



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO BOLÍVAR  
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**MICROORGANISMOS INDICADORES DE INTERÉS  
SANITARIO EN QUESO ARTESANAL TIPO “TELITA”. UPATA,  
MUNICIPIO PIAR, ESTADO BOLIVAR. SEPTIEMBRE-  
OCTUBRE 2008**

**Asesora:**

**Lic. Carmen Rodríguez.**

**Trabajo de Grado presentado por:**

**Br. Caldas Isea, Liz Carolina.**

**C.I. 16.614.203**

**Br. Ogeerally Ortiz, Patrick A.**

**C.I. 16.808.238**

**Como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Bioanálisis.**

**Ciudad Bolívar, Octubre 2008**



## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>ii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iv</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>v</b>
<b>DEDICATORIA II</b> .....	<b>vii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>ix</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>JUSTIFICACION</b> .....	<b>15</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
Objetivo General .....	16
Objetivos Específicos.....	16
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>17</b>
Tipo de Estudio .....	17
Universo .....	17
Muestra.....	17
Criterios de Inclusión .....	17
Materiales.....	17
Reactivos:.....	18
Procedimiento .....	19
a) Preparación de diluciones decimales (Norma Venezolana COVENIN 1126-89). .....	19
b) Determinación del Número Más Probable (NMP) de bacterias coliformes. 2da Revisión (Norma Venezolana COVENIN 1104-1996).....	20
Coliformes totales .....	20
Coliformes fecales.....	20
Escherichia coli .....	20



c) Recuento de estafilococos coagulasa positivos (Staphylococcus aureus) Norma Venezolana COVENIN 1292-89) .....	21
- Prueba de producción de coagulasa: .....	21
- Prueba de DNAsa: .....	21
- Método Estadístico .....	22
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
Tabla 1.....	25
Tabla 2.....	26
Tabla 3.....	27
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>33</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>34</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>43</b>
<b>APENDICE .....</b>	<b>45</b>



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios Todopoderoso sobre todas las cosas por darnos la vida, la fuerza para seguir adelante y guiarnos por el buen camino en todo momento.

A la Virgen del Valle por protegernos con su manto divino de todo mal y estar presente en el transcurrir de nuestra carrera.

A Francisca Duarte por concedernos todas y cada una de las gracias que les hemos pedido con fe y en especial esta meta que es la más anhelada por nosotros.

A Nuestra asesora, la Licenciada Carmen Rodríguez por brindarnos su ayuda en todo momento en la realización de nuestra tesis de grado.

Al personal de Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta”, en especial al Técnico Domingo Mata por prestarnos su atención y colaboración en todo momento en la parte práctica de nuestro proyecto.

**Br. Caldas Isea, Liz Carolina**  
**Br. Ogeerally Ortiz, Patrick A.**



## **DEDICATORIA**

A la Memoria de mi Abuelito Antonio Segundo Isea Ferrer que fue como mi padre en vida y aunque no este presente físicamente siempre esta presente en mi corazón, en mi mente y fue la persona que me inspiró a estudiar esta carrera que es tan bonita y llena de satisfacciones.

A mi Abuela Elvia Paredes de Isea por haberme cuidado y educado en mi niñez y adolescencia y así ayudó en mi formación para llegar a ser la persona que soy hoy.

A mi Mami Margery Isea por apoyarme en todo momento y decirme que si puedo lograr mis metas y aunque caiga en el camino me puedo levantar y continuar hasta alcanzar mis objetivos.

A mi Papito José Caldas por sus consejos para ser una persona de bien y por ayudarme en mis estudios sobre todo en la parte económica la cual es necesaria también para lograr esta meta.

A mi Novio Patrick A. David Ogeerally por estar siempre a mi lado tanto en los momentos buenos como en los malos, por ser mi amigo y salir juntos adelante.

A mi Amigo Benjamín Fierro por ser un amigo de verdad, por estar conmigo en todo momento y aconsejarme como el hermano que nunca tuve.

A mis Amigas Carolina Haddad y Lenis Medrano por estar con nosotros en los momentos de rabia y alegría a lo largo de nuestra carrera.



A la Licencia Antonella Antonucci por haberme recibido en su Laboratorio para hacer mis pasantías y brindarme su enseñanza y comprensión siempre que lo necesité de forma incondicional durante y aún después de mis pasantías.

**Br. Caldas Isea, Liz Carolina**



## **DEDICATORIA II**

A mi madre Rosa Magalis Ortiz, por haberme dado la vida y brindarme en todo momento su amor y apoyo incondicional para vencer todos los obstáculos que se presentan en el camino y darme mucha fuerza para seguir con el logro de esta y muchas metas.

A mi padre Ahmad Patrick Ogeerally, por estar conmigo en todo momento de mi carrera y por brindarme su amor y comprensión para seguir los pasos correctos de la vida como también por haberme brindado el apoyo económico durante mis estudios.

A mis Hermanos Ahmad Patrick, Patrick Wilfred y Patrick Jesús por estar siempre presente en mi vida y por haberme ofrecido sus compañías en todo momento.

A mi novia Liz Carolina Caldas que junto conmigo formamos un grupo perfecto en donde nos ayudamos mutuamente para realizar este sueño como también ofrecernos amor y fuerza para dicha meta.

A mi sobrina Francismar Nasaret por darnos a mí y a todos la alegría que necesitamos para estar unidos y seguir siendo una gran familia.

A mis Amigas Carolina Haddad y Lenis Medrano por estar con nosotros en los momentos de rabia y alegría a lo largo de nuestra carrera.

A los profesores y amigos Lic. Nelson Guevara y la Lcda. Angélica Farrera en donde mi estadía como pasante de su laboratorio me brindaron sus conocimientos como también su gran amistad.



A todos los profesores de la carrera de Bioanálisis de la escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta” quienes nos dedicaron su apoyo y conocimientos para el logro de nuestros objetivos.

**Br. Patrick Ogeerally**



## **MICROORGANISMOS INDICADORES DE INTERÉS SANITARIO EN QUESO ARTESANAL TIPO “TELITA”. UPATA, MUNICIPIO PIAR, ESTADO BOLIVAR. SEPTIEMBRE- OCTUBRE 2008**

Caldas Isea, Liz Carolina y Ogeerally Ortiz, Patrick A.

Universidad de Oriente-Núcleo Bolívar. Escuela de Ciencias de la Salud  
Carrera de Bioanálisis. Departamento de Ciencias Fisiológicas

### **RESUMEN**

El queso blanco de pasta cocida, conocido como queso “telita”, es un producto de consumo masivo en la población, fabricado en forma completamente artesanal, natural, de sabor suave, aspecto lechoso, bajo en sal, medianamente graso y de textura blanda. Es un queso sin madurar ya que está listo para el consumo poco después de su fabricación, y es considerado como “queso de pasta hilada” por su elaboración. Este queso blanco fresco es fabricado con leche de vaca, la cual es transportada sin refrigerar (30-35°C) hasta la quesera artesanal y allí es sometida al proceso de formación de la cuajada. El objetivo de este trabajo fue investigar los microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo “telita” de Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-Octubre 2008. Se analizaron 30 muestras de quesos artesanales tipo “telita” y se determinaron el recuento de estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*) según la Norma Venezolana COVENIN 1292-89 como indicador de manipulación, el número más probable (NMP) de bacterias coliformes según la Norma Venezolana COVENIN 1104-96 y la presencia de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal. Como resultado se obtuvo que no hubo presencia de *S. aureus*, todos los crecimientos bacterianos correspondieron a *Staphylococcus coagulasa* negativo y los recuentos mas elevados estuvieron en el orden de hasta  $10^4$  diluciones decimales; los Coliformes Totales mostraron recuentos elevados (desde  $10^3$  hasta  $\leq 10^5$ ) y los Coliformes Fecales desde 10 hasta  $\leq 10^4$  NMP/g. *Escherichia coli* estuvo presente en el 43,3% de los quesos analizados. Se concluye que el queso artesanal tipo “telita” que se expende en los alrededores de Upata, estado Bolívar, evidencia fallas en la manipulación e higiene posterior a su elaboración; y por no cumplir con la norma sanitaria, se considera un producto de alto riesgo microbiológico para el consumidor.

**Palabras Claves:** Queso blanco artesanal, *Staphylococcus aureus*, coliformes, coliformes fecales, *Escherichia coli*.



## INTRODUCCIÓN

La calidad de los alimentos es una característica compleja que determina su valor o aceptabilidad para el consumidor. Abarca atributos negativos como el estado de descomposición, contaminación con suciedad, decoloración y olores desagradables, y atributos positivos, como origen, color, aroma, textura y métodos de elaboración de los alimentos (FAO/OMS, 2003).

Asegurar alimentos sanos e inocuos, en el marco de sistemas alimentarios cada vez más complejos e interrelacionados con otros a través del comercio mundial de alimentos, requiere en la actualidad de grandes esfuerzos, coordinaciones y transformaciones significativas en la manera como tradicionalmente se ha abordado el aseguramiento de la calidad y la inocuidad alimentaria (Mercado, 2007).

La inocuidad de los alimentos es la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinen. Desde hace ya algunos años la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) vienen planteando la necesidad de un cambio de enfoque para afrontar importantes problemas relacionados con la inocuidad alimentaria en los países cuyos ejemplos más evidentes fueron las crisis alimentarias de Europa en la década de 1990 (casos de la enfermedad de la encefalopatía espongiforme bovina -EEB- y las contaminaciones con dioxinas). Sin embargo, más allá de esos episodios de gran impacto, preocupa enormemente el constante aumento de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) a nivel mundial (RCCM, 2005; Mercado, 2007).

Se entiende por ETA cualquier síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios y agua que contengan agentes etiológicos o metabolitos



producidos por ellos, en cantidades tales que afecten la salud del consumidor, a nivel individual y de grupos de población (OPS, 1991). Existe un creciente interés relacionado con las malas prácticas sanitarias en la preparación de alimentos y su relación con la producción de brotes alimentarios, siendo *Staphylococcus aureus* una de las principales causas de intoxicación alimentaria a nivel mundial (Dinges *et al.*, 2000).

Las ETA causadas por peligros microbiológicos constituyen un problema de salud pública importante y creciente. La mayoría de los países que cuentan con sistemas para la notificación de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos han documentado durante las últimas décadas aumentos significativos en la incidencia de enfermedades causadas por microorganismos en los alimentos, incluyendo *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* o *Escherichia coli* O:157, entre otros (FAO, 2002).

Los alimentos se pueden contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo. En estos últimos, las deficiencias en la manipulación de los alimentos por parte de aquellas personas responsables de su preparación determinan importantes problemas de salud pública, particularmente en los países en vías de desarrollo (Mercado, 2007).

El término manipulador de alimentos incluye a toda aquella persona que interviene en alguna de las fases de elaboración de una comida o que puede entrar en contacto directo con un producto alimenticio en cualquier etapa de la cadena alimentaria, desde la producción hasta el servicio. Uno de los principales riesgos de contaminación de los alimentos está en el personal que los manipula, debido a que las personas actúan como puente entre los microorganismos y los alimentos (Legomin y Arcia, 1997).



En el caso de la leche y sus derivados, los problemas relacionados con la transmisión de enfermedades infecciosas son menores cuando la población consume los productos pasteurizados o sometidos a algún procedimiento térmico. Sin embargo, en Venezuela, especialmente en las áreas rurales, donde prevalecen condiciones socioeconómicas precarias y existe una ausencia de hábitos de higiene, la población consume en su mayoría leche y productos lácteos sin ningún tipo de tratamiento térmico, por lo que el riesgo de contraer infecciones microbianas es alto (Andueza, 1993).

En Latinoamérica entre el año 1993 y 2002 se presentaron 719 brotes debido a infección estafilocócica que afectaron a 27693 personas de las cuales 3 fallecieron (INPPAZ – OPS/OMS, 1993-2002).

El Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos, del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ), informó que en el Perú entre los años 1993 y 2001 se registraron 12 brotes de enfermedades producidas por el consumo de productos lácteos, los cuales comprendieron 11,5% del total de casos de enfermedades transmitidas por alimentos en esos años. Estos brotes afectaron a 1278 personas (de ellas, 24 fallecieron). Entre sus agentes causales se encontraban *Salmonella enteritidis*. (30,2%), *S. typhi* (9,5%), *Staphylococcus aureus* (1,6%), *Shigella dysenteriae*. (1,6%), *Shigella sonnei* (1,6%) y otras enterobacterias (1,6%). En general, 58,7% de los brotes fueron causados por bacterias (INPPAZ, 2002).

Según la Oficina Panamericana de Salud (OPS), *S. aureus* ha sido el agente etiológico responsable del 35,3% de los brotes reportados en América Latina y el Caribe entre 1993 y 2002, y 53,2% de los brotes fueron reportados e investigados en Venezuela para el mismo período, siendo los quesos blancos el alimento principalmente involucrado (Sirveta, 2004; Rilla *et al.*, 2000).



Entre 1993 y el año 2000, solo en América Latina ocurrieron 191 brotes por intoxicación estafilocócica con 6433 afectados y 2 muertes. De estos brotes, 48 correspondieron a Venezuela, de los cuales, en 40 de ellos el queso fue el alimento involucrado, afectando a un gran número de personas (INPPAZ-OPS/OMS, 2000). Se estima que un alimento es de riesgo en la intoxicación alimentaria por *S. aureus*, cuando se confirma la presencia de alguna de sus enterotoxinas o tiene una carga del microorganismo igual o superior a  $10^5$  UFC/g (Center for Disease Control, 2000; Dinges *et al.*, 2000).

El *S. aureus* es encontrado en la piel y mucosas de los humanos (Figuroa *et al.*, 2002), y éstos pueden llegar a los alimentos de muchas fuentes, pueden contaminar los alimentos por conducto de quienes manejan o preparan los mismos que tengan infecciones piógenas agudas o por portadores sanos que los albergan en fosas nasales y garganta. Esta presencia en los alimentos se asocia a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas (Bauman, 1990; ICMSF, 1998). La prevalencia de portadores nasales en la población general venezolana es en promedio cercana a 37%, con un rango entre 19 y 55% (Valdiviezo *et al.*, 2006).

Los patógenos microbianos en alimentos, han sido confirmados como la causa principal de las enfermedades transmitidas por estos productos en Latinoamérica y El Caribe, destacando entre éstas, las infecciones por *Salmonella* y las intoxicaciones por cepas enterotoxinógenas de *S. aureus* (INPPAZ-OPS/OMS, 1997). El *S. aureus* es un microorganismo resistente, pudiendo sobrevivir a condiciones ambientales adversas. Son relativamente tolerantes al calor, a la desecación y a los medios con elevadas concentraciones de sal (Joklin *et al.*, 1999).

Desde el punto de vista microscópico, *S. aureus* son cocos Gram-positivos, inmóviles, con un diámetro de 0,8 a 1  $\mu\text{m}$  y una fuerte tendencia a agruparse en forma irregular, semejante a racimos de uvas, de donde deriva su nombre. Crece



rápidamente en medios de cultivo líquidos y sólidos, en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. En el agar las colonias son lisas, convexas, con un diámetro de 1 a 4 mm, de color beige a dorado (Pérez *et al.*, 2003). La mayoría de las cepas producen un halo de betahemólisis entre las 18 y 36 horas de cultivo en medios de agar-sangre. Se identifica en el laboratorio por resultar positivo a las pruebas de coagulasa, catalasa, desoxirribonucleasa y fermentación de manitol, entre otras. Poseen ácido teicoico en su pared celular y un ADN con contenido bajo en guanina-citosina (30-39%) (Joklin *et al.*, 1999; Prescott *et al.*, 1999).

La intoxicación alimentaria por estafilococos se conoce como estafiloenterotoxicosis o estafiloenterotoxemia y se produce como consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen toxinas preformadas. Los estafilococos una vez que llegan a los alimentos, si las circunstancias lo permiten, se multiplican y producen toxinas. La contaminación de los alimentos en la mayoría de los casos suele ocurrir después de ser cocidos, cuando no son conservados adecuadamente, lo que favorece la multiplicación de los estafilococos (Bécquer *et al.*, 1997).

*S. aureus* es una de las bacterias que con mayor frecuencia producen brotes alimentarios, dada su amplia distribución en la naturaleza así como su capacidad de producir diversas enzimas y toxinas (Archer y Young, 1988). Se incluyen dentro de estas últimas, diversas enterotoxinas termoestables, destacándose la enterotoxina A, la cual es extremadamente potente, una cantidad tan pequeña como 100 ng es suficiente para causar síntomas de intoxicación (Evenson *et al.*, 1988).

La producción de enterotoxinas se da bajo una gran gama de condiciones ambientales y de almacenamiento, especialmente en aquellas donde haya aerobiosis, actividad de agua ( $A_w$ ) superior a 0,85, un pH superior a 5,0 y baja competencia microbiana. Por otro lado, estas enterotoxinas son muy resistentes al calor y son



capaces de soportar tratamientos de cocción y hasta de esterilización (Vanderzant y Splittstoesser, 1995).

Otros microorganismos indicadores de calidad sanitaria lo constituye el grupo de los coliformes. Como alternativa para conocer la exposición del alimento a materia fecal, a través del tiempo se ha venido utilizando la investigación de coliformes fecales. Estos comprenden al grupo de coliformes que fermentan la lactosa con producción de gas a temperaturas elevadas (44°C-45,5 °C) en 48 horas; aunque es un término sin validez taxonómica, han sido ampliamente utilizados como indicadores de contaminación fecal reciente en alimentos procesados (Paille *et al.*, 1987).

La *Escherichia coli*, coliforme fecal, se encuentra de manera natural y exclusiva en el intestino de humanos y animales de sangre caliente, por lo que su detección en alimentos constituye la evidencia más segura de que han sido expuestos recientemente a materia fecal y, por ende, al riesgo de que otras cepas patógenas de *E. coli* u otros patógenos de hábitat intestinal estén presentes. Para la determinación de *E. coli* en alimentos, se han utilizado métodos de Número Más Probable (NMP/g o NMP/ml) y recuentos en placas con agares selectivos (UFC/g o UFC/ml). Ambos son largos (5-7 días) y costosos, por lo que se han introducido métodos basados en la reacción del 4 metil umberilferyl-D-glucuronido (MUG), lo cual permite la identificación específica de *E. coli* en tiempo corto (24 horas); sin embargo, su elevado costo limita el uso rutinario por parte de los laboratorios de control o por las empresas de alimentos (Ortiz y Ríos, 2006).

Entre otras especies, la familia *Enterobacteriaceae* está involucrada en las ETA, en especial la *E. coli*. Esta bacteria, como parte de la flora comensal del tubo digestivo, es eliminada por las heces al exterior. Es frecuente que se encuentre en el medio ambiente, donde es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los



alimentos, de manera que su aislamiento constituye un indicador de contaminación fecal reciente (Margall *et al.*, 1997; Gómez, 2002).

La *E. coli* es parte normal de la microflora anaerobia facultativa y uno de los principales agentes patógenos entéricos en el colon de animales y seres humanos. Todas las cepas *Lactobacillus acidophilus* son capaces de inhibir *E. coli*. El antagonismo promovido por las bacterias ácido-lácticas desempeña un papel importante en el arte de la alimentación, ya que está directamente relacionada con la capacidad de producir y tolerar una alta concentración de ácido láctico, lo que permite la inhibición de otros microorganismos, fomentar la competencia con ellos en un ecosistema (Chioda *et al.*, 2007).

La diferencia entre las intoxicaciones alimentarias causadas por microorganismos productores de toxinas y por agentes patógenos invasivos es importante desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Las enfermedades debidas a los microorganismos que forman toxinas como *S. aureus* tienen un período de incubación breve y se caracterizan por molestias gastrointestinales altas, como las náuseas y vómitos. En contraste, las intoxicaciones alimentarias debidas a microorganismos invasivos, como las *Enterobacteriaceae*, por lo común tienen un período de incubación más prolongado y se caracterizan por fiebre, escalofríos y molestias gastrointestinales bajas (Bécquer *et al.*, 1997).

Las características de humedad de algunos quesos blandos y la deficiente manipulación durante su comercialización, convierten al queso en un vehículo de alto riesgo para la salud de los consumidores, por el peligro latente de intoxicación (Díaz-Rivero y González, 2001).

El queso se define como un producto blando, semiduro, duro y extraduro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas del suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido de dos



formas: La primera, por coagulación total o parcial de leche y/o productos obtenidos de la leche por efecto del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación; la segunda, por técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la leche y/o productos obtenidos de leche y que dan un producto final que posee características físicas, químicas y organolépticas similares al obtenido por el primer método (COVENIN, 2000).

Los quesos de fabricación artesanal se elaboran a partir de leche cruda. En Venezuela, en la región de los Andes se elabora un queso ahumado en leña, fresco, con leche de vaca, de sabor ligeramente ahumado y poco ácido, sin la adición de cultivos iniciadores y la fermentación ocurre por un proceso natural. Es muy consumido a pesar de no elaborarse de manera industrial, y poco o nada se conoce de su flora microbiana. En ocasiones debido a los procedimientos poco higiénicos utilizados en la fabricación y al empleo de leche cruda de calidad microbiológica poco aceptable, se obtienen productos no uniformes y con una calidad higiénica inapropiada (Alvarado *et al.*, 2007).

Entre los quesos blancos que se elaboran en Venezuela, el queso blanco de pasta cocida, conocido como queso “telita”, es uno de los que más se consumen en el país. La gran demanda que posee este tipo de queso blanco elaborado en forma completamente artesanal, se debe a que es un producto natural, de sabor suave, aspecto lechoso, bajo en sal, medianamente graso y de textura blanda (Márquez y García, 2007).

En la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela, solo figura el *queso guayanés* y señala que cada 100 g de este queso poseen 54,5 g de humedad y 23,0 g de grasas; elevado contenido de agua y bajo contenido de grasa, solo superado por el queso de cabra fresco el cual posee más humedad y menos grasa que éste (INN,



1974). Investigadores culinarios señalan que son diferentes las características del queso guayanés, el queso de mano y el queso telita. Es un queso sin madurar ya que “está listo para el consumo poco después de su fabricación” (COVENIN, 2000) y la Norma Venezolana COVENIN 3822:2003 lo diferencia de los antes mencionados al considerarlo como “queso de pasta hilada” por su elaboración.

Este queso blanco fresco es elaborado con leche de vaca, la cual es transportada sin refrigerar (30-35°C) hasta la quesera artesanal y allí es sometida al proceso de formación de la cuajada, mediante la adición a la leche caliente (34°C) de cuajo comercial (enzimas del hongo *Mucor miehei*) y suero ácido. Una vez formada la cuajada, se realiza el desuerado con cortes sucesivos de la misma, la cuajada se separa del suero, el cual se mantiene a temperatura ambiente (30-35°C) por 12 a 24 horas hasta el momento de su uso, posteriormente se mezcla la cuajada con una solución de sal en un caldero (70-80°C) para la formación de la pasta y el hilado. La pasta formada se prensa manualmente con un cuchillo al mismo tiempo en que se realizan pliegues sucesivos y se desairea, luego se corta y se coloca en moldes cilíndricos para darle su forma típica (CEDRA, 2001).

El queso telita o queso blanco de pasta cocida, se vende sumergido en suero y es elaborado por pequeños productores en queseras artesanales, ubicadas en varios estados del país. Las deficientes condiciones sanitarias de producción, almacenamiento, transporte y comercialización para este producto, son causas importantes de contaminación con microorganismos entre los que pueden encontrarse *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* (Márquez y García, 2007).

Se debe considerar el “requisito microbiológico obligatorio” para este tipo de producto, es decir, al microorganismo o grupo de microorganismos que debe ser analizado y el incumplimiento de los límites establecidos para el número de muestras analizadas constituye una violación de la norma, ley o reglamento técnico y estará



sujeta a penalización por parte del organismo competente. Generalmente considera microorganismos patógenos de importancia para la salud pública, y en algunos casos debe considerar microorganismos no patógenos pero relevantes como indicadores o como responsables de deterioro en un alimento en particular y de acuerdo a su tecnología (COVENIN, 1998).

En los últimos años los quesos blancos frescos han estado involucrados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, atribuible principalmente al empleo de leche cruda como materia prima, a deficientes condiciones higiénicas durante la manufactura, transporte y almacenamiento, lo que aunado a las condiciones intrínsecas del producto, tales como su pH y actividad de agua, favorecen la subsistencia y multiplicación de los microorganismos presentes en el queso reduciendo así la vida útil del producto (CEDRA, 2000; Proyecto Abuela, 2003).

En Venezuela, el queso blanco fresco es uno de los alimentos de mayor consumo, encontrándose una cantidad importante del producto comercializado en el mercado, procedente de pequeños productores, quienes sin preparación técnica alguna, se aventuran a realizar esta actividad. Entre los errores que se cometen, destacan el empleo de materia prima inadecuada y sin ningún tratamiento de higienización, condiciones sanitarias inapropiadas durante el proceso, deficiente refrigeración en el producto terminado y ausencia de empaque acorde (Díaz y González, 2001).

Estudios sobre la calidad microbiológica de los quesos blancos frescos venezolanos de elaboración artesanal, indican que en más del 98% de las muestras analizadas, las poblaciones de *S. aureus* están por encima de los límites aceptables. Como se mencionó antes, en la elaboración de los quesos blancos frescos se emplea leche cruda y en muchos casos hay fallas en las buenas prácticas de manufactura (BPM), lo que explica que estos productos sean riesgosos para la salud de los



consumidores (Olarte *et al.*, 1997; Miró y Ríos, 1999; Ríos y Novoa, 1999), y sean el alimento involucrado en brotes de intoxicaciones alimentarias (Ríos y Novoa, 1999).

En la mayoría de los quesos artesanales que se elaboran con leche cruda, se fabrican sin la adición de cepas iniciadoras y por ello en ocasiones se presentan problemas para la salud. Para promover los quesos artesanales es necesario tener prácticas de manufactura estandarizadas y conocer las características finales del producto que se pueden lograr sólo después de una comprensiva e integrada caracterización de los perfiles químicos, microbiológicos y sensoriales (Freitas y Malcata, 2000). Estos cultivos iniciadores se definen como preparaciones que contienen microorganismos vivos aplicados con el objeto de hacer uso de su metabolismo microbiano (Hammes, 1990).

La pasteurización de la leche juega un papel fundamental en el control de bacterias patógenas, pero provoca una reducción importante de las poblaciones bacterianas naturales involucradas en la producción de quesos. Sin embargo, muchos productos tradicionales se elaboran con leche cruda y empleando las cepas iniciadoras naturales, lo que produce un amplio rango de productos con diferentes sabores, consistencias y calidades microbiológicas (Cogan *et al.*, 1997). Estos productos son considerados como “Premium” debido a sus características organolépticas, sin embargo, el uso de cultivos iniciadores selectos, necesario para favorecer las fabricaciones usualmente disminuye las características únicas del producto original (Caplice y Fitzgerald, 1999).

La búsqueda y obtención de cepas que posean características tecnológicas interesantes, tales como buena actividad acidificante o proteolítica, y que puedan sobrevivir en productos lácteos, quesos, suero, podría permitir el desarrollo de los procesos de fabricación manteniendo las características organolépticas de los quesos y otros productos lácteos fermentados (Baruzzi *et al.*, 2002).



La importancia del queso como alimento, en Venezuela y en todas las sociedades, radica en que representa una forma de consumo indirecto de leche, además, su tecnología es accesible y su valor nutritivo es alto. Los quesos son fuente de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, especialmente calcio, hierro y fósforo. Dentro de los tipos de quesos están los frescos, es decir no madurados, generalmente elaborados con leche cruda de vaca. Dentro de ese grupo está el queso “telita”, el cual es altamente consumido en el país (Sangronis y García, 2007).

La adopción del sistema de análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP) por la industria quesera es importante para asegurar la inocuidad del queso el cual es un producto biológico y bioquímicamente inestable (Sandrou y Arvanitoyannis, 2000). En Venezuela se realizó una evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración tipo Gouda, se evaluaron la leche cruda, pasteurizada, cuajada y queso, así como el agua de servicio, el ambiente, los equipos y las manos de los operarios, y se evidenciaron deficiencias en las prácticas de fabricación del queso (Dávila *et al.*, 2006).

El queso ha estado implicado como vehículo de ETA. En un estudio realizado sobre alimentos sospechosos de ocasionar incidentes de ETA en Venezuela desde 1989-1999, se halló que el agente causal encontrado con mayor frecuencia era el *S. aureus* y en la mayoría de los casos el queso estaba involucrado (Ríos y Novoa, 1999). También se ha estudiado la relación de *S. aureus* con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria en queso blanco fresco venezolano, semiduro, y se evidenció que la gran deficiencia higiénica representa un peligro latente como vehículo de intoxicación estafilocócica para el consumidor, a la par de otros riesgos relacionados con enfermedades originadas por agentes entéricos. En esta investigación, 98,61% se clasificaron como “rechazables” (Díaz-Rivero y González, 2001).



En Venezuela, la experiencia epidemiológica coloca a los quesos blancos duro, semiduro, blando, criollo, llanero, de cincho y pasteurizado, entre los vehículos que producen enfermedades alimentarias con mayor frecuencia, debido a su deficiente calidad microbiológica, siendo las asociaciones más frecuentemente encontradas las de quesos blancos artesanales con *S. aureus* (Ríos y Novoa, 1999; Miró y Ríos, 1999).

En otra investigación realizada para determinar la calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos, se encontró que ésta era deficiente por encontrarse microorganismos tales como *Salmonella sp*, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, *S. aureus* y su enterotoxina (Miró y Ríos, 1999).

Particularmente en queso blanco tipo “telita” de Venezuela, se evaluó la microflora patógena de este producto elaborado en los estados Aragua, Miranda, Guárico y Bolívar; y los resultados obtenidos para *S. aureus*, coliformes totales y *E. coli* revelaron un peligro potencial que sugiere la presencia de otros patógenos entéricos, así como ausencia de condiciones higiénicas, tratamiento inadecuado del producto y deficiente calidad microbiológica en general, considerándolo un producto de riesgo alimentario para la salud de la población (Márquez y García, 2007).

En la ciudad de Caracas, se estudió la calidad microbiológica de queso blanco tipo “telita” que se expendía en los mercados de esta ciudad y, los altos recuentos de coliformes totales, de *E. coli* y de *S. aureus* indicaron que el producto presentaba una deficiente calidad microbiológica, probablemente debida a malas prácticas de higiene durante su elaboración (Aray, 2002).

En el estado Bolívar se ensayó el efecto de la nisina como agente inhibitorio de *S. aureus* para lo cual se añadió a dos concentraciones al queso tipo “telita”, con respecto a muestras control, durante el proceso de elaboración en una quesera de



Upata. Se determinó que la nisina a esas concentraciones ejerce un importante efecto inhibitorio sobre la población de *S. aureus* presente como microflora contaminante, por lo que podría ser empleado, junto a buenas prácticas de manufactura, como un agente antimicrobiano natural en este tipo de queso. Las ventajas serían evidentes; inhibir el crecimiento y multiplicación de estos microorganismos, prevenir casos de intoxicaciones y prolongar la vida útil del queso (Márquez y García, 2007a).

Con la finalidad de conocer la calidad sanitaria a través de parámetros microbiológicos en este queso artesanal, se planteó esta investigación para determinar microorganismos indicadores de interés sanitario en el queso “telita” proveniente de Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar en los meses de Septiembre y Octubre de 2008.



## JUSTIFICACION

Las enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados han surgido como una causa importante de morbimortalidad a nivel mundial. Han sido descritos numerosos agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones y toxinas. Generalmente los microorganismos contaminan los alimentos en pequeñas cantidades, pero cuando encuentran en ellos las condiciones adecuadas para sobrevivir y multiplicarse pueden alcanzar los niveles necesarios para ser infectantes o producir la suficiente toxina para causar la enfermedad.

Los quesos elaborados con leche sin pasteurizar parecen estar asociados con brotes de intoxicaciones alimentarias con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque estos también pueden ocasionar toxiinfecciones por una inadecuada pasteurización de la leche o porque el queso hecho de leche pasteurizada se contamina posteriormente con microorganismos patógenos.

Estudios sobre la calidad microbiológica de los quesos blancos frescos venezolanos de elaboración artesanal indican que la mayoría de las muestras analizadas están por encima de los límites microbiológicos aceptables de *S. aureus* y de otros indicadores de calidad sanitaria. Por ser tan importante la presencia de microorganismos en los quesos que determina indirectamente las condiciones de higiene, manipulación y conservación de este producto de amplia distribución y consumo en la población de Upata, se planteó el estudio de microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo "telita". Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-Octubre 2008.



## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Investigar los microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo “telita”. Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-Octubre 2008.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* como indicador de manipulación en queso artesanal tipo “telita”.
2. Cuantificar los coliformes totales y fecales como indicadores de contaminación fecal queso artesanal tipo “telita”.
3. Establecer la presencia de *Escherichia coli* como indicador de contaminación fecal reciente en queso artesanal tipo “telita”.
4. Determinar la inocuidad del queso artesanal tipo “telita” según los criterios microbiológicos establecidos para este alimento.



## **METODOLOGÍA**

### **Tipo de Estudio**

La presente investigación fue de tipo descriptivo, transversal y de campo.

### **Universo**

Estuvo conformado por todos los tipos de quesos que se expenden en la población de Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar.

### **Muestra**

Estuvo formada por 30 unidades de quesos artesanales tipo “telita” que se expenden en la población de Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar.

### **Criterios de Inclusión**

- a) Que los quesos provengan de producción artesanal a baja escala.
- b) Que no hayan sido sometidos a ningún tratamiento térmico.

### **Materiales**

- Equipos e instrumentos:

Estufa marca Memmert.

Baño de María marca Memmert.

Balanza electrónica marca Citizen.



Contador de colonias.  
Pipetas graduadas, de 1ml y 10 ml.  
Placas de Petri descartables.  
Tubos de ensayo de 150 x 15 mm y 150 x 20 mm.  
Tubos de Durham o de fermentación de 10 x 75 mm.  
Mechero.  
Morteros de cerámica.  
Asa bacteriológica.  
Gradillas.  
Beakers.  
Marcadores.  
Guantes.

**Reactivos:**

Agua peptonada al 0,1%.  
Reactivo de Kovacs.  
Caldo lauril sulfato.  
Caldo Lactosa Bilis 2% Verde Brillante.  
Agar Baird Parker  
Telurito de potasio al 10%.  
Yema de huevo.  
Caldo cerebro corazón.  
Plasma de conejo.  
Agar DNAsa.



### **Procedimiento**

Se realizó un muestreo aleatorio en los diversos puntos de expendio al detal de los quesos artesanales tipo “telita” en la localidad de Upata. Se registró su lugar de fabricación, se trasladaron en sus envases originales, sin refrigeración, tal como lo hace el consumidor de estos quesos, y se procesaron en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Oriente-Núcleo Bolívar el mismo día de su muestreo (Apéndice A).

#### **a) Preparación de diluciones decimales (Norma Venezolana COVENIN 1126-89).**

Se tomaron porciones de diferentes sitios del producto para tener una muestra representativa. Se pesaron 10 g de queso tipo telita en balanza electrónica y se homogeneizó de manera manual en un mortero de cerámica. Se llevaron a un balón estéril que contenía 90 ml de agua peptonada al 0,1% (diluyente), así se obtuvo la dilución 1:10. Se prepararon diluciones decimales a partir de esta primera dilución, tres veces más, y se obtuvo las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ . Todas las determinaciones microbiológicas se le realizaron a todas las diluciones decimales, por duplicado.



**b) Determinación del Número Más Probable (NMP) de bacterias coliformes. 2da Revisión (Norma Venezolana COVENIN 1104-1996).**

**Coliformes totales**

De cada una de las diluciones preparadas se colocó 1 ml en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de caldo lauril sulfato triptosa y campana de Durham invertida. Se incubaron a 37°C por 24 horas. Luego de este periodo de tiempo se agitó suavemente cada tubo y se observó la aparición de gas y turbiedad, ambas apreciaciones simultáneamente indicaron positividad de la prueba. Se cuantificó este resultado según la Tabla de Probabilidad para Diluciones en Tubo (Anexo 1).

**Coliformes fecales**

Se agitaron suavemente los tubos positivos de la prueba anterior, y se procedió a tomar una asada del cultivo a dos tubos que contenían caldo lactosa bilis (2%) verde brillante, con tubo de fermentación invertido, y además a un tubo con agua de peptona al 0,1%. Se incubaron en Baño de María a 44°C durante 24 horas. Finalizado el período de incubación, se consideraron como tubos positivos para coliformes fecales aquellos donde se observó la aparición de gas y turbiedad del medio de cultivo.

**Escherichia coli**

De los tubos positivos para coliformes fecales, se tomó su respectivo tubo con agua peptonada y se añadieron de 2 a 3 gotas de reactivo de Kovacs. La aparición de un anillo rojo en la superficie del líquido indicó presencia de *Escherichia coli*.



**c) Recuento de estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*)  
Norma Venezolana COVENIN 1292-89)**

Se vertió agar Baird Parker en placas que contenían 0,1 ml de yema de huevo y 3 gotas de telurito de potasio al 10%. Se dejó solidificar la placa con la preparación y se colocó en su superficie 1 ml de la dilución respectiva, llevando a cabo una siembra en superficie. Se incubaron a 35°C-37°C durante 30 a 48 horas. A las 30 h, en aquellas placas con colonias entre 20 y 200, se contaron todas las que eran negras, brillantes y rodeadas de un halo claro, y se marcó su posición. Se continuó la incubación hasta completar las 48 h y se contaron todas las colonias, con y sin halo de aclaración. Se confirmaron las colonias sospechosas de estafilococos coagulasa positivos con la prueba de la coagulasa y la DNAsa.

**- Prueba de producción de coagulasa:**

Se pasaron las colonias sospechosas a tubos con caldo infusión cerebro corazón y se incubaron de 20 a 24 horas a 35°C-37°C. Se llevó 0,1 ml del cultivo anterior a tubo 10x75 mm que contendría plasma de conejo e incubó a 35°C-37°C.

A las 4 h se examinaron los tubos para determinar la presencia de coágulo, se incubaron de nuevo y se volvieron a revisar a las 24 h.

**- Prueba de DNAsa:**

Se inoculó el medio DNAsa con una asada bacteriana de la colonia en estudio formando una línea, se probó cada colonia sospechosa en la línea. Se incubó a 35°C-37°C por 24 h. La prueba se consideró positiva al observar aclaración del medio alrededor del crecimiento bacteriano.



### **- Método Estadístico**

Los datos se presentaron en tablas de distribución de frecuencia absolutas y porcentuales y/o datos de asociación correspondientes para lo cual se usó el programa Excel.



## RESULTADOS

En el presente trabajo se investigó la presencia de microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo “telita” de Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar durante el período Septiembre-Octubre 2008. Para ello, se prepararon diluciones decimales del queso y se realizaron determinaciones para *Staphylococcus*, como indicadores de manipulación; recuentos de coliformes totales y fecales, así como presencia de *E. Coli*, como indicadores de contaminación fecal. Todos los procedimientos se llevaron a cabo según Normas Venezolanas COVENIN para cada caso.

En la Tabla 1 se muestran los recuentos de *Staphylococcus* en queso artesanal tipo “telita”, expresados en UFC/g de alimento, y se observa que en los quesos evaluados no se determinó presencia de *Staphylococcus* coagulasa positivo, cuyo exponente es el *S. aureus*. Todos los crecimientos bacterianos correspondieron a *Staphylococcus* coagulasa negativo y los recuentos más elevados estuvieron en el orden de hasta  $10^4$  diluciones decimales ( $>10^3 - \leq 10^4$ ), esto representó el 46,7 % (n=14) del total de las muestras de queso.

En la Tabla 2 se expone el recuento de los Coliformes totales y fecales en queso artesanal tipo “telita”, expresados en NMP/g de queso. Se observa que todas las muestras presentaron Coliformes Totales; en general, un 20% (n=6) de éstas mostraron recuentos elevados (desde  $10^3$  hasta  $\leq 10^5$ ) y los máximos valores que se ubican en el rango de hasta  $10^5$  diluciones decimales ( $>10^4 - \leq 10^5$ ) representaron un 10% (n=3) de la muestra total. En cuanto a Coliformes Fecales, sólo en una muestra hubo ausencia de éstos, corresponde al 3,3% (n=1) de los quesos; en el resto de las



mismas estuvieron presentes, llegando a valores máximos de hasta  $10^4$  diluciones decimales ( $>10^3 - \leq 10^4$ ).

En la Tabla 3 se muestra la frecuencia de *Escherichia coli* en queso artesanal tipo “telita” y se aprecia que el 43,3% (n=13) de los quesos estaban contaminados con este microorganismo indicador de contaminación fecal reciente.

Con relación a la inocuidad del queso artesanal tipo “telita”, según los criterios microbiológicos establecidos para quesos frescos, se encontró que la ausencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras ubica a este alimento dentro del rango aceptable, ya que el criterio establece de hasta  $10^3$  UFC/g para este microorganismo. En cuanto a Coliformes Totales y su subgrupo los Coliformes Fecales, incluyendo a *E. coli*, los recuentos obtenidos están por encima de la norma sanitaria, la cual indica hasta  $10^3$  NMP/g y hasta  $10^1$  NMP/g respectivamente, esto pone en entredicho la inocuidad de este producto artesanal.

**Tabla 1**

Recuento de Staphylococcus en queso artesanal tipo “telita”. Upata,  
Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-October 2008

<b>Rangos UFC/g</b>	<b>Staphylococcus Coagulasa negativo</b>		<b>Staphylococcus Coagulasa positivo</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
0	1	3,3	30	100
> 0 - $\leq 10$	0	0	0	0
> 10 - $\leq 10^2$	2	6,7	0	0
> $10^2$ - $\leq 10^3$	4	13,3	0	0
> $10^3$ - $\leq 10^4$	14	46,7	0	0
> $10^4$ - $\leq 10^5$	9	30	0	0
<b>TOTAL</b>	30	100	30	100

**n:** número de muestras

**%:** porcentaje

**Tabla 2**

Recuento de coliformes totales y coliformes fecales en queso artesanal tipo “telita”.  
Upata, Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-Octubre 2008

Rangos NMP/g	Coliformes Totales		Coliformes Fecales	
	n	%	n	%
	0	0	0	1
> 0 - ≤10	4	13,4	5	16,7
> 10 - ≤10 <sup>2</sup>	10	33,3	10	33,3
> 10 <sup>2</sup> - ≤10 <sup>3</sup>	10	33,3	11	36,7
> 10 <sup>3</sup> - ≤10 <sup>4</sup>	3	10	3	10
> 10 <sup>4</sup> - ≤10 <sup>5</sup>	3	10	0	0
<b>TOTAL</b>	30	100	30	100

**n:** número de muestras      **%:** porcentaje

**Tabla 3**

Frecuencia de *Escherichia coli* en queso artesanal tipo “telita”. Upata,  
Municipio Piar, Estado Bolívar. Septiembre-Octubre 2008

<i>Escherichia coli</i>	Frecuencia	
	n	%
Ausencia	17	56,7
Presencia	13	43,3
<b>TOTAL</b>	30	100

**n:** número de muestras      **%:** porcentaje



## DISCUSIÓN

Los análisis microbiológicos de los alimentos son una herramienta eficaz para establecer la aceptabilidad de un producto o de su proceso de elaboración. La interpretación adecuada de los resultados de laboratorio obtenidos en Microbiología debe conducir a establecer si el alimento es apto o no para su consumo, tomando en cuenta los criterios microbiológicos que determinan la norma sanitaria para el producto. Ríos y Novoa (1999) señalan que en Venezuela el principal agente causal de enfermedades transmitidas por alimentos es el *S. aureus*, asociado principalmente con quesos blancos de elaboración artesanal y distribuidos en condiciones deficientes de refrigeración.

En esta investigación, *S. aureus* estuvo ausente en los quesos analizados; esto se ajusta al criterio microbiológico que establece su aceptabilidad si los recuentos se encuentran por debajo de  $10^3$  UFC/g. La inocuidad de estos quesos no se enuncia con una sola determinación microbiológica, el perfil higiénico sanitario debe evaluarse conjuntamente con los demás resultados.

La ausencia de *S. aureus* difiere de las investigaciones realizadas en queso “telita” por Díaz-Rivero y González (2001) quienes detectaron este microorganismo en 69,44% de las muestras estudiadas en la ciudad de Mérida y con recuentos promedio de  $1,5 \times 10^3$  UFC/g. Similares resultados los obtuvo Aray (2002) en muestras de queso blanco tipo “telita”, sin especificar su origen, expandidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas. De igual modo, Márquez y García (2007, 2007a) señalaron que los valores de *S. aureus* obtenidos en queso “telita” del estado Bolívar estaban por encima de  $10^7$  UFC/g y de  $10^6$  UFC/g respectivamente.



El hallazgo de *Staphylococcus coagulasa* negativos en los quesos evaluados, coincide con los resultados obtenidos por Lemus *et al.* (2008) quienes analizaron queso blando de fabricación artesanal del estado Anzoátegui y hallaron predominio de estafilococos coagulasa negativos (67,7%) sobre los coagulasa positivos (32,2%). Los criterios microbiológicos no señalan límites máximos para estafilococos coagulasa negativos, en vista de que no son productores de toxina estafilocócica. La contaminación bacteriana por especies del género *Staphylococcus* en queso “telita” elaborado artesanalmente se ve favorecida por el uso de las manos en la elaboración del producto. Generalmente, estos microorganismos se eliminan durante la cocción y su presencia en el producto terminado obedece a contaminación post-elaboración, a conservación inadecuada del mismo.

Con respecto a los Coliformes Totales de esta investigación, se pudo observar que un 20% de los quesos mostraron valores de hasta  $10^5$  NMP/g, por encima del criterio microbiológico (máximo  $10^3$  NMP/g); Coliformes Fecales con recuentos máximos de hasta  $10^4$  diluciones decimales, superando también los límites microbiológicos establecidos ( $10^1$  NMP/g) en 80% de las muestras. Además, con 43,3% de quesos con presencia de *Escherichia coli*.

Los recuentos de coliformes en queso “telita” coinciden con los resultados de Díaz-Rivero y González (2001) quienes señalaron que los quesos evaluados por ellos excedían el criterio microbiológico para Coliformes Totales y Fecales en 97,22% y 98,61 %, respectivamente. De igual modo, Márquez y García (2007) señalaron recuentos de Coliformes Totales mayores a  $10^8$  UFC/g en 44% de queso “telita” del estado Bolívar y en 64% de quesos de Guárico. Recuentos más bajos, pero también excediendo la norma, en quesos de los estados Aragua y Miranda. Márquez y García (2007a) los reportaron en valores de hasta  $10^6$  diluciones decimales.



La presencia de *E. coli* en esta investigación coincide con los resultados de Aray (2002), el cual señaló una incidencia de 20% de este microorganismo en queso “telita” expendido en la ciudad de Caracas. A su vez, Márquez y García (2007, 2007a) reportaron recuentos mayores de  $10^6$  UFC/g en 64% de muestras de queso, y de hasta  $10^4$  UFC/g respectivamente, todas pertenecientes a queseras de Upata en el estado Bolívar.

La existencia de Coliformes Totales en las muestras de queso, tal como se evidenció en esta investigación, no implica necesariamente presencia de materia fecal en el alimento o presencia de patógenos entéricos, indica más bien contaminación post-proceso térmico como pueden ser fallas en la refrigeración. Es sabido que en los expendios al detal del queso “telita”, el producto se encuentra a temperatura ambiente y muchas veces a temperaturas superiores, cuando el mismo se ubica a orillas de la carretera en los alrededores de Upata. Por su parte, la presencia de Coliformes Fecales y *E. coli* indican potencial contaminación fecal y puede sugerir la presencia de otros microorganismos patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud, por ejemplo *Salmonella* spp. Sin embargo, la ausencia de *E. coli* no asegura ausencia de patógenos entéricos.

*E. coli* se puede eliminar fácilmente mediante procesos térmicos, y en la preparación del queso “telita” se requiere el uso de temperaturas de hasta 80°C. Su presencia en el producto terminado sugiere dos condiciones, que el proceso térmico haya sido deficiente o que este microorganismo llegue al producto por contaminación posterior. Su sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud porque algunas cepas son productoras de toxinas que pueden permanecer preformadas en el alimento.

En esta investigación se determinaron organismos indicadores para evaluar la inocuidad microbiológica del producto, en este caso del queso “telita”, y revelan las



condiciones a las que ha sido expuesto el mismo, se asocian con la vida útil y con la alteración del producto. En la interpretación de un análisis microbiológico deben tomarse en cuenta la calidad de la materia prima, las medidas higiénicas en su elaboración, la posible contaminación del producto terminado y del ambiente, así como tener conocimiento del proceso tecnológico.



## CONCLUSIÓN

- El queso “telita” cumple con las especificaciones sanitarias para los contajes de *S. aureus*.
- La carga microbiana de coliformes, que supera los criterios microbiológicos para este alimento, indica que el producto se contaminó luego del proceso de elaboración.
- Las muestras de queso analizadas poseen residuos de materia fecal, por la presencia de *E. coli*.
- El queso artesanal tipo “telita” que se expende en los alrededores de Upata, por no cumplir con la norma sanitaria, se considera un producto de alto riesgo microbiológico para el consumidor.



## RECOMENDACIONES

- Implementar programas para optimizar la higiene de los manipuladores del queso artesanal tipo “telita” fabricado en Upata, tanto en el proceso de elaboración como en los sitios de distribución.
- Orientar a los manipuladores sobre los riesgos a la salud de consumidores al ingerir alimentos con elevada carga microbiana.
- Implementar el uso de aditivos, preservantes y/o antibióticos naturales como por ejemplo la adición de concentraciones de nisina en queso blanco tipo “telita”, que actúa como un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento y multiplicación de los *Staphylococcus*.
- Monitorear las diferentes queseras donde se elabora este tipo de queso, y establecer sistemas de control microbiológico antes, durante y después de la elaboración del producto.
- Realizar campañas de educación y concientización sobre hábitos higiénicos y medidas de prevención contra las infecciones transmitidas por el queso.



## BIBLIOGRAFIA

- Alvarado, C., Chacón, Z., Rojas, J., Guerrero, B., López, G. 2007. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal-su uso como cultivo iniciador. RC. 17(3):301-308.
- Andueza, F. 1993. Enfermedades de origen microbiano transmitidas por los alimentos. Curso de Microbiología de Alimentos. Sociedad Venezolana de Microbiología. Mérida, Venezuela. Pp 23.
- Aray, C. 2002. Calidad microbiológica del queso blanco venezolano tipo “Telita”. Trabajo de Especialización. Dpto. de Postgrado. Universidad Simón Bolívar. Caracas. Venezuela. Pp 38 (Multígrafo).
- Archer, D.I., Young, F. 1988. Contemporary issues: disease with a food vector. Clin Microbiol Rev. 1(4):377-398.
- Baruzzi, F., Matarane, A., Morea, M., Cocconcelli, P.S. 2002. Microbial community dynamics during the Scamorza Altamura cheese natural fermentation. J Dairy Sci. 85(6):1390-1397.
- Bauman, H. 1990. HACCP: Concept, development and application. Food Technol. 44(5): 174-178.
- Bécquer, A., Leyva, V., Lara, C., Mota, L. 1997. *Staphylococcus aureus*, actividad termoneucleasa y enterotoxinas en alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr. 11(2):89-93.



- Caplice, E. y Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol.* 50(1-2):131-149.
- CEDRA. 2000. Manual manipulación higiénica de la leche y los productos lácteos. Centro Experimental de Recursos Autóctonos. p 20.
- CEDRA. 2001. Definición del proceso, protocolo de producción, entrenamiento y detalles técnicos del queso telita. [En línea]. Disponible en: <http://www.cedraweb.net/telita/index.html> [Marzo 2001].
- Center for Disease Control (CDC). 2000. Guidelines for confirmation of Foodborne-Disease Outbreaks. *Morb. Mort. W. Report.* [Serie en línea]. 49:54-62. Disponible: [www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml) [Mayo 2008].
- Chioda, T.P., Schocken, R.P., GarciaI, G., PigattoI, C., Martins, C.A., Ferreira V.A. 2007. La inhibición de crecimiento de *Escherichia coli* aisladas de Quesos "Minas Frescal" por *Lactobacillus acidophilus*. *Cienc Rural.* 37(2):583-585.
- Cogan, T.M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P.S., Fernandes, I., *et al.* 1997. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J. Dairy Res.* 64:409-421.
- COVENIN.89. Norma Venezolana N° 1126. Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- COVENIN.89. Norma Venezolana N° 1292. Alimentos. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Fondonorma. Caracas, Venezuela.



- COVENIN.1996. Norma Venezolana N° 1104. Alimentos. Determinación del número más probable (NMP) de coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli*. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
  
- COVENIN. 1998. Norma Venezolana N° 409. Alimentos. Principios generales para el establecimiento de criterios microbiológicos. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
  
- COVENIN. 2000. Norma Venezolana N° 1813. Norma general de quesos (2da revisión). Fondonorma. Caracas, Venezuela.
  
- COVENIN.2003. Norma Venezolana N° 3822. Queso de pasta hilada. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
  
- Dávila, J., Reyes, G., Corzo, O. 2006. Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una industria venezolana. ALAN. 56(1):51-59.
  
- Díaz, C. y González, B. 2001. Evaluación de la Calidad Microbiológica del Queso Blanco Fresco, de Venta en Mérida. Memorias XXIV. Jornadas Venezolanas de Microbiología. p. 29.
  
- Díaz-Rivero, C. y González, B. 2001. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. RESPYN. 2(3):1-9.
  
- Dinges, M., Orwin, P., Schlievert, P. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 13(1):16-34.



- Evenson. M., Hinds, M., Bernstein, R., Abergdoll, M. 1988. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin a from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *Int J Food Microbiol.* 7(4):311-316.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2002. Información estadística sobre enfermedades transmitidas por los alimentos en Europa peligros microbiológicos y químicos. [En línea]. Disponible:  
[http://www.fao.org/documents/pub\\_dett.asp?lang=en&pub\\_id=70184](http://www.fao.org/documents/pub_dett.asp?lang=en&pub_id=70184)  
[Febrero 2002].
- FAO-OMS. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación- Organización Mundial de la Salud. 2003. Garantía de la Inocuidad y Calidad de los Alimentos: Directrices para el Fortalecimiento de los Sistemas Nacionales de Control de los Alimentos. Roma: FAO, Estudios Alimentación y Nutrición, 76. [En línea]. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/006/y8705s/y8705s00.htm> [Marzo 2003].
- Figueroa, G., Navarrete, M., Caro, M., Troncoso., Faúndez, G. 2002. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. *Rev Med Chile.* 130(8):859-64.
- Freitas, C. y Malcata, F.X. 2000. Microbiology and biochemistry of cheeses with appellation d'origine protégée and manufactured in the Iberian Peninsula from ovine and caprine milks. *J Dairy Sci.* 83(3):584-602.
- Gómez, A. 2002. Síndrome diarreico agudo: Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico. *Rev Chil Infect.* 19(2):101-113.



- Hammes, W. 1990. Bacterial starter cultures in food production. Food Biotechnol. 4:389-397.
- ICMSF. 1998. Microorganisms in foods. Their significance and methods of enumeration. University of Toronto Press. Toronto – Canadá. Pp 250.
- INN. Instituto Nacional de Nutrición. 1974. Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Publicación N° 50. Serie Cuadernos Azules. Caracas-Venezuela.
- INPPAZ-OPS/OMS. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis – Organización Panamericana de la Salud. 1997. Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en Latinoamérica y el Caribe.1995-1997. [En línea]. Disponible en: [www.inppaz.org.ar/manupal/INFTEC/FOS/VETA/comhal/pres\\_paz.htm](http://www.inppaz.org.ar/manupal/INFTEC/FOS/VETA/comhal/pres_paz.htm) [Septiembre 1997].
- INPPAZ-OPS/OMS. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis – Organización Panamericana de la Salud. 2000. Sistema de Información Regional para la Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos: Brotes de Intoxicación estafilocócica.1993-2000. [En línea]. Disponible en: [www.inppaz.org.ar/Salida2.asp?frm.AnDesde=1993&frm.AnHasta=2000&frm.Pais=Todos&frm.Enfermedad=Intox+estafilococcica&frm.Alimento=Todos&frm.Local=T](http://www.inppaz.org.ar/Salida2.asp?frm.AnDesde=1993&frm.AnHasta=2000&frm.Pais=Todos&frm.Enfermedad=Intox+estafilococcica&frm.Alimento=Todos&frm.Local=T)[Junio 2000].
- INPPAZ-OPS/OMS. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis – Organización Panamericana de la Salud. Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. 1993–2002. [En línea]. Disponible:



[http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb\\_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&rmPais](http://www.panalimentos.org/sirveta/e/grafb_02.asp?frmAnDesde=1993&frmAnHasta=2002&rmPais) [Mayo, 2008].

- INPPAZ. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis. 2002. Sistema regional de información para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. Buenos Aires: Panalimentos OPS/OMS. [En línea]. Disponible en: <http://www.panalimentos.org/sirveta/e/index.htm> [Mayo, 2008].
- Joklin, W., Willet, H., Amos, DB., Wilfert, C., Zinsser. 1999. Microbiología. 20 ed. Buenos Aires. Edit Médica Panam. Pp. 575.
- Legomin, M. y Arcia, J. 1997. Riesgos en la venta de alimentos en las calles. Rev Cubana Aliment Nutr. 11(2):79-83.
- Lemus, D., Maniscalchi, M., Hassoun, M., Vizcaya, H. 2008. Estafilococos oxacilino resistentes en queso blanco fabricado en el Estado Anzoátegui, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 28(1):48-54.
- Margall, N., Dominguez, A., Prats, G., Sallera, L. 1997. *Escherichia coli* enterohemorrágica. Rev Esp Sal Púb. 5:71-75.
- Márquez, J.G. y García, C.E. 2007. Microflora patógena del queso blanco telita elaborado en cuatro estados de Venezuela. An Venez Nutr. 20(1):17-21.
- Márquez, J.G. y García, C.E. 2007a. Efecto de la nisina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo "telita" elaborado en una quesera de Upata, Estado Bolívar, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol. vol.27(2):108-111.



- Mercado, C. 2007. Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalim.* 12(24):119-131.
  
- Miró, A. y Ríos, M. 1999. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos, analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Período: Enero 1988 a Junio 1998. *Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel"*. 30: 14-20.
  
- Olarte, C., Sanz, S., Gutiérrez, A., Torre, P. 1997. Control higiénico-sanitario del queso de carneros y detección de puntos de contaminación microbiana en superficies y equipos. *Alimentaria.* 5(3):41-44.
  
- OPS. Organización Panamericana de la Salud. 1991. Principios de Epidemiología para la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. M.S.A.S. Caracas, Venezuela.
  
- Ortiz, M. y Ríos, M. 2006. Comparación de los métodos Petrifilm™ coliformes y Número Más Probable (NMP) para la determinación de coliformes fecales en muestras de queso blanco. *INHRR.* 37(2):15-18.
  
- Paille, D., Hackney C., Reily L., Cole M., Kilgen. M. 1987. Seasonal variation in the fecal coliform population of Louisiana oysters and its relationship to microbiological quality. *J. Food Protect.* 50 (7):545-549.
  
- Pérez, M., Brito, A., Hurtado, P., Landaeta, J., Guzmán, M., Carmona., O. 2003. Cambios en la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos en centros clínicos del Area Metropolitana de Caracas, Venezuela. Período 1995-2002. *Rev Soc Ven Microbiol.* 23(2):190-195.
  
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein D. 1999. *Microbiología.* 4 ed. Madrid. Edit Mc Graw Hill Interam. Pp. 523.



- Proyecto Abuela. Folleto de Elaboración Queso fresco. [En línea] Disponible en: <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/0539s/pnw0539s> [Mayo, 2008].
- RCCM. Reglamento Centroamericano de Criterios Microbiológicos de los Alimentos Procesados. 2005. [En línea]. Disponible en: [http://www.reglatec.go.cr/descargas/reglamentoArmonizado\\_v2.pdf](http://www.reglatec.go.cr/descargas/reglamentoArmonizado_v2.pdf) [Abril 2005].
- Rilla, N., Martínez, B., Rodríguez, A. 2000. Inhibition of a Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain in "Afuega'l Pitu" cheese by nisin Z-producing *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* IPLA 729-2004. J Food Prot. 67(5):928-933.
- Ríos, M. y Novoa, M.L. 1999. Apoyo del Departamento de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) a la investigación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel" 30:8-13.
- Sandrou, D.K., Arvanitoyannis, I.S. 2000. Application of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the cheese-making industry: a review. Food Rev Int. 16(3):327-368.
- Sangronis, E. y García J. 2007. Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita". An Ven Nutr. 20(1):12-16.
- Sirveta. 2004. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en América Latina desde 1993 hasta 2003. Sistema Regional de Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos (INPPAZ) OPS/OMS. [En línea]. Disponible: [http://www.panalimentos.org/sirveta/e/report\\_eta01.asp](http://www.panalimentos.org/sirveta/e/report_eta01.asp) [Mayo 2008].



- Valdiviezo, N., Villalobos, L., Martinez, R. 2006. Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumaná – Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 26(2):95-100.
  
- Vanderzant, C. y Splittstoesser, D. 1995. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington DC. Pp 590.



## **ANEXO**



**TABLAS DE PROBABILIDAD PARA LA DETERMINACION  
DEL NÚMERO DE BACTERIAS POR LA TECNICA DE LAS  
DILUCIONES EN TUBO**

Valores del NMP para 2 tubos inoculados a partir  
de tres diluciones decimales sucesivas

<b>Número de tubos positivos observados en cada dilución</b>			
<b>1° dilución</b>	<b>2° dilución</b>	<b>3° dilución</b>	<b>NMP de microorganismos por ml de la 1° dilución</b>
0	0	0	0
0	0	0	0,45
0	1	1	0,46
1	0	0	0,6
1	0	1	1,2
1	1	0	1,3
1	1	1	2,0
1	2	0	2,1
2	0	0	2,3
2	0	1	5,0
2	1	0	6,2
2	1	1	13
2	1	2	21
2	2	0	24
2	2	1	70
2	2	2	100+

Fuente: Harrigan, 1979.



## **APENDICE**

