

## Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el Area Metropolitana de San José, Costa Rica

Viviana Araya, Leslie Gallo, Carlos Quesada, Carolina Chaves y María Laura Arias

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET) y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

**RESUMEN.** En los últimos años, se ha dado en Costa Rica y a nivel mundial, una creciente producción, industrialización y consumo de la leche de cabra y sus derivados. No obstante, a nivel nacional no se ha realizado una caracterización de estos, por lo que el objetivo de este estudio es determinar las características microbiológicas de la leche y el queso fresco de cabra que se distribuyen en el área metropolitana de San José, Costa Rica, y así evaluar su potencial impacto en el plano económico y a nivel de Salud Pública. Se analizó un total de 25 muestras de leche cruda de cabra obtenidas por ordeño manual y provenientes de cinco productores diferentes, analizados en cinco fechas diferentes y 15 muestras de queso de cabra elaborado con leche pasteurizada, provenientes de tres productores costarricenses que distribuyen el queso comercialmente y también analizados en cinco oportunidades distintas. El estudio abarcó el análisis de microorganismos de deterioro (bacterias aerobias-mesófilas y bacterias lácticas), indicadores de higiene (coliformes totales), de contaminación fecal (coliformes fecales), de manipulación (*Staphylococcus aureus*) y patógenos (*Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp.). Los resultados para el recuento total aerobio mesófilo y de bacterias lácticas de las muestras de leche y queso resultaron elevados, indicando una disminución en la vida útil del producto. En cuanto a coliformes totales, el 100% las muestras de leche presentaron recuentos que superan los límites establecidos por la legislación para leche cruda de consumo humano costarricense y el 76% presentó coliformes fecales. Contrario a lo anterior, todas las muestras de queso, excepto una, fueron negativas para coliformes totales y fecales, lo cual sugiere que el queso es elaborado bajo buenas prácticas higiénicas. Los recuentos obtenidos para *S. aureus* fueron relativamente bajos y no se logró aislar *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes* a partir de las muestras de leche y queso analizadas. **Palabras clave:** Evaluación bacteriológica, leche, queso, cabra.

### INTRODUCCION

Se define a la leche como el producto de la secreción de las glándulas mamarias de mamíferos, especialmente de ganado bovino y caprino. Otros animales utilizados en la adquisición de leche incluyen el búfalo, la oveja, el camello y la llama, no obstante su consumo es esporádico (1).

La vaca constituye, por excelencia, el mayor productor de leche a nivel mundial, no obstante, en los últimos años se ha dado un incremento importante en la producción e industrialización de leche de cabra. Se calcula que, a nivel

**SUMMARY.** Bacteriological evaluation of goat milk and cheese distributed in the Metropolitan Area of San José, Costa Rica. In the last years, there has been an increase in the production, industrialization and consumption of goat's milk and derivate products, including cheese, worldwide. Nevertheless, in Costa Rica there is no study of these products, reason why the objective of this work was to determine the microbiological characteristics of goat's milk and fresh cheese distributed in the Metropolitan Area of San José, Costa Rica, in order to evaluate its impact in the economical field and as a potential risk for Public Health. A total of 25 raw goat's milk samples, obtained by manual milking from 5 different producers tested in five different dates and 15 cheese samples, elaborated with pasteurized milk, commercially available and coming from three different producers were analyzed. The study included the analysis of spoilage bacteria (total aerobic count and lactic bacteria count), indicators of hygiene (total coliforms), fecal contamination (fecal coliforms), manipulation (*Staphylococcus aureus*) and pathogens (*Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp). High results were obtained for the total aerobic count and lactic bacteria count of the milk and cheese samples, showing a reduced shelf life. Total coliforms, in limits beyond the established ones by the Costa Rican legislation for human consumption raw milk, were found in 100% of milk samples, as well as for fecal coliforms in 76% of them. All cheese samples, except one, were negative for these indicators, suggesting good manufacturing practices. *S. aureus* counts were low and both *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not isolated from samples analyzed. **Key words:** Bacteriological evaluation, milk, cheese, goat.

mundial, más de 440 millones de cabras producen un estimado de 4,8 millones de toneladas de leche, la cual es consumida a nivel local o procesada en forma de diversos quesos. Esto representa cerca del 2% de la producción mundial (2). En Costa Rica, su producción representa una industria creciente, donde las principales zonas productoras se encuentran en la Meseta Central y se estima una producción de 30000 litros de leche y más de 300000 kg de queso por año, cifras que van en franco aumento (2).

La leche, aún cuando provenga de diversas especies, contiene, de manera general, los mismos constituyentes

nutricionales, dándose variaciones muy ligeras en composición y propiedades. Los componentes que más varían son las proteínas y las grasas (3). En cuanto a proteínas, la leche de cabra contiene cantidades ínfimas de la proteína alpha S1 caseína, principal proteína de la leche bovina y reconocido alergeno (4). También, en la leche de origen caprino, es notable el alto contenido de los ácidos grasos cáprico, caprílico caproico, palmítico, láurico y la escasa cuantía de ácido oleico y esteárico (5). También, esta leche posee un porcentaje menor de lactosa comparado con la leche de vaca y un porcentaje mayor de vitaminas liposolubles e hidrosolubles. (5).

La existencia de diferencias bioquímicas presentes en la leche de cabra con respecto a la leche de otras especies animales se ha relacionado con beneficios para la salud del ser humano en diversas investigaciones. Haenlein (6) señala que la alta sensibilidad de los niños a la proteína de la leche de vaca justifica la sustitución de ésta por leche de cabra dado que ésta última a pesar de que contiene alfa lactoalbúmica, beta lactoalbúmina y una cantidad similar de caseína, contiene menor cantidad de alfa-s-1-caseína, la proteína más alergénica (7).

La leche de cabra, al igual que la bovina, puede ser una fuente importante de microorganismos patógenos, incluyendo aquellos adquiridos por contaminación primaria, secundaria o terciaria. (8) Dentro de los microorganismos asociados a contaminación primaria, se destacan *Staphylococcus aureus* y los enterococos; asociados a contaminación secundaria la lista de patógenos es bastante extensa, destacándose *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* entre otros (9). No obstante, es importante destacar que, a diferencia de la leche de vaca, los estándares microbiológicos para la producción y distribución de leche de cabra son más laxos y la información de la microbiología de ésta en la literatura es bastante limitada (10).

En los últimos años, se ha dado en Costa Rica una creciente producción, industrialización y consumo de la leche y queso de cabra, y la apertura de fronteras permitirá, próximamente, su exportación. No obstante, a nivel nacional no se ha realizado una caracterización microbiológica de éstos, por lo que su impacto a nivel industrial y de Salud Pública es desconocido. El objetivo de este estudio fue determinar las características microbiológicas de la leche y el queso fresco de cabra que se distribuyen en el área metropolitana de San José, Costa Rica, y así evaluar su potencial impacto en el plano económico y a nivel de Salud Pública.

## MATERIAL Y METODOS

### Localización del proyecto

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, durante el año 2006.

### Origen de las muestras

Se analizó un total de 25 muestras de leche cruda, obtenidas por ordeño manual y provenientes de cinco productores diferentes, analizados en cinco fechas diferentes y 15 muestras de queso de cabra elaborados con leche pasteurizada, provenientes de tres productores costarricenses que distribuyen el queso comercialmente y también analizados en cinco oportunidades distintas. Todas las muestras fueron transportadas en frío y analizadas en menos de 24 h después de su adquisición.

### Análisis bacteriológico

El análisis bacteriológico se siguió según la metodología descrita en Pouch (11).

### Recuento total aerobio mesófilo

Se midieron volumétricamente 25 mL de las muestras de leche o se pesaron 25 g de la muestra de queso y se diluyeron en 225 mL de agua peptonada estéril 0,1% (APE). Se realizaron diluciones decimales hasta  $10^{-5}$  en APE 0,1% y a partir de cada una se inocularon, por vaciado, platos de Agar Estándar + TTC (2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolium) que se incubaron a 35°C por 48 h en atmósfera aerobia.

### Recuento de coliformes

A partir de las diluciones preparadas anteriormente, se depositó 1 mL de cada una en placas petri que fueron recubiertas con agar bilis rojo violeta, las cuales fueron incubadas por 48 h a 35°C para determinar los coliformes totales presentes y por 24 h a 44,5°C para determinar coliformes fecales. La confirmación de coliformes fecales se realizó utilizando el sistema API 20E (bioMérieux, Francia).

### Recuento de bacterias lácticas

Se utilizaron las diluciones preparadas anteriormente, a partir de cada una se inoculó, por esparcimiento, 0,1 mL en placas de agar Man Rogosa Sharp (MRS) las cuales fueron incubadas por cuatro días a 20°C en jarra con candela (atmósfera de CO<sub>2</sub> aumentada). Se contabilizaron como bacterias lácticas las colonias blancas, Gram positivas y catalasa negativas.

### Recuento de *Staphylococcus aureus*

A partir de las diluciones preparadas, se inoculó 0,1 mL en placas de agar Baird Parker, las cuales fueron incubadas por 48 h a 35°C. Se consideraron sospechosas las colonias que presentaron una coloración negra y que fueran convexas, con reborde blanco y una zona de aclaramiento. Éstas fueron confirmadas mediante las pruebas de Gram, catalasa, fermentación del manitol y coagulasa.

### Aislamiento de *Listeria monocytogenes*

Se midió 25 g (o mL) de cada muestra y se homogeneizaron en 225 mL de caldo *Listeria*, el cual fue incubado a 30°C por 48 h. Se realizó un aislamiento selectivo utilizando agar Oxford, el cual se incubó por 48 h a 35°C. Las colonias sospechosas, redondas, café oscuras y con una depresión central fueron confirmadas mediante las pruebas de Gram, oxidasa, catalasa, fermentación de xilosa, ramnosa, arabinosa, movilidad a 25°C y luz de Henry.

### Aislamiento de *Salmonella* spp

Se midió 25 g (o mL) de cada muestra y se homogeneizaron en 225 mL de caldo lactosado simple, el cual fue incubado por 24 h a 35°C. A partir de éste, se transfirió 1 mL a caldo tetrionato, el cual fue incubado a 43°C por 24 h y también a caldo selenito, el cual se incubó a 35°C por 24 h. A partir de cada uno de éstos, se realizó un aislamiento selectivo utilizando agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar Hecktoen, incubados por 24h a 35°C. Las colonias sospechosas fueron identificadas utilizando el sistema API 20E (bioMerieux, Francia).

### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando ANOVA de una vía, disponible en el programa SPSS 15.0.

## RESULTADOS

Para el análisis de los resultados de queso, se utilizó la normativa establecida por el Reglamento Centroamericano de Criterios Microbiológicos de los Alimentos Procesados (2005), la cual establece un valor máximo permitido para coliformes totales de  $5,0 \times 10^2$  UFC/g y de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g para coliformes fecales. También, establece un máximo de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g de *S. aureus* y ausencia, en 25 g, de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* (12). Para el análisis de los resultados de leche se utilizó la normativa descrita en el Decreto MEIC-Mag Costa Rica (2006), donde se establece un valor máximo para coliformes totales de  $5,0 \times 10^2$  UFC/mL, menos de 10 UFC/mL para coliformes fecales, menos de 100 UFC/mL para *S. aureus* y ausencia, en 25 mL, de *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* (13).

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para recuento total mesófilo aerobio y recuento de bacterias lácticas de muestras de leche y queso de cabra. Se puede observar que el recuento total aerobio obtenido para ambos tipos de muestra se encuentra en su mayoría en un mismo intervalo ( $10^4 > 10^6$ ), con excepción de 4 muestras de queso que tuvieron valores inferiores. Para bacterias lácticas y específicamente para leche, es más amplio el intervalo, variando entre  $10^2$  y  $10^7$  UFC/mL.

TABLA 1

Recuento total aerobio mesófilo y de bacterias lácticas de las muestras de leche y queso de cabra obtenidas en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica

Rango	Leche Recuento total aerobio	N=25 Recuento bacterias lácticas	Queso Recuento total aerobio	N=15 Recuento bacterias lácticas
<10	0	0	1 (6,7%)	0
10-10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
10 <sup>2</sup> -10 <sup>4</sup>	0	8 (32%)	3 (20%)	0
10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup>	16 (64%)	13 (52%)	8 (53,3%)	0
>10 <sup>6</sup>	9 (36%)	4 (16%)	3 (20%)	15 (100%)

Con respecto a los coliformes totales en leche de cabra, la mayoría de muestras tuvieron valores entre  $10^4$  y  $10^5$  UFC/mL, muy por encima de lo que la norma permite, y para coliformes fecales, la variación fue grande, pues 6/25 muestras (24%) fueron negativas para estos microorganismos, mientras que 1 (4%) tuvo valores superiores a  $10^5$  UFC/mL. Con lo que respecta a quesos, la mayoría de muestras presentó <10 UFC/g, a excepción de una muestra que presentó tanto coliformes totales como fecales por encima de lo que permite la norma ( $1,3 \times 10^6$  UFC/g y  $1,3 \times 10^3$  UFC/g respectivamente).

Al comparar los valores obtenidos tanto para coliformes totales como coliformes fecales en ambos grupos, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de queso y las de leche ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a *S. aureus*, 6 (24%) de las muestras de leche y 3 (20%) de las muestras de queso presentaron valores superiores a los permitidos por la norma, no obstante, estos valores no llegan al límite inferior necesario para la producción de enterotoxina.

Ninguna muestra de queso o leche presentó *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes*.

## DISCUSION

En Costa Rica, al igual que en muchos otros países, la explotación caprina representa una actividad creciente (14), por lo que la caracterización microbiológica de ésta es una necesidad con el fin de establecer su inocuidad.

En este estudio, los recuentos totales aerobios mesófilos resultaron elevados para todas las muestras de leche cruda evaluadas. La importancia de este análisis estriba en que, como lo cita Revelli (15), define la calidad higiénica de la leche producida.

Existen diversos criterios sobre el valor máximo permitido para recuento total aerobio mesófilo en leche de vaca, por ejemplo, la Comisión Europea de criterios microbiológicos

permite un valor máximo de  $5,0 \times 10^4$  UFC/mL, mientras que el Reglamento Sanitario de Alimentos de Chile estipula  $1,0 \times 10^6$  (14). Para leche de cabra, Roberts (16) destaca que ésta debe presentar recuentos menores a los de la leche de vaca, porque las probabilidades de adquirir materia fecal y agregar más flora bacteriana al producto se reducen a causa de tener un excremento más seco por lo que hay menores probabilidades de contaminar la leche. En este estudio (16) se permite un recuento total aerobio mesófilo para leche cruda de cabra, igual o menor a  $1 \times 10^5$  UFC/mL, límite no cumplido por la mayoría de las muestras analizadas.

Con respecto a quesos, a pesar de que se utiliza leche pasteurizada en su elaboración, y se prescinde de cultivo iniciador, los resultados obtenidos para el recuento total aerobio son bastante altos, lo cual indica contaminación post proceso proveniente del equipo o por manipulación (17) y una disminución en la vida útil del producto.

Las bacterias lácticas, a pesar de ser flora normal en ambos tipos de muestra, presentaron altos valores, y la importancia de este grupo estriba en que representa la principal causa de su deterioro.

En cuanto a coliformes totales, el 100% las muestras de leche presentaron recuentos que superan los límites establecidos por la norma citada anteriormente y por la legislación para leche cruda de consumo humano costarricense (12,13). De manera semejante, 76% de las muestras presentaron valores de coliformes fecales por encima de lo estipulado. La presencia de este alto número de coliformes indica contaminación directa con materia fecal y sugiere un riesgo indirecto de adquisición de otras bacterias patógenas que se transmiten mediante dicha vía.

Contrario a lo anterior, todas las muestras de queso, excepto una, fueron negativas para coliformes totales y fecales, lo cual sugiere que el queso es elaborado bajo buenas prácticas higiénicas.

Las muestras de leche y queso evaluadas no se pueden considerar de riesgo por intoxicación alimentaria causada por *S. aureus*, ya que los recuentos obtenidos son relativamente bajos y más bien sugieren adecuada manipulación a pesar de que el ordeño de cabras y el procesamiento del queso son con frecuencia de tipo manual.

No se logró aislar *Salmonella* spp. a partir de las muestras de leche y queso evaluadas lo cual coincide con los datos reportados por Muehlherr *et al.* en Suiza (10), y Foschino *et al.* en Italia (18).

Tampoco se aisló *Listeria monocytogenes* de las muestras evaluadas. Varias razones pueden explicar la ausencia de esta bacteria. Normalmente, su número es bajo en productos lácteos (19), se ve inhibida por la producción de ácido por parte de las bacterias lácticas (20) y también el hecho de que los muestreos se realizaron durante la época de verano del país, y se ha descrito que esta bacteria presenta variación estacional

y en el verano es frecuente aislar menos de 1 bacteria por mL (19, 21). Un último punto a considerar que pudo favorecer la inhibición de esta bacteria, es la presencia de lactoperoxidasa, ya que se ha reportado actividad de ésta contra *L. monocytogenes* a diferentes temperaturas (4°C, 8°C, 25°C y 37°C) (19).

Contrario a lo anterior, en años recientes se ha descrito, a nivel mundial, brotes debidos al consumo de leche de cabra cruda y productos elaborados con leche no procesada causados especialmente por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y *Campylobacter jejuni* (8).

Con los resultados obtenidos se puede concluir que, a pesar de que no se aislaron microorganismos patógenos, las muestras evaluadas presentan altas concentraciones de microorganismos indicadores, por lo que la presencia de patógenos es factible, representando un riesgo para la salud pública. Además, estas altas concentraciones de microorganismos también propician un deterioro acelerado del producto. Es necesario mejorar la calidad integral de la leche de cabra, incluyendo algún tipo de proceso de higienización antes de su uso, con el fin de ofrecer un producto seguro a la población y una buena materia prima para la elaboración de quesos razón por la cual es imprescindible contar con animales productores sanos así como con buenas prácticas de manejo, higiene y procesamiento.

## REFERENCIAS

1. Rojas W. Evaluación del efecto de diferentes proporciones de leche de vaca y leche de cabra sobre las características químicas, físicas y sensoriales de un yogurt batido de fresa. Tesis de grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. Escuela de Tecnología de Alimentos. San José. 2005.
2. Abdel-Azis M, Abou-E, Ryser E & Donnelly C. Incidence and seasonal variation of *Listeria* species in bulk tank goat's milk. *J Food Prot.* 2000; 63: 1208-1213.
3. Walfgang S. Elaboración de quesos de oveja y cabra. Editorial Acribia. Zaragoza, España, 1995.
4. Juárez M. Physico chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. *Int Dairy Fed.* 1986; 202: 1-20.
5. Tabatabai L. Good news for goat's milk drinkers. *Science Update.* 2004; 23: 16
6. Haenlein, G. The Many Medicinal Benefits of Goat Milk. *Countryside Small Stock J.* 2005; 85: 84.
7. Tormo, R, Conde M & Infante D. Alergia a la Leche de Vaca. La leche de Cabra como Alternativa Dietética. *Rev La Cabra.* 2002; 1: 18-22.
8. Jayarao B, Donaldson S, Straley B, Sawant A, Hedge N & Brown J A Survey of Foodborne Pathogens in Bulk Tank Milk and Raw Milk Consumption Among Farm Families in Pennsylvania. *Am Dairy Sci Assoc.* 2006; 89: 2451-2458.
9. De Buyser M, Dufor B, Maire M & Lafarge V. Implication of

- milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *Int J Food Microb.* 2001; 67: 1-17.
10. Muehlherr J, Zweifel C, Corti S, Blanco J & Stephan R. Microbiological Quality of Raw Goat's and Ewe's Bulk-Tank Milk in Switzerland. *Am Dairy Sci Assoc.* 2003; 86: 3849-3856.
  11. Pouch, F. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.* APHA. 4th edition 2001.
  12. UA- Alimentos y Bebidas. *Reglamento Centroamericano de Criterios Microbiológicos de los Alimentos Procesados.* Costa Rica. 2005. <http://www.reglatec.go.cr>.
  13. Decreto Ministerio Economía Industria y Comercio-Ministerio de Agricultura y Ganadería. Costa Rica. *Reglamento técnico (401-2006): Leche cruda y leche higienizada, especificaciones.* 2006.
  14. Camacho L & Sierra C. Diagnóstico Sanitario y Tecnológico del Proceso Artesanal del Queso Fresco de Cabra en Chile. *Arch Lat Nut.* 1988; 38: 935-945.
  15. Revelli G. Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. *Rev Arg Microb.* 2004; 36.
  16. Roberts D. Microbiological aspects of goat's milk. A Public Health Laboratory Service survey. *J Hyg Camb.* 1986;94: 31-44.
  17. Freitas C & Malcata C. Microbiology and biochemistry of cheeses with appellation d'Origine Protégée and manufactured in the Iberian Peninsula from Ovine and Caprine Milks. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 584-602.
  18. Foschino R, Invernizzi A, Barucco R & Stradiotto K. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *J Dairy Res.* 2002; 69: 213-225.
  19. Mayorga M. Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda de tanques de frío en lecherías y tanques comunitarios provenientes de 9 sectores de la provincia de Cautín, IX Región. Tesis de grado para optar al grado de Licenciado en Ciencias Veterinarias. Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. 2004.
  20. Gaya P. Occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk. *J Dairy Sci.* 1996; 79: 1936-1941.
  21. Tamagnini L, de Sousa G, González R & Budde C. Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research.* 2005; 30: 1-6.

Recibido: 07-01-2008

Aceptado:24-03-2008