

NIVELES DE CONTAMINACION MICROBIOLÓGICA EN EQUIPOS DE RECEPCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LECHE, EN CENTROS DE ACOPIO DE LA PROVINCIA DE VALDIVIA

Bernardo Carrillo L¹., Mónica González M²., Renate Schöbitz T¹., Luz H. Molina C¹., Carmen Brito C¹.

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 47 Valdivia.

² Ingeniero en Alimento, Escuela de Ingeniería en Alimentos. Universidad Austral de Chile.

bcarrill@uach.cl

ABSTRACT

Bacteriological contamination levels in reception and storage equipments of milk in Milk Collection Centers in the province of Valdivia.

Key words: contamination, surfaces, milk equipments, milk quality

In order to evaluate the bacteriological quality of the equipments used for milk transport, reception and storage, an investigation was conducted in three Milk Collecting Centers (MCC) located in the province of Valdivia between April and June of 2002.

Mesophylic aerobic bacterial counts were taken from milk buckets, milk unloading tanks, milk filters, pump-hose and storage tanks by the standard plate count method. Bacterial count results showed statistical significant difference ($p < 0,05$) for milk unloading tanks of Santa Rosa and Paillaco, identical situation was found for the milk filter of these two MCC; for the storage tank differences were found in the three MCC.

The bacterial counts were compared with international hygienic standards; all MCC had bacterial counts indicative of unsatisfactory hygiene for milk buckets (more than 250.000 cfu/bucket) and for milk unloading tanks (more than 25 cfu/cm²). Only the storage tank of one of the MCC (Santa Rosa) complied with standards (lower than 5 cfu/cm²).

The bacterial analysis of water, revealed that only one MCC (Pichirropulli) has suitable (potable) water for cleaning and disinfecting routines.

An evaluation instrument was applied to characterise these MCC; it was found that the MCC with the worst evaluation (Paillaco) also had the highest bacterial counts.

RESUMEN

Palabras claves: contaminación superficies, equipos lecheros, calidad de leche

Entre abril y junio del año 2002, se realizó un estudio para evaluar la calidad microbiológica de los equipos utilizados en el transporte, recepción y almacenamiento de leche, en tres Centros de Acopio Lechero (CAL) de la provincia de Valdivia.

Se determinó el recuento de bacterias aeróbicas mesófilas en tarros lecheros, preestaque de vaciado de leche, filtro de leche, circuito bomba-manguera y estanque de almacenamiento, mediante el método estándar de recuento en placa. Los resultados de los recuentos microbiológicos señalaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los preestakes de vaciado de leche de Santa Rosa y Paillaco, situación que se repitió para los filtros de leche de estos dos CAL; en el caso de los estanques de almacenamiento de leche, estas diferencias se encontraron en los tres CAL.

Se compararon los recuentos con estándares de referencia, clasificándose todos los CAL en un estado higiénico insatisfactorio, tanto en tarros lecheros (más de 250.000 ufc/ tarro) como en preestakes de vaciado de leche (más de 25 ufc/cm²). En el caso del estanque de almacenamiento de leche, solo un CAL (Santa Rosa) obtuvo todas sus muestras en un nivel de estado higiénico satisfactorio (menos de 5 ufc/cm²).

Además se aplicó, un instrumento de evaluación que caracterizó a estos CAL, encontrándose que el CAL peor evaluado (Paillaco) presentó a su vez los recuentos microbiológicos más altos.

INTRODUCCIÓN

Un manejo deficiente de los procesos de obtención de leche a nivel predial, de la recolección y de la recepción y almacenamiento a nivel de un Centro de Acopio, sin duda que pueden afectar la calidad higiénica de la leche, y específicamente sus recuentos microbiológicos.

Según Loor y Jones (1999), la calidad microbiológica de la leche cruda, se ve afectada por una mala limpieza de los equipos de ordeña, insuficiente enfriamiento de la leche en el estanque de almacenamiento o un mal manejo de parte del operario encargado. Así mismo, Gehriger (1980), señala que el contenido de bacterias en la leche depende especialmente del grado de limpieza de las máquinas, utensilios de lechería y de la correcta higiene durante la extracción de la leche.

De acuerdo a lo señalado por Ponce de León (1993), uno de los principales factores que inciden en la obtención de una leche de "buena" calidad microbiológica, es el grado de limpieza del proceso de ordeña y posterior almacenamiento, pues la contaminación inicial es uno de los factores más importantes que determinan el número de microorganismos de la leche. De igual forma Loor y Jones (1999), señalan que las mayores causas de altos niveles de microorganismos en la leche, son la falta de limpieza de los equipos después de su uso, la utilización de bombas con grietas, o de piezas de caucho que están deterioradas por los años de uso.

Por su parte Palmer (1980) y Dodd (1987), mencionan que los equipos de lechería y estanques de almacenamiento son frecuentemente la mayor fuente de contaminación bacteriana en la leche, contribuyendo, sin embargo con menos de $1,0 \times 10^3$ ufc/mL cuando la limpieza se efectúa correctamente; lo que refleja la importancia y cuidado que se debe tener en su manejo, lavado e higienización. Por otro lado, Marshall (1985), indica que los equipos de lechería podrían contribuir con $4,0 \times 10^3$ ufc/mL a la cantidad inicial de bacterias de la leche, que bajo buenas condiciones higiénicas, puede tener un total de $1,0 \times 10^4$ ufc/mL. Sin embargo, una deficiente limpieza aumenta considerablemente esta cantidad, la que según Ponce de León (1993), puede llegar hasta $5,0 \times 10^5$ ufc/mL o más.

En lo que respecta al material de construcción de los equipos, la International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF) (1991) y Dood (1987), indican que las partes que están en contacto con los alimentos deberán ser construidas con materiales duraderos y no tóxicos, resistentes a la corrosión o alteración física durante el funcionamiento normal, preferiblemente de acero inoxidable o aluminio. Las superficies deben ser lisas, sin grietas ni fisuras en las que puedan persistir y multiplicarse microorganismos, y serán fáciles de limpiar. Por otro lado, Commeau (1987), señala que el pulido de las superficies está estrechamente vinculado al fenómeno de corrosión, debido a que éste se acentúa en superficies con fisuras y grietas, siendo este uno de los principales problemas de la industria lechera. Del mismo modo Carballo (2001), indica que un factor de relevancia en la adherencia bacteriana a superficies de contacto con alimentos es la microtopografía de la superficie, ya que la presencia de grietas y hendiduras favorece la retención de las bacterias y dificulta la limpieza; de esta manera al aumentar los defectos de las superficies disminuyen sus propiedades higiénicas.

La razón por la que se limpian y desinfectan las superficies que contactan con los alimentos y el ambiente es para ayudar en el mantenimiento del control microbiológico. Si se realiza con eficacia y en el momento apropiado, su efecto neto será la eliminación o el control de la población microbiana (ICMSF, 1991). Al respecto, según Alais (1985), se deben distinguir dos operaciones esenciales para tratar el material con el cual la leche entra en contacto: la limpieza propiamente dicha, que elimina todos los residuos e impurezas, especialmente las menos solubles como grasa, proteínas y sales, y la desinfección, que elimina todos los microorganismos. Una vez limpias y desinfectadas las superficies pueden recontaminarse si establecen contacto con superficies sucias, paños de limpieza sucios, salpicaduras, polvo, manipulación, insectos y roedores (ICMSF, 1991).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1997), Hayes (1993) y Stanley (2002), la limpieza aparente puede inducir a engaño, por consiguiente suele ser deseable confirmar el nivel de limpieza y desinfección mediante análisis

microbiológicos de muestras procedentes del equipo. Dicha información puede ser usada para establecer límites a los niveles microbianos de los equipos.

Entre los parámetros de calidad, los microorganismos que pueden contener los diferentes equipos utilizados en los Centros de Acopio Lechero (CAL), inevitablemente llegan a la leche, afectando su calidad, por lo que es importante conocer los niveles de contaminación de cada uno de éstos.

El objetivo de este trabajo fue establecer los niveles de contaminación microbiológica (recuento de bacterias aerobias mesófilas) de tarros lecheros, preestaque de vaciado de leche, filtro de leche, circuito bomba-manguera y estanque de almacenamiento de leche de tres Centros de Acopio Lechero de la provincia de Valdivia.

MATERIAL Y METODO

El estudio se realizó entre abril y junio del 2002 en los Centros de Acopio de Leche de Paillaco, Pichirropulli y Santa Rosa, ubicados en la provincia de Valdivia, X región, donde se tomaron muestras para análisis microbiológico de los equipos utilizados en la recepción y almacenamiento de la leche.

Se estableció una frecuencia de muestreo aleatoria, realizándose un total de 5 repeticiones a tarros lecheros (10 tarros / día, equivalente al 10% del total utilizado), preestaque de vaciado de leche, circuito bomba-manguera, filtro de leche y estanque de almacenamiento de leche.

Las muestras para determinar las condiciones higiénicas de los tarros, fueron tomadas de acuerdo al método de enjuague descrito por Harrigan y McCance (1976). Para el preestaque de vaciado de leche y estanque de leche, el método de muestreo empleado fue la técnica con tórula, descrito por la International Dairy Federation (1987). En el filtro de leche, se utilizó el método de muestreo con tórula, propuesto por American Public Health Association (APHA) (1992). Al no encontrarse en la bibliografía consultada una metodología o protocolo para la toma de la muestra del circuito bomba-manguera, y poder así evaluar las condiciones

higiénicas de éste, se hicieron recircular durante 5 minutos 10 litros de agua destilada estéril. Al recircular el agua, se simuló el paso de aproximadamente 3.000 litros de leche por el circuito, lo que correspondía a la recepción promedio por día de cada uno de los Centros de Acopio, al momento del estudio. Las muestras fueron analizadas, utilizando el método estándar para recuento en placa (SPC) descrito por APHA (1992).

A los resultados obtenidos del recuento de bacterias mesófilas, se les aplicó un análisis de varianza. Además se aplicó una prueba de rango múltiple de Tukey para detectar entre que equipos similares de los CAL, existían diferencias estadísticamente significativas.

La evaluación del estado higiénico de los tarros, se realizó comparando los niveles de contaminación detectados, con los estándares británicos (Bidegain, 1976), aún vigentes, los que establecen que con un recuento ≤ 50.000 ufc/tarro éstos clasifican en un estado higiénico satisfactorio, con recuentos > 50.000 y ≤ 250.000 ufc/tarro en un estado regular y con recuentos > 250.000 ufc/tarro se clasifican en un estado insatisfactorio. Para estanques y preestaque de vaciado de leche, el estado higiénico se comparó con estándares de referencia descritos por Harrigan y McCance (1976), en los que se establece que con recuentos ≤ 5 ufc/cm² se clasificaban en un estado satisfactorio, entre > 5 y ≤ 25 ufc/cm² en un estado regular y con recuentos superiores a 25 ufc/cm² en un estado insatisfactorio.

Además se aplicó un instrumento de evaluación a los CAL, utilizado por Aspeé (2001), para evaluar las condiciones de manejo y operación de los equipos muestreados. Este instrumento fue modificado, considerándose sólo los ítems más relevantes para la investigación que permitieran explicar los distintos niveles de recuentos microbiológicos detectados en los equipos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas en tarros lecheros.

A través del análisis de varianza se determinó que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los recuentos de los tarros

lecheros de los CAL estudiados. Los valores registrados fluctuaron entre $1,5 \times 10^8$ y $3,7 \times 10^8$ ufc/tarro. Al comparar los recuentos con los estándares de referencia, el 100% de las muestras clasificó en un estándar de higiene insatisfactorio.

Sobre la base de los resultados conseguidos en este estudio y considerando lo descrito por ADRIAN (1981), en el sentido que con el lavado manual se logra una limpieza e higienización inferior a la obtenida al utilizar una limpieza mecánica; la eficiencia en el lavado de los tarros a nivel de un CAL, puede transformarse en un inconveniente difícil de resolver, pasando estos a constituirse en una fuente importante de contaminación de la leche. Además, existen deficiencias en la calidad de los tarros utilizados en los CAL, lo que facilitaría el desarrollo y multiplicación de microorganismos. Al respecto FAO (1986); ICMSF (1991); Dodd (1987); Commeau (1987) y Carballo (2001), señalan que irregularidades como fisuras, abolladuras y grietas en los utensilios de lechería facilitan el depósito de suciedad dificultando el proceso de limpieza y facilitando la multiplicación de los microorganismos.

Cabe mencionar que producto de una investigación anterior realizada por POBLETE

(1998), se recomendó a dos de los CAL estudiados en este trabajo, la compra de partidas nuevas de tarros lecheros, sin embargo, las organizaciones por razones de costo adquirieron tarros con bastantes años de uso y en mal estado.

Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas en preestaque de vaciado de leche.

En la Figura 1, se observa que en el CAL Santa Rosa, durante los tres primeros muestreos, se encontraron recuentos inferiores a los de los otros dos CAL. También se puede apreciar que en Pichirropulli en los tres primeros muestreos se encontraron valores muy cercanos a los de Paillaco, disminuyendo en los últimos dos, donde se produjo una baja considerable de los recuentos, lo que podría estar relacionado con una mejor higiene del equipo por parte del operario al saber que se esta chequeando la higiene del preestaque. El CAL Paillaco fue el que presentó los más altos recuentos durante el estudio, y mantuvo su tendencia, al igual que Santa Rosa.

El análisis de varianza simple, indicó que existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los CAL estudiados, detectándose diferencias entre los recuentos del preestaque de leche de Santa Rosa y de Paillaco. Además, se observa que el

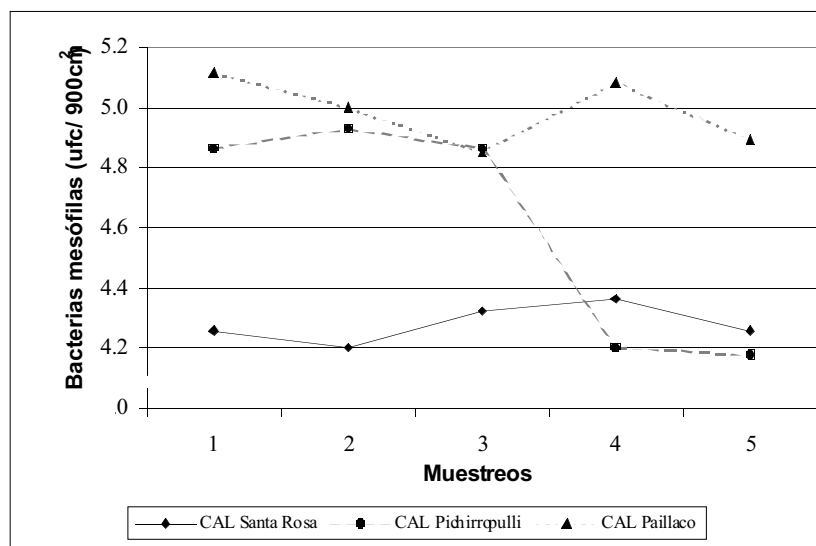


Figura 1: Valores para el recuento de bacterias mesófilas en preestaque de vaciado de leche durante los muestreos.

Figure 1: Values for the mesophyla bacteria count in pretank of milk draining during the samplings.

Cuadro 1: Recuento de bacterias mesófilas aeróbicas en preestaque de vaciado de leche en tres CAL, con un nivel de confianza del 95%.

Table 1: Results of the multiple rank test for the logarithm of the aerobic mesophila bacteria count in pretank draining milk in the three Milk Collection Centers, with a level of reliability of 95%.

CAL	Promedio (log ufc/cm ²) ±DE	Diferencias
Santa Rosa	4,28 ± 0,08	*a
Pichirropulli	4,62 ± 0,38	a b
Paillaco	4,98 ± 0,13	b

DE: Desviación Estándar

* Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

CAL Paillaco presentó el promedio del logaritmo del recuento total más alto ($4,98 \pm 0,13$) y el CAL Santa Rosa el más bajo ($4,28 \pm 0,08$) (Cuadro 1).

Al comparar los recuentos con el estándar entregado por Harrigan y Mc Cance (1976), se puede señalar que para los tres CAL ninguna muestra fue clasificada como satisfactoria. El CAL Santa Rosa fue el que obtuvo mejores resultados con un 80% de sus muestras en una clasificación de regular, no así el CAL Paillaco ya que el 100% de sus muestras se clasificó como insatisfactoria.

Es importante señalar que en los CAL estudiados, los preestaque de vaciado de leche se encuentran muy próximos a la puerta de entrada, que permanece por largos periodos abierta, lo que permite que estos estén en

permanente contacto con el exterior y de esta forma quedan expuestos a la contaminación procedente del medio ambiente.

Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas en filtro de leche.

En la Figura 2, se observa que el filtro de leche del CAL Santa Rosa mantuvo durante los primeros tres muestreos recuentos inferiores al de los otros dos CAL, sin embargo en los últimos dos mostró una alza considerable. Además se aprecia, que los recuentos en Pichirropulli no mantuvieron una tendencia uniforme durante el estudio. Por otra parte, el filtro de Paillaco mantuvo recuentos con una tendencia casi constante y arrojó los valores más altos durante la investigación.

Según el análisis de varianza simple, existieron diferencias estadísticamente

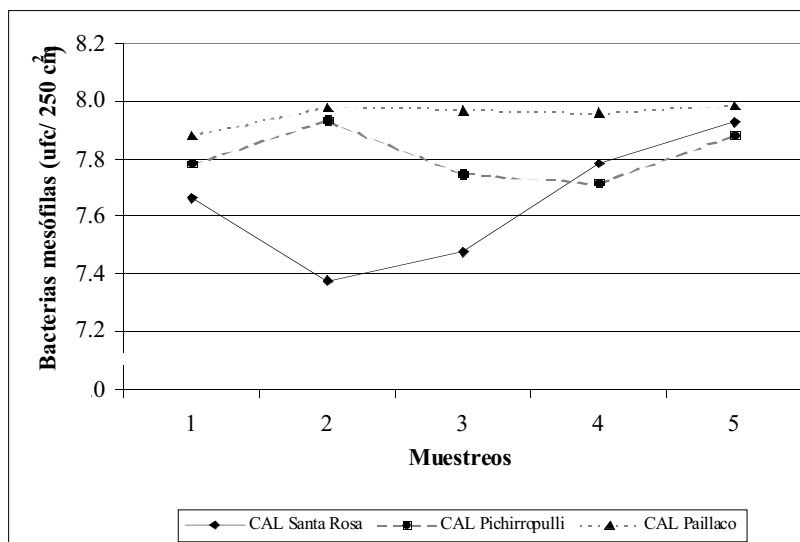


Figura 2: Valores para el recuento de bacterias mesófilas en filtro de leche durante los muestreos.

Figure 2: Values for the mesophyla bacteria count in the milk filter during the samplings.

Cuadro 2: Resultados del test de rango múltiple para el logaritmo del recuento de bacterias mesófilas aeróbicas en filtro de leche, con un nivel de confianza del 95%.

Table 2: Results of the multiple rank test for the logarithm of aerobic mesophila bacteria in milk filter, with a level of reliability of 95%.

CAL	Promedio (log ufc/cm ²) ±DE	Diferencias
Santa Rosa	7,66 ± 0,21	*a
Pichirropulli	7,8 ± 0,1	a b
Paillaco	7,98 ± 0,04	b

DE: Desviación Estándar

* Las letras distintas denotan diferencias estadísticamente significativas

significativas ($p < 0,05$) entre los CAL estudiados. El test de rango múltiple de Tukey HSD (Cuadro 2), mostró que existieron diferencias significativas entre los recuentos del filtro de leche del CAL Santa Rosa y el de Paillaco. Además se observa que el filtro del CAL Paillaco presentó el promedio del logaritmo del recuento total más alto ($7,98 \pm 0,04$) y el de Santa Rosa el más bajo ($7,66 \pm 0,21$).

Aunque no se encontraron antecedentes de investigaciones para este tipo de filtro de leche, los fabricantes recomiendan que deben ser cambiados cada 2000 litros, lo cual no ocurrió en ninguno de los CAL estudiados, pasando por éste dispositivo en algunos casos hasta 3.000 litros de leche por día.

Pese a que no existen estándares para evaluar la calidad higiénica de esta pieza de fibra, de acuerdo a los altos recuentos microbiológicos encontrados, es evidente que al no respetar las recomendaciones de su uso, se puede constituir en un importante foco de contaminación de la leche. Esta situación, es corroborada por Ponce de León (1993), quien indica que el no cambiar esta pieza de fibra del filtro de acuerdo a las indicaciones del fabricante, conduce a que en ésta se acumulen los residuos sólidos de la leche y así convertirse en un foco potencial de contaminación.

Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas en circuito bomba-manguera de leche.

El RT obtenido del circuito bomba-manguera de leche a través de un método de enjuague, se expresó como unidades formadoras de colonias (ufc/circuito bomba-manguera (10 L), debido a que no se encontró en la bibliografía revisada un método estandarizado para realizar el estudio.

En la investigación se efectuaron cinco muestreos a cada CAL, no detectándose

contaminación microbiológica (ausencia / circuito bomba-manguera (10 L)) en ninguno de ellos, pese a que Carrillo (1997), señala que este puede ser un potencial foco de contaminación. Al respecto, se debe indicar que como el método no estaba estandarizado pudo haber existido algún error o parámetro que no se tomó en cuenta durante la investigación, lo que podría haber afectado la medición o estimación de los datos obtenidos en este estudio.

Recuento total de bacterias mesófilas aeróbicas en estanque de almacenamiento de leche.

En la Figura 3, se observa que los recuentos de la superficie del estanque del CAL Santa Rosa fueron bastante más bajos que en los otros dos CAL. A su vez Paillaco fue el que obtuvo los recuentos más altos. También se puede apreciar que en el estanque de Pichirropulli, al igual que lo sucedido en el preestanque de vaciado de leche, se produjo una baja de los recuentos en el cuarto y quinto muestreo, lo que podría estar relacionado con una mejor limpieza e higiene del equipo por parte del operario.

Según el análisis de varianza simple, existió una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los CAL estudiados. El test de rango múltiple Tukey HSD mostró que existieron diferencias significativas entre los tres CAL; el estanque del CAL Paillaco tuvo el promedio del logaritmo del recuento total más alto ($4,3 \pm 0,1$) y el CAL Santa Rosa el más bajo ($3,5 \pm 0,1$) (Cuadro 3).

Al comparar los recuentos presentados con el estándar entregado por Harrigan y McCance (1976), se observa que el estanque de Santa Rosa fue el que obtuvo mejores resultados, con

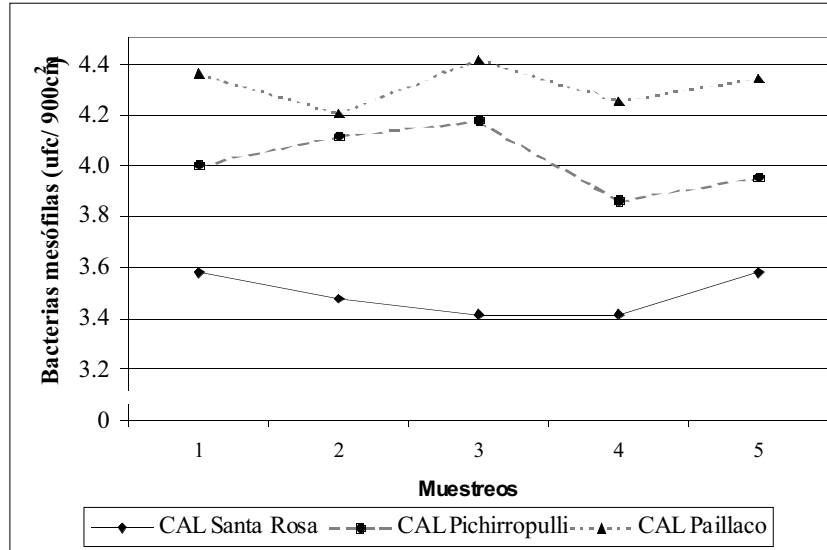


Figura 3: Valores para el recuento de bacterias mesófilas en estanque de leche durante los muestreos.

Figure 3: Values for the mesophyla bacteria count in the milk tank during the samplings.

un 100% de las muestras en una clasificación higiénica satisfactoria, seguido del de Pichirropulli con un 100% de sus muestras en una clasificación regular. El estanque de Paillaco fue el que obtuvo la clasificación más baja.

Es importante mencionar que Guy-Mercier (2002), haciendo referencia a los estándares de la Norma Francesa (creada a partir de la Norma Internacional ISO 5708, relacionada con los estanques enfriadores de leche), señala que para ser clasificada en un estado higiénico satisfactorio, la superficie del estanque podría tener como máximo 100 ufc/cm². Al comparar los resultados de la presente investigación con este estándar, las muestras de estanques de los tres CAL se encuentran en una clasificación satisfactoria.

Análisis de las variables de manejo y operación que caracterizan a los tres CAL.

En el Cuadro 4, se presentan los puntajes obtenidos por ítem en los tres CAL, luego de la aplicación del instrumento de evaluación, modificado a partir de Aspeé (2001). En el se observa, que el CAL mejor evaluado correspondió a Pichirropulli, el cual obtuvo 74 puntos de un total de 100, seguido de Santa Rosa, con 70 puntos. El puntaje más bajo correspondió a Paillaco con solo 56 puntos.

Entre los ítems mejor evaluados destaca la limpieza de equipos y utensilios, alcanzando Santa Rosa un 93% respecto del puntaje máximo posible. En el caso de este CAL la ponderación de este ítem contribuyó con 28,97 puntos al

Cuadro 3: Resultados del test de rango múltiple para el logaritmo del recuento de bacterias mesófilas aeróbicas en estanque de leche, con un nivel de confianza del 95%.

Table 3: Results of the multiple rank test in the logarithm of aerobic mesophyla bacteria in milk tank, with a level of reliability of 95%.

CAL	Promedio (log ufc/cm ²) ± DE	Diferencias
Santa Rosa	3,5 ± 0,1	*a
Pichirropulli	4,04 ± 0,1	b
Paillaco	4,3 ± 0,1	c

DE: Desviación Estándar

* Las letras distintas denotan diferencias estadísticamente significativas

Cuadro 4: Puntajes obtenidos por ítem en los tres CAL, luego de la aplicación del instrumento de evaluación.
Table 4: Results reached per item in the three CAL, after the application of the evaluation instrument.

Ítems	Puntaje máximo	Puntaje (% respecto al máximo)		
		Santa Rosa	Pichirropulli	Paillaco
Limpieza de equipos y utensilios.	31	28,97 (93)	26,31 (85)	26,89 (87)
Estado de equipos y utensilios.	31	22,16 (71)	13,33 (43)	13,14 (42)
Agua de abastecimiento.	17,2	1,09 (6,3)	17,2 (100)	1,09 (6,3)
Escolaridad y capacitación del manipulador permanente.	10,3	10,3 (100)	9,41 (91)	7,39 (72)
Condiciones higiénicas del manipulador permanente.	8,62	6,99 (81)	7,17 (83)	6,99 (81)
Incentivos económicos otorgados al manipulador permanente.	1,72	0,86 (50)	0,86 (50)	0,86 (50)
Total	100	70 (70)	74 (74)	56 (56)

puntaje total de la evaluación, seguido por Paillaco y Pichirropulli con 26,89 y 26,31 puntos, respectivamente para cada caso. Destaca el abastecimiento de agua para Pichirropulli, CAL que obtuvo el puntaje máximo en este ítem (17,2 puntos) ya que disponía de agua potable; puntaje que le permitió ser el mejor evaluado.

CONCLUSIONES

- El nivel de recuentos microbiológicos encontrados en los tarros lecheros, preestaque de vaciado de leche y filtro, impidió que ninguno de ellos se clasificara en un estado higiénico satisfactorio.
- Al comparar los recuentos microbiológicos obtenidos en los estanques de almacenamiento de leche con los estándares de referencia, el CAL Santa Rosa obtuvo el 100% de las muestras en estado higiénico satisfactorio, en tanto Pichirropulli y Paillaco clasificaron el 100 y 60% en estado higiénico regular.
- Al comparar los puntajes totales obtenidos con el instrumento de evaluación con el estado higiénico detectado en los diferentes equipos muestreados, el CAL peor evaluado (Paillaco) presentó los recuentos microbiológicos más altos.

BIBLIOGRAFÍA

- ASPEE, N. 2001. Evaluación de la calidad higiénica de la leche de estanques, en tres Centros de Acopio Lecheros (CAL) de la provincia de Valdivia. Tesis Ingeniero en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 160 p.
- ADRIAN, N.1981. Evaluación de eficiencia higienizante de diferentes productos comerciales en el lavado manual de tarros lecheros. Tesis Médico Veterinario. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Medicina Veterinaria. 36p.
- ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Editorial Reverte, S. A. Barcelona. España. 873p.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA).1992. Standard methods for the examination of dairy products. 16 th edition. Washington D.C. 546 p.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION and WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. 1995. Microbiological examination. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association.19th Edition. Washington. 1268 p.
- BIDEGAIN, H. 1976. Prospección de las condiciones higiénicas de tarros lecheros en la zona sur del país. Agro Sur 4(1): 29-35.

- CARBALLO, J. 2001. Adherencia de bacterias a superficies de contacto con alimentos. *Alimentaria* 320: 19-24.
- CARRILLO, B. 1997. Calidad higiénica de leche cruda. Universidad Austral de Chile. Instituto de Desarrollo Agropecuario. X Región. Editorial Uniprint. Valdivia. 110p.
- CHILE. INSTITUTO NACIONAL DE DESARROLLO AGROPECUARIO (INDAP). 2000. Programa nacional de integración de pequeños productores por rubro. Ediciones Prorubro. INDAP. 28 p.
- CHILE. INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (INN). 1984. Agua potable. Determinación de bacterias coliformes totales. Parte 1: método de tubos múltiples (NMP). Norma Chilena 1620/1.
- COMMEAU, M. 1987. 'Cleanability. Bulletin of the International Dairy Federation 218: 17-18.
- DODD, F 1987. Milk hygiene and control of udder disease. Bulletin of the International Dairy Federation 221: 28-31.
- GEHRIGER, G. 1980. Multiplication of bacteria in milk during farm storage. Bulletin of the International Dairy Federation. 120: 22-24.
- GUY-MERCIER, Y. 2002. Proceso de enfriamiento lechero: La experiencia francesa. (Disponible en: <http://www.pymesdominicanas.com/articulos/friofrancia.htm>, consultado el 08/12/02).
- HARRIGAN, W. ; Mc CANCE, C. 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press. London. 452 p.
- HAYES, P. 1993. Microbiología e higiene de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 369 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, EPIDEMIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA DE CUBA. 2002. Sistemas de abastecimiento de agua. (Disponible en: <http://www.sld.cu/instituciones/inhem2/curso/clase3.htm#>, consultado el 15/09/02).
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS (ICMSF). 1991. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos. Su aplicación a la industria de alimentos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza. España. 332 p.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF/ FIL). 1987. Higienic conditions -general guide on sampling and inspection procedure. Bulletin of the International Dairy Federation 121: 1-4.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF/ FIL). 1994. Prevention of microbial contamination and growth. Bulletin of the International Dairy Federation 292: 17-22.
- LOOR, J. ; JONES, G. 1999. Milking practices recommended to assure milk quality and prevent mastitis. Virginia Cooperative Extension. Virginia State University. Publication 404-227W: 1-6.
- MARSHALL, J. 1985. Hygiene on the dairy farm. Journal of the Society of Dairy Technology 38 (1): 3-6.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 1986. Higiene y manejo de la leche. Equipo Regional de Fomento y capacitación en Leche para América Latina. Santiago. Chile. 142p.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD/ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OPS/ OMS). 1997. Limpieza y desinfección. (Disponible en: http://www.inppaz.org.ar/MENUPAL/INFTEC/FOS/catering/Capit_4.html, consultado el 18/07/02).
- PALMER, J. 1980. Contamination of milk from the milking environment. Bulletin of the International Dairy Federation 120: 10-21.
- POBLETE, P. 1998. Eficiencia de lavado y higienización de tarros y estanques de leche, en tres Centros de Acopio Lechero de la provincia de Valdivia. Tesis Lic en Ciencias de los Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 120 p.
- PONCE DE LEÓN, J. 1993. La máquina de ordeño y el tanque refrigerante, factores fundamentales para obtener leche de calidad para la industria. Industrias Lácteas Españolas 169: 33-42.
- STANLEY, W. 2002. Producing milk with a low bacteria count. NewGuide. Published by Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources. University of Nebraska-Lincoln. G83-678-A: 1-8.