

## Microflora patógena del queso blanco “telita” elaborado en cuatro estados de Venezuela

José Gregorio Márquez<sup>1</sup> y Carmen Elena García R.<sup>2</sup>

**Resumen:** El queso telita, es un queso blanco de pasta cocida que 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 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *Listeria* spp. El objetivo de este trabajo fue evaluar la microflora patógena contaminante en muestras de queso telita de queseras ubicadas en cuatro estados venezolanos, Aragua, Bolívar, Guárico y Miranda. Se efectuaron recuentos de *S. aureus*, coliformes totales y *E. coli* mediante la siembra en películas secas rehidratables Petrifilm 3M. La detección de *Salmonella* spp y *L. monocytogenes* se determinó según metodología propuesta por el FDA. Recuentos de *S. aureus* por el orden de  $10^7$ - $10^8$  UFC/g se obtuvo en el 44% y 64% de las muestras de los estados Bolívar y Guárico, respectivamente. Igualmente, los recuentos de *S. aureus* y coliformes totales, así como la incidencia de *E. coli*, fueron significativamente mayores en los quesos telita elaborados en los estados Bolívar y Guárico, en comparación con los quesos de Aragua y Miranda. De las 160 cepas de *E. coli* aisladas, sólo en dos muestras provenientes del estado Bolívar se identificó a la *E. coli* O157:H7. No se detectó la presencia de *Salmonella* spp ni de *L. monocytogenes* en estas muestras. Las muestras de queso telita presentan una deficiente calidad sanitaria. **An Venez Nutr 2007;20 (1): 17-21.**

**Palabras clave:** Queso telita, queso blanco artesanal, *Staphylococcus aureus*, coliformes.

## Pathogenic microflora found in white “telita” cheese made in four states of Venezuela

**Abstract:** The telita cheese is a white cheese of boiled paste, it is sold immersed in whey, it is made by small producers in cheesemonger, localized in different states of the country, with a technological process completely artisanal. The actual deficient sanitary condition for production, storage, transportation and trading in Venezuela for this product, are important causes of contamination with various microorganisms for example *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Listeria* spp. The objective of this work was to evaluate the presence of the pathogenic microflora in samples of telita cheese made in cheesemonger in four venezuelan states: Aragua, Bolívar, Guárico and Miranda. It was achieved by a plate counting of *S. aureus*, total coliforms and *E. coli* by using a rehydratable dry film plating method 3M Petrifilm. The detection of *Salmonella* spp and *L. monocytogenes*, was measured following a FDA method. The *S. aureus* counts ranged from  $10^7$  to  $10^8$  CFU/g were found, and 44,0% and 64,0% corresponding to the cheesemonger from Bolívar and Guárico states, respectively. The *S. aureus* and total coliforms counts and the incidence of *E. coli* of the telita cheese made in from Bolívar and Guárico states, were significantly greater than those counts founds in the telita cheese made in Aragua and Miranda states. From the 160 strains isolated of *E. coli*, only in two samples of telita cheese from Bolívar state could be identified *E. coli* O157:H7. *Salmonella* spp and *L. monocytogenes* were not detected in the telita cheese samples analyzed. It is concluded that in general process of making telita cheese there is a deficient sanitary quality. **An Venez Nutr 2007;20 (1): 17-21.**

**Key words:** Telita cheese, artisanal white cheese, *Staphylococcus aureus*, coliforms.

### Introducción

Entre los quesos blancos que se elaboran en Venezuela, el queso blanco blando de pasta cocida, conocido como queso telita, es uno de los que mas 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.

Puede ser considerado como un queso blanco fresco 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

1. Profesor Asistente, Jefe Cátedra de Microbiología, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

2. Profesora Titular jubilada, Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

**Solicitar copia a:** José Gregorio Márquez. Cátedra de Microbiología, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. e-mail: microbio25@hotmail.com.

(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 (1). El producto final no es protegido con ningún empaque y es comercializado sumergido en suero dentro de envases plásticos sin refrigerar, a través de redes informales de distribución.

En el año 2004 en el país se produjeron 459.735 toneladas métricas de quesos artesanales (2). El queso blanco tipo telita no es madurado y se consume fresco, a pesar de su gran producción y alto consumo, los procesos tecnológicos bajo los cuales se elabora son muy empíricos, registrándose una alta proporción de su producción en fincas y asentamientos campesinos localizados en diferentes estados del país.

Según el Ministerio de Producción y Comercio (MPC) (3) en el año 2004, la producción de queso en finca en el estado Bolívar fue de 957628 kg/año, en el estado Miranda de 54.329 kg/año, en el estado Guárico de 942328 kg/año y en Aragua de 925.314 kg/año, lo cual representa una actividad económica de gran importancia para el país. La producción entre los pequeños artesanos no está estandarizada y se desconoce la calidad de la leche utilizada para la elaboración del queso y la calidad microbiológica del mismo. A pesar de la importancia económica de este tipo de queso, no existen estudios a nivel nacional ni internacional sobre la caracterización de la flora normal y patógena asociada al queso telita.

En Venezuela la experiencia epidemiológica coloca a los quesos blancos duros, semiduros, blando criollo, llanero, de cincho y pasteurizado, entre los vehículos que producen enfermedades alimentarias con mayor frecuencia, debido a su deficiente calidad microbiológica (4). Algunos investigadores (5,6) han encontrado microorganismos patógenos como *E. coli*, *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* en quesos blancos blandos elaborados con leche cruda. En una investigación donde se estudió la calidad microbiológica del queso blanco blando tipo telita expendido en diferentes mercados de la ciudad de Caracas (7), se encontró altos recuentos de coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus*; concluyéndose que el producto presentaba una deficiente calidad microbiológica, probablemente debido, a malas prácticas de higiene durante su elaboración.

El presente trabajo tiene como finalidad analizar la presencia de microorganismos patógenos en el queso blanco venezolano tipo telita elaborado en los estados Aragua, Bolívar, Guárico y Miranda.

## Métodos

**Muestra:** Se analizaron 100 muestras de queso blanco tipo telita, elaborado en queseras localizadas en Villa de Cura Municipio Zamora, Edo. Aragua (25); Upata Municipio Piar, Edo. Bolívar (25); Altigracia de Orituco Municipio José Tadeo Monagas, Edo. Guárico (25) y Santa Teresa del Tuy Municipio Independencia, Edo. Miranda (25). Las mismas se expenden en el área metropolitana de la ciudad de Caracas.

Las muestras se tomaron en forma aleatoria inmediatamente después de la fabricación del queso telita y se transportaron en cavas con hielo para su análisis en el laboratorio, 12-15 horas después de haber sido elaborado.

**Evaluación microbiológica:** La preparación de la muestra para la evaluación microbiológica se realizó pesando 25 gramos de la rueda de queso telita, y homogeneizándola con 225 mL de agua peptonada (0,1%) (DIFCO) con la ayuda de un Stomacher (LAB BLENDER, modelo 400), se midió el pH con un potenciómetro (Fisher, modelo 325) ajustándose con NaOH 1N estéril hasta 6,9 cuando era necesario. A partir de esta dilución ( $10^{-1}$ ) se hicieron diluciones seriadas. Los análisis microbiológicos incluyeron recuentos de *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y *E. coli* de acuerdo a la metodología descrita en BAM (8), utilizando para el recuento e identificación de *S. aureus* las placas Petrifilm 3M RSA, y para el recuento de coliformes totales y *E. coli* las placas Petrifilm 3M. La identificación de las cepas de *E. coli* aisladas se realizó con el Kit FUVESIN elaborado por el Instituto de Biomedicina, Hospital Vargas. La determinación de *Salmonella* spp y *L. monocytogenes* se hizo según metodología descrita en BAM (8).

**Análisis estadístico:** Las pruebas estadísticas realizadas se basaron en conocer si existían o no diferencias significativas entre los contajes de los microorganismos encontrados en las muestras de queso telita elaboradas en las queseras de los cuatro estados estudiados. Se utilizó la comparación de promedios con t de Student con un 95 % de significancia. Se recurrió a pruebas no paramétricas, como Kruskal-Wallis y Friedman con un 95 % de confianza, que consideran a la mediana como medida de tendencia central para el contraste de los recuentos de los microorganismos en las diferentes muestras comerciales de queso telita. El programa estadístico empleado fue el SPSS 11.0 para Windows.

## Resultados

En el Cuadro 1 se presenta la distribución porcentual de las muestras de queso telita elaborado en los estados

Aragua, Bolívar, Guárico y Miranda con relación a las UFC/g de *S. aureus*. El 48 % de las muestras de los estados Aragua y Miranda presentaron niveles mayores a  $10^5$  UFC/g de *S. aureus*. Asimismo, los más altos niveles ( $> 10^7$  UFC/g) se encontraron en 44% y 64% de las muestras provenientes de los estados Bolívar y Guárico, respectivamente. El porcentaje de muestras y la carga de *S. aureus* encontrado en las muestras de los cuatro estados venezolanos arriba mencionados, pudo deberse posiblemente a una mala manipulación.

**Cuadro 1. Distribución porcentual de las muestras de queso telita en cuatro estados venezolanos en relación a las UFC/g de *S. aureus*.**

Estados UFC/g	Aragua		Bolívar		Guárico		Miranda	
	n	%	n	%	n	%	n	%
$10^3$ - $10^4$	1	4,0	1	4,0				
$10^4$ - $10^5$	8	32,0	1	4,0			5	20,0
$10^5$ - $10^6$	12	48,0	1	4,0			12	48,0
$10^6$ - $10^7$	4	16,0	11	44,0			5	20,0
$10^7$ - $10^8$			11	44,0	16	64,0	1	4,0
$> 10^8$					9	36,0	2	8,0

Con relación a los recuentos de coliformes totales, entre 8% y 20% del total de muestras elaboradas en las queseras de los estados Bolívar y Guárico, respectivamente, presentaron niveles de coliformes totales mayores a  $10^8$  UFC/g, sólo el 4% de los quesos telita elaborados en la quesera del estado Aragua y el 8% de las mismas provenientes del estado Miranda, presentaron niveles de coliformes totales entre  $10^3$  y  $10^4$  UFC/g (Cuadro 2). Los recuentos de *E. coli* (Cuadro 3) con valores entre  $10^4$  y  $10^5$  UFC/g se encontró en mayor porcentaje (44%) de las muestras elaboradas en la quesera del estado Aragua, mientras que, los niveles superiores a  $10^6$  UFC/g de *E. coli* se encontró en el 64% de las muestras de queso telita elaboradas en la quesera de Umeta en el Estado Bolívar y en el 44% y 16% de las mismas elaboradas en las queseras de Guárico y Miranda, respectivamente.

**Cuadro 2. Distribución porcentual de las muestras de queso telita en cuatro estados venezolanos en relación a las UFC/g de coliformes totales.**

Estados UFC/g	Aragua		Bolívar		Guárico		Miranda	
	n	%	n	%	n	%	n	%
$10^3$ - $10^4$	1	4,0					2	8,0
$10^4$ - $10^5$	5	20,0	2	8,0			5	20,0
$10^5$ - $10^6$	12	48,0	1	4,0			7	28,0
$10^6$ - $10^7$	6	24,0	3	12,0	5	20,0	8	32,0
$10^7$ - $10^8$	1	4,0	17	68,0	15	60,0	3	12,0
$> 10^8$			2	8,0	5	20,0		

Estos recuentos tanto de coliformes totales como los de *E. coli* pueden deberse posiblemente a malas prácticas de manipulación en el ordeño del ganado vacuno en las fincas proveedoras de la leche con la que los artesanos elaboran el queso y/o a una refrigeración inadecuada de la misma, también a una mala higienización de los equipos e instrumentos involucrados en la preparación del queso telita. Estos niveles de contaminación, directa o indirectamente de origen fecal, constituyen un peligro potencial de contaminación con otros patógenos entéricos.

**Cuadro 3. Distribución porcentual de las muestras de queso telita elaborado en cuatro estados venezolanos en relación a las UFC/g de *E. coli*.**

Estados UFC/g	Aragua		Bolívar		Guárico		Miranda	
	n	%	n	%	n	%	n	%
0- $10^2$	9	36,0						
$10^2$ - $10^3$	1	4,0	1	4,0			9	36,0
$10^3$ - $10^4$	2	8,0	1	4,0	3	12,0	1	4,0
$10^4$ - $10^5$	11	44,0	1	4,0	1	4,0	4	16,0
$10^5$ - $10^6$	2	8,0	4	16,0	4	16,0	7	28,0
$10^6$ - $10^7$			16	64,0	11	44,0	4	16,0
$> 10^7$			2	8,0	6	24,0		

Puede observarse en el Cuadro 4 que los recuentos de *S. aureus* en las muestras de las queseras de Aragua y Miranda fueron significativamente ( $p < 0,05$ ) menores a los encontrados en los Estados Bolívar y Guárico, siendo mayor en este último. De igual manera, el promedio de los recuentos de coliformes totales en las muestras de los estados Aragua y Miranda, fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que los promedios de las muestras provenientes de los estados Bolívar y Guárico. Estos resultados se repitieron al comparar los recuentos promedios de *E. coli* obtenidos para las muestras de queso telita elaboradas en los cuatro estados estudiados. Estos promedios demuestran deficientes prácticas de higiene y saneamiento en el ambiente, equipos y manipulación empleados en la elaboración del queso telita.

**Cuadro 4. Promedio de *S. aureus*, coliformes totales y *E. coli* en muestras de queso telita de cuatro estados venezolanos.**

Estados	<i>S. aureus</i> (X ± DE)	Coliformes (X ± DE)	<i>E. coli</i> (X ± DE)
Aragua	5,33 <sup>a</sup> ± 0,90	5,60 <sup>a</sup> ± 0,87	3,13 <sup>a</sup> ± 1,75
Bolívar	6,69 <sup>b</sup> ± 1,15	7,19 <sup>b</sup> ± 1,09	5,89 <sup>b</sup> ± 1,05
Guárico	7,80 <sup>c</sup> ± 0,56	7,36 <sup>b</sup> ± 0,78	5,97 <sup>b</sup> ± 2,15
Miranda	5,79 <sup>a</sup> ± 1,13	6,27 <sup>a</sup> ± 1,53	3,71 <sup>a</sup> ± 2,19

Los valores con diferentes letras en la misma columna son diferentes estadísticamente  $p < 0,05$

## Discusión

El porcentaje de muestras y la carga de *S. aureus* encontrado para los quesos telita elaborados en queseras de los cuatro estados venezolanos antes mencionados, pudo deberse posiblemente a una mala manipulación. En este sentido debe tenerse extremo cuidado con la presencia de *S. aureus*, ya que altos recuentos de este microorganismo producen enterotoxinas que causan intoxicaciones alimentarias (9,10,11). Según Oyón (12) en estos quesos elaborados con leche sin pasteurizar tiene lugar una alta contaminación posterior al período de cocción de la cuajada, mientras que, en el queso blanco blando pasteurizado la contaminación ocurre después de la pasteurización y luego durante el resto del proceso de elaboración. El porcentaje de muestras con niveles de *S. aureus* de  $10^3$ - $10^4$  UFC/g en las muestras comerciales de queso telita en los estados Aragua, Bolívar, Guárico y Miranda, es superior al obtenido por Aray (7) quién detectó un promedio de  $1,5 \times 10^3$  UFC/g de *S. aureus* en treinta muestras de queso blanco tipo telita, sin especificar su origen, expandidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas.

Por el porcentaje de humedad del producto (aproximadamente 50%) y las condiciones de manipulación y conservación observadas, existe un alto riesgo de aumento de la población de *S. aureus* durante su comercialización. Los vendedores de queso telita destacan por la exhibición del producto a temperatura ambiente colocado en envases plásticos sumergido en suero y sin refrigeración, asimismo en los mercados populares se expone el queso telita en ambientes abiertos a temperaturas promedios de 25-29°C, manteniéndolo en estas condiciones durante varias horas. Algunos autores (4), indicaron que la mala manipulación y las temperaturas no adecuadas a las que son sometidos estos quesos durante su comercialización contribuyen al aumento de la población de este microorganismo. Según Rios de Selgrad y Novoa (13) 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.

Los altos recuentos de *S. aureus* en los quesos telita elaborados en los estados Aragua, Bolívar, Guárico y Miranda, podrían sugerir la presencia de enterotoxinas estafilococcicas preformada en los mismos. Según señalan algunos investigadores (4,13), la alta incidencia de *S. aureus* en los quesos blancos venezolanos representa un riesgo por la posible presencia de enterotoxinas, si se dan las condiciones adecuadas. Para Urarte y col (14) este tipo de queso fresco es considerado como un producto de

riesgo alimentario debido a sus características intrínsecas, así como también, a que se elabora sin un tratamiento térmico previo, lo que facilita el crecimiento de microorganismos patógenos como el *S. aureus* a niveles que permiten la formación de enterotoxinas.

Los altos niveles de coliformes totales en todas las muestras comerciales de queso telita, de las queseras en los estados mencionados, confirman la ausencia de condiciones higiénicas en la fabricación de este tipo de queso blanco de pasta cocida, por parte de los artesanos queseros. Los recuentos de coliformes totales son útiles como indicadores de higiene (15). La alta incidencia de coliformes totales presente en los quesos telita analizados revela las deficientes condiciones de higiene a las cuales estuvo expuesto el queso y puede deberse a una serie de factores como son la baja calidad de la leche empleada en la elaboración, maquinarias o superficies sucias, malas prácticas de manufactura almacenamiento, transporte y comercialización (4,13,16).

La presencia de *E. coli* en todas las muestras de queso telita es indicativo de baja higiene en el producto, reflejando un tratamiento inadecuado del mismo. Aray (7), reporta una incidencia de *E. coli* de 20% en 30 muestras de queso telita comercializado en mercados populares de la ciudad de Caracas, relacionando su presencia con una contaminación fecal y sugiriendo la posible presencia de otros patógenos entéricos en el queso telita vendido en Caracas. De las 160 cepas aisladas de las muestras de queso telita y confirmadas como *E. coli*, solo dos cepas aisladas de las muestras de queso telita del estado Bolívar resultaron ser *E. coli* O157:H7, las restantes fueron identificadas como enteropatógenos. En ninguna de las muestras de queso telita analizadas se logró detectar la presencia de *Salmonella* spp ni de *L. monocytogenes*, resultados que coinciden con los obtenidos por Aray (7), quien no detectó *Salmonella* spp ni *L. monocytogenes* en ninguna de las 30 muestras de queso telita comercializado en mercados de Caracas.

Todas las muestras de queso blanco venezolano tipo telita analizadas en esta investigación, presentaron resultados no satisfactorios para la microflora patógena evaluada. Estos hallazgos revelan una deficiente calidad microbiológica y el riesgo que podría representar para la salud de la población, el consumo de este queso blanco de pasta cocida.

## Agradecimiento

Se agradece el soporte económico del FONACIT (Proyecto N° 2001001864). La ayuda técnica en la identificación de las cepas de *E. coli* a la Lic. Delia Pequinese del laboratorio de Diarrea Infantiles del Instituto de

Biomedicina y a la Sra. Isidra Alborno por su apoyo en la preparación de las muestras.

### Referencias

1. CEDRA. Definición del proceso, protocolo de producción, entrenamiento y detalles técnicos del SPS queso telita [publicación en línea] 2001 marzo. Disponible en: URL: <http://www.Cedraweb.net/telita/index.htm>
2. Ministerio de Agricultura y Tierras (MAT). Anuario Estadístico Agropecuario. Oficina de Planificación y Presupuesto. Dirección de Estadística. Caracas. 2005.
3. Ministerio de la Producción y el Comercio (MPC). Centro de Información y Divulgación Estadística y Técnica (CIDET). Caracas. 2005.
4. Miró A, Ríos M. 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". 1999; 30:14-20.
5. Araujo VS, Pagliares VA, Queiroz ML, Freitas-Almeida AC. Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. J Appl Microbiol. 2002; 92 (6): 1172-1177.
6. Leuschner KRG, Boughtflower MP. Laboratory-Scale preparation of soft cheese artificially contaminated with low levels of *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium*, *Enteritidis* and *Dublin*. J Food Prot. 2002; 65 (3): 508-514.
7. Aray C. Calidad microbiológica del queso blanco venezolano tipo telita. Trabajo de Especialización. Universidad Simón Bolívar, Sartenejas, Edo. Miranda. 2002.
8. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) 1998, 8<sup>th</sup> edition. AOAC International, Gaithersburg, MD.
9. Ingham S, Larson A, Smukowski M, Houck K, Johnson M, Bishop R. Potential uses of microbiological testing in cheese plant HACCP and quality assurance systems. Dairy Food Environ Sanit 1997; 12:774-780.
10. ICMSF. Microorganisms in food 6. Microbial Ecology of Food Commodities. Blackie Academic & Professional; 1998. p.549-560.
11. De Buyser ML, Dufour B, Marie M, Lafarge V. Implication of milk and milk products in food borne diseases in France and in different industrialized countries. Int J Food Microbiol 2001; 67:1-17.
12. Oyón R. Descripción, elaboración y características microbiológicas, químicas y organolépticas del queso blanco blando ("Pasteurizado"). Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1982.
13. Ríos A, Novoa ML. Apoyo del departamento de microbiología de alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INH "RR") a la investigación de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Red Inst Nac Hig. "Rafael Rangel". 1999; 30:8-13.
14. Urarte E, Fernández JC, Molinero ME. Calidad microbiológica de los quesos frescos comercializados en la Comunidad Autónoma del país Vasco. Alimentaria 2000; 1 (2): 37-40.
15. Arias ML, Chaves C, Antillón F, Villalobos L. Microbiología de aguas y alimentos. Manual de Laboratorio. Lara Segura y Asociados, San José, 2002.
16. Ellner R. Microbiología de la leche y de los productos lácteos. Ediciones Díaz de Santos. S. A. Madrid, España; 2000. p.219-230.