# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

## DIVISION DE INGENIERIA Y CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

"RECUENTO DE *Bacillus cereus* EN MUESTRAS DE ARROZ COCIDO O FRITO"

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL QUE PRESENTA

901782

040.664
M539r
1989

GABRIELA IRENE MENDOZA DAVILA

EN OPCION AL TITULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

Vo Bo
Ma. Lourdes Mtz. M.

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1989

BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY

(D) 52605

Siento en mi alma la tranquilidad de haber sido siempre leal conmigo mismo, de haber aceptado que nuestro paso por la vida no es goce ni sufrimiento, que la vida es misión."

SEÑOR, Gracias
porque por Ti he aprendido
a luchar y vencer,
porque por Ti he aprendido
a esperar,
por que me has enseñado a
volar a través de barreras
y límites para llegar a la
meta final.

A MIS AMADISIMOS PADRES, Gracias
por el amor, la comprensión,
la ternura y el apoyo que a
lo largo de mi vida me han
dado a manos llenas;
por extender mis alas y
mostrarme nuevos horizontes.

A MIS QUERIDOS HERMANOS, les agradezco
todo su cariño, su lealtad, su
apoyo... los amo.

A MI QUERIDISIMA ASESORA, Ma. Lourdes
Martínez M. te doy infinitas gracias
por tu cariño, tu ayuda y tu apoyo.
Sin tí no hubiera podido realizar
este proyecto.

A LA FAMILIA ZUBIETA PENICHE, Muchísimas gracias
por todo su cariño y su apoyo... los quiero
mucho a todos.

A MIS QUERIDOS AMIGOS Y AMIGAS, Gracias
por su cariño y su apoyo en los
momentos difíciles.

# I N D I C E

Página

INTRODUCCION ..... 1

MATERIALES Y METODOS ..... 11

RESULTADOS ..... 19

DISCUSION Y CONCLUSIONES ..... 21

RESUMEN ..... 24

BIBLIOGRAFIA ..... 25

# I N T R O D U C C I O N

Los alimentos pueden constituir el vehículo de transmisión de dos grupos principales de microorganismos patógenos para el hombre: los que se adquieren por el consumo de productos procedentes de animales enfermos o portadores, o de los que causan infecciones e intoxicaciones debido a la contaminación exógena de aquéllos (1).

Las intoxicaciones de origen alimenticio se deben a las toxinas producidas por los microorganismos en los alimentos, es decir, se ingiere la toxina preformada, la cual es responsable de las manifestaciones clínicas. Por otra parte, los microorganismos causantes de las

infecciones gastrointestinales son capaces de multiplicarse en el intestino y producir la enfermedad por varios mecanismos, entre los que se encuentra la producción de toxinas (1).

Existen algunos organismos que causan gastroenteritis por ambos mecanismos de acción. Entre éstos se encuentra el Bacillus cereus, el cual debe estar presente en el alimento en número muy elevado ($10^7$ o más por gramo) para que se produzcan los síntomas de la enfermedad, excepto en el caso de niños pequeños, en los cuales se produce con tan sólo $10^5$ por gramo (2).

Los miembros del género Bacillus son bacilos Gram positivos, esporulados, que pueden medir hasta 10 µm de longitud, y se presentan frecuentemente formando cadenas. Algunas especies poseen cápsulas y varias producen un levano viscoso en medios que contienen sacarosa. Las esporas pueden ser esféricas u ovales, centrales o subterminales (3).

Varían los caracteres fisiológicos. Los hay aerobios estrictos y especies que son anaerobias facultativas. Un pequeño número son termófilos. Con excepción de B.

cereus y B. anthracis, la identificación de otras especies es difícil (4).

La clasificación de este grupo de microorganismo es complicada debido a que es un género muy heterogéneo y muchas de sus especies están pobremente definidas. Tienen requerimientos nutricionales muy variados, la composición de sus paredes celulares es muy diversa, y aún la variación fenotípica es considerable dentro de las mismas cepas (4).

Algunas especies del género producen un grupo de antibióticos, denominadas en conjunto Polimixinas, que tienen en común muchas propiedades químicas y biológicas, éstos son efectivos para microorganismos Gram negativos, actúan recubriendo la membrana celular de las bacterias e inhiben el transporte activo y su función como barrera de permeabilidad selectiva. Son bactericidas y se utilizan para infecciones refractarias al tratamiento con otros antimicrobianos (5). Además, otras especies de Bacillus son fuente importante de reactivos bioquímicos y pesticidas naturales (4).

La cualidad de esporulación que tienen estos

microorganismos les permite ser más termorresistentes que otros bajo las mismas condiciones de temperatura. Las esporas de algunas especies pueden llegar a soportar hasta 46°C más que sus respectivas células vegetativas. Una vez que la germinación ha dado principio, las esporas van perdiendo gradualmente su resistencia al calor (6). El mecanismo por el cual se inicia aún no se conoce, pero en general, se cree que se lleva a cabo en etapas ordenadas. Esto se basa en los siguientes hechos: la pérdida de varias propiedades de la espora durante la germinación ocurre en forma secuencial y no simultánea, se conocen mutantes que son inhibidos en algunos estados de la germinación y el proceso puede ser interrumpido en varios puntos por inhibidores (7).

Se han realizado investigaciones recientes sobre los elementos que constituyen las esporas. Estos se han estudiado, tanto dentro de la espora como fuera de ella en forma de extractos, y se ha descubierto que, con excepción de las enzimas, no son particularmente estables al calor cuando se extraen de las mismas, por lo que los mecanismos de protección deben operar dentro de la espora (8).

Entre las especies patógenas para el hombre de este género se encuentra el Bacillus cereus, que es un bacilo Gram positivo formador de esporas, móvil y anaerobio facultativo. Sus colonias son grandes, de 4 a 6 mm, planas, de bordes irregulares, cuando crece en agar dextrosa triptona, muestra producción de ácido. La temperatura mínima de crecimiento es de 10 a 20°C, la óptima de 30 a 35°C y la máxima de 35 a 45°C. Crece en un rango de pH de 4.9 a 9.3 y en una actividad de agua ($a_w$) mínima de 0.95 (11).

Los tipos de toxinas producidas por Bacillus cereus que han sido aisladas y estudiadas son hemolisina, citotoxina, toxina emética y enterotoxinas (9). Estas toxinas son sintetizadas durante el crecimiento exponencial del bacilo (10).

Este microorganismo está ampliamente distribuido en la naturaleza, se encuentra en el suelo y en el polvo y aquellos alimentos que se pongan en contacto con éstos pueden contenerlo (11).

Bacillus cereus se ha aislado de frutas, verduras, cereales, harinas, almidones, productos para pastelería,

sopas, especias, leche cruda y pasteurizada, cremas, budines, papas y salsas, entre otros. Crece en los productos cárnicos curados y enlatados, dando lugar a la formación de gas en condiciones esencialmente anaeróbicas (11).

Tylor y Gilbert comprobaron que hay dos tipos de enfermedad causada por B. cereus. El primer tipo se caracteriza por síntomas relativamente leves: diarrea y dolor abdominal que se presentan en 8-12 horas después de la ingestión de los alimentos y duran alrededor de 12 horas. Esta forma de enfermedad es llamada del tipo diarreico. La variedad de alimentos involucrados es muy amplia, incluye: papas deshidratadas reconstituídas, soya y esencia de vainilla (12).

El segundo tipo, llamado forma emética, es diferente. En éste, el síntoma principal es el vómito, aparece en 1-5 horas después de la ingestión del alimento y es severo, en algunos casos puede presentarse diarrea (12). Se ha descubierto que las cepas eméticas están relacionadas casi exclusivamente con el consumo de arroz, aunque no se conoce la razón exacta de este hecho (13).

Ambos tipos de enfermedad se producen por la actividad de la toxina, la de tipo emètico es preformada en los alimentos y la del diarreico en el intestino del huésped (14). Por medio de la cocción del arroz se elimina a las formas vegetativas pero no a las esporas por ser termorresistentes, y cuando estàn presentes pueden multiplicarse si la temperatura es adecuada (14).

Las condiciones para que el número de estos microorganismos viables se incremente se ven favorecidas en lugares donde se preparan alimentos en grandes cantidades, tales como hospitales, guarderías y restoranes, ya que se cocinan en recipientes muy grandes que dificultan la refrigeración del producto o los alimentos se calientan y recalientan varias veces (11).

Se ha encontrado que en productos lácteos fermentados con bacterias acidolàcticas y contaminados con B. cereus, el número de microorganismos viables de este último, disminuye considerablemente. Esto se debe a que la acidez de la leche aumenta significativamente (pH 5) y a este nivel la multiplicación y germinación de las esporas, cesan. La contaminación por B. cereus puede ocurrir durante el proceso de fermentación y en el período de

almacenamiento (9).

Otro agente inhibidor de B. cereus es el nitrito, pero éste no tiene acción como tal por sí mismo, sino que la adquiere hasta que participa en ciertas reacciones químicas que dan como resultado la producción de un agente bacteriostático que es capaz de inhibir la germinación de las esporas (10).

Sin embargo, la medida de control más importante para evitar el desarrollo de B. cereus es una adecuada preservación de los alimentos por arriba de 55°C o por abajo de 10°C (11).

Para investigar el papel real o potencial de B. cereus, en casos de intoxicación alimenticia se realiza el recuento de este microorganismo (1).

El Bacillus cereus se enumera en medio sólido selectivo que contiene manitol, yema de huevo, sal común, rojo de fenol, y polimixina B. En este medio, las colonias de este bacilo aparecen rodeadas de un halo de precipitado, debido a la producción de lecitinasa, sobre un fondo rojo, por su incapacidad para fermentar el manitol (11,17).

El interès sanitario por este microorganismo se ha manifestado hasta hace muy pocos años en América, el primer caso confirmado de enfermedad por B. cereus fue en 1950 por Hauge (15), aunque en Europa y en Hungría es uno de los microorganismos reconocidos como causantes de gastroenteritis; en Estados Unidos se han reportado pocos brotes y en nuestro país se carece de datos en cuanto a la frecuencia con que se aisla de los alimentos así como de los casos aislados o brotes epidémicos ya que la alta endemicidad de otras enfermedades entèricas ha opacado la importancia del estudio de B. cereus (11,18).

Por otra parte, la contaminación de los alimentos, ya sea por B. cereus o por cualquier otro microorganismo patógeno, trae consigo serias implicaciones económicas, además de las de tipo clínico. Cuando en el mercado aparecen productos contaminados, la empresa debe enfrentar gastos importantes por asistencia mèdica, de defunciòn, gastos por litigio en caso de demanada, puede haber además, pèrdida de negocios, devoluciòn de productos y embargo. Todo esto merma las utilidades de la industria y puede llegar a afectar la productividad (25).

Por los puntos antes mencionados el objetivo del presente trabajo es identificar y enumerar al Bacillus cereus que se encuentra en los alimentos por contaminación exógena usando como muestra arroz frito o cocido.

# M A T E R IA L E S  Y  M E T O D O S

Para el desarrollo del presente trabajo se recolectaron 100 muestras de arroz cocido o frito. Se seleccionaron 10 establecimientos donde se prepara comida para llevar, 5 de los cuales correspondieron a tiendas de autoservicio, localizados en los municipios de Monterrey, San Pedro Garza García y Santa Catarina, N.L.

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la División de Ingeniería y Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey, éstas fueron transportadas a temperatura ambiente y de cada una se aisló e identificó *Bacillus cereus* con el objeto de efectuar el recuento.

**TECNICA PARA EL AISLAMIENTO DE LA CEPA**

1.- Pesar 10 g de la muestra, colocarlos en un matraz Erlenmeyer estèril, agregar 90 ml de regulador de fosfatos (R-1), dar tratamiento térmico 70°C por 15 min y homogenizar (dilución 1:10).

2.- Hacer diluciones decimales hasta la dilución 1:10 000 en tubos conteniendo 9 ml de regulador de fosfatos.

3.- Inocular 0.1 ml de cada dilución sobre la superficie de las placas con medio selectivo (R-2) para Bacillus cereus y extender con varilla de vidrio.

4.- Incubar a 30-35°C por 48 hrs.

5.- Seleccionar para la identificación las placas que contengan un número de colonias que permita observar con claridad los halos turbios característicos de este microorganismo.

**TECNICA PARA LA IDENTIFICACION DE LA CEPA**

1.- Transferir de 5 a 10 colonias sospechosas de la placa seleccionada a un tubo de agar nutritivo (R-3).

2.- Preparar un frotis y teñirlo por la tècnica de Gram y observar la pureza del cultivo.

3.- Preparar una suspensión del germen en solución salina al 0.85% y observar al microscopio para determinar su movilidad.

4.- Si el cultivo está puro y es móvil continuar con el estudio.

5.- Realizar las siguientes pruebas:

FERMENTACION DE MANITOL Y PRODUCCION DE LECITINASA

Observar el medio selectivo para Bacillus cereus. Si las colonias tienen un halo de precipitado y son de color rosa, esto indica la producción de lecitinasa pero no de fermentación de manitol.

PRUEBA DE LA CATALASA

En un portaobjetos colocar una colonia sospechosa, agregar dos gotas de peróxido de hidrógeno y si hay efervescencia, la prueba es positiva.

FERMENTACION ANAEROBICA DE LA GLUCOSA

Inocular dos tubos de medio O-F con glucosa (R-4) con el cultivo de B. cereus. A uno de los tubos se le agrega aceite mineral. Incubar a 30-35°C/24 hrs. El tubo anaerobio debe cambiar a amarillo debido a la producción de ácido.

REDUCCION DE NITRATOS

Adicionar al caldo nitrato, previamente inoculado e incubado a 30-35°C/24 hrs, 0.5 ml de ácido sulfanílico (R-5) y 0.5 ml de alfa naftol (R-6), agitar y observar la presencia de una coloración roja (prueba positiva).

PRUEBA DE VOGUES-PROSKAUER

Inocular e incubar el medio V-P a 30-35°C/48 hrs. Determinar la presencia de acetilmetilcarbinol por adición de 0.6 ml de alfa naftol y 0.2 ml de KOH al 40% (R-7) a 1 ml del cultivo en el tubo de la prueba. Se observa un color rojo después de 20 minutos de agregados los reactivos (prueba positiva).

**TECNICA PARA EL RECUENTO DE COLONIAS**

1.- Contar las colonias típicas de B. cereus, las cuales son circulares, planas, translúcidas, rodeadas por un halo denso de precipitado sobre el fondo del medio.

A partir del porcentaje de colonias confirmadas de B. cereus calcular el número de gérmenes por gramo de muestra, tomando en cuenta la dilución y el volumen inoculado.

Al realizar las pruebas bioquímicas para la identificación, se incluyó como control positivo una cepa de referencia de Bacillus cereus, cuyas respuesta a las pruebas se resumen en la Tabla No. 1.

TABLA No. 1

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE *Bacillus cereus*.

| Prueba | Comportamiento |
|---|---|
| Tinción al Gram | + |
| Movilidad | + |
| Reacción yema de huevo | + |
| Fermentación de manitol | - |
| Catalasa | + |
| Reducción de nitritos | + |
| Vogues-Proskauer | + |
| Fermentación de glucosa | + |

## R E A C T I V O S

R-1 REGULADOR DE FOSFATOS

Disolver en 500 ml de agua destilada, 34 g de $K_2HPO_4$, aforar a un litro y esterilizar en autoclave a 121°C/15 min. Conservar en refrigeración.

R-2 AGAR MANITA SAL COMUN ROJO DE FENOL

Rehidratar según indicaciones del medio y esterilizar en autoclave a 121°C/15 min. Enfriar a 45°C, agregar solución de yema de huevo (50 ml de agua y completar a 100 ml con yema de huevo) y 0.01 g/l de polimixina B.

R-3 AGAR NUTRITIVO

Rehidratar según indicaciones del medio vertir en tubos y esterilizar en autoclave a 121°C/15min. Inclinar y esperar a que solidifique. Conservar en

refrigeración.

R-4 MEDIO O-F

Rehidratar según indicaciones del medio, agregar glucosa al 1%, vertir en tubos y esterilizar en autoclave a 118°C/10 min. Enfriar y conservar en refrigeración.

R-5 ACIDO SULFANILICO

Disolver 8 g de ácido sulfanílico en 1 l de ácido acético 5 M. Conservar en refrigeración.

R-6 ALFA NAFTOL

Disolver 5 g de alfa naftol en 1 l de ácido acético 5 M. Conservar en refrigeración.

R-7 HIDROXIDO DE POTASIO

Disolver 40 g de KOH en 50 ml de agua destilada y después aforar a 100 ml. Conservar en refrigeración.

# R E S U L T A D O S

En base a las características morfológicas y a las reacciones bioquímicas realizadas, se identificaron y aislaron 8 cepas de Bacillus cereus de las 100 muestras analizadas.

Respecto al recuento de microorganismos se pudo observar que en promedio una muestra procedente de cada establecimiento presentó contaminación por Bacillus cereus, pero el número de colonias obtenidas no fue estadísticamente significativo. Estos resultados se presentan en la Tabla No. 2.

TABLA No. 2

Recuento total de *Bacillus cereus*

| Establecimiento | No. de muestra | No. total de colonias |
|---|---|---|
| 1 | 5 | 1 |
| 2 | 4 | 1 |
| 3 | 7 | 1 |
| 4 | 7 | 1 |
| 5 | - | Ø |
| 6 | - | Ø |
| 7 | 4 | 1 |
| | 7 | 1 |
| 8 | - | Ø |
| 9 | 4 | 1 |
| 1Ø | 5 | 1 |

# D I S C U S I O N  Y  C O N C L U S I O N E S

Para la realización de este estudio se tomaron muestras de arroz frito o cocido las cuales se transportaron en su empaque original y sin refrigeración, esto se hizo con el fin de que las condiciones de manejo fueran lo más semejante posible a la manera en que el consumidor manipula el producto cuando lo adquiere.

En relación a la metodología se realizaron algunos cambios para lograr un mejor resultado. Inicialmente se prepararon 5 diluciones de cada muestra y el período de incubación era de 24 horas. Posteriormente se suprimió la última dilución al observarse que con 4 diluciones era suficiente por el bajo grado de contaminación de las muestras. A la

primera dilución se le proporcionó un tratamiento térmico de 100°C por 5 segundos para estimular la germinación de las esporas y determinar el número de células viables.
Más tarde se modificó el tratamiento térmico a 70°C por 15 min por ser más favorables para la germinación (22).
El período de incubación se prolongó a 48 horas, porque se observó que con 24, el crecimiento era muy escaso y en la mayoría de los casos, nulo.

Para incrementar la selectividad del medio, agar manitasal común- rojo de fenol, se le añadió 0.01 g/l de polimixina B. Respecto a esta característica cabe mencionar que se detectó la presencia de Staphylococcus aureus aproximadamente en el 80% de las muestras analizadas. Esto es muy importante debido a que algunas cepas de este microorganismo son capaces de producir intoxicación alimenticia.

En base a los resultados obtenidos puede mencionarse que la contaminación por B. cereus en las muestras de arroz analizadas no fue significativa. Dado que se requiere 10'000 000 de bacterias por gramo de alimento para producir la enfermedad se puede determinar que a este nivel no hay peligro de intoxicación.


BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY

Estos resultados fueron semejantes a los obtenidos en Taiwan en 1986 por K.T, Chung Y H.L. Sun, quienes realizaron el recuento usando como medio selectivo piruvato de polimixina-yema de huevo-manitol- azulde bromotimol. En este estudio el 80% de las muestras presentaron contaminación, pero no fue significativa (15).

Es muy difícil evitar la contaminación por Bacillus cereus en el arroz, ya que este microorganismo se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y además resiste el cocinado por lo cual es necesario manejar y conservar en forma adecuada los alimentos, así como evitar el calentamiento continuo.

# R E S U M E N

Se determinó la presencia de Bacillus cereus en 100 muestras de arroz cocido, las cuales se obtuvieron en diferentes localidades de Monterrey y su área metropolitana, transportándose sin refrigeración y analizándolas el mismo día de su colecta.

Para el aislamiento del microorganismo se utilizó medio selectivo, agar manita-sal común-rojo de fenol-polimixina B, y su identificación se basó en pruebas bioquímicas convencionales.

En 8 de las muestras analizadas se detectó la presencia del bacilo, pero el número de microorganismos no fue significativo.

# B I B L I O G R A F I A

1.- Thatcher, F.S. y D.S. Clark. 1973. Análisis Microbiológico de los Alimentos. ed. Acribia. Zaragoza, España.

2.- Jay, J.M. 1973. Microbiología Moderna de los Alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

3.- Collins, C.H. 1979. Métodos Microbiológicos. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

4.- Sullivan, N. M. and D.C. Mills . 1987.Evaluation of the Minitek System for Characterization of Bacillus species. Appl. Env. Microbiol. 53:2680-2682.

5.- Pelczar, M.J. y Reid. 1977. Microbiología. Ed. Mac Graw-Hill. México.

6.- Kutima, P. M. and P.M. Foegeding. 1987. Involvement of the Spore Coat in Germination of Bacillus cereus T Spores. Appl. Env. Microbiol. **53**:47-52.

7.- Boschwitz, H. and H.O. Halvorson. 1985. Trypsinlike Enzymes from Dormant and Germinated Spores of Bacillus cereus T and Their Possible Involvement in Germination. J. Bacteriol. **164**:302-309.

8.- Warth, A.D. 1980. Heat Stability of Bacillus cereus Enzymes Within Spores and Extracts. J. Bacteriol. **143**:27-34.

9.- Wong, Hin-Chung. 1988. Effects of Lactic Acid Bacteria and Organic Acids on Growth and Germination of Bacillus cereus. Appl. Env. Microbiol. **54**:2179-2184.

10.- Giannella, R.A. and L. Brasile. 1979. A Hospital Food-borne Outbreak of Diarrhea Caused by Bacillus cereus: Clinical, Epidemiologic, and Microbiologic

Studies. J. Infect. Dis. **130**:366-370.

11.- **APHA.1976.** Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Marvin L. Speck. American public Health Association, . Inc., Washington, D.C.

12.- Troller, John. 1983. Sanitation in Food Procesing. Academic Press, Inc., U.S.A.

13.- Johnson, K.M. and C.L. Nelson. 1984. Influence of Heating and Cooling Rates on Bacillus cereus Spore Survival and Growth in a Broth Medium and in Rice. J. Food Sci. **49**:34-39

14.- Carr, J.G. 1984. Quality control in the Food Industry. Vol. 1. Academic Press, Inc. U.S.A.

15.- Chung, K.T. and H.L. Sun. 1986. Distribution and Characteristics of Bacillus cereus Isolated from Rice in Taiwan. J. Food Sci. **51**:1208-1212.

16.- Nickerson, J. T. y A.J. Sinskey 1978. Microbiología de los Alimentos y sus Procesos de Elaboración. Ed. Acribia, Zaragoza, España.

17.- Turnbull, P.C.B. 1976. Studies on the Production of Enterotoxins by Bacillus cereus. J. Clin. Pathol. **29**:941-948.

18.- Cantú Leal, C. 1988. Microbiología Sanitaria. Manual de Laboratorio. UANL. Fac. Ciencias Biológicas.

19.- Davis, B. 1978. Tratado de Microbiología. Salvat Editores, S.A., Barcelona, España.

20.- Stainer, D. 1977. Microbiología. Ed. Aguilar, Madrid, España.

21.- Longreé, K. 1987. Quantity Food Sanitation. Wiley-Interscience, U.S.A

22.- Wong, H.C. and M.H. Chang. 1988. Incidence and Characterization of Bacillus cereus Isolates Contaminating Dairy Products. Appl. Env. Microbiol. **54**:699-702.

23.- Melling, J. and B.J. Capel. 1976. Identification of a Novel Enterotoxigenic Activity Associated with Bacillus cereus. J. Clin. Pathol. 29:938-940.

24.- Custer, M. C. and J.N. Hansen. 1983. Lactoferrin and Transferrin Fragments React with Nitrite To Form an Inhibitor of Spore Outgrowth. Appl. Env. Microbiol. 45:942-949.

25.- Archer, D.L. 1986. Economic Implications of Foodborne Diarrheal Disease. Food Tech. 51:16-26

901782