

# MICROBIOLOGÍA DE QUESOS DE ELABORACIÓN ARTESANAL DE LA CIUDAD DE ENCARNACIÓN- ITAPÚA – PARAGUAY

Autores: María Teresa Lezcano, María Elena Damus<sup>1</sup>.

## Resumen

La calidad microbiológica del queso de producción artesanal, normalmente fabricado con leche cruda depende básicamente de las condiciones higiénico-sanitarias adoptadas en el sistema de producción, en el procesamiento y en la comercialización de estos productos. El objetivo del trabajo fue la evaluación microbiológica de los quesos de elaboración artesanal.

En el período de enero a mayo del 2011, fueron analizadas 30 muestras de quesos artesanales obtenidas de los comercios de la ciudad de Encarnación.

Los resultados evidenciaron que para coliformes totales, coliformes fecales y E. coli 25 muestras (83%) estaban en desacuerdo con los patrones microbiológicos establecidos por la norma FIL 73A 1985. Para Staphylococcus coagulasa positiva, el 100% de las muestras se encontraron aceptables según la norma FIL 145 1990 y no fueron aislados patógenos como Salmonella sp, Shigella sp y Pseudomonas sp.

También se describe la susceptibilidad a  $\beta$ -lactámicos de 25 aislamientos de E. coli, 5 (20%) de los mismos presentaron resistencia a cefalosporinas de 1ra, 2da y 3ra generación. Se concluye que los quesos de elaboración artesanal presentaron alta carga microbiana, demostrando un perfil de resistencia que afectan a los antibióticos betalactámicos.

**Palabras claves:** calidad, queso, microbiología.

## Abstract

The microbiological quality of cheeses farmhouse produced, normally made with raw milk, is basically dependent on hygienic and sanitary conditions adopted in the production system, processing and commercialization these products.

From January to May 2011 was analyzed 30 samples of cheese farmhouse produced were obtained at different commerce places in Encarnación city.

The results obtained show clearly that for fecal and total coliforms and E. Coli 25 samples (83%) were according to FIL 73A 1985 and APHA 1992 standards. For Staphylococcus coagulase-positive 100% of the samples were found acceptable according to FIL 145 1990 standard and were not isolated pathogens such as Salmonella sp, Shigella sp. and Pseudomonas sp.

We describe the susceptibility to  $\beta$ -lactam of 25 isolates of E. coli, 5 (20%) of these patients presented resistance to cephalosporins of 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup>. and 3<sup>o</sup> generation. We conclude that handmade cheeses presented high microbial load, showing a profile that affect resistance to beta lactam antibiotics.

**Keywords:** Quality, cheese, microbiology.

## Introducción

La producción de queso artesanal a partir de la leche cruda, es una actividad tradicional en varias ciudades del Paraguay. El queso es un producto fresco o madurado que se obtiene por separaciones parciales del suero de la leche, coaguladas por la acción física del cuajo, de enzimas específicas, de ácidos orgánicos, aditivos especialmente indicados, sustancias aromatizantes y materiales colorantes. Se entiende por queso fresco el que está listo para el consumo poco después de su fabricación. (1)

La elaboración de cualquier producto alimenticio debe partir de materias primas seguras y ser manufacturadas de

acuerdo a un plan que cerciore su calidad.

Entre los puntos críticos que interfieren en la calidad microbiológica de la leche cruda y quesos de producción artesanal, normalmente elaborados con leche cruda, se destacan: materia prima y agua de mala calidad bacteriológica, higiene deficiente de los utensilios utilizados en el transporte de la leche y comercialización a granel de los quesos, temperaturas impropias de refrigeración, hábitos poco higiénicos de los ordeñadores y todas las condiciones inadecuadas de limpieza e higiene realizada en el proceso y comercialización de los productos lácteos. (3)

<sup>1</sup>Profesoras Investigadoras de la Dirección General Académica de Extensión e Investigación de la Universidad Nacional de Itapúa, 2011

El queso casero por presentar elevada humedad, siendo un producto altamente perecedero y pasar por una gran manipulación presenta condiciones propicias para la contaminación, sobrevivencia y multiplicación bacteriana, muchas de estas bacterias pueden ser patogénicas o producir metabolitos microbianos y causar intoxicaciones y/o infecciones alimentarias en los seres humanos, lo que representa un grave problema de salud pública

En términos generales, dentro del campo de la microbiología de alimentos, sin duda las contaminaciones microbianas de los alimentos, son indeseables e inclusive nocivas. Este aspecto es encarado con tal rigor para conocer la existencia de posibles deficiencias higiénicas, las cuales implican contaminaciones alimentarias. (2)

Entre algunos microorganismos importantes en alimentos destacamos: la *Salmonella* sp, causadora de intoxicación alimentaria, la *Escherichia coli*, que posee serogrupos cuya patogenia es conocida través de la acción toxigénica e infecciosa y el *Staphylococcus aureus*, presenta una toxina termo resistente. (4)

La resistencia bacteriana considerada una verdadera emergencia sanitaria, incide en la vida psíquica, física, individual y social, aumentando notoriamente en los individuos sanos que se convierten así en portadores de gérmenes resistentes (5).

Teniendo en cuenta la importancia de la leche y sus derivados en la alimentación humana, las condiciones propicias de deterioro y los riesgos de transmisión de enfermedades para el hombre(6); se realizó el presente trabajo, que tuvo por objetivo evaluar la calidad microbiológica del queso artesanal comercializado en la ciudad de Encarnación, a través de la cuantificación de los *Coliformes totales* y *Coliformes fecales*, *Staphylococcus coagulasa positiva*, *busqueda de Salmonella* sp, *Shigella* sp y *Pseudomonas aeruginosa*.

## Materiales y métodos

Fueron analizadas 30 muestras de queso artesanal de distintos puntos de ventas de la ciudad de Encarnación. Durante el transporte, las muestras fueron mantenidas en bolsas térmicas con hielo, para evitar la acción del calor sobre el producto. Los mismos fueron llevados al laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad Nacional de Itapúa en donde se realizaron las determinaciones de coliformes totales 35 a 37 °C, coliformes fecales a 45 °C por el método del Número más probable / gramo (NMP/g) y determinación de *Staphylococcus coagulasa positiva* por el método de Unidad Formadora de Colonias / gramo (UFC/g). Presencia o ausencia de patógenos *Salmonella* sp, *Shigella* sp y *Pseudomonas aeruginosa*.

Se realizaron antibiograma por el método de Kirby-Bauer a

las cepas de *E. coli* aisladas a partir de coliformes totales y fecales a determinados antibióticos: Ampicilina, Ampicilina sulbactam, Cefalotina, Nitrofurantoina, Gentamicina, Cotrimoxazol, Ceftazidima, Amoxicilina clavulanico, Cefotaxima, Ciprofloxacina, Imipenem, Meropenem.

El periodo de estudio comprende los meses de enero a mayo del 2011, según los criterios microbiológicos, en este trabajo se ha utilizado los patrones permitidos para los quesos cuartirolo, cremoso, criollo y minas frescal (46% < humedad < 55%). Determinación del Número Más Probable de coliformes fecales por gramo (NMP/g) (APHA 1992) (FIL 73A: 1985)

## Técnica para Coliformes totales

Se utilizó caldo Mc Conkey en la prueba de tubo de ensayo múltiples.

### Procedimiento:

Se colocaron los tubos de fermentación en filas de 3 y por triplicado cada uno en una gradilla de tubo de ensayo. El número de filas y los volúmenes de muestra seleccionados fueron las tres últimas diluciones utilizando para las mismas agua peptonada I.

Se incubaron los tubos inoculados a 35 +/- 0,5 ° C. Después de 24 hs se examinó el crecimiento, gas, y la reacción ácida (tonos de color amarillo) reincubando y examinando a las 48 hs. Registrando la presencia o ausencia de crecimiento, gas y la producción de ácido.

**Interpretación:** La producción de una reacción ácida o gas en los tubos dentro de las 48 hs constituye un presunto positivo. La ausencia de reacción ácida o la formación de gas, constituye una prueba negativa.

**Confirmación:** Todos los tubos donde hubo un crecimiento, gas, o una reacción ácida en 24-48 hs de incubación, agitando suavemente o rotando los tubos. Se inocula a un tubo de fermentación de la lactosa que contiene verde brillante caldo de bilis. Incubar los tubos inoculados a 35 +/- 0,5 ° C. La formación de gas en cualquier cantidad invertida en el tubo de caldo de fermentación en cualquier momento en las 48 hs constituye una fase positiva confirmada. Se procedió al cálculo del número más probable / gramo (NMP/g).

**Procedimiento de coliformes fecales:** Se realizaron pruebas de elevada temperatura para distinguir los organismos del grupo de coliformes totales, que también pertenecen al grupo de coliformes fecales. Los tubos positivos de coliformes totales se re suspende y se inoculó 1 ml del mismo en 9 ml de caldo Mc Conkey se incubó a 45 C 24-48 horas.

La formación de gas y producción de ácido hasta las 48 hs

constituye una fase positiva confirmada. Calculando el valor del número más probable / gramo (NMP/g).

### Las pruebas de Escherichiacoli

#### Procedimiento

Las muestras a partir del caldo Mc Conkey positivos para coliformes fecales, se repicaron en agar EMB y se incubaron a 35 +/-0,5 por 24 hs. A las colonias características de E.coli se realizó las pruebas de tipificación correspondientes: IMVIC.

### Determinación de Staphylococcus coagulasa positiva (FIL 145:1990)

Fueron seleccionadas tres diluciones de las muestras, de las cuales 0,1 ml fue sembrado en superficie de placas de Baird Parker. A partir de las colonias típicas fueron realizadas las pruebas de catalasa, manitol y coagulasa.

### Determinación de Salmonella spp. (FIL 93A: 1990)

25 gramos de cada muestra fueron transferidos a frascos conteniendo 225 ml de caldo pre enriquecido y fueron incubados a 42 °C durante 24 horas. Posteriormente fue realizado el enriquecimiento selectivo, con 10 ml de la muestra que fue transferida a dos tubos, uno conteniendo caldo 100ml Selenito/cistina y 100ml Tetrationato. Incubados a 35 °C durante 24 horas. Luego fueron sembrados en eosina azul de metileno, posteriormente se realizó la identificación con IMVIC.

## Resultados y discusión

Los datos de la tabla 1 muestran los valores obtenidos en las 30 muestras de quesos artesanales de acuerdo con los microorganismos buscados.

**Tabla 1-** Números más probables (NMP/g) de coliformes totales y fecales.

NMP/g de la muestra	Coliformes			
	Totales		Fecales	
	N	%	N	%
<3	5	17%	-	...
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>6</sup>	...	...	1	3%
10 <sup>6</sup> - 10 <sup>8</sup>	5	17%	11	37%
10 <sup>8</sup> - 10 <sup>10</sup>	18	60%	12	40%
10 <sup>10</sup> - 10 <sup>12</sup>	1	3%	5	17%
10 <sup>12</sup> - 10 <sup>14</sup>	1	3%	1	3%
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>

El análisis de estos datos revela que las mayores contaminaciones son a coliformes totales con valores entre 108/g a 1010/g. Recuentos elevados de estos microorganismos en alimentos indican condiciones deficientes de higiene, situación verificada en el estudio, pues 25 (83%) muestras revelaron la presencia de coliformes totales y fecales (Tabla 2).

**Tabla 2-** Porcentaje de muestras analizadas según la Norma FIL 73A: 1985, para coliformes totales y la Norma APHA 1992 para coliformes fecales

Muestras	Coliformes			
	Totales		a 45 °C (NMP/g)	
	N	%	N	%
De acuerdo a la Norma	5	17%	5	17%
En Desacuerdo con la Norma	25	83%	25	83%
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>

La identificación de estos microorganismos en número elevado puede representar riesgos para la salud de los consumidores. La frecuente presencia de coliformes totales en las muestras de queso proviene probablemente de materia prima, agua o aditivos de mala calidad bacteriológica, situaciones también descritas por Flowers et al. (1992) y Richter et al. (1992).

No se han aislado Salmonellas sp, Shigellasp, Pseudomonasaeruginosa en las muestras analizadas, coincidiendo con el trabajo realizado por Dionizio et al. 2003. La presencia de Staphylococcus aureus están dentro del rango permitido por las normas establecidas (FIL 145: 1990). Los resultados obtenidos difieren con el trabajo realizado por Gomes y Gallo (1995). Quienes encontraron un elevado número de Staphylococcus aureus.

En cuanto sensibilidad a los antibióticos se encontró que de las 25 cepas de Escherichia coli, 5 de ellas mostraron resistencia a las cefalosporinas de 1ra, 2da y 3ra generación, siendo sensibles a los demás antibióticos ensayados. Las contaminaciones pueden también estar asociadas a la deficiente limpieza e higiene de los utensilios utilizados en el transporte y/o producción de los quesos, como así también en la manipulación inadecuada. Básicamente, las situaciones que contribuyeron para que haya un elevado número de coliformes en quesos artesanales son las condiciones higiénicas deficientes e inadecuada refrigeración, lo que contribuye a la calidad insatisfactoria del producto analizado.

## Conclusiones

El número elevado de muestras artesanales (83%) se encontraron en desacuerdo con las normas: FIL145: 1990, FIL 73A 1985. utilizadas para quesos de elaboración artesanal, demostrando así la necesidad de una efectiva fiscalización de

los órganos competentes, de educación sanitaria a los productores, vendedores y consumidores en la ciudad de Encarnación, una vez que estos valores pueden producir enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).

### Bibliografía

R. Medin, S. Medin. Introducción Técnica y Seguridad en Alimentos 3ra ed. Buenos Aires. Ediciones turísticas 2002.

Olea Normandi, Andrea. Red PULSE NET en América Latina para la Vigilancia de ETA- Boletín de Vigilancia en Salud Pública. Unidad de Vigilancia, Departamento de Epidemiología, División de Rectoría y Regulación. Ministerio de Salud Argentina, 2003

IIIa Reunión sobre "Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA) OPS / OMS, OPS / INPPAZ, Buenos Aires, 2001

Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología Médica. 5ta Ed. Barcelona: ELSEVIER.

Smith D, Conant N, Overman J, Beard J, Willett H et al. Microbiología de Zinsser. 13ra Ed. Mexico: Hispano Americana; 1967.

Basualdo J, Coto C, de Torres R. Microbiología Biomédica. Buenos Aires: Atalante; 1996.

Flowers, RS. Andrews, W. Donnelly, C.W., Koenig, E. Pathogens in milk products. In: Marshall, R.T. Standard Methods for the

Examination of Dairy Products. 16ed. Washinton: American Public Health Association, p.103-25.

Richter, R.L., Ledford, R.A., Murphy, S.C. Milk and milk products. In: Vanderzant, C., Splittstoessen, D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ed. Washington: American Public Health Association, 1992, p.837-56.

Dionizio, F.L.; Valle, R.H.P.; Marques, S.C.; Mendonca, A.T.; Boari, C.A.; Freitas, R.F. Presença de Salmonella sp. Em queijos minas frescal e requeijão em barras produzidas artesanalmente na região de Salinas, norte de Minas Gerais. In: Congresso Latino-Americano de Higienistas de Alimentos, I., Brasilerio de Higienistas de alimentos, 7., 2003, Belo Horizonte. Anais. São Paulo, 2003. p.57.

Gomes, H.A., Gallo, C.R. Ocorrência de Staphylococcus aureus e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas a partir de leite cru, pasteurizado tipo C e queijo minas frescal comercializados em Piracicaba-SP. Ciências e Tecnologia de Alimentos, v.15, n.2, p.158-61, 1995.