

## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA DE HELADOS CASEROS EN MERIDA / VENEZUELA



Yolima Rosales y Cándida Díaz

Laboratorio de Microbiología de Alimentos - Departamento de Microbiología y Parasitología - Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes - Mérida - Venezuela.

E-mail: [yolima@ula.ve](mailto:yolima@ula.ve) y [candidad@ula.ve](mailto:candidad@ula.ve)

### ***Introducción***

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), representan uno de los principales problemas que originan alteraciones en la salud de los consumidores, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo (1,2).

Los agentes etiológicos que originan las ETA y los alimentos involucrados en las mismas son muy diversos. El helado elaborado con leche es considerado uno de los derivados lácteos de mayor consumo, por ser fuente de proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales, pero, al mismo tiempo, puede actuar como vehículo de microorganismos, incluyendo agentes patógenos (3,4), cuando se expone a condiciones higiénicas inadecuadas tanto la materia prima como durante su elaboración.

En diferentes décadas se han reportado brotes epidémicos en los que han estado involucrados los helados, entre los que destacan como agentes etiológicos: *Salmonella*,

*Campylobacter*, *Listeria*, *Yersinia* y *Staphylococcus aureus*, entre otros (3,4,5). Así mismo, diversos estudios han detectado la presencia de estos patógenos en el producto (6-10).

Aun cuando, comparados con otros alimentos, los helados de elaboración industrial están menos vinculados con brotes epidémicos, por el perfeccionamiento de las técnicas de fabricación, los riesgos de contaminación microbiológica siempre están presentes, por depender ésta de la carga microbiana de los ingredientes y de las condiciones operativas en las diferentes fases de su elaboración (11). A pesar de que los microorganismos no son capaces de crecer en el helado que es almacenado en adecuadas condiciones de congelación, pueden sobrevivir durante mucho tiempo en el producto (12).

Los riesgos microbiológicos aumentan considerablemente en los helados de fabricación artesanal, doméstica o casera, particularmente si se toma en cuenta que en nuestro medio muchas personas, sin tener los mínimos conocimientos de higiene y manipulación de alimentos, se aventuran a realizar esta actividad, como una manera de percibir ingresos para el sostén de la familia.

Según varios investigadores, con pocas excepciones, la mayoría de los brotes por helados han ocurrido con aquellos preparados en el hogar. La ausencia de control higiénico en la materia prima y en cada una de las fases de elaboración, puede conducir a contajes microbianos elevados y a potenciales problemas de salud pública (13).

Se observó que los helados objeto de estudio, eran comercializados en los mismos sitios de elaboración (casas de familia), en pequeños vasos de plástico, destapados y almacenados para la venta en el congelador del refrigerador doméstico, utilizado para conservar otros alimentos de la dieta diaria.

Tomando en cuenta las características de elaboración y almacenamiento de estos helados, y considerando que los mismos son consumidos mayoritariamente por la población infantil, el presente trabajo estuvo dirigido a conocer su calidad higiénico-sanitaria a través de la determinación cuantitativa de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras.

### **Materiales y Métodos**

#### **Muestra**

Se analizó un total de 40 unidades muestras de helado casero sabor a mantecado, preparado con leche, provenientes de dos lugares de elaboración en la ciudad de Mérida.

#### **Metodología**

Las muestras se descongelaron a 40°C por 15 minutos. De cada unidad muestra se midieron 10 ml. y se preparó la dilución 10<sup>-1</sup> con 90 ml de agua peptonada al 0,1%. A partir de esta primera dilución, se realizaron diluciones decimales en agua peptonada al 0,1% hasta 10<sup>-3</sup>. Las diluciones se sembraron en diferentes medios de cultivo para la

determinación cuantitativa de los microorganismos a investigar, según los procedimientos de la APHA (14), de la siguiente manera: bacterias aerobias mesófilas en Agar Plate Count a 30°C; coliformes y coliformes fecales en Caldo Lauril Sulfato, para la prueba presuntiva, y en Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante para la confirmación, a 35 °C y Caldo EC a 44°C, respectivamente; *S. aureus* en Agar de Baird Parker con incubación a 35° y confirmación de las colonias sospechosas con la prueba de la coagulasa; los mohos y levaduras en Agar Papa Dextrosa a pH 3,5 con Ácido Tartárico al 10%, incubando a 25°C. Se realizaron los cálculos correspondientes, para expresar los resultados de los contajes en placa como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml) y las determinaciones por tubos múltiples, como número más probable por mililitro (NMP/ml).

#### Determinaciones Estadísticas

Se utilizó el programa Excel® 2000 de Microsoft®.

#### Resultados

Al no contar con criterios microbiológicos nacionales para helados caseros, y tomando en cuenta los riesgos que representan estos productos para la salud de los consumidores, se tomaron como valores de referencia los de la norma venezolana COVENIN (15) para helados de fabricación industrial sin agregados, que establece para bacterias aerobias mesófilas  $m = 10^4$  y  $M = 2,5 \times 10^5$  (UFC/g); para coliformes  $m = 9$  y  $M = 93$  NMP/g ó 100 UFC/g; para coliformes fecales  $m = < 3$  (NMP/g); *Staphylococcus aureus*  $m = 10^2$  y  $M = 10^3$  (UFC/g); mohos  $m = 10^2$  y  $M = 10^3$ ; levaduras  $m = 10^2$  y  $M = 10^3$ .

Se encontró un promedio de bacterias aerobias mesófilas de  $5,7 \times 10^4$  (UFC/ml) con rango entre  $1,3 \times 10^3$  y  $3,2 \times 10^5$ ; sólo 1 muestra (2,5%) fue ligeramente superior a  $2,5 \times 10^5$  ( Ver Tablas 1 y 2).

**Tabla 1. Valores promedio y rango de bacterias aerobias mesófilas, coliformes, coliformes fecales, estafilococos, mohos y levaduras**

Microorganismos	Promedio	Valor menor	Valor mayor
Bacterias aerobias mesófilas (UFC/ml)	$5,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$	$3,2 \times 10^5$
Coliformes (NMP/ml)	803	23	> 1100
Coliformes fecales (NMP ml)	188	< 3	> 1100
Estafilococos (UFC/ml)	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
Mohos (UFC/ml)	$1,7 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10$	$1,3 \times 10^4$
Levaduras (UFC/ml)	$5,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10$	$1,3 \times 10^5$

**Tabla 2. Frecuencia de bacterias aerobias mesofilas (UFC/ml)**

INTERVALO	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA (%)
1,0 x 10 <sup>2</sup> - 1,0 x 10 <sup>3</sup>	0	0
1,1 x 10 <sup>3</sup> - 1,0 x 10 <sup>4</sup>	11	27,5
1,1 x 10 <sup>4</sup> - 1,0 x 10 <sup>5</sup>	23	57,5
1,1 x 10 <sup>5</sup> - 2,5 x 10 <sup>5</sup>	5	12,5
> 2,5 x 10 <sup>5</sup>	1	2,5
TOTALES	40	100

Los coliformes totales se consiguieron en el 100% de los helados estudiados, con un promedio de 803 (NMP/ml) y rango de 23 a > 1100, el 92,5% de las muestras presentó NMP/ml mayor a 93 y de este porcentaje el 55% fue > 1100 (Ver Tablas 1 y 3).

**Tabla 3. Frecuencia de coliformes totales (NMP/ml)**

INTERVALO	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA (%)
Menos 3	0	0
3 - 9	0	0
9 - 93	3	7,5
93 - 1100	15	37,5
MAS 1100	22	55
TOTALES	40	100

Los coliformes fecales estuvieron en el 50% de las muestras, con un promedio de 188 (NMP/ml) y rango de < 3 a > 1100, destacando un 12,5% con > 1100 (Tablas 1 y 4).

**Tabla 4. Frecuencia de coliformes fecales (NMP/ml)**

INTERVALO	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA (%)
MENOS de 3	20	50
3-9	0	0
9-93	10	25
93 - 1100	5	12,5
MAS 1100	5	12,5
TOTALES	40	100,0

No se detectó en ninguna muestra *S. aureus* (Ver Tabla 1). Se encontraron mohos en el 87,5% de los productos analizados, con promedio de  $1,7 \times 10^3$  (UFC/ml) y rango entre  $< 1,0 \times 10$  y  $1,3 \times 10^4$  y 30% superior a  $10^3$  (Ver Tablas 1 y 5).

Las levaduras estuvieron en el 65% de los helados con un promedio de  $5,0 \times 10^4$  (UFC/ml) y un rango de  $< 1,0 \times 10$  a  $1,3 \times 10^5$ , encontrándose por encima de  $10^3$  en el 42,5% de las muestras (Tablas 1 y 6).

**Tabla 5. Frecuencia de mohos (UFC/ml)**

INTERVALO	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA (%)
$< 1 \times 10$	5	12.5
$1,0 \times 10 - 1,0 \times 10^2$	10	25
$1,1 \times 10^2 - 1,0 \times 10^3$	13	32,5
$1,1 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$	11	27,5
$1,1 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$	1	2.5
TOTALES	40	100

**Tabla 6. Frecuencia de levaduras (UFC/ml)**

INTERVALO	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA (%)
$< 1 \times 10$	14	35
$1,0 \times 10 - 1,0 \times 10^2$	2	5
$1,1 \times 10^2 - 1,0 \times 10^3$	7	17,5
$1,1 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$	14	35
$1,1 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$	2	5
$> 1,0 \times 10^5$	1	2.5
TOTALES	40	100

### **Discusión**

El contenido de bacterias aerobias mesófilas detectado, no permitió establecer la magnitud de riesgo del producto, por cuanto el 97,5% de los helados no sobrepasaron el valor M de la norma venezolana ( $2,5 \times 10^5$ ); sin embargo, al considerar el contenido de coliformes totales en el 92,5% de las muestras con valor superior a 93 NMP/ml y coliformes fecales en el 50%, se revela que estos productos son de alto riesgo para la salud.

Los coliformes constituyen un grupo bacteriano heterogéneo, con especies de origen intestinal y no intestinal, por lo que no necesariamente tienen relación directa con una contaminación fecal y, en consecuencia, no están directamente relacionados con la presencia de patógenos intestinales (16). La alta carga de coliformes totales indica que el producto estuvo bajo condiciones que lo pudieran convertir en un peligro para la salud del consumidor, por la posibilidad de que esas condiciones permitieran la contaminación, supervivencia y proliferación de patógenos para los humanos (17,18). Estos datos fueron inferiores a los encontrados por Bustillos en el año 2000 en esta ciudad (19) en helados artesanales de sabor a mantecado, en los que los coliformes totales se presentaron en el 67,5% de 40 muestras analizadas con valor superior a 100 UFC/g.

Los coliformes fecales, representados fundamentalmente por *E. coli*, deben estar ausentes en estos productos; el hecho de haber conseguido en el 50% de las muestras con estos indicadores de contaminación intestinal, representan un alerta de la presencia de enteropatógenos, corroborando las sospechas de las escasas condiciones sanitarias de estos productos y coincidiendo, aunque en menor cuantía, con la contaminación fecal encontrada por Meza en 1999 (20) en helados artesanales en los que el 80% tenía enterococos por encima de  $10^2$  UFC/g. Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos por Arias y Antillon (21) en Costa Rica, quienes reportaron el 100% de los helados caseros contaminados con coliformes fecales, y superiores a los hallados por Kruy y col. en el 2001 (22) en helados de venta ambulante en el 30% de las muestras con este grupo bacteriano.

No se detectó *S. aureus*, coincidiendo con los resultados de Maifreni y col. (23) en Italia y similares a los de Von y col. en Argentina (24), quienes los consiguieron en bajo número (2-10 UFC/g), sólo en 2 de 47 muestras. La ausencia de estafilococos, no descarta la posibilidad de la presencia de alguna de las enterotoxinas, por ser éstas termoestables, pues se desconoce si la mezcla de estos productos antes de la congelación estuvo bajo condiciones que permitieron su reproducción.

Un medio ambiente descuidado, influye negativamente sobre la calidad de los helados, pues el aire y el suelo pueden aportar grandes cantidades de microorganismos (25), así como el uso de agua no potable (26).

La carga elevada de mohos y levaduras en un importante número de muestras, refleja que se pudieran haber dado condiciones de salubridad inapropiadas en los ingredientes utilizados, en el ambiente de preparación y expendio de los helados y, probablemente, deficiencia en la limpieza de los utensilios.

No se pudieron averiguar las características de elaboración en cuanto a la relación tiempo/temperatura aplicada para mezclar los ingredientes, que pudiese establecer una comparación con la pasteurización aplicada a los helados de fabricación industrial.

### **Conclusiones**

Se consiguió una calidad higiénico sanitaria muy deficiente al encontrarse el 92,5% de las muestras estudiadas con coliformes en cuantía superior al criterio m y el 50% con coliformes fecales.

Estos helados representan un alto riesgo para la salud de los consumidores, particularmente para la población infantil.

Los resultados obtenidos permiten corroborar que la falta de educación sanitaria en el personal para la preparación y manejo higiénico de alimentos, influye directamente en la baja calidad microbiológica de los mismos.

Las deficiencias sanitarias detectadas, reclama la necesidad urgente de implementar el análisis de peligros y de riesgos en las diferentes etapas de elaboración de estos productos para aplicar medidas correctivas de control.

Se recomienda, solicitar a las autoridades locales, establecer programas de educación sanitaria y capacitación apropiada para las personas que se dedican a esta actividad. Así como fortalecer los laboratorios de análisis de alimentos locales, para trabajar en coordinación con la Red de Laboratorios auspiciados por la OPS, con la finalidad de servir de soporte analítico a los programas de Buenas Prácticas de Fabricación.

### **Resumen**

Las enfermedades originadas por la ingesta de alimentos contaminados con agentes infecciosos o toxigénicos representan un problema de salud que afecta a todos los países del mundo. Diversos estudios han reportado a los helados como vehículo de agentes patógenos y vinculados a brotes epidémicos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Con la finalidad de conocer la calidad higiénico-sanitaria de los helados caseros de sabor a mantecado elaborados con leche, comercializados en la ciudad de Mérida, Venezuela, se analizaron un total de 40 muestras procedentes de dos lugares de venta. Aplicando la metodología de referencia, se investigó cuantitativamente bacterias aerobias mesófilas (BAM), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Staphylococcus aureus* (SA), Mohos (MO) y Levaduras (LE). Las BAM se consiguieron en un rango de  $1,3 \times 10^3$  a  $3,2 \times 10^5$  UFC/ml con un promedio de  $5,7 \times 10^4$ ; los CT se presentaron entre 23 y  $> 1100$  NMP/ml con un valor promedio de 803; los CF estuvieron entre  $< 3$  y  $> 1100$  NMP/ml con una media de 188; el SA no se detectó en ninguna muestra; los MO se presentaron entre  $< 1,0 \times 10$  y  $1,3 \times 10^4$  UFC/ml con un promedio de  $1,7 \times 10^3$  y las LE estuvieron entre  $< 1,0 \times 10$  y  $1,3 \times 10^5$  UFC/ml con un valor promedio de  $5,0 \times 10^4$ . Al no contar con criterios microbiológicos nacionales para helados caseros y por considerar los factores de riesgo para la salud del consumidor de estos productos, los datos obtenidos en cada una de las determinaciones se compararon con los límites microbiológicos del país para helados de elaboración industrial, encontrándose un elevado porcentaje de las muestras no aptas para consumo, por presentar coliformes totales con valor mayor a 93 NMP/ml en el 92,5% de las mismas y

50% con coliformes fecales. Se concluye que estos productos presentaron una calidad higiénico sanitaria muy deficiente y constituyen un riesgo para la salud de los consumidores por la posibilidad de la presencia de enteropatógenos, pues sólo el 7,5% cumplió con los requisitos microbiológicos de aptitud para consumo.

*Palabras clave:* *helado, agentes patógenos*

### **Abstract**

Diseases originated by ingestion of foods contaminated by infectious or toxigenic agents represent a health issue affecting all the countries worldwide. Research have reported ice creams as vehicle of pathogenic agents and they have been linked to epidemic buds of diseases transmitted by foods (ETA). In order to know the hygienic-sanitary quality from homemade vanilla's ice cream elaborated using milk, 40 samples coming from two sale places in the city of Mérida, Venezuela, were analyzed. By applying the reference methodology -in a quantitative way- mesophile aerobic bacteria (BAM), total choliforms (CT), fecal choliforms (CF), *Staphylococcus aureus* (INC), Molds (MO) and Yeasts (HIM) were investigated. BAM were found in a range from  $1,3 \times 10^3$  to  $3,2 \times 10^5$  UFC/ml, with an average of  $5,7 \times 10^4$ ; CT were among 23 and > 1100 NMP/ml, with an average value of 803; the CF were among < 3 and > 1100 NMP/ml, with 188 of average; INC were not detected in any sample; MO were found among <  $1,0 \times 10$  and  $1,3 \times 10^4$  UFC/ml with an average of  $1,7 \times 10^3$ ; and HIM were among <  $1,0 \times 10$  and  $1,3 \times 10^5$  UFC/ml, with an average value of  $5,0 \times 10^4$ . Because the lack of microbiological criteria for homemade ice creams and taking into account the factors of risk for consumer health, the data obtained from each one of the trials were compared with the microbiological standards for manufactured ice creams in Venezuela, resulting in a high percentage of the samples not suitable for consumption. The value of the samples of total choliforms was higher to 93 NMP/ml to 92,5% of the sample, and 50% to fecal choliforms. Thereby, these products showed a very faulty sanitary hygienic quality stating a risk for consumer health due to the possibility of the presence of enteropathogens. Only 7,5% fulfilled the microbiological requirements for safe consumption.

*Key words:* *Ice cream, pathogenic agents.*

### **Referencias**

1. Organización Panamericana de la Salud (OPS) 1990. Vol. I: Las Condiciones de Salud en las Américas. Washington, DC. OPS (Publicación Científica 524)
2. Organización Mundial de la Salud (OMS).1984 Importancia de la inocuidad de los alimentos para la salud y el desarrollo. Informe de un comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Inocuidad de los Alimentos. Ginebra; OMS (Serie de Informes Técnicos N° 705).
3. Timm, F. 1989. Fabricación de helados. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 169 - 193.

4. Manzanares, A. 1996. Lácteos de Alto Consumo en Latinoamérica. Rev. Tecnología Láctea Latinoamericana. Nº 5. Argentina. 31 -39.
5. Sistema de Información Regional para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA). 1993-2002. INPPAZ/POS-OMS. (<http://www.panalimentos.org/sirveta/e/sali-da2.asp>)
6. Vought, K.J. y S.R. Tatini. 1998 Salmonella enteritidis contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak. Journal Food Prot. 61:1, 5-10
7. Dodhia, H., J. Kearney y F. Warburton. 1998. A birthday party, home-made ice cream, and an outbreak of *Salmonella enteritis* phage type 6 infection. Commun Dis Public Health, Mar; 1:1, 31-4
8. Sherbini, M., S. Alagili, H. Eljali, M. Aboshkiwa y M. Koha. 1999. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from cases of acute appendicitis and ice-cream. East Mediterr Health. Jan, 5:1, 130-5.
9. Miettinen, M. K., K. J. Björkroth y H. J. Korkeala. 1999. Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. Int J Food Microbiol, Feb, 46:3, 187-92
10. De Centorbi, O. P., A. C. De Guzmán, A. A. De Cuadrado, A. L. Laciár, L. E. Alcaraz, M. C. De Milan y N. B. De Pederiva. 1989. Determination of the sanitary quality and detection of *Salmonella* spp and *Yersinia enterocolitica* in ice cream. Rev. Argent. Microbiol. 21 (2):63-69.
11. Rodríguez-Montoya, M. C. 2004. Los riesgos microbiológicos del helado. Diario de la Seguridad Alimentaria. Consumaseguridad.com ([www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad\\_y\\_consumo/2004/05/06/12510.php](http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/2004/05/06/12510.php))
12. Varnan, A. y J. Sutherland. 1995. Leche y Productos Lácteos. Tecnología, Química y Microbiología. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza. España.
13. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) 1998. Microorganismos de los alimentos/ Ecología microbiana de los productos alimentarios. Vol. 6. Ed. Acribia. España. 531-535.
14. American Public Health Association (APHA) 1992. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods. Marvin Speck Editor, USA.
15. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1997. Norma 2392. Helados y mezclas para Helados. 2da. Revisión. Caracas Venezuela.
16. Jay, J. 1994. Microbiología Moderna de los Alimentos. Ed. Acribia. España. 537-557.

17. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1980. Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol. II. Productos Alimenticios. Ed. Acribia. España. 498 - 502
18. Díaz, C. 1993. Indicadores de Calidad Sanitaria. En: Díaz C. y F. Andueza. Curso: Microbiología de Alimentos. Sociedad Venezolana de Microbiología - Capítulo de Mérida. Tema III. Venezuela. 59 - 71.
19. Bustillos, N. 2000. Recuento de Coliformes y Escherichia coli por la técnica de Petrifilm en pocicles elaborados con leche, de origen artesanal y vendidos en la Ciudad de Mérida. Trabajo de Ascenso. Facultad de Farmacia Universidad de los Andes. Mérida - Venezuela.
20. Meza, M. 1999. Yersinia enterocolitica y Enterococcus en Helados de Origen Artesanal y Semi-Industrial de Consumo en Mérida. Trabajo de grado. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Farmacia. Universidad de los Andes. Mérida - Venezuela.
21. Arias, M. y F. Antillon. 2000. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. Rev. Biomed. 11(2): 113-122.
22. Kruy, S.L., J.L. Soares, S. Ping and F. F. Sainte-Marie. 2001. Microbiological quality of "ice cream sorbet" sold on streets of Phnom Penh, April 1996-April 1997. Bull. Soc. Pathol. Exot. 94 (5): 411-414.
23. Maifreni, M. M. Civilini, C. Domenis, M. Manzano, R. Di Prima and G. Comi. 1993. Microbiological quality of artisanal ice cream. Zentralbl. Hyg. Umwelmed. 194 (5-6): 553-570.
24. Von Spench, M., L. Amer, E. Maubecin, R. Alonso and S. Bagardi. 1998. Control de la calidad higiénica de helados artesanales en Posadas, Misiones. Rev. de Ciencia y Tecnología. <http://www.fceqyn.unam.edu.ar/cidet/revista/control.htm>
25. Rodríguez-Montoya, M. C., *Op. cit.*
26. Wouafo, M. N., T. Njine and R. Tailliez. 1996. Hygiene and microbiologic quality of ice cream produced in Cameroon. A public health problem. Bull. Soc. Pathol. Exot. 89 (5): 358-362.