



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE PASTEURIZADA COMERCIALIZADA EN SUPERMERCADOS DE MÉRIDA-VENEZUELA

Gutiérrez María Gabriela¹; Salah Tarek²; Andueza Félix^{1,3}, Lugo Ángela¹

1. Departamento de Bioanálisis Clínico. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
2. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
3. Escuela de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleo y Ambiental. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador.

CORRESPONDENCIA: María Gabriela Gutiérrez. Departamento de Bioanálisis Clínico. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Teléfono: 58-274-240.3494
Email: mggutierrez239@gmail.com

RESUMEN

Evaluar la calidad microbiológica de leche pasteurizada y leche UHT (ultra high temperature) saborizada comercializada en supermercados de la ciudad de Mérida, situada en la cordillera de Los Andes, al noroeste de Venezuela, en Julio del 2017. Métodos: El presente estudio es de enfoque cuantitativo, tipo descriptivo y diseño experimental transversal. Se realizó un muestreo aleatorio estratificado en supermercados seleccionados del municipio Libertador. Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas, coliformes, mohos, determinación presuntiva de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* se hizo en medios de cultivo específicos para cada grupo microbiano. La identificación de las cepas bacterianas aisladas se realizó acorde a lo indicado por MacFaddin (2003), complementadas con sistemas API[®]. Los recuentos promedio de los indicadores de calidad sanitaria en leche pasteurizada entera indican bacterias aerobias mesófilas $7,4 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes totales $4,9 \times 10^1$ UFC/mL y mohos $0,5 \times 10^1$ UFC/mL. En leche pasteurizada desnatada los valores promedio fueron bacterias aerobias



mesófilas $7,2 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $8,1 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes fecales $7,5 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,8 \times 10$ UFC/mL. En leche UHT saborizada sólo se detectaron bacterias aerobias mesófilas $3,8 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,1 \times 10$ UFC/mL. No se detectó presencia de *S. aureus* ni *P. aeruginosa* en ninguna de las muestras de leche analizadas. En leche pasteurizada se identificaron 3 cepas Gram negativas correspondientes a *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp. y *Escherichia coli*. Se evidenció que la leche pasteurizada entera y leche UHT saborizada cumplen con los requisitos de calidad microbiológica, mientras que la leche pasteurizada desnatada se considera inaceptable para su consumo.

PALABRAS CLAVE: Análisis de los alimentos, bacterias, control de calidad.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PASTEURIZED MILK SOLD IN SUPERMARKETS IN MERIDA-VENEZUELA

ABSTRACT

The purpose of the work was to evaluate the microbiological quality of pasteurized milk and flavored UHT (ultra high temperature) milk commercialized in supermarkets in Merida city, located on the Andes mountain range, northwest of Venezuela, in July 2017. Methods: The present study is quantitative approach, descriptive type, and experimental cross-sectional design. A stratified random sampling was carried out in selected supermarkets in the Libertador municipality. The counts of mesophilic aerobic bacteria, coliforms, molds, presumptive determination of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were made in specific culture media for each microbial group. The identification of the isolated bacterial strains was carried out according to that indicated by MacFaddin (2003), supplemented with API® systems. The average counts of the sanitary quality indicators in whole pasteurized milk indicate mesophilic aerobic bacteria 7.4×10^2 CFU/mL, total coliforms 4.9×10 CFU/mL and molds 0.5×10 CFU/mL. In pasteurized skimmed milk the average values were mesophilic aerobic bacteria 7.2×10^4 CFU/mL, total coliforms 8.1×10^2 CFU/mL, fecal coliforms 7.5×10 CFU/mL



and molds 0.8×10^6 CFU/mL. In flavored UHT milk, only 3.8×10^6 CFU/mL aerobic mesophilic bacteria and 0.1×10^6 CFU/mL mold were detected. No presence of *S. aureus* or *P. aeruginosa* was detected in any of the milk samples analyzed. It was possible to identify from pasteurized milk, 3 Gram negative strains corresponding to *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp. and *Escherichia coli*. Show that pasteurized whole milk and flavored UHT milk meet the microbiological quality requirements, while pasteurized skim milk is considered unacceptable for consumption.

KEYWORDS: Food analysis, bacteria, quality control.

INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es un alimento ampliamente consumido debido a su gran valor nutricional y versatilidad culinaria. Su contenido de nutrientes, aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales y su elevado contenido de agua hacen de este producto un excelente medio para el crecimiento de microorganismos, incluyendo patógenos bacterianos que pueden causar enfermedades en los consumidores. Este alimento, desde el momento de su síntesis en las glándulas mamarias del ganado vacuno, su recolección, transporte, almacenamiento y hasta el momento de su llegada al consumidor final, se encuentra expuesto a numerosos riesgos biológicos y fisico-químicos que pueden alterar no solamente

su calidad nutricional original, sino también sus características organolépticas y la inocuidad esperada durante su consumo (1, 2, 3, 6, 30).

El consumo de derivados lácteos de calidad microbiológica inadecuada se ha asociado a la ocurrencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en diversos países del Mediterráneo, el subcontinente indio, regiones de África, América Latina y Central. Algunos microorganismos causantes de diarrea y transmitidos por el consumo de alimentos contaminados son *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* sp., *Shigella* spp. y *Staphylococcus aureus*. Además de esto, los psicrotrofos, especialmente del género



Pseudomonas, constituyen un importante grupo microbiano causante de alteración de los productos lácteos debido a su capacidad de producir enzimas proteolíticas y lipolíticas termoestables (1, 2, 3, 4, 5).

En Venezuela, los principales centros productores de leche se localizan geográficamente en los estados del occidente del país, tales como Zulia, Trujillo y Mérida, que en conjunto aportan diariamente un estimado de 490.000 Litros destinados a la industria láctea (6). El procesamiento tecnológico industrial de este alimento prolonga su vida útil y da lugar a derivados con distinto porcentaje de grasa, que pueden contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionales necesarios para su elaboración.

Algunos de los productos lácteos más ampliamente comercializados son la leche pasteurizada entera, desnatada y leche saborizada. Esta última clase de leche es una variedad comercial resultante de la pasteurización de la leche entera o semidesnatada, seguida de la adición de edulcorantes y esencias tales como canela,

cacao, fresa y vainilla (7, 8, 9). Se ha demostrado que a pesar del tratamiento térmico al que se someten estos productos, algunos microorganismos y sus enzimas pueden estar presentes después del complejo proceso de pasteurización, razón por la cual diversas investigaciones destacan la importancia de garantizar la calidad sanitaria de productos lácteos de venta al público (10, 11, 12, 13, 14, 15).

La Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) se encarga de regular la calidad de la leche pasteurizada según lo establecido en la norma técnica 798:94 (8), mientras que la leche esterilizada o UHT es regulada por la norma 1205:2001 (16). Considerando la importancia del estado Mérida como productor de leche, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de leche pasteurizada y leche UHT saborizada en supermercados seleccionados, a fin de constatar que estos productos conservan sus atributos microbiológicos durante la cadena de comercialización y su consumo no

representa un riesgo potencial para la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Descripción de investigación y recolección de las muestras

Se planteó una investigación con enfoque cuantitativo, tipo descriptivo y diseño experimental transversal. Para efectuar este estudio se seleccionaron cuatro supermercados que comercializan leche

pasteurizada, ubicados en la avenida Las Américas, municipio Libertador del estado Mérida, Venezuela (Figura 1). Para la selección de las muestras se utilizó la técnica de muestreo aleatorio estratificado, considerando tres marcas comerciales (A, B, C). En cada supermercado (identificados como S1, S2, S3, S4), se escogieron aleatoriamente las muestras abarcando todas las fechas de expiración disponibles en el refrigerador.

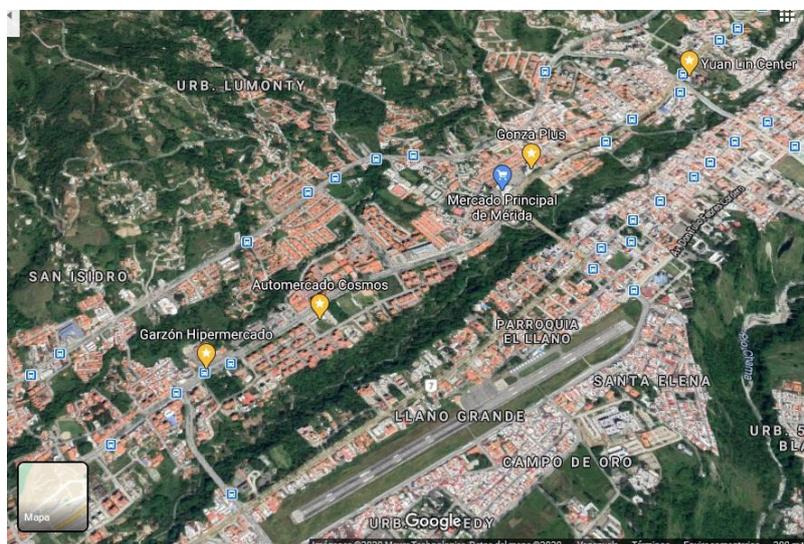


Figura 1. Ubicación de los supermercados seleccionados en Mérida, Venezuela (Google Earth)

Se recolectaron cuatro muestras de: leche entera de la marca A, leche desnatada de la marca B y leche UHT saborizada de la

marca C. Durante el muestreo se registró la temperatura promedio de las neveras (Figura 2) en las que se efectuó la

recolección utilizando un termohigrómetro (Extech, Estados Unidos) y se tomó nota de la fecha de vencimiento.



Figura 2. Fotografía de las neveras horizontales encontradas en los supermercados de Mérida, Venezuela.

Las muestras fueron recolectadas en el mes de julio 2017 en horas de la mañana y se transportaron al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, en cavas con hielo. Seguidamente se almacenaron en un refrigerador a 4°C hasta el momento de su

análisis, realizado dentro de las 24 horas posteriores a la recolección.

2. Determinación de indicadores de calidad sanitaria:

Se realizó utilizando el método de recuento en placa. Para cada muestra se hicieron diluciones decimales sucesivas con agua peptonada estéril en tubos identificados

como: sin diluir (SD), 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . De cada dilución se sembró por triplicado 1mL en medios de cultivo específicos para determinar los indicadores de calidad sanitaria.

El conteo de colonias características se realizó según lo establecido por APHA (17) considerando aquellas diluciones cuyo recuento se encontraba entre 30-300 colonias. El número promedio de colonias en las tres placas de una misma dilución se multiplicó por la dilución correspondiente y el volumen del inóculo para obtener el recuento total expresando el resultado en unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

2.1 Bacterias aerobias mesófilas (BAM):

Se utilizaron placas de agar plate count (Himedia, India) y se incubó en estufa (Mettler, Alemania) a 30°C por 48 horas (17). Las muestras de leche UHT saborizada se incubaron a 32°C acorde a la norma COVENIN 1205:2001 (16). Finalizado el tiempo de incubación se efectuó el conteo en placa de las

colonias características (redondeadas, color beige, bordes enteros).

2.2 Coliformes totales y fecales: Se utilizaron placas de agar eosina azul de metileno (Himedia, India) y se procedió según lo descrito en APHA (17) sembrando dos series de placas por cada muestra e incubando en estufa una de las series a 37°C durante 48 horas para la determinación de coliformes totales y la otra serie a 44,5°C en baño de agua (Mettler, Alemania) para la detección de coliformes fecales. Se realizó el conteo de colonias características puntiformes de color negro con o sin brillo verde metálico.

2.3 Hongos: Se sembraron las muestras en profundidad en placas de agar Sabouraud dextrosa (BBL Becton Dickinson and company, Estados Unidos) y se incubaron a temperatura ambiente durante cinco días (17).

3. Determinación presuntiva de *Staphylococcus aureus*: Se sembraron



las muestras en placas de agar Baird-Parker (Himedia, India) y se incubaron en estufa a 37°C por 48 horas según la metodología establecida en COVENIN 1292:2004 (18). Se consideraron sospechosas de *S. aureus* las colonias pequeñas de color negro, brillantes y rodeadas de un halo opaco.

4. Determinación de *Pseudomonas*

aeruginosa: Se utilizaron placas de agar cetrimide (Himedia, India) e incubación a 37°C por 48 horas para la detección de *P. aeruginosa* en las muestras (17). Se consideraron características las colonias pequeñas de color azul verdoso.

5. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas:

Luego del recuento microbiano se realizaron aislamientos bacterianos en agar BHI (Himedia, India) y se incubó en estufa a 37°C por 48 horas. A partir de este crecimiento se realizó la tinción

de Gram y las pruebas bioquímicas establecidas en los esquemas de MacFaddin (19) complementadas utilizando los sistemas miniaturizadas API® (BioMérieux, Francia). Se consideraron aceptables los resultados de identificación cuya probabilidad de correspondencia estuviese por encima del 75% según el sistema Apiweb (20).

RESULTADOS

1. Temperatura de almacenamiento y vida útil

En la tabla 1 se aprecian los valores promedio de temperatura de almacenamiento y tiempo de vida útil de las distintas marcas de leche en los establecimientos muestreados.

Tabla 1. Temperatura de almacenamiento y tiempo de vida útil de leche comercializada en supermercados seleccionados de Mérida

Marca	Temperatura (°C)	Tiempo vida útil(días)
A	5,68 ± 1,14	5,00
B	6,25 ± 1,93	4,00
C	23,55 ± 1,15	68,75

2. Recuento de microorganismos

En la tabla 2 se evidencian las variaciones en los recuentos de microorganismos

indicadores de calidad sanitaria en las tres marcas de leche: entera (A), desnatada (B) y saborizada (C).

Tabla 2. Recuentos de microorganismos indicadores de calidad sanitaria en leche comercializada en supermercados seleccionados de Mérida, Venezuela.

Marca	Aerobios mesófilos (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Coliformes fecales (UFC/mL)	Mohos (UFC/mL)
A	7,4x10 ² ± 0,34	4,9x10± 0,16	0	0,5x10± 0,09
B	7,2x10 ⁴ ± 0,27	8,1x10 ² ± 0,12	7,5x10± 0,15	0,8x10 ± 0,11
C	3,8x10 ± 0,21	0	0	0,1x10± 0,14

*Los valores expresados en UFC/mL corresponden al promedio ± desviación estándar de 3 réplicas por cada muestra de leche de 3 marcas distintas, para un total de 12 muestras.

En la tabla 3 se presenta la distribución de frecuencias de cada una de las variables que constituyen los indicadores de calidad sanitaria. El rango de cada variable está conformado por los valores numéricos que

se encuentran por encima y por debajo del límite máximo establecido por la norma COVENIN 798:94 para leche pasteurizada (8), por lo que sólo se consideran las

muestras de leche de las marcas A y B estudiadas.

Tabla 3. Distribución de frecuencia de las variables aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales y hongos

Variable	Rango (UFC/mL)	Marcas					
		A		B		Total	
		F	%	F	%	F	%
Aerobios mesófilos	$\leq 2 \times 10^4$	4	100	1	25	5	62,5
	$> 2 \times 10^4$	0	0	3	75	3	37,5
Coliformes totales	$\leq 1 \times 10^2$	4	100	0	0	4	50
	$> 1 \times 10^2$	0	0	4	100	4	50
Coliformes fecales	$\leq 0,3 \times 10$	4	100	1	25	5	62,5
	$> 0,3 \times 10$	0	0	3	75	3	37,5
Hongos	$\leq 1 \times 10^2$	4	100	4	100	8	100
	$> 1 \times 10^2$	0	0	0	0	0	0

3. Determinación de *S. aureus* presuntivo y *P. aeruginosa*

En las muestras de leche analizadas en este estudio no se encontró presencia de *S. aureus* ni de *P. aeruginosa*, al menos mediante la técnica de recuento en placa.

4. Identificación de las cepas bacterianas aisladas

Los resultados obtenidos en la identificación de cepas bacterianas provenientes de las muestras de leche pasteurizada marcas A y B recolectadas en supermercados de la ciudad de Mérida, Venezuela, se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Identificación de las cepas aisladas en muestras de leche pasteurizada de marcas distintas



Cepa	Tinción	Especies	% ID
AS4C2	Gram negativa	<i>Citrobacter freundii</i>	98,9
BS3C5	Gram negativa	<i>Enterobacter spp.</i>	85,3
BS4C7	Gram negativa	<i>Escherichia coli</i>	97,9

*El código de las cepas representa los datos de origen:

A: Leche pasteurizada Marca A; B: Leche pasteurizada Marca B; S: Supermercado de recolección (S1, S2, S3, S4) C: número de cepa

DISCUSIÓN

La temperatura promedio de almacenamiento de las distintas marcas de leche pasteurizada en los cuatro supermercados seleccionados resultó de 5,68°C para la marca A y de 6,25°C para la marca B (Tabla 1). Ambos valores se encuentran por encima de la temperatura de conservación definida en la norma COVENIN 798:94 para leche pasteurizada (8), la cual establece que la temperatura máxima debe ser 5°C. El almacenamiento de la leche a temperaturas de refrigeración inadecuadas puede acelerar el proceso de deterioro causado por la presencia de microorganismos y sus enzimas.

Las enzimas proteolíticas producidas por microorganismos psicrótrofos ocasionan la

liberación de péptidos causantes de sabor amargo en la leche. Diversas investigaciones coinciden en que la actividad enzimática se reduce cuando el producto cumple adecuadamente la cadena de frío desde el momento de la producción y transporte hasta la venta a los consumidores (6, 7, 13, 21). A temperaturas inferiores a 7°C la leche puede sufrir alteraciones debido a la contaminación post-pasteurización, especialmente por *Pseudomonas*, mientras que a temperaturas superiores a 12°C existe una mayor influencia de microorganismos termodúricos en la alteración del producto (13).

Estudios realizados por Valbuena y colaboradores en el año 2004 en un total de



216 muestras de leche pasteurizada de 5 marcas comerciales venezolanas (10), evidenciaron que el producto se almacenaba para la venta a temperaturas ampliamente variables, desde 0,72°C hasta 182°C, siendo la temperatura promedio al momento de la recolección de las muestras de 6,02°C, lo que resulta similar a los valores encontrados en este estudio. Es recomendable un monitoreo frecuente por parte de las autoridades sanitarias responsables respecto a este parámetro durante la cadena de comercialización debido a su incidencia en la calidad microbiológica.

En relación a la leche UHT saborizada estudiada, la temperatura promedio al momento de recolección fue de 23,55°C. Por tratarse de un producto UHT se comercializa a temperatura ambiente, según lo dispuesto en la norma COVENIN 1205:2001 leche esterilizada (16). La inspección visual de los envases muestreados evidenció que se encontraban herméticamente sellados y el rótulo indicaba conservar a temperaturas inferiores a 30°C, lo que resultó conforme. Por otra parte, el tiempo de vida útil de la

leche pasteurizada en este estudio resultó en promedio entre 4 a 5 días hasta la fecha de caducidad, mientras que la leche UHT saborizada tenía un promedio de vida útil de 68,75 días hasta la fecha de consumo preferente.

Los resultados de los análisis microbiológicos de la leche pasteurizada entera marca A, demuestran un recuento promedio de bacterias aerobias mesófilas igual a $7,4 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes totales $4,9 \times 10$ UFC/mL, coliformes fecales ausentes y mohos $0,5 \times 10$ UFC/mL. Para el caso de las muestras de leche pasteurizada desnatada marca B, los resultados de los recuentos promedio evidenciaron bacterias aerobias mesófilas $7,2 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $8,1 \times 10^2$ UFC/mL, coliformes fecales $7,5 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,8 \times 10$ UFC/mL (Tabla 2). En las muestras de leche pasteurizada marca B se obtuvieron mayores recuentos en todas las variables estudiadas, e inclusive presencia de coliformes fecales en las muestras, lo que es indicativo de calidad sanitaria deficiente.



En el estudio de calidad sanitaria realizado por Luigi y colaboradores en el año 2015 en muestras de leche pasteurizada entera de una marca venezolana (12), los resultados evidenciaron recuentos promedio de bacterias aerobias mesófilas $1,8 \times 10^4$ UFC/mL, coliformes totales $2,6 \times 10^3$ UFC/mL, coliformes fecales $0,7 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,2 \times 10$ UFC/MI (11). Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con los de Luigi y colaboradores, se puede afirmar que los valores del contaje microbiano para la leche pasteurizada entera marca A son menores, mientras que para la leche desnatada marca B, los recuentos son en general más elevados, lo que sustenta el hecho de que su calidad sanitaria es inferior.

Con relación a los indicadores de calidad sanitaria obtenidos en este estudio para leche pasteurizada entera respecto a la norma venezolana COVENIN 798:94 (8), se evidencia que el 100% de las muestras se encuentran conformes a los límites permitidos para aerobios mesófilos, coliformes totales y mohos. En contraste, el 75% de las muestras de leche pasteurizada

desnatada sobrepasan el límite de aerobios mesófilos, el 100% posee coliformes totales en recuentos superiores al permitido y un 75% de estas contienen coliformes fecales (Tabla 3). La presencia de coliformes fecales en leche pasteurizada es inaceptable debido a que constituye un riesgo para la salud de los consumidores.

Por tratarse de un alimento de origen animal, la leche es susceptible de contaminación microbiana procedente de diferentes fuentes durante su obtención, tales como ubres de vacas infectadas, piel y heces del animal, polvo del suelo, prácticas de ordeño antihigiénicas, entre otras, lo que contribuye a que sea altamente perecedera. A pesar del tratamiento térmico, la presencia de microorganismos post-pasteurización puede deberse a factores tales como recuentos excesivos de aerobios mesófilos en la materia prima, contacto del producto con la vestimenta de los operarios, utensilios o envases contaminados, incorporación accidental de agua utilizada para enfriamiento entre otras (7, 14, 22, 23). El incumplimiento de las buenas prácticas de manufactura y buenas prácticas de



distribución afectarán la calidad final del producto comercial.

Es importante conocer el número total de microorganismos presentes en la leche que son causantes de enfermedades, a fin de evaluar si el producto es apto para el consumo humano. Los coliformes fecales tales son habitantes normales del intestino grueso, por lo que su presencia podría ser indicativa de contaminación fecal. Considerando los resultados de este estudio y similares (3, 4, 5, 11, 15, 24), es posible afirmar que el hallazgo de estos microorganismos en leche pasteurizada es un indicador de prácticas de manipulación antihigiénicas durante la elaboración, distribución, transporte y almacenamiento del producto. En estas condiciones, es fundamental advertir sobre la fuente causante de la contaminación, mejorar las prácticas de higiene y supervisar adecuadamente los procesos de fabricación.

Por otra parte, en las muestras de leche UHT saborizada marca C, se obtuvo un recuento promedio de aerobios mesófilos de $3,8 \times 10$ UFC/mL y mohos $0,1 \times 10$ UFC/mL, no se

detectaron coliformes totales ni fecales en esta marca (Tabla 2). En este tipo de producto en particular la norma COVENIN 1205:2001 leche esterilizada (16) establece como único requisito microbiológico la presencia de aerobios mesófilos hasta un máximo de 100 UFC/mL, por lo que se considera que el total de estas muestras resultaron conformes. Estos resultados son similares a los obtenidos por Barrera y Velásquez en el año 2011, quienes realizaron un estudio microbiológico en leches saborizadas a fresa y chocolate, comercializadas en los principales supermercados de San Salvador, El Salvador (25). Los investigadores encontraron que la totalidad de las muestras cumplían con los requisitos microbiológicos del reglamento técnico centroamericano RTCA 67.04.50:08 en cuanto al recuento máximo de coliformes < 3 NMP/mL y de *S. aureus* < 10 NMP/mL, por lo que consideraron seguro el consumo de estos productos.

El uso de vainillina, aceites esenciales de canela y clavo como aditivos en la leche pasteurizada posee un efecto



antimicrobiano sobre *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7, el cual se incrementa cuando el producto se conserva a temperaturas por debajo de los 7°C. Se ha demostrado, que el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales es mayor en leche desnatada que en leche entera debido a que la presencia de grasa puede ejercer un efecto protector sobre los microorganismos (9). El consumo de leche saborizada ha gozado de mayor aceptación por los consumidores en años recientes, constituyendo una alternativa segura desde el punto de vista microbiológico cuando se almacena según las indicaciones del fabricante, tal como demuestran los resultados de este estudio y similares (4, 12, 25, 26). Particularmente, la leche UHT saborizada analizada en esta investigación, demostró estabilidad microbiológica bajo almacenamiento a temperatura ambiental.

Por otra parte, los resultados obtenidos en la tinción de Gram de las cepas aisladas de las muestras de leche pasteurizada marcas A y B, evidenciaron la presencia de bacterias Gram negativas representadas por las especies de enterobacterias: *Citrobacter*

freundii, *Enterobacter spp.* y *Escherichia coli* (Tabla 4). Estos hallazgos corroboran la presencia de coliformes en las muestras analizadas en el presente trabajo, reflejados en los recuentos de los indicadores de calidad sanitaria.

Durán y colaboradores en el año 2010, estudiaron la composición microbiológica de quesos elaborados artesanalmente utilizando leche de cabra en una localidad del estado Lara, en Venezuela (27). Dichos investigadores encontraron recuentos de coliformes superiores a la normativa oficial para queso e identificaron las especies *E. coli* y *C. freundii*, lo que es indicativo de calidad sanitaria deficiente. Por su parte, Leyva y colaboradores en el año 2008, reportaron la presencia de *Enterobacter sakazakii* en fórmulas infantiles a base de leche en polvo comercializadas en Cuba (28), alertando el riesgo que supone dicho hallazgo debido a que se trata de productos para alimentación de infantes.

Particularmente, algunas especies de *E. coli* son causantes de patología en el ser humano y pueden contaminar el agua, los alimentos



y el medioambiente. La patogenicidad de *E. coli* es determinada por su genoma, razón por la cual es de gran importancia identificar las enterobacterias que puedan estar presentes en los alimentos debido a que existen especies portadoras de genes de virulencia y de resistencia a antimicrobianos. Alrededor del mundo se estima que anualmente el consumo de alimentos contaminados ocasiona enfermedad en aproximadamente 1 de cada 10 habitantes, e inclusive produce la muerte en casi 420.000 personas por año. La inocuidad de los alimentos es fundamental para la seguridad alimentaria, la salud pública y el desarrollo económico de la población (29, 30, 31).

En un estudio microbiológico realizado por Millán y colaboradores en el año 2017 en muestras de leche cruda provenientes de una granja lechera ubicada en Mérida, Venezuela (30), los autores obtuvieron un recuento de enterobacterias de $1,4 \times 10^5$ UFC/mL, valor que resulta superior al permitido por normativas internacionales. Los resultados de la identificación mediante galerías API20E realizados en dicho

estudio, revelaron al presencia de *E. coli* en un 42% de los aislados. En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y PCR múltiple, dicha especie demostró resistencia frente a Ampicilina y además resultó portadora del gen *fimH*, el cual codifica para la fimbria tipo 1, que es un factor de virulencia esencial para la invasión del epitelio urinario en el ser humano.

Debido a que las enterobacterias son destruidas por el calor durante la cocción, un tratamiento térmico controlado es un método efectivo de eliminación (31). La presencia de estos microorganismos en las muestras de leche pasteurizada analizadas en la presente investigación, se considera causa suficiente para rechazar el producto. Es necesario que las autoridades de salud venezolanas incrementen las medidas de control sanitario en las industrias lácteas para evitar la presencia de bacterias potencialmente patógenas.

CONCLUSIONES

La leche pasteurizada entera y le leche UHT saborizada comercializada en supermercados de Mérida, Venezuela, se



consideran aptas para consumo debido a que su calidad microbiológica está conforme a las normativas técnicas. Por el contrario, los recuentos de microorganismos encontrados en leche pasteurizada desnatada estuvieron por encima de las especificaciones, evidenciando la presencia de coliformes fecales, identificados por pruebas bioquímicas como *Enterobacter* spp. y *E. coli*. Los resultados de este estudio coinciden con los encontrados por otros investigadores en leche y derivados lácteos venezolanos.

RECOMENDACIONES

En general, se recomienda a las autoridades competentes en materia de higiene de los alimentos fortalecer las medidas de control sanitario desde las fincas de ordeño hasta las industrias lácteas del país, para evitar la venta y consumo de leche pasteurizada cuya calidad sanitaria puede comprometer la salud de la población debido a la presencia de microorganismos potencialmente patógenos.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT-ULA) y al Programa de Intercambio Científico de la Universidad de Los Andes por la ayuda otorgada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., Logrieco, A., Cho, G., Kabisch, J., Böhnlein, C., Franz, C. Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. 2015; 19(4): 2013-2049. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12568>
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. 2020. Portal Lácteo. Disponible en <http://www.fao.org/dairy-production-products/processing/es/>
3. Anderson, M., Hinds, P., Hurditt, S., Miller, P., McGrowder, D., Alexander-Lindo, R. The microbial content of unexpired pasteurized milk from selected supermarkets in a developing



- country. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011; 1(3): 205-211.
4. Dai, J., Wu, S., Huang, J., Wu, Q., Zhang, F., Zhang, J., Wang, J., Ding, Y., Zhang, S., Yang, X., Lei, T., Xue, L., Wu, H. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from pasteurized milk in China. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10(641): 1-10.
 5. Chatterjee, S.N., Battacharjee, I., Chatterjee, S.K., Chandra, K. Microbiological examination of milk in Tarakeswar, India with special reference to coliforms. *African Journal of Biotechnology*. 2006; 5(15): 1383-1385.
 6. Román, S., Guerrero, L., Pacheco, L. Evaluación de la calidad fisicoquímica, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío. *Revista Científica FCV-LUZ*. 2003; XII(2): 146-152.
 7. Díaz, C. 2009. *Microbiología de la leche y productos lácteos*. Mérida, Venezuela: Editorial Venezolana.
 8. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 1994. Norma venezolana COVENIN 798:94 Leche pasteurizada (2da. Revisión). Caracas: Fondonorma.
 9. Cava, R. Efecto antimicrobiano de vainilla y de aceites esenciales de canela y clavo en leche de vaca pasteurizada. Murcia; Universidad de Murcia; 2013 (Tesis de Doctorado).
 10. Valbuena, E., Castro, G., Lima, K., Acosta, W., Bríñez, W., Tovar, A. Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*. 2004; XIV(1): 59-67.
 11. Karmaker, A., Das, P.C., Iqbal, A. Quality assessment of different commercial and local milk available in the local markets of selected area of Bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2020; 7(1): 26-33.
 12. Luigi, T., Rojas, L., Valbuena, O. Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*. 2013; 17(1): 25-33.



13. Rheinheimer, J., Suarez, V., Haye, M. Microbial and chemical changes in refrigerated pasteurized milk processed in the Santa Fe area (Argentina). *Australian Journal of Dairy Technology*. 1993; 48(1): 5-9.
14. Vásquez-Ojeda, E., Pérez-Morales, E., Hurtado-Ayala, L., Alcántara-Jurado, L. Evaluación de la calidad microbiológica de la leche. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. 2014; 1(3): 91-99.
15. Vahedi, M., Nasrolahei, M., Sharif, M., Mirabi, M. Bacteriological study of raw and unexpired pasteurized cow's milk collected at the dairy farms and supermarkets in Sari city in 2011. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2011; 54: 120-123.
16. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 2001. Norma venezolana COVENIN 1205:2001 Leche esterilizada (3era. Revisión). Caracas: Fondonorma.
17. American Public Health Association. APHA. 1998. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 3th edition. Washington, USA.
18. Comisión Venezolana de Normas Industriales. COVENIN. 2004. Norma venezolana COVENIN 1292: Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. Caracas: Fondonorma.
19. MacFaddin, J. 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3ª edición. Buenos Aires: Médica-Panamericana.
20. Apiweb. 2010. *API System* [CD-ROOM]. Marcy l'Etoile, Francia: BioMerièux.
21. Burdová, O., Baranová, M., Lauková, A., Rózánka, H., Rola, J. Hygiene of pasteurized milk depending on psychrotrophic microorganism. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2002; 46: 325-329.
22. Celis, M., Juárez, D. 2009. *Microbiología de la leche*. En: R. Rodríguez, M. Echevarría, (Eds.), *Seminario de procesos fundamentales físico-químicos y microbiológicos* (pp.1-26). Buenos Aires: Editorial Tecnológica Nacional.



23. Cepero, O., Castillo, J., Salado, J., Herrada, N., Aguiar, J., González, R. Valoración de diferentes factores que intervienen en la calidad higiénico-sanitaria de la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 2005; VI(3): 1-12.
24. Mora, M., Loria, E. Evaluación bacteriológica de tres marcas de leche pasteurizada distribuida en la ciudad de Guadalajara. Jalisco; Universidad de Guadalajara; 1996 (Tesina de licenciatura).
25. Barrera, S., Velásquez, F. Evaluación de la calidad microbiológica de leches saborizadas comercializadas en los principales supermercados del distrito dos de la zona metropolitana de San Salvador. San Salvador; Universidad de El Salvador; 2011 (Tesina de licenciatura).
26. Barboza, Y. Estimación de la vida útil de una bebida achocolatada mediante pruebas aceleradas por temperatura. Mérida, Venezuela; Universidad de Los Andes; 2016 (Tesina de licenciatura).
27. Durán, L., Sánchez, C., Palmero, J., Chaparro, L., García, T., Sánchez, E. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 2010; 28(4): 467-475.
28. Leyva, V., Ruíz, H., Machín, M., Tejedor, R., Martino, T., Ferrer, Y. Primer estudio de *Enterobacter sakazakii* en alimentos en Cuba. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2008; 34(4): 1-8.
29. Organización Mundial de la Salud. OMS: Inocuidad de los alimentos. Recuperado 13 de julio de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
30. Millán, Y., Méndez, A., Burguera, M., Pimentel, P., Araque, M., Ramírez, A. Determinación de enterobacterias y detección de genes de virulencia en *Escherichia coli* aislada en leche cruda. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2018; 38(2): 58-63.
31. Food and Agriculture Organization. FAO: Prevención de la *E. coli* en alimentos. Recuperado 27 de julio de 2020. Disponible en:



ACTA BIOCLINICA

Original

Gutiérrez, M y col.

Volumen 11, N° 22, Julio/diciembre 2021

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>

http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecolies.pdf