

## **Análisis microbiológico de queso cuajada en municipios del departamento del Quindío**

## **Microbiological Analysis of Cuajada Cheese in Municipalities of the Department of Quindío**

## **Análise microbiológica de Queijo Cuajada em Municípios do Departamento de Quindío**

Melissa Idarraga Molina<sup>1</sup>; Vanessa Delgado Núñez<sup>2</sup>; Ana Milena León Alférez<sup>3</sup>; Julián Adolfo Osorio Garcia<sup>4</sup>.

<sup>(1)</sup> <sup>(2)</sup> <sup>(3)</sup> Estudiante del Programa de Ingeniería de Alimentos. <sup>(4)</sup> Docente Ing. Alimentos Facultad de Ciencias Agroindustriales. Universidad del Quindío.

\*vdelgadon@uqvirtual.edu.co

Fecha recepción: 31 de diciembre de 2017

Fecha aceptación: 23 de marzo de 2018

### **Resumen**

El consumo de quesos frescos está asociado a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), y representa riesgos en la transmisión de agentes patógenos, al ser foco de posibles enfermedades para el consumidor. Se recolectaron muestras de queso fresco tipo cuajada provenientes de diferentes municipios del departamento del Quindío, y una muestra de Queso industrial. De cada municipio, se tomaron muestras por triplicado del mismo lote, para un total de 18 muestras, a las cuales se le realizó un análisis microbiológico para identificar Coliformes totales, *E. Coli*, *Staphylococcus Aureus*, salmonella y mohos y levaduras. Se encontraron recuentos de coliformes totales y *Staphylococcus Aureus*, entre  $7,417 \pm 0.74 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  y  $6.450 \pm 0.43 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  respectivamente, siendo estos los más elevados. También, se confirmó presencia de *E. Coli* en todas las muestras analizadas. Por otra parte, el mayor valor en el recuento de mohos fue de  $7.26 \pm 0.81 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ . De todas las muestras analizadas sólo en uno de los municipios se confirmó la presencia en salmonela mediante confirmación bioquímica. Los resultados evidenciaron deficiencias sanitarias en los quesos analizados, y representando esto un riesgo para la salud del consumidor.

**Palabras clave:** *análisis microbiológico, queso fresco, cuajada, patógenos.*

### **Abstract**

The consume of fresh cheeses is associated with foodborne diseases, representing risks in the transmission of pathogens, being the focus of possible diseases for the consumer. Samples of curd-type fresh cheese from different municipalities of the department of Quindío and a sample of industrial cheese were collected. From each municipality, samples were taken in triplicate from the same lot, for a total of 18 samples, to which a microbiological analysis was carried out to identify total Coliforms, *E. Coli*, *Staphylococcus Aureus*, salmonella and molds and yeasts. Coliforms and *Staphylococcus Aureus* were found between  $7,417 \pm 0.74 \text{ Log}_{10} \text{ CFU / g}$  and  $6,450 \pm 0.43 \text{ Log}_{10} \text{ CFU / g}$  respectively, these being the highest. Also, presence of *E. Coli* was confirmed in all samples analyzed. Was confirmed the presence of salmonella with biochemistry test in samples of a municipality. The results showed sanitary deficiencies, representing a risk to the health of the consumer.

**Keywords:** *microbiological analysis, fresh cheese, pathogenic microorganisms*

## Resumo

O consumo de queijos frescos está associado a doenças transmitidas por alimentos (ETA) que representam riscos na transmissão de agentes patogênicos, sendo o foco de possíveis doenças para o consumidor. Foram coletadas amostras de queijo fresco de tipo coalho de diferentes municípios do departamento de Quindío e uma amostra de queijo industrial. De cada município, as amostras foram retiradas em triplicado do mesmo lote, para um total de 18 amostras, às quais foi realizada uma análise microbiológica para identificar coliformes totais, E. Coli, Staphylococcus Aureus, salmonelas e fungos e leveduras. As contagens de coliformes totais e Staphylococcus Aureus foram de  $7,417 \pm 0,74 \log_{10}$  CFU / g e  $6,450 \pm 0,43 \log_{10}$  CFU / g, respectivamente, sendo o mais alto. Além disso, a presença de E. Coli foi confirmada em todas as amostras analisadas. Por outro lado, o maior valor na contagem de moldes foi de  $7,26 \pm 0,81 \log_{10}$  CFU / g. De todas as amostras analisadas em apenas um dos municípios, a presença em salmonella foi confirmada por confirmação bioquímica. Os resultados mostraram deficiências sanitárias nos queijos analisados, representando um risco para a saúde do consumidor.

**Palavras chave:** análise microbiológica, Queijo fresco, patógenos.

## Introducción

De acuerdo a la NTC 750 [1] y la Resolución 2310 de 1986 y la 01804 de 1989 del Ministerio de Salud, [2] se define el queso fresco como el producto higienizado, sin madurar, que después de su fabricación está listo para el consumo humano, el cual se obtiene mediante la coagulación de la leche cruda, o leche pasteurizada, o mezcla pasteurizada de leche fresca con derivados lácteos, por la acción del cuajo u otros coagulantes aprobados y escurriendo parcialmente el suero que se produce como consecuencia de tal coagulación. Su contenido de nutrientes y propiedades físico-químicas brindan un medio ideal para el desarrollo de microorganismos patógenos y presencia de otros contaminantes, lo cual, asociado con prácticas inadecuadas de producción y manufactura, convierten la leche cruda en un alimento que puede ser de alto riesgo, especialmente para sub-poblaciones susceptibles como mujeres embarazadas, pacientes inmunocomprometidos, niños y adultos mayores [3] Las enfermedades transmitidas mediante alimentos (ETA) son uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y causa importante de reducción en el crecimiento de la seguridad alimentaria; sin embargo, en la mayoría de los casos se desconoce el origen. La forma de ofrecer los alimentos a los consumidores no debe presentar alto riesgo sanitario, así como las condiciones en que se expenden dichos productos deben ser apropiadas, para que no favorezca en la contaminación microbiológica. [4] El objetivo de este estudio fue realizar un análisis microbiológico en quesos frescos tipo cuajada de algunos municipios del departamento del Quindío

con el fin de identificar microorganismos patógenos externos a la flora microbiana saprofita de la leche o los quesos.

## Materiales y métodos

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología de alimentos de la facultad de ciencias agroindustrial es de la universidad del Quindío, ubicada en la ciudad de Armenia. Con un clima variado que oscila entre los 18-28°C. Las muestras de estudio fueron 5 tipos de quesos frescos provenientes de las ciudades de Salento, Circasia, Armenia, Calarcá, Quimbaya y un tipo de queso tipo cuajada comercial con registró sanitario INVIMA

## Métodos de laboratorio

**Detección de salmonella:** La detección de salmonella se efectuó de modo similar a los reportado por Novak *et al*, 2013 [5], siguiendo los procedimientos establecidos por el ICMSF [6].

**Pre enriquecimiento.** Se procesaron 25 gr de muestra de Queso y se le adicionó 225 ml de agua peptonada. Las muestras se depositaron en frasco bacteriológico y se llevaron a incubación por 24 horas a 35°C .

**Enriquecimiento selectivo.** Se inoculó 1 ml de muestra en tubos con caldo Rapapport y se llevaron a incubación por 48 horas a 35°C. El aislamiento se realizó por duplicado en Agar XLD, inoculado 0,1 ml y 0,05 ml de muestra. Las cajas se incubaron por 24 horas a 35°C

**Prueba bioquímica (tsi).** De las colonias sospechosas, se inoculó por picadura en agar TSI. Los tubos se incubaron por 24 horas a 35°C

**Recuento de coliformes totales e identificación de E. coli.** A 10 gr de muestra, se le añadieron 90 ml de agua peptonada. Se realizaron 3 diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ). Por duplicado, se sembró en superficie 0,1 ml de muestra en Agar VRBA, para el recuento de Coliformes. Las placas se incubaron por 24 horas, a 35°C. Para la identificación de E. coli, de las colonias sospechosas en el Agar VRBA, se repicó en Caldo EC y se incubó por 24 horas a 35°C. Posteriormente, se agregó reactivo de Indol, para la confirmación bioquímica del microorganismo. Tanto el aislamiento de colonias sospechosas como la identificación bioquímica IMVIC se realizó conforme a lo descrito por Rivera *et al.*, 2009 [7].

**Recuento de mohos.** De las diluciones realizadas en el procedimiento anterior, se realizó una siembra por duplicado en superficie en Agar Saboraud, y se incubó a temperatura ambiente (25°C) por 48 horas [8].

**Staphylococcus aureus.** De las diluciones anteriores se realizó una siembra en superficie en

**Agar Baird Parker.** Se inoculó 0,1 ml de muestra en la placa, y se llevó a incubación por 24 horas a 35°C. El recuento se realizó por duplicado. Las colonias sospechosas de *Staphylococcus* se replicaron para la confirmación bioquímica, mediante la prueba de coagulasa [9].

### Resultados y discusión

En la tabla 1, se presentan los recuentos para los diferentes microorganismos analizados. El promedio de los valores obtenidos y su correspondiente desviación estándar se expresaron en Log<sub>10</sub> UFC/g, de acuerdo a lo realizado por González y Franco, 2015 [10]. Las muestras provenientes del municipio de Quimbaya presentan mayor contenido de coliformes totales, presentando un valor de  $7,417 \pm 0,740 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ , que, de acuerdo a la NTC 750, supera el límite máximo permitido. En el queso comercial analizado también se presentaron recuentos elevados, por encima de lo establecido en la norma. Lo que concuerda con los resultados de Martínez *et al.*, 2013 [11], quien reporta recuentos superiores a  $5 \times 10^3 \text{ UFC/gr}$ , recuentos atribuidos a condiciones higiénico-sanitarias deficientes, y alimentos con estos recuentos microbiológicos no son aptos para el consumo humano.

**Tabla 1.** Recuentos microbiológicos de las muestras de queso cuajada.

Municipio	Microorganismo						
	Coliformes totales		<i>Staphylococcus Aureus</i>		salmonela	Mohos y levaduras	
	Log <sub>10</sub> UFC/ gMedia	Desv Est	Log <sub>10</sub> UFC/ gMedia	Desv Est		Log <sub>10</sub> UFC/ gmedia	Desv Est
Quimbaya	7,417	0,740	Coagulasa	negativa	Ausencia	6,826	0,606
Salento	6,785	0,489	6,450	0,431	Presencia	6,347	0,462
Calarcá	5,568	0,136	Coagulasa	negativa	Ausencia	4,923	0,071
Circasia	6,606	1,055	Coagulasa	Negativa	Ausencia	7,261	0,815
Armenia	5,556	1,243	6,161	0,731	Ausencia	6,635	0,535
Queso comercial	5,922	0,127	Coagulasa	negativa	Ausencia	6,165	0,431

Así mismo, se evidenció presencia de *E. Coli* en al menos una de las muestras pertenecientes a cada municipio y en el queso comercial, casos en los que se presentó en el 72,22% de las muestras. Rodríguez 2009 [12] encontró que el 43,3% (n=26) de los quesos estaban contaminados con este microorganismo. Además menciona que la presencia de coliformes fecales y *E. Coli* indican potencial contaminación fecal y puede sugerir la

presencia de otros microorganismos patógenos entéricos que constituyen un riesgo para la salud. En cuanto al contenido de estafilococos *Aureus coagulasa* positiva, se detectó el microorganismo, en las muestras recolectadas del municipio de Salento y Armenia, con recuentos de  $6,450 \pm 0,431 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$  y  $6,161 \pm 0,731 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ , respectivamente. Tales valores no cumplen con lo especificado en la norma (NTC 750), por ende se

considera el producto inaceptable. De acuerdo con Cristóbal y Mautua 2003 [13], la presencia de *S. aureus* podría indicar una contaminación a partir de la piel, la boca o las fosas nasales de portadores que manipulan el alimento. De acuerdo con Martínez 2005 [14] el *Staphylococcus aureus* es un microorganismo capaz de producir componentes superficiales llamados toxinas y producir enzimas extracelulares. En general, estos componentes son capaces de provocar severas intoxicaciones alimentarias en función de la cantidad ingerida de alimento. También, según la fundación Elika 2013 [15], el *S. Aureus* es una de las bacterias patógenas humanas formadoras de toxinas más resistente y puede sobrevivir durante largos periodos de tiempo en un ambiente seco, y es muy persistente en alimentos con contenido alto en sales y azúcares. Asimismo, sus toxinas son altamente estables, y resistentes al calor, congelación e irradiación, por lo que una vez formadas en el alimento, es extremadamente difícil eliminarlas. Vanegas, *et al.*, 2008 [16] reportan también la presencia de este microorganismo en quesos analizados en la ciudad de Bogotá, originarios de plazas y ventas callejeras. Este análisis indica que la bacteria genera un riesgo para la población, debido a que es un reconocido patógeno humano implicado en intoxicaciones. Un estudio hecho en Manizales, por Gaviria y Gutiérrez [17], a quesos frescos (cuajada), presentó crecimiento característico en agar Baird Parker para *S. aureus* en quesos de supermercados, tiendas de barrio, queseras y panaderías. Lo anterior expone que se evidencia una deficiencia en la manipulación que afecta la calidad final, debido a la no utilización de barreras, como el tapabocas, y la utilización de materia prima sin pasteurización.

En todas las muestras procedentes de Salento, se detectó la presencia de salmonella mediante prueba bioquímica (TSI). La presencia de salmonella debe estar descartada, ya que, de acuerdo con Vasek 2004 [18], la salmonella juega un rol importante en la epidemiología de las enfermedades transmitidas por alimentos. Resultado que se definió de acuerdo con la NTC 750, la cual especifica ausencia de salmonella en 25 gr de muestra. El recuento de mohos en las muestras de todos los municipios, tanto en los quesos artesanales como en el queso comercial, fue elevado, incluso hasta superar el valor permitido en la normatividad, y superior a lo reportado por González y Franco 2015 [10], quienes obtuvieron un valor promedio en queso artesanal en Oaxaca, México, de  $2.97 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/gr}$ .

Los resultados presentados en este estudio son un punto de partida para desarrollar estudios más detallados que permitan confirmar los resultados mediante técnicas moleculares debido a las elevadas cargas microbianas en las muestras de cada municipio. Estos resultados demuestran que el consumo de queso fresco tipo cuajada en el departamento del Quindío genera una alta probabilidad de entrar en contacto con microorganismos generadores de ETA. Lo que coincide con los reportes de CIVIGILA en 2016 [19], donde se reporta que el queso es el alimento que genera el más alto índice de incidencias de ETA en Colombia, y se identifican las especies *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus coagulasa* y salmonella *sp* como los principales agentes causantes de brotes de ETA. Es importante destacar que los resultados presentados no son suficientes para vincular el producto con el riesgo de intoxicación alimentaria, y, por lo tanto, el realizar nuevos estudios permitirá la confiabilidad de los resultados. En el estudio no se incluyó la forma de preparación de los quesos ni los niveles de calidad de las materias prima. Estudios hechos en Venezuela [20], Brasil [21] y Chile (coliformes fecales y *E.coli*) [22] reportan resultados similares. Se han encontrado recuentos comprendidos en un rango de ( $10^3 - 10^6$  UFC/g) para los microorganismos analizados, en quesos frescos elaborados a partir de leche cruda, puesto que los quesos elaborados con leche sin pasteurizar están asociados con brotes de enfermedades alimentarias, con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada. Zamora 2012 [23].

## Conclusión

Los resultados obtenidos evidencian que los quesos estudiados presentan condiciones higiénicas deficientes y no cumplen lo establecido en la NTC 750. Las altas cargas de coliformes totales son un indicador de contaminación de origen fecal. La presencia de *S. aureus* representa un riesgo potencial para la salud del consumidor, por las toxinas termorresistentes de este microorganismo. La presencia de salmonella en las muestras analizadas hace que el producto o el alimento no sea apto para el consumo humano. Cabe destacar que el queso comercial presenta unos recuentos bacteriológicos aceptables. Los productores de quesos frescos en la zona del departamento del Quindío deben mejorar sus buenas prácticas de

manufactura para bajar los recuentos microbianos a niveles óptimos en queso tipo cuajada.

El estudio realizado refuerza los procesos pedagógicos adelantados en la Universidad del Quindío, y del mismo modo complementa los conocimientos adquiridos y es una matriz fundamental para promover la actividad investigativa en la institución y para investigaciones futuras como profesionales en Ingeniería de Alimentos.

### Referencias bibliográficas

- [1] Mora E. NTC 750 (sitio en internet). Disponible en: <http://documents.mx/documents/ntc-750-queso.html> Acceso Octubre Mayo 13 del 2017.
- [2] Ministerio de salud de Colombia. Resolución número 02310 de 1986. Bogotá, Colombia: Otero Ruiz E; 1985.
- [3] Ministerio de salud y protección social, Unidad de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos UERIA, Instituto nacional de salud. Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. Bogotá, Colombia; 2011.
- [4] Plaza Ibarra LA, Leroux MR. Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia y ausencia de Listeria y Salmonella (Tesis doctoral) Guayaquil, Ecuador: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción Ecuador; 2013.
- [5] Novak P, Vera, Dallagnol A, Pucciarelli A. Evaluación de listeria monocytogenes y calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal. Tecnología Láctea Latinoamericana. 2013;79:52-5.
- [6] Silliker JH, Gabis DA. ICMSF methods studies. I. Comparison of analytical schemes for detection of Salmonella in dried foods. Canadian journal of microbiology. 1979;19(4):475-9.
- [7] Rivera Salazar J, Mujica I. *Staphylococcus aureus* procedentes de Quesos. Rev. Científica FCV-LUZ (XXI). 2013;21(3):202-10.
- [8] González-Montiel L, Franco-Fernández MJ. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña, Mexico. Brazilian Journal of Food Technology, 2015;18(3):250-7.
- [9] Luján D, Valentín M, Molina M. Evaluación de la Presencia de *Staphylococcus aureus* en Quesos Frescos Artesanales en tres Distritos de Lima – Perú. Revista Salud Pública y Nutrición. 2006;7(2).
- [10] González M, Franco J. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la cañada oaxaqueña. Campinas, Mexico: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2015.
- [11] Martínez A, Villoch A, Ribot A, Ponce P. Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. Rev Salud Anim. 2013;35(3):210-3.
- [12] Rodríguez C, Caldas L, Ogeerally P. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo “telita”. Utaipa, estado Bolívar, Venezuela. Rev de la sociedad venezolana de microbiología. 2009;29(2):98-102.
- [13] Delgado RLC, Torres DJM. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. Revista Panamericana de Salud Pública. 2003;14:158-64.
- [14] Martínez Pulgarín, S. Influencia de la catalasa y de la-toxina en la patogénesis de” *staphylococcus aureus*” (tesis doctoral) Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid; 2006.
- [15] Fundación vasca para la seguridad alimentaria. *Staphylococcus Aureus*. (Sitio en internet) [http://www.elika.eus/datos/pdfs\\_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf](http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf) acceso el 20 de junio de 2017.
- [16] Vanegas M, González L, Martínez A, Buitrago F. Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus enterotoxigénicos* aislados de quesos en Bogotá. Revista MVZ Córdoba. 2008;13(2):1288-93.
- [17] Gaviria-Giraldo J, Gutiérrez-Pérez R. Frecuencia de aparición de *Staphylococcus* spp. en quesos frescos (cuajada) comercializados en la ciudad de Manizales. 2016.
- [18] Vasek OM, Cabrera R, Coronel GJ, De Giori GS, Fusco AJV. Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). Facena. 2004;20:13-22.
- [19] SIVIGILA. Enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, periodo epidemiológico IX. Colombia: Álvarez C, Guerrero J, Sánchez I; 2016.
- [20] Díaz Rivero C, González de García B. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos

indicadores de calidad sanitaria. Revista salud pública y nutrición. 2001;2(3).

- [21] Salotti BM, Carvalho ACFB, Amaral LA, Vidal-Martins AMC, Cortez AL. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. Arq Inst Biol. 2006;73(2):171-5.
- [22] Costa M, Retamal J, Rodriguez A, Chavarria P, Contreras A, Forsyth S. Inocuidad microbiológica de quesillos comerciales y artesanales expendidos en chillan. Rev. chil. nutr. 2016;43(2):172-9.
- [23] Zamora R, Martinez H, Soto J, Huerta U, Perez R. Estudio microbiológico de queso fresco adicionado con el probiotico *Saccharomyces boulardii*. Biológicas. 2012;14(2):37-41.