Diagnóstico inicial microbiológico e higiénico-sanitario en queserías de pequeña escala

Anahi E. Tabera[1]; Nicolás E. Cisneros Basualdo[2]; Víctor A. Ruiz de Galarreta[2]; Alejandra Krüger[3]

[1]Departamento de Tecnología y Calidad de los Alimentos - Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). Tandil, Buenos Aires, Argentina.
[2]Centro de Investigaciones y Estudios Ambientales - Facultad de Ciencias Humanas – UNCPBA. Tandil, Buenos Aires, Argentina.
[3]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) - Facultad de Ciencias Veterinarias – UNCPBA. Tandil, Buenos Aires, Argentina.
Trabajo extraído de parte de la tesis doctoral de Anahí Tabera, año 2021.
atabera@vet.unicen.edu.ar

RESUMEN

Gran parte de las industrias lácteas de nuestro país son de pequeña y mediana escala, muchas de ellas con limitada incorporación de tecnología, condiciones edilicias críticas y escasa capacitación del personal en Buenas Prácticas de Manufactura e Higiene. En este trabajo se realizó una evaluación microbiológica de muestras de ambiente, superficies y manipuladores en seis queserías del partido de Tandil. A nivel de los equipos y superficies, el 67% de los establecimientos presentó valores de bacterias mesófilas viables por encima del esperado. En un caso, se identificaron valores altos de coliformes totales y presencia *E. coli* en mesadas y en las manos de un operario. Esta evaluación permitió observar que, en mayor medida, los problemas hallados se debieron a la falta de capacitación del personal. Por otra parte, se evidenció el interés de las empresas en aspectos de mejoras y la utilidad de los resultados de los análisis microbiológicos como herramientas en las capacitaciones personalizadas a manipuladores. Ambos aspectos favorecerían la realización de asistencia técnica y capacitación necesarias para este sector de industrias.

Palabras clave: control microbiológico de equipos y ambiente, manipuladores, producción quesera

INTRODUCCIÓN

La industria láctea argentina se localiza en una zona productiva que comprende principalmente las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y, en menor medida, Entre Ríos, la Pampa y Santiago del Estero, y está conformada por una amplia variedad de establecimientos en cuanto al nivel de producción. Algunas características, debilidades y fortalezas del sector fueron identificadas en un relevamiento realizado en estas provincias en el periodo 2016-2018 por la Dirección Nacional Láctea (DNL), dependiente del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (MAGyP, 2019), y en un informe del Observatorio de la Cadena Láctea Argentina (OCLA, 2019). Se registró que la actividad láctea argentina produce alrededor de 10.500 millones de litros de leche por año. La mayor parte de la leche (44%) se destina a la elaboración de quesos, debido a un alto consumo interno (12 kg/hab/año), y la restante a leche en polvo, leche fluida, yogures, dulce de leche y otros (OCLA, 2019).

Por medio de la estratificación de las industrias según el volumen de litros de leche procesada por día, se identificó que un 62% del total procesa menos de 10.000 L de leche/día. Se ubican en este estrato un 66% de las industrias lácteas en la provincia de Buenos Aires. Un alto porcentaje de estas

empresas son de tipo artesanal y no cuentan con tecnología industrial, como es el uso de pasteurizadores, ya que el proceso de pasteurización se realiza de manera más tradicional en las mismas tinas de elaboración de quesos. En general, tampoco cuentan con buena infraestructura edilicia de las áreas de procesos (un 40% presenta condiciones críticas), ya que generalmente son empresas familiares que se continúan de generación en generación sin grandes modificaciones. En su mayoría no realizan controles de consumo de agua ni tratamiento de efluentes y no recuperan el suero. En esta categoría también se observa una mayor proporción de industrias sin capacitación del personal en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) e Higiene (MAGyP, 2019).

El queso es considerado un producto listo para consumir, ya que después de su elaboración y en algunos casos maduración, no se somete a ningún tratamiento para garantizar seguridad antes de su consumo (Kousta *et al.*, 2010). Por lo tanto, cualquier práctica inadecuada durante su elaboración, distribución y venta representa un riesgo importante para la salud de los consumidores. Las evaluaciones han identificado un riesgo microbiológico incrementado en quesos con alto contenido de humedad, especialmente en quesos de leche cruda (Choi *et al.*, 2016), sin embargo, la contaminación microbiana puede ocurrir en cualquiera de las diversas clases de quesos que existen: blandos, semiduros, duros; elaborados con leche cruda o pasteurizada.

Los microorganismos pueden provenir de distintas fuentes, incluyendo la leche cruda, el ambiente, el agua contaminada, los equipos con higiene deficiente, las manos de operarios que toman contacto con el producto ya elaborado, y otras (Kousta *et al.*, 2010). Por ello, factores durante la producción, como la emanación de vapores que se condensan en los techos, utilización de tinas abiertas manuales, así como incorrectos procesos, falta de capacitación de los operarios, uso de agua no segura, equipamientos con deficiencias higiénicas, contribuyen a un mayor riesgo de contaminación (Córdoba *et al.,* 2016).

Entre los microorganismos patógenos asociados a Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) por consumo de quesos se encuentran: *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella* spp. y *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, como por ejemplo cepas *E. coli* O157:H7 (Merchán Castellanos *et al.,* 2019).

En particular, *S. aureus* ha sido asociado con brotes alimentarios en distintos países y se ha identificado en quesos frescos elaborados en condiciones sanitarias deficientes, con el consiguiente riesgo de ser consumido sin tratamiento alguno y producir una intoxicación alimentaria (Ferrín Mendoza *et al*., 2020; Saltos Solórzano *et al.,* 2018). Diversos estudios muestran que *S. aureus* puede acceder a los tanques de leche cruda, probablemente debido a la contaminación de la leche con este microorganismo por excreción directa de las ubres de animales con mastitis estafilocócica, tanto clínica como subclínica, o por contaminación fecal. El hombre también interviene como fuente de contaminación a través de sus manos, ya que puede ser portador del mismo (Callonet al., 2008).

Además, se han reportado brotes de infecciones con *E. coli* productor de toxina Shiga asociados a consumo de quesos (Choi *et al.*, 2016; EFSA BIOHAZ Panel, 2020). Este microorganismo es un patógeno que puede provocar severas enfermedades en humanos. Su principal reservorio es el ganado bovino, por lo cual la leche y los productos lácteos pueden contaminarse y ser vehículos de infección (EFSA BIOHAZ Panel, 2020). Las personas pueden ser portadoras ocasionales y generar contaminación durante la manipulación de los alimentos si no se aplican correctas prácticas de higiene personal (Torres, 2010).

La implementación de diversas medidas en los establecimientos elaboradores de productos lácteos, como el uso de agua potable, buenas prácticas de higiene y de manufactura, control sanitario de los animales y correcto tratamiento de efluentes, es importante para disminuir el riesgo de contaminación del producto final (FAO, 2011; González Cáceres, 2012).

Los objetivos de este trabajo fueron realizar una evaluación microbiológica a través de indicadores de calidad e inocuidad de muestras de ambiente, superficies y manipuladores de plantas elaboradoras de quesos de tipo artesanal, y contribuir a la capacitación del personal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de información y toma de muestras

Se seleccionaron seis empresas que procesan menos de 10.000 L de leche/día (rango de 1.600 a 9.000 L leche/día) del partido de Tandil y se coordinó una visita a cada establecimiento. En cada caso, primero se realizó una inspección visual que comprendió estado de las instalaciones, condiciones de equipamientos, presencia de cartelería sobre normas de higiene para los operarios, vestimentas de los mismos **(Figuras 1 y 2)**.

Posteriormente, se efectuó una toma de muestras en las condiciones en las que se encontraba la fábrica al momento de la visita. Para realizar la evaluación microbiológica ambiental, se colocaron placas de Petri, con los medios PCA (PlateCountAgar) e YGC (Chloramphenicol Yeast Glucose Agar), de laboratorios Britania®, en la sala de elaboración (en distinto número y lugares según el establecimiento) y se expusieron abiertas al aire durante 15 min (**Figura 3a)**. Las placas se transportaron refrigeradas hasta su procesamiento.

También se tomaron muestras por el método de hisopado de mesadas y de equipos **(Figura 3b**) y de manos de manipuladores **(Figura 3c)** que estaban elaborando quesos o se encontraban en la sala de afinado de quesos o en el proceso de pintado y etiquetado. Para las muestras de mesadas, delimitadas con un marco estéril de 100 cm^2, se emplearon hisopos Britania® que ya vienen embebidos en caldo Letheen. Se tomó el hisopo ya humedecido y se pasó por la superficie determinada por una plantilla, sosteniéndolo en un ángulo de 30º y cubriendo toda el área en diferentes direcciones. Finalmente se colocó el hisopo en un tubo estéril, rotulado y mantenido en refrigeración hasta su posterior análisis. En el caso de las muestras de los manipuladores, se utilizaron tubos humedecidos con agua estéril o solución fisiológica, empleando uno para cada mano. Se hizo rotar el hisopo en la superficie de la palma de la mano y luego se pasó en la zona entre los dedos. Ambos hisopos se colocaron en el mismo tubo con diluyente y se guardaron con medio de transporte en refrigeración hasta su procesamiento.

Figura 1 - Salas de elaboración



Figura 2- Uso de cartelería en entradas de quesería y dependencias



Figura 3- Toma de muestras en ambiente (a) superficies (b) y de manos de personal (c)



DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

Las placas de PCA y de YGC expuestas al ambiente se incubaron 24-48 h a 35°C y 72 h a 30°C, respectivamente, y se realizaron los correspondientes recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias mesófilas viables y mohos y levaduras (APHA, 2015). Se expresaron los resultados en UFC por el tiempo de exposición y se consideraron aceptables los recuentos < 10^2 UFC/15 min.

Las muestras de equipos y mesadas obtenidas por hisopados se procesaron para evaluar distintos grupos de indicadores de calidad e inocuidad (Michanie, 2013). Se trabajó con la técnica de siembra en profundidad: se colocaron los inóculos en las placas de Petri para luego añadir los medios atemperados y homogeneizarlos con el inóculo. Se empleó el medio PCA para recuento de bacterias mesófilas viables y las placas se incubaron 24-48 h a 35°C, Violeta Rojo Bilis agar (VRB) que se incubaron durante 24 h a 30°C para coliformes totales y durante 24 h a 45°C para coliformes termotolerantes. En caso de ser necesario, se realizaron diluciones sucesivas. El número de colonias obtenidas se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen del diluyente empleado en el muestreo y se expresó como UFC/100 cm^2. Se realizaron las pruebas bioquímicas para identificación de *E. coli* (Da Silva *et al.*; 2013; Cowan and Steel, 2003). Se determinó un límite de aceptabilidad de 10^2 UFC/100 cm^2 en superficies limpias para los indicadores de calidad (bacterias mesófilas viables y coliformes totales) y un criterio de ausencia/100 cm^2 para el caso de los indicadores de inocuidad (coliformes termotolerantes, *E. coli*) (Michanie, 2013).

Las muestras de hisopados de manos fueron sembradas en placas que contenían Baird Parker agar (adicionado de yema de huevo y telurito de potasio), incubadas 48 h a 35°C para la determinación de *S. aureus*, y también sembradas en placas con VRB agar e incubadas durante 24 h a 45°C para determinación de *E. coli.* Se realizaron pruebas bioquímicas para confirmación de las colonias obtenidas (Da Silva *et al.*; 2013; Cowan and Steel, 2003). El criterio establecido, debido al riesgo que representan, fue ausencia de ambos microorganismos en las manos de los manipuladores.

DEVOLUCIÓN A LAS FÁBRICAS

Se prepararon informes con los resultados y fueron entregados a cada establecimiento. Se realizaron sugerencias en los casos que correspondía. Posteriormente, se elaboró y distribuyó un manual de capacitación en BPM e Higiene para los operarios en el cual se explicaban las pautas a seguir para correcta higienización de manos durante la labor en fábrica, manipulación de la mesada, moldeado de quesos, salado, etc., y comportamiento higiénico adecuado al concurrir al baño en los horarios de trabajo.

RESULTADOS

En las visitas a los establecimientos se observó que la mayoría contaba con cartelería en zona de ingreso a las salas y en baños, pedaleras o sistemas automáticos en lavamanos, con expendedor de jabón y alcohol en gel. En general, la vestimenta era correcta, ya que contaban con delantal y botas, aunque en pocos casos barbijo y guantes; sin embargo, en algunos casos se observó deficiente higiene de equipos e instalaciones inadecuadas, como por ejemplo falta de filtro sanitario y lavamanos y lavabotas al ingresar.

Los resultados de los análisis sobre la carga microbiológica ambiental mostraron valores por

debajo a 10^2 UFC para bacterias mesófilas viables y mohos y levaduras en el tiempo de exposición determinado, excepto en el establecimiento número 5 que presentó un recuento mayor de bacterias mesófilas viables (2,7 x 10^2 UFC/15 min.).

A nivel de los equipos y superficies, el 67% de los establecimientos presentaron valores de bacterias mesófilas viables por encima del esperado, en el rango de 5,0 x 10^2 a 1,6 x 103 UFC/100 cm^2. El valor más alto lo presentó el establecimiento número 3, que también mostró recuentos altos de coliformes totales y coliformes termotolerantes en las muestras de superficies y presencia de *E. coli* en superficie y en una muestra de hisopado de manos de un operario. El resto de muestras de hisopado de manos de los operarios fueron negativas para los microorganismos buscados.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Un alto porcentaje de las industrias lácteas de nuestro país son micropymes y pymes, que llevan a cabo producciones con características particulares que las diferencian de las industrias que elaboran quesos a gran escala. En los casos presentados, se reflejaron las observaciones realizadas a nivel nacional sobre la necesidad de mejora de diversos aspectos higiénicos y sanitarios. Este trabajo, si bien restringido a un pequeño grupo de industrias y con un muestreo limitado a determinar las condiciones al momento de la visita, logró identificar diversos problemas a nivel microbiológico. Asimismo, propició el acercamiento a las fábricas, las que demostraron un marcado interés y algunas consultas técnicas. Un ejemplo especial de ello fue el caso del establecimiento 3, que presentó graves problemas de contaminación en mesadas y en manos del operario presente, los cuales fueron inmediatamente comunicados y permitió el intercambio con sugerencias de mejoras. La asistencia técnica y la capacitación se encuentran entre las propuestas de perfeccionamiento para este sector, para incrementar rendimientos, calidad higiénico-sanitaria y diversificación de la producción (MAGyP, 2019). Este trabajo permitió evidenciar la gran utilidad de los resultados de los análisis microbiológicos en las formaciones personalizadas de manipuladores.

BIBLIOGRAFÍA

1. MAGyP. 2019. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Dirección Nacional Láctea. Estado de situación de la Industria Láctea Argentina para la definición de políticas públicas 2016-2018.Informe de la Dirección Nacional Láctea. Disponible en:
https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss_lecheria/industria/estado/estado.pdf

2. OCLA. Observatorio de la Cadena Láctea Argentina. Informe de coyuntura. 2019; 9:1-25.
Disponible en:
http://www.ocla.org.ar/contents/news/details/13373360-informe-de-coyuntura-n009-marzo-2019



3. Kousta M, Mataragas M, Panagiotis S, Drosinos E. 2010. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. Food Control; 21:805-815.

4. Choi K, Lee H, Lee S, Kim S, Yoon Y. 2016. Cheese Microbial Risk Assessments -A Review. Asian-Australasian Journal of Animal Science; 29: 307-314.

5. Córdoba J, Di Giorgi H, Zubiaurre L, Cisneros Basualdo NE,Puricelli M, Rolando R. 2016.Gestión del agua y residuos de queserías familiares del Cluster Quesero de Tandil: Resultados Preliminares. I Jornadas Internacionales y III Nacionales de Ambiente. Tandil.

6. Merchán Castellanos, NA, Pineda Gómez LM, Cárdenas Parra AK, González Neiza NC, Otálora Rodríguez MC, Sánchez Neira Y. 2019. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso frescos de las Américas, 2007-2016. A Review. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología; 56 (1). Disponible en:http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260

7. Ferrín Mendoza YM, Guevara Muñoz JF, Andrade Lozano JM, Macías Andrade EF, López M. 2020. Evaluación de la presencia de Staphylococcus aureus en queso fresco artesanal del mercado municipal del Cantón Junín de la Provincia de Manabí. Alimentos Hoy. Rev. de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 28 (49): 41-46.

8. Saltos Solórzano JV, Marquez Bravo YJ, López Apolinario AI, Martínez Abreu J, Guerrero Proaño G. 2018. La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. Conteo microbiológico de *Staphylococcus aureusen* quesos frescos. Rev. Médica Electrón5rdica: 40 (2): 371-382.

9. Callon C, Gilbert F, De Cremoux R, Montel M-C. 2008. Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of S. aureus contamination from milk to cheese in goat cheese farms. Food Control; 19: 143-150.

10. EFSA BIOHAZ Panel.KoutsoumanisK, Allende A, Alvarez-Ordóñez A,Bover-CidS,ChemalyM, Davies R, *et al.* 2020. Pathogenicity assessment of Shiga toxin producing Escherichia coli (STEC) and the public health risk posed by contamination of Food with STEC. EFSA Journal;18(1).

11. Torres AG (ed).2010. Pathogenic Escherichia coli in Latin America. Sharjah: Bentham SciencePublishers Ltd.

12. FAO. Buenas Prácticas de Manufactura en la elaboración de productos lácteos. 2011. Buenas Prácticas en el manejo de la lecheManual 2 de la serie.
Disponible en: http://www.fao.org/3/bo953s/bo953s.pdf

13. González Cáceres M. 2012. Aspectos medio ambientales asociados a los procesos de la industria láctea. Sitio Argentino de Producción Animal. MundoPecuario;8 (1): 16-32.

14. American Public Health Association (APHA). 2015. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 5° Ed. Washington: Salfinger Y, Tortorello, ML (ed)

15. Michanie S. 2013. Monitoreo de higiene de las superficies. Apuntes de Laboratorio. Laboratorios Britania SA.; 2:3-18.
Disponible en: www.britanialab.com/capacitacion.

16. Da Silva N, Taniwaki MH, Junqueira V, Silveira N, do Nascimento M, Gomes R. 2013. Microbiological Examination Methods of Food and Water. A Laboratory Manual. CRC Press.

17. Cowan ST, SteelKJ. 2003. Manual for the identification of medical bacteria. 3° Ed. Chambrige University Press.

