

Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia

Microbiological quality of fresh artisanal cheeses sold at marketplaces in Tunja, Colombia

Javier Enrique Rodríguez Pacheco, Luis Miguel Borrás Sandoval, Martín Orlando Pulido Medellín, Diego José García Corredor

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja. Colombia

RESUMEN

Introducción: la presencia de bacterias mesófilas como coliformes es un indicativo utilizado en un amplio margen de productos comestibles para determinar la calidad microbiológica de los elementos comercializados para consumo humano. Los productos de elaboración artesanal como los quesos representan uno de los derivados lácteos con mayor aceptación, no obstante, este producto no cuenta con registros que suministren un análisis de la calidad y las condiciones de comercialización.

Objetivo: el presente estudio determinó la carga bacteriana y la calidad higiénica de 50 muestras de queso fresco artesanal, obtenidas en las plazas de mercado del municipio de Tunja, mediante la siembra en placas secas rehidratables (Petrifilm 3M).

Resultados: se evaluaron parámetros como PH (6,5-7-7), humedad (80-95 %) y temperatura (6,4-12,4°C); se efectuaron recuentos de coliformes totales y mesófilos aerobios encontrando conteos superiores a la norma establecida para los microorganismos evaluados (66×10^6 y 12×10^5 respectivamente). Recuentos tan marcados evidencian una deficiente calidad sanitaria en los productos comercializados.

Palabras clave: mesófilos; coliformes; salud pública; quesos frescos.

ABSTRACT

Introduction: The presence of mesophilic bacteria as coliform is the indicative used in a wide range of food products to identify the microbiological quality of the items placed on the market for human consumption. Handcrafted products as cheeses represent one of the dairy products with greater acceptance, however this product does not rely on records that provide an analysis of the quality and marketing conditions.

Objective: This study determined the bacterial load and the hygienic quality of 50 samples of fresh cheese of handcrafted production, obtained in both market squares of the municipality of Tunja, by means of the sowing in re-hidratable dry plates (Petrifilm 3M).

Results: Were evaluated parameters as pH (6.5-7.7), humidity (80- 95%) and temperature (6.4-12.4 °C); were counts of total coliforms and aerobic mesophyll were finding counts exceeding the standard set for the evaluated microorganisms (66×10^6 y 12×10^5 respectively). So marked counts show a poor sanitary quality in marketed products.

Key words: Mesophyllcoliforms; public health; Fresh cheese.

INTRODUCCIÓN

La imposición de la eficiencia en la producción debido a las situaciones socio - económicas existentes, ha motivado cambios en las exigencias hacia las empresas productoras de alimentos. El aumento del número de animales y de la producción láctea en granjas, el constante incremento del valor de los insumos y de materias primas que entran a formar parte en la nutrición de la población, así como la disminución de los precios de la leche, carne y demás productos producidos en la granja, obliga a ser cada vez más eficaces en los sistemas productivos. Esta situación conlleva a realizar cambios, a veces obligados, en el manejo de la calidad tanto higiénica como composicional de la empresa alimentaria.¹

La higiene de los alimentos comprende el conjunto de condiciones y medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimentarios, incluida la manipulación por el consumidor desde el momento en que adquiere el alimento en un punto de venta hasta que lo prepara y consume.² La carga bacteriana presente en los productos alimenticios representa un indicativo claro de la calidad de éstos, tanto en su elaboración como en lo que a su comercialización se refiere; por lo tanto la identificación de dichas entidades permite extrapolar la calidad del producto en cuestión.^{3,4}

La principal característica de la elaboración de productos de tipo artesanal radica en la rusticidad que determina este tipo de empresas; la mayoría de procedimientos, incluyendo el medio ambiente donde son desarrollados estos productos, no aseguran ni preservan un nivel de asepsia mínimo que permitan elaborar un producto para consumo humano.⁵

Debido a la alta producción de quesos frescos de elaboración artesanal, las plantas de lácteos y los pequeños microempresarios son sometidos a inspecciones frecuentes y seguimientos periódicos por parte de las entidades de salud con el fin de garantizar la inocuidad de sus productos sin embargo, estos han ideado mecanismos para pasar por alto los controles establecidos generando gran preocupación entre las autoridades sanitarias, ya que en estos establecimientos los quesos no son sometidos a tratamientos térmicos como la pasteurización antes de ser comercializados, constituyéndose así en una fuente potencial de transmisión de patógenos.⁶

Basado en lo anterior, se realizó este estudio cuyo objetivo fue determinar la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales que son distribuidos en las plazas de mercado del municipio de Tunja, buscando de esta forma conocer la carga bacteriana y la calidad higiénica de los productos comercializados para el consumo humano.

MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico descriptivo de corte transversal con muestreo aleatorio simple.⁷ Los datos recolectados fueron analizados con el paquete estadístico SPSS versión 17. Se realizó un análisis inferencial de los datos para determinar la relación entre el crecimiento evaluado en ufc/gr de *E. coli*, coliformes totales y mesófilos, con las variables evaluadas temperatura, humedad y PH. La zona de estudio estuvo ubicada en el municipio de Tunja (Boyacá, Colombia), con una población de 174561 habitantes, un área total de 121.492 km² de los cuales 19.766 km² corresponden al área urbana y 101.725 km² al área rural. Se encuentra localizado en el Valle del Alto Chicamocha, sobre la Cordillera Oriental de los Andes. La cabecera municipal posee una altitud de 2782 m.s.n.m, con temperatura media de 13°C, sus coordenadas son: 5°31'0" LN, 73°22'0" LO.⁸

Se recolectaron 50 muestras de quesos frescos artesanales, cada muestra correspondió a 100gr de queso, estas fueron adquiridas en las plazas de mercado municipal de la ciudad de Tunja. La toma de muestras se realizó durante los días de mercado, por muestreo se recolectó un número no menos de cinco muestras. Estas se mantuvieron refrigeradas a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio de microbiología de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Se registró el PH de la muestra y sus características organolépticas (olor, color y consistencia), además se tomaron los datos medioambientales referentes a temperatura y humedad específica en los días de muestreo, los cuales fueron proporcionados por el servicio de meteorología e hidrología de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, así mismo se realizó el registro del lugar de compra y las condiciones en que estos alimentos eran comercializados. Mediante el método de cultivo en Petrifilm se evaluó la carga microbiana de bacterias mesófilas, coliformes totales y fecales.

Para el montaje de cada muestra, se extrajeron 11 g de queso fresco, se depositaron en bolsas estériles resellables (Ziplock ®) a las que se agregó el medio de cultivo (agua destilada estéril) a razón de 89 ml por cada 11g de muestra (dilución 10⁻¹).

La muestra fue homogenizada manualmente, posteriormente, en tubos estériles, se agregaron 9 ml de agua destilada estéril con el fin de realizar diluciones decimales consecutivas hasta una concentración 10⁻⁵.

La siembra en Petrifilm tanto para mesófilos como para coliformes se realizó con la última dilución (10^{-5}). El procedimiento consistió en levantar la película superior e inocular 1ml de la dilución decimal apropiada en el centro de la película inferior, bajar cuidadosamente la película superior encima de la muestra evitando la formación de burbujas de aire; posteriormente sellar con un aplicador plástico, el cuál demarca el área de crecimiento en centímetros cuadrados (20 cm^2). Las placas fueron identificadas con la dilución sembrada (10^{-5}), lugar y fecha de adquisición de la muestra y número de identificación. La incubación de las placas de Petrifilm se realizó en posición horizontal a una temperatura de $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el total de las muestras procesadas se encontraron recuentos de mesófilos superiores a la norma,¹³ encontrándose recuentos de hasta $11 \times 10^7\text{ ufc/gr}$. Los datos individuales de crecimiento de mesófilos en quesos de elaboración artesanal, discriminando el lugar de compra muestran que, el promedio de crecimiento para la plaza de mercado norte fue de $572 \times 10^5\text{ ufc/gr}$ y para la plaza de mercado sur de $759 \times 10^5\text{ ufc/gr}$. El recuento de mesófilos aerobios permite monitorear la implementación de buenas prácticas de manufactura,^{5,14,15} la carga bacteriana obtenida refleja la presencia de contenido microbiano de materiales crudos e ingredientes utilizados para la fabricación del queso fresco, las condiciones de higiene de equipos y utensilios, así como la relación tiempo-temperatura durante los procesos de producción, almacenamiento y distribución pueden ser factores determinantes para la presentación de dichos conteos,^{12,16} sumado a lo anterior, la marcada carga microbiana presente en las muestras objeto de estudio afectan la calidad del producto, ya que la presencia de estos microorganismos se asocia con el deterioro precoz de los quesos o con fermentaciones anormales.^{4,9}

El queso es un alimento fermentado que durante su elaboración alcanza normalmente recuentos de bacterias fermentadoras de hasta 10^9 ufc/g , necesarias para la transformación de la leche en queso.^{9,10} Esto podría restarle importancia al elevado recuento de microorganismos, sin embargo recuentos como los encontrados en el estudio podrían indicar que durante la comercialización del producto o durante su elaboración no se han conservado las medidas necesarias que garanticen la inocuidad de los productos.^{4,11,12} La producción entre los pequeños artesanos no está estandarizada y se desconoce la calidad de la leche utilizada para la elaboración del queso así como la calidad microbiológica de la misma; dicha calidad microbiológica de queso es variable entre productores, la totalidad de las muestras analizadas superó los recuentos establecidos en la normatividad establecida por el ente de control.¹³

Aunque el recuento de aerobios mesófilos no diferencia tipos de bacterias, es posible encontrar especies patógenas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcusepidermidis*, *Staphylococcus saprophiticus*, *Staphylococcus capitis* y *Staphylococcus haemolyticus*,^{3,14,17,18} que afectaran directamente a la población que consume quesos frescos de elaboración artesanal en el municipio de Tunja.

El total de las muestras procesadas presentaron recuentos de coliformes totales superiores a la norma establecida¹³ encontrándose recuentos de hasta 5×10^6 NMP/gr. Los datos individuales de crecimiento de coliformes totales en queso de elaboración artesanal, discriminando el lugar de compra revelan que, el promedio de crecimiento para la plaza norte es de 185×10^5 ufc/gr y para la plaza sur 465×10^5 ufc/gr; en cuanto al crecimiento de *Escherichia coli*, las muestras reflejan un promedio de crecimiento para la plaza norte de 20×10^5 ufc/gr y para la plaza sur de 44×10^5 ufc/gr (tabla 1).

Tabla 1. Carga bacteriana en quesos artesanales

ESPECIES O GRUPOS BACTERIANOS	PROMEDIO	MÍNIMA	MÁXIMA
Bacterias aerobias mesófilas (ufc/gr)	$669,9 \times 10^5$	47×10^5	1090×10^5
Coliformes Totales (NMP/gr)	348×10^5	26×10^5	637×10^5
<i>Escherichiacoli</i> (NMP/gr)	$12,5 \times 10^5$	1×10^5	42×10^5

ufc/gr. Unidades Formadoras de Colonia por gramo; NMP/gr.
Número Más Probable por gramo

El recuento de coliformes totales y *E. coli* es un importante indicador de contaminación fecal que advierte de la posible presencia de otros patógenos en las muestras de queso comercializadas;^{4,12,19} la alta prevalencia de *E. coli* en quesos implica un riesgo potencial de enfermedades transmitidas por alimentos si los productos se consumen frescos.^{9,20,21} Si bien no se identificaron serológicamente las especies de *E. coli* aisladas, es significativa la variedad de serotipos toxigénicos conocidos y el riesgo de sintomatología clínica, considerando que el producto se comercializa generalmente con poca o ninguna maduración, lo cual implica un riesgo para la salud de los consumidores.^{3,22,23}

Se realizó un análisis inferencial para determinar la relación de las variables temperatura, humedad y PH con la cantidad de ufc/gr de *E. coli*, coliformes totales y mesófilos. La relación de las variables para los quesos indicó que hay dos posibles relaciones ($p < 0,05$): *E coli* - Temperatura y *E coli* - Humedad; indicando que si la temperatura aumenta, *E coli* disminuye y lo contrario, mientras que si la humedad aumenta *E coli* también lo hace y viceversa (tabla 2).

Tabla 2. Relación de temperatura, humedad y PH con la presencia de *e. coli*, coliformes totales y mesófilos en quesos frescos

	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	Mesófilos
Temperatura	0,0070	0,5480	0,7434
	-0,6913	0,1428	0,0759
Humedad	0,0225	0,6109	0,9195
	0,5069	0,1211	0,0234
pH	0,7382	0,4617	0,6926
	-0,0797	0,1745	0,0917

Números con negrilla indican valor de p; números sin negrilla indican valor de r, para cada variable

Se estableció que para el resto de variables no existió diferencia en el crecimiento bacteriano bajo los parámetros de PH (6,5 -7,7), humedad (80 - 90 %) y temperatura de la muestra (6,4 - 12,4°C), el crecimiento de microorganismos se presentó en todos los estados evaluados. En cuanto a la forma de comercialización ninguna de las muestras se comercializaba en refrigeración, lo que permite que los quesos se encuentren expuestos a contaminación cruzada con otros productos crudos como frutas, verduras y carnes, aumentando la presencia de mayor cantidad de agentes patógenos presentes en estos tipos de alimentos.^{3,4,24}

Los altos niveles de microorganismos encontrados en todas las muestras comerciales de queso fresco en las dos plazas de mercado de Tunja, confirman la ausencia de condiciones higiénicas en la fabricación de este tipo de productos. Los altos conteos se deben a deficiencias en una amplia serie de factores como la baja calidad de la leche empleada en la elaboración, maquinaria y utensilios en malas condiciones higiénicas, malas prácticas de manufactura, almacenamiento, transporte y comercialización. La inapropiada calidad de los quesos de elaboración artesanal de acuerdo con el estándar microbiológico observado, permite determinar que el consumo de estos productos constituye un elevado riesgo para la salud de los consumidores, convirtiéndose en un problema de salud pública en la región.^{1,4,10,12}

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barancelli Giovana V, Camargo Tarsila M, Gagliardi Natália G, Porto Ernani, Souza Roberto A, Campioni Fabio, et al. Pulsed-Field Gel Electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cheese manufacturing plants in São Paulo, Brazil. Int J Food Microbiol. 2014; 173 (3): 21-9.
2. International Commission on the Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Métodos de muestreo para análisis microbiológicos. Microorganismos de los Alimentos: Técnicas de Análisis Microbiológico. 3. Ed. España: Ed Acribia; 2005:p.84-96.
3. Brooks J C, Martinez B, StrattonJ, Bianchini A, Krokstrom R, Hutkins R. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. Food Microbiol. 2012;31:154-58.

4. Rodríguez C, Caldas L, Ogeerally P. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2009;29:98-102.
5. Chebeňová-Turcovská V, Zeniřová K, Kuchta T, Pangallo D, Brežná B. Culture-independent detection of microorganisms in traditional Slovakia bryndza cheese. Int J Food Microbiol. 2011;150:73-8.
6. Cotrino V, Gaviria B. Algunas reflexiones sobre la calidad de la leche en Colombia. 2003. Biblioteca Colanta. Colombia. [Citado el 16 de junio de 2013] Disponible en: http://colanta.comunidadpmb.org/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=10381
7. Wayne D. Muestreo aleatorio simple. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. 4. Ed. España: Ed. Limusa; 2006:7-10.
8. Salcedo E. Condiciones Geográficas de Boyacá, Colombia. Colombia: Secretaria de Medio Ambiente; 2009:p.25-8.
9. Alegría A, Álvarez-Martín P, Sacristán N, Fernández E, Delgado S, Mayo B. Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casín, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk. Int J Food Microbiol. 2009;136:44-51.
10. Carraro L, Maifreni M, Bartolomeoli I, Martino M, Novelli E, Frigo F, et al. Comparison of culture - dependent and - independent methods for bacterial community monitoring during Montasio cheese manufacturing. Res Microbiol. 2011;162:231-39.
11. Rosengren A, Fabricius A, Guss B, Sylvén S, Lindqvist R. Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. Int J Food Microbiol. 2010;144:263-69.
12. Torres-Vitela M, Mendoza-Bernardo M, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa C, Garay-Martínez L, Navarro-Hidalgo V, et al. Incidence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and Staphylococcal Enterotoxin in two types of Mexican fresh cheeses. J Food Protect. 2012;75(1):79-4.
13. Ministerio de Salud. Resolución número 01804 de 1989. Colombia. [Citado el 6 de febrero de 2013] Disponible en: http://www.invima.gov.co/images/stories/resoluciones/resolucion_01804_1989.pdf
14. Hummerjohann J, Naskova J, Baumgartner A, Graber H.U. Enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* genotype B as a major contaminant in Swiss raw milk cheese. J Dairy Scien.2014; 97(3):1305-12.
15. Nogueira-Viçosa G, Le-Loir A, Le-Loir Y, Fernandes-De-Carvalho A, Augusto-Nero L.egc characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates obtained from raw milk and cheese. Int J Food Microbiol. 2013;165:227-30.
16. Romero-Castillo P.A, Leyva-Ruelas G, Cruz-Castillo J.G, Santos-Moreno A. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. Rev Mex Ing Quim. 2009;8(1):111-19.

17. Meister-Meira S, Daroit D, Helfer V, Folmer-Corrêa A, Segalin J, Carro S, et al. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Res Int.* 2012;48:322-29.
18. Monfredini L, Settanni L, Poznanski E, Cavazza A, Franciosi E. The spatial distribution of bacteria in Grana-cheese during ripening. *Syst Appl Microbiol.* 2012;35:54-63.
19. Serhan M, Cailliez-Grimal C, Borges F, Revol-Junelles A.M, Hosri C, et al. Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiol.* 2009;26:645-52.
20. Mrkonji-Fuka M, Engel M, Skelin A, Redžepović S, Schlöter M. Bacterial communities associated with the production of artisanal Istrian cheese. *Int J Food Microbiol.* 2010;142:19-24.
21. Ordiales E, Benito M.J, Martín A, Casquete R, Serradilla M.J, et al. Bacterial communities of the traditional raw ewe's milk cheese "Torta del Casar" made without the addition of a starter. *Food Control.* 2013;33:448-54.
22. Randazzo C.L, Pitino I, Ribbera A, Caggia C. Pecorino Crotonese cheese: Study of bacterial population and flavour compounds. *Food Microbiol.* 2010;27:363-74.
23. Ahmed Ashraf M, Shimamoto Tadashi. Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *Int J Food Microbiol.* 2014;168-9(3):57-2.
24. Saxer S, Miescher-Schwenninger S, Lacroix C. Characterization of the microflora of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives. *Food Sci Technol.* 2013;53:314-20.

Recibido: 3 de agosto de 2013

Aprobado: 23 de febrero de 2014

Javier Enrique Rodríguez-Pacheco: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Correo electrónico. gidimevetz@uptc.edu.co