné les résultats suivants: moins de 100 entérobactéries /gr., dans 8 échantillons (13,3 %); entre 100 et 500 entérobactéries /gr. dans 6 échantillons (10 %); entre 2.000 et 2.500 entérobactéries /gr. dans 2 échantillons (3,3 %); et 16.090 (chiffre limite) entérobactéries /gr, ou encore plus, dans 44 échantillons (73,3 %).

L'isolement dans un milieu solide, après un préenrichissement et un enrichissement des échantillons, fut effectué en utilisant les milieux de culture suivants: milieu de Levine, agar de McConkey, agar S. S., agar desoxycholate citrate, agar bismuth sulfite et agar B.G.N.R.L.A. Une telle méthodologie conduisit à l'obtention de 893 souches, lesquelles furent essayées tout d'abord contre l'essai oxidase et 45 souches (5,04 %) donnèrent un résultat positif.

Plus tard, en employant les réactions biochimiques suivantes: phénylalanine desaminase, production de SH₂, production d'indole, présence de l'enzyme uréase, développement ou croissance dans du citrate de Simmons, croissance dans du K.C.N., production d'un acide à partir de la cellobiose, essai du rouge de méthyle, croissance dans du tartrate, présence de décarboxylases de lysine et d'ornitine, réaction de VOGUES-Proskauer, croissance dans du malonate, essai du mucate, croissance dans l'acetate de sodium,

fermentation du sorbitol, de la ramnose et de la lactose, et l'emploi de sérums anti-*Shigella* et anti-*E. coli*, les susdites souches jusqu'à 304 dont le résumé des résultats quant à leur genre est indiqué cidessous: Genre *Escherichia*, 13,16 %; Genre *Edwardsiella*, 3,62 %; Genre *Citrobacter*, 20,39 %; Genre *Shigella*, 2,63 %; Genre *Klebsiella*, 16,12 %; Genre *Enterobacter*, 32,90 %; Genre *Proteus*, 1,97 % et Genre *Erwinia*, 9,21 %.

SUMMARY

Using 100 samples of ice-cream obtained from various ice-cream selling establishments pertaining to important or first-class, and to second class firms, in the province of León, we have researched the total number of bacteria (plate count), the number of total enterobacteria (in 60 samples only, by M.P.N. method) and the isolation and further identification of organisms present pertaining to *Enterobacteriaceae* family.

By using the media and the method recommended by the I.D.F., the ciphers obtained by plate count of the total number of organisms present are between 70 organisms /ml. and 720 million of organisms /ml., the mean higher than 33 million of organisms /ml.

The research of the number of total enterobacteria by M.P.N. method on the 60 % of samples has given the following results: less than 100 enterobacteria /gram in 8 samples (13,3 %); between 100 and 500 enterobacteria /gram in 6 samples (10 %); between 2.000 and 2.500 enterobacteria /gram in 2 samples (3,3 %) and 16.090 (limit) enterobacteria /gram or more in 44 samples (73,3 %).

The isolation in a solid medium after the samples had been preenriched and enriched, was carried out using the following culture media: Levine agar, McConkey agar, S. S. agar, desoxycholate agar, bismuth sulfite agar and B.G.N.R.L.A. agar. Such a methodology led to the obtainment of 893 strains which were firstly tested against oxidase, 45 of which were positive (5,04 %).

Subsequently, by using the following biochemical reactions: phenylalanine deaminase, SH₂ production, indole production, presence of urease enzyme, growth on Simmons citrate, growth on K.C.N., production of an acid from cellobiose, methyl red, growth on tartrate, presence of lysine and ornithine decarboxylases, Vogues-Proskauer reaction, growth on malonate, mucat test, growth on sodium acetate, sorbitol, ramnose and lactose fermentation, use of anti-*Shigella* and anti-*E. coli* serum, the above 893 strains were classified; their number was then reduced to 304, whose summary of results according to their genus is as follows: *Escherichia*, 13,16 %, *Edwardsiella*, 3,62 %, *Citrobacter*, 20,39 %, *Shigella*, 2,63 %, *Klebsiella*, 16,12 %, *Enterobacter*, 32,90 %, *Proteus*, 1,97 % and *Erwinia*, 9,21 %.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1) AGUIRRE, W. G., MORALES, J. R., BOTARGUES, de A. P., y SPADARI, E. (1968).—Análisis microbiológico de helados. *Rev. Fac. C. Vet. La Plata*. 10 (23) págs. 307-314.
- 2) ALEXANDER, J., et ROTHWELL, J. (1970).—Effet de la congelation sur la teneur en germes et sur le temps de reduction du bleu de methylene dans la creme glacee. *XVIII Congres. F.I.L.*
- 3) ALVAREZ GÓMEZ, E. J., y SANZ PÉREZ, B. (1969).—Carga microbiana y condiciones higiénicas de los helados vendidos en León. *Alimentaria*. VI (28) pág. 21.
- 4) ALLER GANCEDO, B., CORDERO DEL CAMPILLO, M., FERNÁNDEZ DíEZ, M. y MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. (1969).—Sensibilidad a los antibióticos y estudio serológico de cepas de *E. coli* aisladas de procesos aviarios. Supl. Cient. Cons. Gra. Col. Vet. España. núm. 185, págs. 1-5.
- 5) ANÓNIMO. (1974).—Momento actual de la fabricación de helados. *Vía Láctea*, VI (23) pág. 31-35.
- 6) BARDSLEY, D. A. (1938).—The bacteriological contents of ice cream in relation to manufacture, storage and standards of purity. *J. Hyg.* 38.
- 7) BARTH, H. (1969).—10 jahre bakteriologische speiseseisuntersuchung. *Arch. Hyg.* 153 (2), págs. 179-184.
- 8) BATHLA, J. M., RAO, J. S. (1972).—Studies on the microbiological quality of ice cream in Agra city. *Ind. J. of Dairy Sci.*, 25 (4), págs. 254-256.
- 9) B. B. L. (1968).—*BBL manual of products and laboratory procedures*. fifth Ed. Cockeysville, Maryland, USA.
- 10) B.O.E. (30-VII-1974).—Decreto de 20 de julio de 1974, n.º 2.130 /74 (Presidencia). HELADOS. Reglamentación para la elaboración, circulación y comercio.
- 11) BORJANOVIC, S., JOVANOVIĆ, L., BULAJIC, Z., KALINIC, M., SRECKOVIC, A. (1967).—Outbreak of staphylococcal ice cream poisoning in Valjevo in 1966. *Hrana i Ishrana*, 8 (6 /7), pág. 339-342.
- 12) BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. and PARKER HITCHENS, A. (1948).—*Bergey's Manual of determinative bacteriology*. Sixth Ed. Baltimore. The Williams and Wilkins Company. USA.
- 13) BROWN, C., and SEIDLER, R. J. (1973).—Potential pathogens in the environment: *Klebsiella pneumoniae*, a taxonomic and ecological enigma. *App. Microbiol.* 25 (6), págs. 900-904.
- 14) BUCHANAN, R. E., GIBBONS, N. E. (1974).—*Bergey's Manual of determinative bacteriology*. Eighth Ed. Baltimore. The Williams and Wilkins Company. USA.
- 15) BUISSIERE, J. et NARDON, P. (1968).—Microméthode d'identification des bactéries. I. intérêt de la quantification des caracteres biochimiques. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*. 115, págs. 215-231.
- 16) BULYBA, M. S., KULCHINSKAYA, I. I., DOMANSKAYA, E. D. (1973).—*Bacillus cereus* food poisoning. *Voprosy Pitaniya*. 1., págs. 86-87.
- 17) BURROWS, W. (1974).—*Tratado de Microbiología*. 20.ª Ed. Edit. Interamericana. México.
- 18) BUTTIAUX, R., BEERENS, H. et TACQUET, A. (1969).—*Manuel de Techniques Bactériologiques*. 3.ª Ed. Editions Medicales Flammarion. Paris.
- 19) CARIC, N., TOMPAK, B. and VOPIJE, I. (1967).—Ice-cream inspection in Zagreb in 1966. *Lijecn Vjesn.* 89 (6) págs. 441-447.
- 20) CARLQUIST, P. R. (1956).—A. biochemical test for separating paradolon groups *J. Bacteriol.* 71, págs. 339-341.
- 21) CÓDIGO ALIMENTARIO ESPAÑOL, B. O. E. (1967).—Decreto de 21 de setiembre. Instituto Editorial Reus, S. A. Madrid.
- 22) COLLINS, C. H. (1969).—*Métodos microbiológicos*. Edit. Acribia. Zaragoza.
- 23) COSTIN, I., VOICULESCU, D. and GORCEA, V. (1964).—An outbreak of food poisoning in adults associated with *Escherichia coli* serotype 86: B7: H34. *Pathol. Microbiol.* 27.
- 24) CUSTOT, F. (1967).—Survey of the bacteriological quality of ice cream. *Bull. Acad. Nat. Med.* 151 (7 /8) págs. 139-145.
- 25) DACK, G. M. (1962).—*Food poisoning*. The University of Chicago Press. USA.
- 26) DARDZINSKY, K. (1965).—Clinical and apidemiological analysis of mass staphylococcal food poisoning caused by ice cream. *Przegl. Epidem.* 19 (2), pág. 245.
- 27) DE MIGUEL PALOMINO, A. (1973).—Estudio del género *Salmonella* y otros gérmenes de la familia *Enterobacteriaceae* en intestinos de pollos. Importancia epidemiológica. Tesis doctoral.
- 28) DEWBERRY, E. B. (1959).—*Food poisoning. Food-Borne infection and intoxication*. Leonard hills (books) Limited. London.
- 29) DIFCO (1962).—*Difco Manual. Supplementary literature*. Detroit. Michigan.
- 30) DIFCO (1972).—Technical information. *Serology of Escherichia coli*. Detroit. Michigan, USA.
- 31) DIFCO (1973).—*Manual de Bacteriología (Recopilación de técnicas)*. Trad. 9.ª ed. inglesa. Gráficas Lillo. Madrid.
- 32) DROZDOVA, L. A., SMIRNOVA, N. M., RESHETOVA, T. E., KARTEEV, V. V., AVDEEVA, V. A. and KARASEVA, L. I. (1973).—Comparative data on recovery of enterococci and *E. coli* from various products. *Gigiena i Sanitariya*, 9, págs. 101-102.
- 33) DUPONT, H. L., FORMAL, S. B., HORNICK, R. B., SNYDER, M. Y., LIBONATI, J., SHEAHAN, D. G., LABREC, E. H., and KALAS, J. P. (1971).—Pathogenesis of *E. coli* diarrhoea. *New Engl. J. Med.* 285, pág. 1.
- 34) EDWARDS, P. R. and EWING, W. H. (1972).—*Identification of Enterobacteriaceae*. Third Ed. Burgess Publishing Company. Minnesota, USA.
- 35) ELLIOT, R. P. et MICHENER, H. D. (1961).—Microbiological standards and handling cods for chilled and frozen foods. A Review. *App. Microbiol.* 9, págs. 452-68.
- 36) EL SHERIF, I. H., SADEK, I. M. (1967).—The sanitary quality of market ice cream. *J. arab. Vet. Med. Ass.* 27 (3 /4) págs. 139-143.
- 37) ELSTON, H. R., BANDO, J. A. STANEK, J. P. and SCHAAB, M. (1971).—Multi-biochemical test system for distinguishing enteric and other Gram negative bacilli. *App. Microbiol.* 22 (3), págs. 408-414.
- 38) ENHUBER, E. (1971).—Staphylococcae food poisoning from ice cream. Account of a group infection. *Off. Gesundheitswesen*. 33 (7), pág. 393-396.
- 39) F. A. O. /O. M. S. Comité Mixto de Expertos en Zoonosis. Tercer Informe. Org. Mund. Salud Ser. Inf. Técn., 1969, 378.
- 40) FAY, A. C. and OLSEN, N. E. (1924).—Bacterial content of ice cream. *J. Dairy Sci.* 7, pág. 330-356.
- 41) F. I. L. (1971).—Proyecto de norma sobre enumeración de gérmenes totales en cremas heladas y helados de leche. Sesión Anual. Dublin.
- 42) FISHER, R. A. y YATES, F. (1954).—*Tablas estadísticas para investigadores científicos*. Aguilar, S. A. de Ediciones. Madrid.
- 43) FOURNELLE, H. J. and MACY, H. (1942).—A study of the coliform group in ice cream. *J. Dairy Sci.*, 25, pág. 475.
- 44) FRANTZSEN, J. H. and ARBUCKLE, I. W. S. (1961).—*Ice cream and related products*. The Avi Publishing Company I. N. C. Westport-Connecticut.
- 45) FROBISHER, M. (1969).—*Microbiología*. Edit. Salvat. Barcelona.
- 46) GLANTZ, P. J. (1973).—Colibacilosis. Diagnóstico y control en terneros. *Trib. Vet.* 169, pág. 3.
- 47) CODED Y MUR, A. (1958).—Físico-química-bromatológica del deterioro del helado de leche; causas, medida y corrección. *Ibidem*, 28, pág. 81.
- 48) GONZÁLEZ CUADALIX, J. R. (1972).—Aspectos generales de la fabricación de helados. *Alimentaria*, IX (4), págs. 21-39.
- 49) GORBACH, S. L., BANWELL, J. G., CHATERJEE, B. D., JACOBS, B. and SACK, R. B. (1971).—Acute undifferentiated human diarrhoea in the tropics. I. Alteration in intestinal flora. *J. Clin. Invest.* 50, pág. 881.
- 50) GROSS, W. B. (1973).—Colibacilosis. Diagnóstico y Tratamiento en las aves. *Trib. Vet.* 174, pág. 3.
- 51) GRUNBERG, E., TITSWORTH, E., BESKID, G., CLEELAND, R. and DE LORENZO, W. F. (1968).—Efficiency of multitest system Enterotube for rapid identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 18 (2), págs. 207-213.
- 52) Gacteriological quality of ice cream from the city of Genoa. *G. Ig. Med. Prev.* 8 (3), págs. 344-353.
- 53) GYLES, C. L. (1973).—Colibacilosis. Patogenia. *Trib. Vet.* 168, pág. 3.
- 54) HARRIGAN, W. F., y MCCANCE, M. (1968).—*Métodos de laboratorio en Microbiología*. Edit. Academia. León.
- 55) HOBBS, B. C. (1968).—*Food poisoning and food hygiene*. 2.ª ed. Edwards Arnold (publishers) LTD. London.
- 56) IBARZ AZNARES A. y BARCELONA MARTI, F. (1972).—Contaminación colibacilar en helados y bebidas refrescantes. *Acofar*. 76, págs. 21-22.
- 57) IRUJO, J. M. y LLONA LARRAURI, J. (1963).—Las condiciones higiénicas de la elaboración y venta de helados en Bilbao. *Revta. San. Hig. Pública*. 37, pág. 1.
- 58) ISENBERG, H. D. and PAINTER, B. G. (1971).—Comparison of conventional methods, the R /B System and Modified R /B Systems as a guide to the major divisions of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 22 (6), págs. 1.126-34.
- 59) JEFFRIES, C. D. (1964).—Urease activity of intact and disrupted bacteria. *Arch. Path.* 77, págs. 544-547.
- 60) JOHNSON, J. G., KUNZ, L. J., BARRÓN, W. and EWING, W. H. (1966).—Biochemical differentiation of the *Enterobacteriaceae* with the aid of lysineiron agar. *App. Microbiol.* 14 (2) pág. 212-217.

- 61) JORGENSEN, H. (1962).—The sanitary and qualitative standards of ice cream in Denmark. XVII Congreso F.I.L. Section VI: 2, pág. 99-105.
- 62) Journal Officiel du 16-17 oct. 1967.—Qualité hygienique et controle bacteriologique des glaces et crèmes glacées.
- 63) KASLOV, R. A., TAYLOR, A., DWECK, H. S. and cols. (1974).—Enteropathogenic *E. coli* infection in a newborn nursery. *Am. J. of Dis. of Children*. 128 (6).
- 64) KAUFFMANN, F. (1966).—*The bacteriology of Enterobacteriaceae*. Munksgaard. Copenhagen.
- 65) KERN, E. (1960).—*Das lebensmittelrecht der süßwaren wirtschaft*. Ed. Wagner. Hambourg.
- 66) KOHLER, E. M. (1973).—Colibacillosis. Diagnóstico y control de la forma entérica neonatal en los cerdos. *Trib. Vet.* 173, pág. 3.
- 67) LAMBION, R. et VEULEMANS, A. (1969).—Situation actuelle de la bacteriologie des denrées alimentaires. *Rev. des ferment. et des ind. alim.* 24 (5/6) págs. 168-176 et 207-214.
- 68) LE MINOR, L. (1960).—*Le diagnostic de laboratoire des Entérobactéries*. 2.^a Ed. Editions de Tourelle. Saint Mandé. Paris.
- 69) MALAKI, M., Hashemy, S. E., HAIEMI, P., SHAJURY, F. (1970).—Investigation of contaminating organisms asociate with hand made ice cream supplied in Teheran. *Revue Fac. Vet. Univ. Teheran* 25 (1/2), pág. 15-32.
- 70) MARTIN, W. J., YU, P. K. W. and WASHINGTON, II, J. A. (1971).—Evaluation of the Enterotube System for identification of members of the family *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 22 (1), pág. 96-99.
- 71) MARTIN, W. J., BIRK, R. J., YU, P. K. W. and WASHINGTON, II, J. A. (1970).—Identification of members of the family *Enterobacteriaceae* by the R/B System *App. Microbiol.* 20, pág. 880-883.
- 72) MATILLA, V., PUMAROLA, A., BRAVO, J. DEL REY CALDERO, J. y GOMEZ LUS, R. (1969).—*Microbiología y Parasitología*. 2.^a Edi. Edit. Amaro, Madrid.
- 73) MCILROY, G. T., YU, P. K. W., MARTIN, W. J., AND WASHINGTON, II, J. A. (1972).—Evaluation of modified R/B System for identification of members of the family *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 24/3 págs. 358-362.
- 74) MELLADO POLLO, A. (1974).—*Escherichia coli* enteropatógeno en el hombre y los animales: su transmisión por los alimentos. 2.^a Reunión Científica de la S. R. N. O. de la S. E. M. León. En prensa.
- 75) MERCK, (1973).—*Manual de Microbiología*.
- 76) MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE LA FAMILLE (1968).—*Recueil de la legislation Belge en matière de denrées alimentaires, viandes et autres produits*. Moniteur Belge.
- 77) MINISTERIO DE AGRICULTURA, D. G. P. A. Subd. Gen. San. Animal.—*Las mamitis bovinas en España*. Informe técnico de la Jefatura del Servicio de defensa contra epizootias y zoonosis.
- 78) MOKASHI, S. J., DAVE, J., SANT, M. V. (1970).—Bacteriological analysis of ice cream. *Ind. J. of Microbiol.* 10 (2), págs. 29-32.
- 79) MOLLER, V. (1954).—Diagnostic use of the braun a K.C.N. test within the *Enterobacteriaceae*. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 34, págs. 115-116.
- 80) MORALES, J. R., J. R., AGUIRRE, W. G. y LARDANI, H. (1961).—Control bacteriológico de helados. *Rev. Fac. C. Vet. La Plata*. III (9), págs. 515-523.
- 81) MORENO, B. (1974).—Microorganismos indicadores de la calidad sanitaria de los alimentos. *Alimentaria*, pág. 43-52.
- 82) MOSSELL, D. A. A. AND ALINARATTO, M. (1970).—Rapid detection of sublethally impaired cells of *Enterobacteriaceae* in dried fods. *App. Microbiol.* 20 (2) 273-275.
- 83) NEDELJOVIC, M., MILIC, B., MILIC, S. (1968).—Staphylococcal food-poisoning from ice cream in Arilje. *Glasn. Zav. Zdravst. Zasn. SRS*, 17 (1/2) 35.
- 84) NEDERLANDSE STAATSWETTEN-WARENWET, 99. Uigt. Tjeenk Willink, zwolle. Deel 1-16.^a druk-1966-Deel II-15^e druk-1963-Methoden van onderzoek.
- 85) O'DONNELL, E. O., KAUFFMANN, F. J., LONGO, E. E. AND ELLNER, P. D. (1970).—Evaluation of the R/B System for the identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 22 (5) 928.
- 86) OXOID (1969).—*The Oxoid Manual of culture media, ingredients and other laboratory services*. Oxoid LTD. 3.^a Ed. London.
- 87) PAGARIA, M. L. AND SARASWAT, D. S. (1969).—Studies on the bacteriological quality of ice cream in India. *Aust. J. Dairy Technol.* 24 (4) 200-203.
- 88) PAINTER, B. G. AND ISENBERG, H. D. (1973).—Clinical laboratory experience with the improved Enterotube. *App. Microbiol.* 25 (6) 896-899.
- 89) PALLADINO, D. AND BRAGA, A. (1962).—Bacteriological control of ice cream in a large production plant. XVII Congreso F. I. L. Section VI: 2, pág. 121.
- 90) PATEL, M. C. AND BYAS, S. H. (1971).—Study on the bacteriological quality of ice creams in Anaud (Guajarat). *Ind. J. Dairy Sci.*, 24 (4) 225.
- 91) PERISIC, Z. AND JANKOVIC, T. (1967).—Epidemic of food poisoning produce by *S. enteritidis*. *Glasn. Zav. Zdrav. Zast. SRS*. 16 (1/2). 35-40.
- 92) PREVOT, A. R. (1961).—*Traité de Systématique bactérienne*. Dunod. Paris.
- 93) REUSSE, M. y HEIN, D. (1965).—Algunas observaciones interesantes en las intoxicaciones alimentarias. *Servicio bibliográfico de la Subdirección General de Sanidad Veterinaria*. 30. *Archiv für Lebensmittel hygiene*, 4.
- 94) RHODEN, D. L., TOMFOHRDE, K. M., SMITH, P. B. AND BALOWS, A. (1973).—Auxotab a device for identifying enteric bacteria. *App. Microbiol.* 25 (2) pág. 284.
- 95) ———, ———, ———, ———.—Evaluation of the improved Auxotab 1 System for identifying *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 26, págs. 215-216.
- 96) SANDOVAL, L. A., PAULO M. S. AND ZUPELARI, T. (1969).—Physical-Chemical and microbiological studies on the ice cream consumed in the city of Sao Paulo. *Revta. Inst. Lactic. Candido Tostes*. 24 (147), pág. 26-31.
- 97) SATO, M. AND TAKAHASHI, H. (1968).—Cold shock of bacteria. I. General features of cold shock in *E. coli*. *J. Gen. App. Microbiol.* 14, págs. 417-428.
- 98) SHARMA, R. M. AND PACKER, R. A. (1969).—Evaluation of culture media for the isolation of *Salmonellae* from feces. *App. Microbiol.* 18 (4) págs. 589-95.
- 99) SINGH, R. S., RANGAVATHAN, B. AND LAXMINARAYANA, H. (1966).—Incidence of pathogenic *E. coli* in milk and milk products. XVIII International Dairy C.
- 100) SKERMAN, V. B. D. (1969).—*Abstracts of microbiological methods*. Wiley-Interscience, John, Wiley and Sons. New York.
- 101) SMITH, H. W. (1973).—Colibacillosis. Aspectos etiológicos de las infecciones del trato alimenticio de los animales. *Trib. Vet.* 167, pág. 3.
- 102) SMITH, D. T. AND cols. (1967).—*Microbiologia de Zinser*. 3.^a Ed. Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana. México.
- 103) SMITH, P. B., RHODEN, D. L., TOMFORDE, K. M., DUNN, C. R., BALOWS, A. AND HERMANN, G. J. (1971).—R/B System enteric differential for identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 21 (6), págs. 1.036-39.
- 104) SMITH, P. B., TOMFOHRDE, K. M., RHODEN, D. L. AND BALOWS, A. (1971).—Evaluation of the modified R/B System for identification of *Enterobacteriaceae* *App. Microbiol.* 22 (5), págs. 928-929.
- 105) ———, ———, ———, ———. (1972).—APY System: a multitube micromethod for identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 24, pág. 449-452.
- 106) SNEDECOR, G. W. y COCHRAN, W. G. (1971).—*Métodos Estadísticos*. Compañía Editorial Continental. México.
- 107) SOJKA, W. J. (1973).—Enteropathogenic *Escherichia coli* in man and farm animals. *Can. inst. Food Sci., Tecnol. J.*, 6 (2) pág. 52-63.
- 108) ———.—Colibacillosis en los corderos. *Trib. Vet.* 170-1-2, pág. 3.
- 109) STUART, G. A., VAN STRATUM, E. AND RUSTIGIAN, R. (1945).—Further studies on urease production by Proteus and related organisms. *J. Bact.* 49, pág. 437.
- 110) TAMPIERI, A., DOSSENA, A. (1967).—Microbiological control of ice cream produced on a small scale. *Riv. Ital. Ig.* 27 (1/2), pág. 90-101.
- 111) TANNER, F. W. AND TANNER, L. P. (1953).—*Food-Borne infections and intoxications*. 2.^a Ed. The Garrad Press Publishers, Champaign, Illinois, USA.
- 112) THATCHER, F. S. AND CLARK, D. S. (1972).—*Análisis microbiológico de los alimentos*. Edit. Acribia. Zaragoza.
- 113) THATTI, B. L., GAYAKWAD, K. S., AND LAXMINARAYANA, H. (1972).—Survey of the quality of ice cream in Bombay market. *Ind. J. of Dairy Sci.* 25 (1) 9.
- 114) THIBAUT, P. et LE MINOR, L. (1957).—Méthodes simples de recherche de la lysine-décarbonylase et de la tryptophane-desaminase a l'aide des milieux pour différentiation rapide des *Enterobacteriaceae*. *Annls. Inst. Pasteur*. Paris, 92, págs. 551-554.
- 115) TOMFOHRDE, K. M., RHODEN, D. L., SMITH, P. B. AND BALOWS, A. (1973).—Evaluation of the redesigned Enterotube a system for the identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 25 (2), págs. 301-304.
- 116) TOPLEY, W. W. C., WILSON, G. S. AND MILES, A. A. (1966).—*Principles of Bacteriology and Immunity*. Edward Arnold (Publishers) LTD. London.
- 117) WASHINGTON, II, J. A., YU, P. K. W. AND MARTIN, W. J. (1972).—Evaluation of the Auxotab Enteric 1. System for identification of *Enterobacteriaceae*. *App. Microbiol.* 23 (2) 298-300.

Fecha	Localidad	Enfermedad	Agente
1892	Londres	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1904	Govan, Glasgow	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1910	Eccles	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1916	Boldon Colliery	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1933	Glasgow	Disentería	<i>Shigella sonnei</i>
1935	Lanarkshire	Disentería	<i>Shigella sonnei</i>
1935	Grays-in-Thurrock	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1937	Glasgow	Difteria	<i>Coryn. diphteriae</i>
1937	Southampton	Fiebre paralítica	<i>Salmo. paratyphi B</i>
1945	Oxford	Intoxica. Aliment.	<i>Staph. pyogenes</i>
1945	Oxford	Intoxica. Aliment.	<i>Staph. pyogenes</i>
1945	Oxford	Intoxica. Aliment.	<i>Staph. pyogenes</i>
1946	Aberystwyth	Fiebre tifoidea	<i>Salmonella typhi</i>
1946	Lincoln	Intoxicac. Aliment.	<i>Salm. typhimurium</i>
1947	Winchester	Intoxicac. Aliment	<i>Salm. typhimurium</i>
1949	Manchester	Intoxicac. Aliment	<i>Strept. faecalis</i>
1949	Bradford	Intoxicac. Aliment	<i>Salmonella newport</i>
1954	Cardiff	Intoxicac. Aliment	<i>Staph. aureus</i>

+: Cepas a desechar. Por definición, no pertenecientes a esta familia.

OXIDASA

CUADRO III

Fase segunda. Diferenciación bioquímica definitiva.

1) Grupo *P. Inconstans*.

	Glucosa	Adonitol	Inositol
Subgrupo A	+	+	-
Subgrupo B	-	-	+

2) Grupo *Salmonella* / *Y. pestis*.

Diferenciación serológica.

3) Grupo *C. intermedium* / *Y. Enterocolítica*.

TARTATRO	+: <i>C. intermedium</i> KCN	+: <i>C. interm. biot. A</i>
	-: <i>Y. enterocolítica</i>	-: <i>C. interm. biot. B</i>

4) Grupo *Klebsiella*.

V. P.	+: <i>K. pneumoniae</i>	-: MALONATO	+: <i>K. rhinoscleromatis</i>
			-: <i>K. ozaenae</i>

5) Grupo *Escherichia* / *Shigella*

	Lisina D.	Mucato	Acet. de Na
<i>Escherichia</i>	+	+	+
<i>Shigella</i>	-	-	-

6) Grupo *E. Hafniae* (= *H. alvei*) / *E. licuefaciens* / *E. cloacae* / *E. aerogenes* / *Erwinia* / *Y. enterocolítica*.

ORNITINA D.	-: <i>Erwinia</i> (Grupo <i>Carotovora</i>)
	+: LISINA D.
	-: <i>E. cloacae</i> / <i>Y. enterocolítica</i>
	+: SORBITOL
	+: RAMNOSA
	+: <i>E. aerogenes</i>
	-: <i>E. licuefaciens</i>
	-: <i>E. hafniae</i> (= <i>H. alvei</i>)

Grupo *Carotovora*:

TARTRATO	-: MALONATO	+: <i>E. rhapontici</i>
		-: <i>E. carotovora</i>
	+: V. P.	+: <i>E. chrysantemi</i>
		-: <i>E. cypripedii</i>

Grupo *E. Cloacae* / *Y. enterocolítica*:

LACTOSA	+: <i>E. cloacae</i>
	-: <i>Y. enterocolítica</i>

7) Grupo *Y. Enterocolítica* / *Y. Pseudotuberculosis* / *Shigella*

Diferenciación serológica:	<i>Shigella</i>
	<i>Yersinia</i>

ORNITINA	+: <i>Y. enterocolit.</i>
	-: <i>Y. pseudotuberc.</i>

CUADRO III (Cont.)

8) Grupo *Klebsiella* / *E. Cloacae* / *E. Aerógenes* / *E. Hafniae* / *E. licuefaciens* / *Serratia* / *Erwinia* (Grupo *Carotovora*)

ORNITINA	-: LISINA	+: <i>Klebsiella</i>
		-: Grupo <i>Carotovora</i>
	+: SORBITOL	
		-: <i>E. hafniae</i> (= <i>H. alvei</i>)
		+: RAFINOSA
		-: <i>Serratia</i> (<i>S. marcescens</i>)
		+: RAMNOSA
		-: <i>E. licuefaciens</i>
		+: LISINA
		+: <i>E. aerogenes</i>
		-: <i>E. cloacae</i>

CUADRO IV

Número de establecimientos investigados por cada tipo de empresa

IV.a. EMPRESAS «IMPORTANTES»

Número de orden	Número de establecimientos	% absoluto	% relativo
1	13	40,62	61,90
2	5	15,62	23,80
3	3	9,37	14,30
TOTAL	21	65,61	100,00

IV.b. EMPRESAS «DE SEGUNDO ORDEN»

Número de orden	Número de establecimientos	% absoluto	% relativo
1	2	2,21	18,18
2	1	3,12	9,09
3	1	3,12	9,09
4	1	3,12	9,09
5	1	3,12	9,09
6	1	3,12	9,09
7	1	3,12	9,09
8	1	3,12	9,09
9	1	3,12	9,09
10	1	3,12	9,09
TOTAL	11	34,29	100,00

Cuadro V
Tipos de sabores y formas sobre el total de muestras

V.a. SABORES

Tipo	Número	% sobre total
Mantecado	24	24,00
Nata	6	6,00
Crema	18	18,00
Chocolate	9	9,00
H. especiales	13	13,00
L. merengada	1	1,00
Café	1	1,00
Tarta helada	1	1,00
Frutas	27	27,00
TOTAL	100	100,00

V.b. FORMAS

Tipo	Número	% sobre total
Cuchara	55	55,00
Bloque	20	20,00
Cucurucho envasado	6	6,00
Vasito o tarrina	9	9,00
Tarta	1	1,00
Otras	9	9,00
TOTAL	100	100,00

CUADRO VI
Clasificación de las muestras según tipo de empresa y forma de presentación

Número Muestra	Empresa	Forma	Número Muestra	Empresa	Forma	Número Muestra	Empresa	Forma
1	B	1	34	A	6	67	B	1
2	A	2	35	A	5	68	B	1
3	A	2	36	A	3	69	B	1
4	A	1	37	A	6	70	B	1
5	A	1	38	A	2	71	B	1
6	A	1	39	A	1	72	B	1
7	A	1	40	A	1	73	B	1
8	A	2	41	A	2	74	B	1
9	A	3	42	A	4	75	B	1
10	A	3	43	A	4	76	B	2
11	A	1	44	B	1	77	B	2
12	A	1	45	B	1	78	B	1
13	A	1	46	B	1	79	B	1
14	A	1	47	A	4	80	B	1
15	B	1	48	A	3	81	B	1
16	B	1	49	A	4	82	B	1
17	A	1	50	A	6	83	B	1
18	B	1	51	A	2	84	B	1
19	B	1	52	A	2	85	B	1
20	B	1	53	A	2	86	B	2
21	B	1	54	A	6	87	B	1
22	B	1	55	A	3	88	A	4
23	B	1	56	A	2	89	A	6
24	B	1	57	A	2	90	A	6
25	A	1	58	A	2	91	A	1
26	A	3	59	A	2	92	A	1
27	A	1	60	A	2	93	A	4
28	A	4	61	A	2	94	A	4
29	A	2	62	A	2	95	A	1
30	B	1	63	A	4	96	A	1
31	A	1	64	A	2	97	A	1
32	A	1	65	A	6	98	A	1
33	A	1	66	B	1	99	A	6
						100	A	6

LEYENDA: A = empresa «importante»; B = empresa «de segundo orden»; 1 = cuchara; 2 = bloque; 3 = cucurucho envasado; 4 = vasito o tarrina; 5 = tarta y 6 = otras formas.

CUADRO VII
Resultados de carga microbiana total (recuento en placa)

Número muestra	Resultado por ml.	Número muestra	Resultado por ml.	Número muestra	Resultado por ml.
1	—	34	470.000	67	1.150.000
2	172.000	35	1.080.000	68	44.800.000
3	110.000	36	23.300	69	6.290
4	6.900	37	1.900	70	7.700
5	3.300	38	5.500	71	44.300.000
6	3.100	39	16.600.000	72	1.330.000
7	49.000	40	20.980.000	73	667.500
8	20.000	41	280	74	1.220.000
9	20.000	42	6.200	75	5.160.000
10	5.000	43	80	76	286.000
11	792.000	44	48.500.000	77	108.000
12	1.918.000	45	102.800.000	78	20.000
13	3.752.000	46	43.800.000	79	6.200.000
14	262.000	47	70	80	1.436.000
15	1.590.000	48	4.500	81	2.160
16	2.350.000	49	290.000	82	1.364.000
17	550.000	50	80.000	83	720.000.000
18	1.750.000	51	2.400.000	84	1.360.000
19	152.000	52	830.000	85	5.280.000
20	115.000	53	9.500.000	86	14.300.000
21	13.000.000	54	35.000	87	82.400.000
22	54.720.000	55	9.600	88	180.000.000
23	348.000.000	56	750	89	720.000.000
24	14.080.000	57	540	90	720.000.000
25	15.480.000	58	1.560	91	645.000
26	600.000	59	486.000	92	103.000
27	2.700.000	60	287.000	93	28.000
28	800.000	61	400.000	94	25.900
29	2.480.000	62	110.000	95	45.000
30	55.960.000	63	2.900	96	10.000
31	200	64	42.000	97	29.000
32	340	65	630	98	5.000
33	800	66	1.308.000	99	140
				100	4.900.000

Media por Muestra33.522.102,42

CUADRO VIII
Resultados del recuento de enterobacterias totales (MPN)

Número muestra	Resultado por gramo	Número muestra	Resultado por gramo	Número muestra	Resultado por gramo
1	—	34	—	67	+ 16.090
2	—	35	—	68	+ 16.090
3	—	36	—	69	+ 16.090
4	—	37	—	70	+ 16.090
5	—	38	—	71	+ 16.090
6	—	39	—	72	+ 16.090
7	—	40	—	73	+ 16.090
8	—	41	60	74	+ 16.090
9	—	42	60	75	+ 16.090
10	—	43	2.400	76	+ 16.090
11	—	44	20	77	+ 16.090
12	—	45	16.090	78	+ 16.090
13	—	46	+ 16.090	79	+ 16.090
14	—	47	+ 16.090	80	+ 16.090
15	—	48	+ 16.090	81	0
16	—	49	170	82	+ 16.090
17	—	50	+ 16.090	83	+ 16.090
18	—	51	430	84	+ 16.090
19	—	52	2.210	85	+ 16.090
20	—	53	+ 16.090	86	+ 16.090
21	—	54	+ 16.090	87	+ 16.090
22	—	55	16.090	88	+ 16.090
23	—	56	+ 16.090	89	+ 16.090
24	—	57	+ 16.090	90	+ 16.090
25	—	58	+ 16.090	91	+ 16.090
26	—	59	16.090	92	+ 16.090
27	—	60	+ 16.090	93	+ 16.090
28	—	61	+ 16.090	94	+ 16.090
29	—	62	+ 16.090	95	490
30	—	63	+ 16.090	96	90
31	—	64	20	97	0
32	—	65	70	98	20
33	—	66	460	99	230
			+ 16.090	100	330

CUADRO IX

Recuento en placa y de enterobacterias totales según el tipo de helado

IX.a. Helados de MANTECADO

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
1	—	—
4	6.900	—
6	3.100	—
7	49.000	—
12	1.918.000	—
13	3.752.000	—
15	1.590.000	—
22	54.720.000	—
23	348.000.000	—
24	14.080.000	—
27	2.700.000	—
30	55.960.000	—
31	200	—
38	5.500	—
39	16.600.000	—
40	20.980.000	—
44	48.500.000	+ 16.090
47	70	+ 16.090
52	830.000	+ 16.090
71	44.300.000	+ 16.090
76	286.000	+ 16.090
78	20.000	+ 16.090
83	720.000.000	+ 16.090
86	14.300.000	+ 16.090

Media por muestra 58.670.903,04

IX.b. Helados de NATA

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
25	15.480.000	—
51	2.400.000	2.210
70	7.700	+ 16.090
77	108.000	+ 16.090
90	720.000.000	+ 16.090
97	29.000	0

Media por muestra 123.004.116,66

CUADRO IX (Cont.)

IX.c. Helados de CREMA

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
2	172.000	—
3	110.000	—
8	20.000	—
29	2.480.000	—
34	470.000	—
43	80	20
49	290.000	+ 16.090
50	80.000	430
57	540	+ 16.090
62	110.000	+ 16.090
64	42.000	70
88	180.000.000	+ 16.090
89	720.000.000	+ 16.090
92	103.000	+ 16.090
93	28.000	+ 16.090
95	45.000	490
99	140	230
100	4.900.000	330

Media por muestra 50.491.708

IX.d. Helados de CHOCOLATE

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
5	3.300	—
14	262.000	—
17	550.000	—
20	115.000	—
33	800	—
45	102.800.000	+ 16.090
73	667.500	+ 16.090
87	82.400.000	+ 16.090
98	5.000	20

Media por muestra 20.755.955

CUADRO IX (Cont.)

IX.e. Helados ESPECIALES

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
9	20.000	-
10	5.000	-
26	600.000	-
36	23.300	-
48	4.500	170
53	9.500.000	+ 16.090
55	9.600	+ 16.090
59	486.000	+ 16.090
60	287.000	+ 16.090
65	630	460
37	1.900	-
54	35.000	16.090
75	5.160.000	+ 16.090
<hr/>		
Media por muestra	1.344.410	

IX.f. Helados de leche MERENGADA

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
80	1.436.000	+ 16.090
<hr/>		
Media por muestra	1.436.000	+ 16.090

IX.g. Helados de CAFE

Número de muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
68	44.800.000	+ 16.090
<hr/>		
Media por muestra	44.800.000	+ 16.090

IX.h. Helados de TARTA HELADA

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
35	1.080.000	-
<hr/>		
Media por muestra	1.080.000	-

CUADRO IX (cont.)

IX.i. Helados de FRUTA

Número muestra	Recuento en placa	Enterobact. totales
11	792.000	-
16	2.350.000	-
18	1.750.000	-
19	152.000	-
21	13.000.000	-
28	800.000	-
32	340	-
41	280	60
42	6.200	2.400
46	43.800.000	+ 16.090
56	750	+ 16.090
58	1.560	16.090
61	400.000	+ 16.090
63	2.900	20
66	1.308.000	+ 16.090
67	1.150.000	+ 16.090
69	6.290	+ 16.090
72	1.330.000	+ 16.090
74	1.220.000	+ 16.090
79	6.200.000	+ 16.090
81	2.610	0
82	1364.000	+ 16.090
84	1.360.000	+ 16.090
85	5.280.000	+ 16.090
91	645.000	+ 16.090
94	25.900	+ 16.090
96	10.000	90
<hr/>		
Media por muestra	3.072.512	

CUADRO X
Estudio comparativo anual de los resultados de recuento en placa y de enterobacterias totales,
con expresión de la situación legal de las mismas

Año	Número Número muestras	RECuento EN PLACA		RECuento ENTEROB. TOT.		MUESTRAS QUE SOBRePA.	
		Intervalo	Media	Intervalo	Media	Totales %	Enterobac. %
1972	40	200 348.000.000	14.374.418,9	-	-	35	-
1973	60	70 720.000.000	46.134.763,3	0 + 16.090	-	41,7	-

CUADRO XI
Estudio comparativo de las cifras de gérmenes totales y enterobacterias totales, según
el tipo de muestra

Tipo helado	Núm.	Intervalo	Media
A) GERMENES TOTALES			
Mantecado	24	70-720.000.000	58.670.903,04
Nata	6	7.700-120.000.000	123.004.116,66
Crema	18	80-720.000.000	50.491.708,00
Chocolate	9	800-102.800.000	20.755.955,00
H. especiales	13	630-9.500.000	1.344.410,00
L. merengada	1	-	1.436.000,00
Café	1	-	44.800.000,00
Tarta helada	1	-	1.080.000,00
Frutas	27	280-43.800.000	3.072.512,00
B) ENTEROBACTERIAS TOTALES			
Mantecado	8	+ 16.090	+ 16.090
Nata	5	0 - + 16.090	-
Crema	13	20 - + 16.090	-
Chocolate	4	20 - + 16.090	-
H. especiales	7	170 - + 16.090	-
L. Merengada	1	+ 16.090	+ 16.090
Café	1	+ 16.090	+ 16.090
Tarta Helada	-	-	-
Frutas	20	0 - + 16.090	-

CUADRO XII
Número de cepas estudiadas por muestra

Número muestra	Número cepas	Número muestra	Número cepas	Número muestra	Número cepas
1	7	34	11	67	16
2	5	35	16	68	10
3	2	36	6	69	9
4	3	37	7	70	10
5	2	38	0	71	12
6	1	39	9	72	17
7	8	40	6	73	3
8	9	41	0	74	10
9	6	42	13	75	11
10	4	43	0	76	7
11	5	44	7	77	11
12	13	45	8	78	12
13	14	46	9	79	9
14	4	47	0	80	11
15	14	48	0	81	0
16	11	49	5	82	14
17	9	50	7	83	11
18	16	51	6	84	14
19	10	52	9	85	7
20	11	53	16	86	12
21	19	54	5	87	13
22	19	55	7	88	18
23	14	56	6	89	8
24	17	57	0	90	12
25	20	58	12	91	10
26	12	59	13	92	18
27	15	60	15	93	18
28	14	61	13	94	1
29	14	62	14	95	0
30	9	63	0	96	0
31	0	64	0	97	0
32	0	65	0	98	0
33	0	66	14	99	0
				100	4
Total cepas estudiadas					893

CUADRO XIII
Número de aislamientos por medio selectivo y muestra

Número muestra	LEVINE	S. S.	C. D. L.	BGNRLA	B. S.	M. K.
1	3	2	2	0	0	—
2	2	1	2	0	0	—
3	0	1	1	0	0	—
4	1	1	1	0	0	—
5	1	0	1	0	0	—
6	0	0	1	0	0	—
7	2	0	1	2	3	—
8	2	0	3	2	2	—
9	1	1	1	2	2	—
10	2	0	1	1	2	—
11	2	0	0	1	2	—
12	2	2	3	3	3	—
13	2	3	3	3	3	—
14	1	0	2	3	2	—
15	4	3	3	4	1	—
16	3	2	3	3	0	—
17	3	2	2	2	0	—
18	3	3	4	2	4	—
19	1	2	3	3	1	—
20	2	2	3	4	0	—
21	5	2	3	4	5	—
22	3	4	3	4	5	—
23	4	4	2	4	2	—
24	4	3	3	3	4	—
25	4	6	4	3	3	—
26	2	3	5	1	1	—
27	3	2	2	3	5	—
28	5	2	1	4	2	—
29	4	2	2	4	3	—
30	0	0	3	3	3	—
31	1	0	0	1	0	—
32	1	0	0	1	—	—
33	1	0	0	0	0	—
34	5	3	3	3	0	—
35	5	3	2	3	3	—
36	3	0	1	2	0	—
37	1	0	2	2	2	—
38	0	0	0	0	0	—
39	4	2	0	2	1	—
40	3	0	0	3	0	—
41	0	0	0	0	0	—
42	3	3	1	3	3	—
43	0	0	0	0	0	—
44	—	2	0	1	1	3
45	—	1	1	2	2	2
46	—	2	2	1	2	2
47	—	0	0	0	0	0
48	—	0	0	0	0	0
49	—	0	1	1	1	2
50	—	0	1	2	2	3
51	—	0	2	1	1	2
52	—	1	1	2	2	3
53	—	3	2	4	3	4
54	—	1	3	3	2	2
55	—	0	0	2	2	3
56	—	0	0	2	2	2

CUADRO XIII (Cont.)

Número muestra	LEVINE	S. S.	C. D. L.	BGNRLA	B. S.	M. K.
57	-	1	1	1	0	1
58	-	2	2	2	3	3
59	-	3	3	3	3	4
60	-	1	2	3	4	5
61	-	2	2	4	3	3
62	-	2	2	4	3	3
63	-	0	0	0	0	1
64	-	0	0	0	0	0
65	-	0	0	0	0	0
66	-	4	3	3	2	2
67	-	4	3	5	1	3
68	-	2	2	2	1	3
69	-	2	1	3	0	3
70	-	3	2	3	1	3
71	-	3	2	3	1	3
72	-	4	3	3	3	4
73	-	1	0	1	0	1
74	-	3	1	2	0	4
75	-	3	2	3	0	3
76	-	1	1	2	2	1
77	-	2	2	3	2	3
78	-	2	1	2	3	4
79	-	1	2	2	3	1
80	-	2	1	3	2	3
81	-	0	0	0	0	0
82	-	2	2	3	2	5
83	-	0	1	2	5	4
84	-	3	3	4	3	3
85	-	1	1	2	3	3
86	-	1	2	3	2	4
87	-	3	1	3	2	4
88	-	1	3	4	3	7
89	-	0	1	1	3	3
90	-	1	1	2	2	6
91	-	1	3	2	1	3
92	-	4	2	4	4	4
93	-	3	3	3	3	6
94	-	0	0	0	0	1
95	-	0	0	0	0	0
96	-	0	0	0	0	0
97	-	0	0	0	0	0
98	-	0	0	0	0	0
99	-	0	0	0	0	0
100	-	0	0	2	1	1
Totales	98	142	151	201	158	143
Medias	2,2	1,42	1,51	2,01	1,58	2,5

CUADRO XIV

Expresión de muestras que contienen cepas oxidasa positivas y número de estas

Número de muestra	Número de cepas Oxidasa +
9	1
10	2
14	4
15	1
23	2
25	1
29	1
31	2
32	2
33	1
34	3
50	1
54	6
57	4
59	3
61	1
63	1
70	2
77	1
83	1
84	2
85	3
TOTAL	45

CUADRO XV

Resultados de la primera fase de identificación, con expresión nominal de las cepas aisladas y grupos a que pertenecen

Grupo o especie		Número de muestra						
<i>P. vulgaris</i>	727.							
<i>P. mirabilis</i>	717.							
<i>P. rettgeri</i>	370.	374.	572.					
<i>P.morganii</i>	209.	215.	310.					
<i>P. inconstans</i>								
<i>E. tarda</i>	3. 16.	57.	64.	96.	140.	156.	192.	
	281.	318.	553.	618.				
<i>C. freundii</i>	4. 17.	71.	107.	127.	134.	139.	182.	
	186.	193.	220.	221.	222.	228.	231.	
	238.	244.	248.	268.	270.	271.	272.	
	273.	274.	277.	278.	279.	314.	438.	
	440.	441.	442.	445.	451.	452.	456.	
	526.	529.	532.	548.	556.	558.	563.	
	566.	573.	575.	610.	621.	637.	638.	
	640.	656.	657.	669.	703.	723.	736.	
	738.	748.	771.	786.	854.	862.	874.	
<i>Salmonella</i> y <i>Y. pestis</i>	878.	887.						
<i>C. intermedium</i> y <i>Y. enterocolitica</i>	6. 7.	11.	15. 37.	69.	98.	99.	11.	
	118.	119.	120.	121.	122.	123.	146.	
	166.	174.	175.	176.	178.	194.	195.	
	196.	197.	198.	199.	200.	202.	204.	
	207.	212.	213.	214.	234.	341.	342.	
	345.	347.	349.	352.	363.	439.	444.	
	469.	495.	497.	498.	514.	530.	533.	
	538.	557.	591.	593.	615.	617.	624.	
	629.	630.	635.	649.	675.	708.	712.	
	714.	724.	729.	739.	747.	803.	835.	
<i>Klebsiella</i>	836.	838.	839.	840.				
	1. 13.	31.	34.	56.	63.	65.	66. 77.	
	75. 76.	78.	79.	80.	81.	82.	158.	
	160.	162.	183.	184.	185.	187.	188.	
	189.	190.	205.	211.	235.	236.	243.	
	250.	298.	304.	309.	312.	316.	317.	
	405.	432.	433.	434.	435.	436.	437.	
	465.	507.	509.	516.	519.	525.	535.	
	536.	537.	539.	542.	546.	550.	555.	
	559.	560.	567.	569.	574.	616.	632.	
	633.	634.	642.	648.	671.	716.	745.	
	793.	819.	871.					
<i>Escherichia</i> y <i>Shigella</i>								
	105.	130.	138.	142.	144.	147.	148.	
	149.	150.	191.	210.	218.	252.	253.	
	254.	255.	256.	257.	258.	259.	260.	
	261.	262.	263.	264.	265.	355.	357.	
	359.	384.	386.	388.	426.	4. 29.	457.	
	458.	464.	568.	595.	596.	597.	603.	
	685.	687.	688.	691.	695.	709.	710.	
	711.	715.	719.	726.	730.	735.	737.	
	741.	753.	764.	767.	768.	783.	807.	
	808.	816.	817.	818.	822.	831.	834.	
	837.	843.	844.	845.	848.	849.	850.	
	868.	875.	876.	877.	880.	883.	886.	
	889.							

CUADRO XV (Cont.)

<i>Enterobacter, Hafniae, Y. enterocolitica, Erwinia.</i>	5. 24. 44. 55. 84. 133. 169. 225. 246. 324. 368. 448. 477. 485. 515. 524. 551. 621. 665. 692. 725. 744. 779. 791. 825. 847. 866.	8. 25. 45. 58. 86. 141. 172. 229. 247. 328. 369. 453. 478. 486. 517. 527. 552. 628. 670. 693. 728. 750. 780. 792. 828. 851. 890.	9. 26. 47. 59. 88. 143. 201. 230. 249. 335. 373. 455. 479. 503. 518. 528. 554. 653. 673. 694. 731. 751. 782. 800. 830. 852. 891.	10. 28. 48. 60. 90. 151. 216. 233. 251. 350. 392. 459. 481. 504. 520. 531. 561. 655. 676. 702. 732. 756. 784. 805. 833. 855. 892.	12. 38. 50. 61. 95. 161. 217. 239. 266. 356. 413. 461. 482. 506. 521. 534. 599. 661. 679. 713. 733. 758. 788. 806. 841. 856. 893.	14. 39. 51. 70. 100. 167. 219. 240. 267. 358. 443. 462. 483. 511. 522. 543. 600. 663. 686. 718. 734. 761. 789. 820. 842. 858. 897.	18. 40. 52. 72. 124. 167. 219. 240. 267. 358. 443. 462. 483. 511. 522. 543. 600. 663. 686. 718. 734. 761. 789. 820. 842. 858. 897.	21. 40. 52. 72. 124. 167. 219. 240. 267. 358. 443. 462. 483. 511. 522. 543. 600. 663. 686. 718. 734. 761. 789. 820. 842. 858. 897.	22. 41. 53. 74. 128. 168. 223. 245. 282. 367. 446. 475. 484. 512. 523. 545. 609. 664. 689. 721. 741. 773. 790. 821. 846. 860. 899.	23. 43. 54. 77. 128. 168. 223. 245. 282. 367. 446. 475. 484. 512. 523. 545. 609. 664. 689. 721. 741. 773. 790. 821. 846. 860. 899.
<i>Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis, Shigella.</i>	19.	20.	97.	354.	414.	418.	877.	889.		
<i>Klebsiella, Enterobacter, Hafniae, Serratia Erwinia.</i>	2. 68. 106. 114. 132. 155. 171. 224. 275. 287. 294. 302. 315. 333. 346. 364. 377. 385. 395. 402. 410. 420. 430. 466. 493. 510.	29. 91. 108. 115. 135. 157. 173. 226. 276. 288. 295. 303. 325. 337. 348. 365. 378. 387. 396. 403. 411. 421. 431. 471. 494. 540.	30. 92. 109. 116. 137. 159. 177. 227. 280. 289. 296. 305. 326. 338. 351. 366. 379. 389. 397. 404. 412. 422. 447. 474. 496. 541.	32. 93. 110. 125. 145. 163. 179. 232. 283. 290. 297. 307. 327. 339. 360. 371. 380. 390. 398. 406. 415. 423. 449. 476. 499. 547.	33. 94. 111. 126. 152. 164. 180. 241. 284. 291. 299. 308. 330. 340. 361. 372. 381. 391. 399. 407. 416. 424. 450. 480. 500. 549.	35. 101. 112. 129. 153. 165. 181. 242. 285. 292. 299. 308. 331. 343. 362. 375. 382. 393. 400. 408. 417. 427. 454. 491. 501. 564.	36. 102. 112. 129. 153. 165. 181. 242. 285. 292. 299. 308. 311. 331. 343. 362. 375. 382. 393. 400. 408. 417. 427. 454. 491. 501. 564.	62. 104. 113. 131. 154. 170. 203. 269. 286. 293. 300. 311. 313. 332. 344. 363. 376. 383. 394. 401. 409. 419. 428. 460. 492. 502. 565.	67. 104. 113. 131. 154. 170. 203. 269. 286. 293. 301. 313. 332. 344. 363. 376. 383. 394. 401. 409. 419. 428. 460. 492. 502. 565.	

570.	571.	576.	577.	578.	579.	580.
581.	582.	583.	584.	585.	586.	587.
588.	589.	590.	592.	594.	598.	601.
602.	604.	605.	606.	607.	608.	611.
612.	613.	622.	625.	626.	627.	631.
636.	639.	641.	643.	644.	645.	646.
647.	652.	659.	660.	662.	666.	667.
668.	674.	677.	680.	681.	682.	683.
696.	697.	698.	699.	700.	701.	703.
705.	706.	707.	720.	722.	743.	746.
749.	752.	754.	757.	759.	760.	762.
763.	766.	769.	770.	774.	775.	778.
781.	785.	787.	794.	795.	796.	797.
811.	812.	813.	814.	815.	823.	824.
826.	827.	829.	832.	853.	857.	859.
861.	863.	864.	865.	867.	869.	870.
872.	873.	879.	881.	882.	884.	885.

888.

CUADRO XVI

Distribución de las cepas estudiadas por géneros, y estimación de porcentajes sobre el total de identificaciones realizadas

Género	Número	Porcentaje
Escherichia	90	10,61
Edwardsiella	12	1,42
Citrobacter	142	16,67
Shigella	8	0,94
Klebsiella	109	12,85
Enterobacter	415	49,94
Proteus	8	0,94
Erwinia	64	7,55
TOTAL	848	100,00

CUADRO XVII

Distribución numeral y porcentual de las especies identificadas sobre el total de las mismas

XVII.a. Género *ESCHERICHIA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. coli</i>	90	10,61	100,00
TOTAL	90	10,61	100,00

XVII.b. Género *EDWARDSIELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. tarda</i>	12	1,42	100,00
TOTAL	12	1,42	100,00

XVII.c. Género *CITROBACTER*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>C. freundii</i>	66	7,78	46,48
<i>C. intermedium bit. a</i>	41	4,84	28,87
<i>C. intermedium bit. b</i>	35	4,13	24,65
TOTAL	142	16,75	100,00

XVII.d. Género *SHIGELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>Shigella spp.</i>	8	0,94	100,00
TOTAL	8	0,94	100,00

XVII.e. Género *KLEBSIELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>K. pneumoniae I</i>	31	3,66	28,44
<i>K. pneumoniae II</i>	49	5,78	44,96
<i>K. pneumoniae maln.</i>	6	0,70	5,50
<i>K. ozaenae</i>	7	0,83	6,42
<i>K. ozaenae maln. +</i>	9	1,06	8,26
<i>K. rhinoscleromatis</i>	7	0,83	6,42
TOTAL	109	12,85	100,00

CUADRO XVII (Cont.)

XVII.f. Género *ENTEROBACTER*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. cloacae</i>	320	37,74	77,11
<i>E. cloacae ramn.</i>	28	3,30	6,75
<i>E. cloacae sorb.</i>	23	2,71	5,54
<i>E. aerogenes</i>	22	2,59	5,30
<i>E. licuefaciens</i>	4	0,47	0,96
<i>E. hafniae</i>	16	1,89	3,86
<i>E. hafniae ramn.</i>	2	0,24	0,48
TOTAL	415	48,94	100,00

XVII.g. Género *PROTEUS*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>P. morganii</i>	3	0,35	37,50
<i>P. rettgeri</i>	3	0,35	37,50
<i>P. mirabilis</i>	1	0,12	12,50
<i>P. vulgaris</i>	1	0,12	12,50
TOTAL	8	0,94	100,00

XVII.h. Género *ERWINIA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. rhapontici</i>	16	1,89	25,00
<i>E. carotovora</i>	22	2,59	34,37
<i>E. cypripedii</i>	22	2,59	34,37
<i>E. chrysantemi</i>	4	0,47	6,25
TOTAL	64	7,55	100,00

CUADRO XVIII

Distribución numeral y porcentual de los serotipos de *E. coli* sobre el total

Serotipo	Número	% absol.	% relat.
<i>E. coli</i> no confirmado	23	2,71	25,56
<i>E. coli</i> 068 : H : 28	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 0107 : H27	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 021 : H2	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 018ab : H14	10	1,18	11,11
<i>E. coli</i> 06 : H49	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 0125ac : H30	13	1,53	14,44
<i>E. coli</i> 0135 : H30	2	0,23	2,22
<i>E. coli</i> 08 : H5	2	0,23	2,22
<i>E. coli</i> 08 : H10	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 03 : H4	4	0,47	4,44
<i>E. coli</i> 015 : H11	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 021 : H25	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 07 : H4	2	0,23	2,22
<i>E. coli</i> 011 : H30	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 0125ab : H7	8	0,94	8,89
<i>E. coli</i> 075 : H20	8	0,94	8,89
<i>E. coli</i> 01 : H1	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 018 : H17	1	0,12	1,11
<i>E. coli</i> 021 : H33	2	0,23	2,22
<i>E. coli</i> 07 : H39	5	0,59	5,56
<i>E. coli</i> 05 : H-	1	0,12	1,11
TOTAL	90	10,61	100,00

CUADRO XIX

Distribución numeral y porcentual de las especies identificadas de shigella, sobre el total

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>S. boydii</i> (1-7)	2	0,24	25,00
<i>S. boydii</i> (12-15)	1	0,12	12,50
<i>S. dysenteriae</i> (1-7)	2	0,24	25,00
<i>S. dysenteriae</i> (8ab8ac, 9, 10 y 3873-50)	3	0,35	37,50
TOTAL	8	0,94	100,00

CUADRO XX

Distribución real de los géneros identificados sobre el total

Género	Número	Porcentaje
Escherichia	40	13,16
Edwardsiella	11	3,62
Citrobacter	62	20,39
Shigella	8	2,63
Klebsiella	49	16,12
Enterobacter	100	32,90
Proteus	6	1,97
Erwinia	28	9,21
TOTAL	304	100,00

CUADRO XXI

Distribución real de las especies identificadas sobre el total

XXI.a. Género *ESCHERICHIA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. coli</i>	40	13,16	100,00
TOTAL	40	13,16	100,00

XXI.b. Género *EDWARDSIELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. tarda</i>	11	3,62	100,00
TOTAL	11	3,62	100,00

XXI.c. Género *CITROBACTER*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>C. freundii</i>	28	9,21	45,16
<i>C. intermedium bit. a</i>	21	6,91	33,87
<i>C. intermedium bit. b</i>	13	4,27	20,97
TOTAL	62	20,39	100,00

XXI.d. Género *SHIGELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>Shigella</i> spp.	8	2,63	100,00
TOTAL	8	2,63	100,00

XXI.e. Género *KLEBSIELLA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>K. pneumoniae I</i>	15	4,93	30,61
<i>K. pneumoniae II</i>	22	7,24	44,90
<i>K. pneumoniae mal.</i>	3	0,99	6,12
<i>K. ozaenae</i>	2	0,66	4,08
<i>K. ozaenae mal. +</i>	3	0,99	6,12
<i>K. rhinoscleromatis</i>	4	1,31	8,17
TOTAL	49	16,12	100,00

CUADRO XXI (Cont.)

XXI.f. Género *ENTEROBACTER*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. cloacae</i>	59	19,41	59,00
<i>E. cloacae ramn.</i>	9	2,96	9,00
<i>E. cloacae sorb.</i>	9	2,96	9,00
<i>E. aerogenes</i>	11	3,62	11,00
<i>E. licuefaciens</i>	3	0,99	3,00
<i>E. hafniae</i>	6	1,97	6,00
<i>E. hafniae ramn.</i>	3	0,99	3,00
TOTAL	100	32,90	100,00

XXI.g. Género *PROTEUS*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>P. morganii</i>	2	0,66	33,33
<i>P. rettgeri</i>	22	0,66	33,33
<i>P. mirabilis</i>	1	0,33	16,67
<i>P. vulgaris</i>	1	0,33	16,67
TOTAL	6	1,97	100,00

XXI.h. Género *ERWINIA*

Especie	Número	% absol.	% relat.
<i>E. rhapontici</i>	5	1,64	17,86
<i>E. carotovora</i>	13	4,28	46,43
<i>E. cypripedii</i>	6	1,97	21,43
<i>E. chrysantemi</i>	4	1,32	14,28
TOTAL	28	9,21	100,00

CUADRO XXII

Distribución numeral y porcentual real de los serotipos de *E. coli*

Serotipo	Número	% absol.	% relat.
<i>E. coli</i> no confirmado	10	3,29	25,00
<i>E. coli</i> 068 : H28	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 0107 : H27	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 021 : H2	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 018ab : H14	4	1,31	10,00
<i>E. coli</i> 06 : H49	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 0125ac : H30	2	0,66	5,00
<i>E. coli</i> 0135 : H30	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 08 : H5	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 08 : H40	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 03 : H4	2	0,66	5,00
<i>E. coli</i> 015 : H11	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 021 : H25	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 07 : H4	2	0,66	5,00
<i>E. coli</i> 011 : H30	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 0125ab : H7	2	0,66	5,00
<i>E. coli</i> 075 : H20	3	0,98	7,50
<i>E. coli</i> 01 : H1	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 018 : H17	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 021 : H33	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 07 : H39	1	0,33	2,50
<i>E. coli</i> 05 : H-	1	0,33	2,50
TOTAL	40	13,16	100,00

CUADRO XXIII

Distribución numeral y porcentual real de los tipos de *Shigella*

Especie	Número	% absolut.	% relat.
<i>S. boydii</i> (1-7)	2	0,66	25,00
<i>S. boydii</i> (12-15)	1	0,33	12,50
<i>S. dysenteriae</i> (1-7)	2	0,66	25,00
<i>S. dysenteriae</i> (8ab8ac, 9, 10 y 3873-50)	3	0,98	37,50
TOTAL	8	2,63	100,00

CUADRO XXIV

Resumen de especies atípicas reales

Especie	Número
<i>K. pneumoniae</i> malonato negativo	3
<i>K. ozaenae</i> malonato positivo	3
<i>E. cloacae</i> ramnosa negativo	9
<i>E. cloacae</i> sorbitol negativo	9
<i>E. hafniae</i> ramnosa negativo	3
TOTAL	27
% s /TOTAL	3,02

CUADRO XXV

Transformación logarítmica de los valores de carga microbiana total

Número muestra	Log.	Número muestra	Log.	Número muestra	Log.
1	—	34	5,67	67	6,06
2	5,23	35	6,03	68	7,65
3	5,04	36	4,37	69	3,80
4	3,84	37	3,28	70	3,89
5	3,52	38	3,74	71	7,65
6	3,41	39	7,22	72	6,12
7	4,69	40	7,32	73	5,82
8	4,30	41	2,45	74	6,09
9	4,30	42	3,79	75	6,71
10	3,70	43	1,90	76	5,46
11	5,90	44	7,68	77	5,03
12	6,28	45	8,01	78	4,30
13	6,57	46	7,64	79	6,79
14	5,42	47	1,84	80	6,16
15	6,20	48	3,65	81	3,33
16	6,37	49	5,46	82	6,13
17	5,74	50	4,90	83	8,88
18	6,24	51	6,38	84	6,13
19	5,18	52	5,92	85	6,72
20	5,06	53	6,98	86	7,16
21	7,11	54	4,54	87	7,92
22	7,74	55	3,98	88	8,25
23	8,54	56	2,87	89	8,86
24	7,15	57	2,73	90	8,88
25	7,19	58	3,19	91	5,81
26	5,78	59	5,69	92	5,01
27	6,43	60	5,46	93	4,45
28	5,90	61	5,60	94	4,41
29	6,39	62	5,04	95	4,65
30	7,75	63	3,46	96	4,00
31	2,30	64	4,62	97	4,46
32	2,53	65	2,80	98	3,70
33	2,90	66	6,12	99	2,15
				100	6,69

CUADRO XXVI

Clasificación de los datos de carga microbiana total según el sabor. Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos sabores	5	16,5902	3,3180	1,1607
Dentro de sabores	92	277,2743	2,8584	—
TOTAL	97	293,8645		

CUADRO XXVII

Clasificación de los datos de carga microbiana total según la forma de presentación.
Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos formas	4	30,6289	7,6572	2,81 (+)
Dentro de formas	94	256,0974	2,7244	—
TOTAL	98	286,7263		

CUADRO XXVIII

Clasificación de los datos de cepas aisladas totales según los sabores. Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos sabores	5	132,3973	26,4794	0,7857
Dentro de sabores	94	3142,5627	33,4315	—
TOTAL	99	3274,96		

CUADRO XXIX

Clasificación de los datos de cepas aisladas totales según las formas. Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos formas	4	106,0175	26,5043	0,7945
Dentro de formas	95	3168,9425	33,3572	—
TOTAL	99	3274,96		

CUADRO XXX

Clasificación de los datos de especies reales aisladas según los sabores. Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos sabores	5	36,9602	7,3920	1,3928
Dentro de sabores	94	498,9798	5,3072	—
TOTAL	99	535,84		

CUADRO XXXI

Clasificación de los datos de especies reales aisladas según la forma de presentación.
Análisis de varianza

Causa de variación	G. de L.	S. C.	M. C.	F.
Entre tipos formas	4	57,4191	14,3547	2,8504 (+)
Dentro de formas	95	478,4209	5,0360	—
TOTAL	99	535,84		

LEYENDA: G. de L. = grados de libertad; S. C. = Suma cuadrática; M. C. = Media cuadrática; F = F de Fisher (cociente entre medias cuadráticas).

CUADRO XXXII

Resumen de los resultados de recuento en placa obtenidos por distintos autores en distintos países y en distintas épocas

Autor y año	País	Número muestras	Intervalo	Máximo	Media
MOKASHI, 1970	India	100	0- Innumerable	—	—
SANDOVAL, 1969	Brasil	109	0- 41.000	41.000	—
PAGARÍA, 1969	India	179	—	36 . 10 ⁶	—
CUSTOT, 1967	Francia	102	—	92 . 10 ⁶	—
TAMPIERI, 1967	Italia	582	¿?- + de 200 mil	—	—
CARIC, 1960	Yugoslavia	707	id. anterior	—	—
CARIC, 1966	Yugoslavia	564	id. anterior	—	—
THATTI, 1972	India	270	450- 10 . 10 ⁶	1 . 10 ⁶	316.750
GUARGUAGLINI, 1967	Italia	147	¿?- + de 100 mil	—	—
EL SHERIF, 1967	Egipto	60	240.000- 3.000.000	3 . 10 ⁶	998.400
BATHLA, 1972	India	87	2.000- 299 . 10 ⁶	299 . 10 ⁶	17,3 . 10 ⁶
SURYANARAYANA, 1962	India	92	1.000- 93.000.000	93 . 10 ⁶	—
BORNEFF, 1971	Alemania	—	100- — de 100 mil	—	—
BAETSELE, 1949	Bélgica	168	¿?-	—	—
BARTH, 1969	Alemania	841	¿?- + de 300 mil	—	—
PALLADINO, 1962	Italia	2.520	¿?- + de 100 mil	—	—
MORALES, 1961	Argentina	310	200- 50 . 10 ⁶	50 . 10 ⁶	—

CUADRO XXXIII
Expresión de la situación legal de los resultados de recuento
en placa de distintos autores

Autor y año	Muestras	% que rebasan los límites
CUSTOT, 1967	102	38,23 (+ de 300.000)
TAMPIERI, 1967	582	32,75 (+ de 100.000)
CARIC, 1960	707	29,98 (+ de 200.000)
CARIC, 1966	564	3,1 (+ de 200.000)
THATTI, 1972	270	19,25 (+ de 250.000)
GUARGUAGLINI, 1967	147	27,9 (+ de 100.000)
BATHLA, 1972	87	81,00 (¿?)
AGUIRRE, 1968	359	41,37 (¿?)
SURYANARAYANA, 1962	92	50,00 (+ de 250.000)
PALLADINO, 1962	2.520	0,53 (+ de 100.000)

CUADRO XXXIV
Resumen de resultados de colimetría por distintos autores

Autor y año	Indice colim. N.º standard	Intervalo	% standard
MOKASHI, 1970	—	100— 3,7 . 10 ⁶	— —
CUSTOT, 1967	27 (100 /gr)	—	26,4
TAMPIERI, 1967	233 (10 /gr)	—	40,0
CARIC, 1966	6 (¿?)	—	1,6
PATEL, 1971	—	478— 8.575 (X)	— —
THATTI, 1972	154 (90 /gr)	5— 71.000	57,0
GUARGUAGLINI, 1967	47 (100 /gr)	—	78,3
EL SHERIF, 1967	—	400— 180.000	— —
BATHLA, 1972	—	0— 174 . 10 ⁶	— —
SURYANARAYANA, 1962	73 (10 /ml.)	0— 840.000	80,0
BORNEFF, 1971	—	—	10,0