

## VARIACIÓN ESTACIONAL EN LOS PRINCIPALES INDICADORES DE HIGIENE EN LECHE CRUDA DE UN TAMBO DE LA CUENCA CENTRAL

SIGNORINI, M. L.<sup>1</sup>, SEQUEIRA, G. J.<sup>1</sup>, BONAZZA, J. C.<sup>1</sup>,

DALLA SANTINA, R.<sup>1</sup>, OTERO, J. L.<sup>1</sup> & ROSMINI, M. R.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Los sistemas de aseguramiento de la calidad e inocuidad, entre los que se destaca el denominado Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos (HACCP, por sus siglas en inglés) requieren conocer las condiciones higiénicas en las diferentes etapas del proceso en un establecimiento en particular y la contribución de las condiciones ambientales sobre la calidad del producto final. El objetivo del presente trabajo fue determinar la existencia y magnitud de las variaciones estacionales en los indicadores de higiene a lo largo del proceso de obtención y almacenamiento de leche cruda en un tambo como paso previo a la determinación de los factores de riesgo. Para el estudio se utilizó leche cruda de un establecimiento productor de la provincia de Santa Fe (Argentina). Las muestras se recolectaron directamente de la ubre, luego del pre- enfriado, tanque de enfriamiento, manos del ordeñador y pezoneras, realizándose un muestreo por semana hasta completar 44 muestreos distribuidos a lo largo del año. A las muestras colectadas se les determinó el recuento total de microorganismos psicrotrofos, mesófilos, termodúricos, hongos y levaduras, enterobacterias y *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos demuestran una marcada estacionalidad en los indicadores microbiológicos de higiene de la leche cruda independientemente del punto de muestreo, siendo superiores los recuentos obtenidos durante el verano y el otoño. Estos resultados justifican la adopción de medidas higiénicas especiales en las estaciones más críticas para mantener los indicadores de calidad higiénica de la leche dentro de parámetros aceptables.

*Palabras claves:* leche, microorganismos indicadores, variación estacional, seguridad alimentaria.

---

1.- Departamento de Salud Pública Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL. Kreder 2805. (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Tel: (03496) 420639.

Manuscrito recibido el 11 de noviembre de 2003 y aceptado para su publicación el 6 de mayo de 2004.

## SUMMARY

### Seasonal variation of principal hygiene indicators in the raw milk of a central area farm.

Milk quality begins in primary production stages and manipulation in dairy farms. Systems to secure milk quality for example Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) are being applied in processing industries, but not at the dairy farm level. Before to use this system, in an specific farm, we must know the hygienic conditions in the different stages of the work line and throughout the year. The objective of this work was found the presence and the level of season changes in the milk quality indicators as initial diagnostic to the subsequent implementation of HACCP system. Raw milk obtained from three different points of the production line of a dairy farm in Santa Fe province (Argentina) was used for the study. Techniques used were: total psychrotrophs, termoduric, mesophilic aerobic bacteria, *enterobacteriaceae*, yeast and molds and *Staphylococcus aureus*. The results show higher microorganisms count during summer and autumn than in spring and winter. These results justify special hygienic practices in the more critical seasons with the aim to keep low the hygienic microorganisms indicators.

*Key words:* milk, indicator microorganisms, season change, food safety.

## INTRODUCCIÓN

La industria de alimentos se ve en la necesidad de competir día a día, con éxito en el ámbito nacional e internacional, en mercados cada vez más normalizados y dominados por compañías altamente diferenciadas por la calidad y el servicio al consumidor (García, 1988). Además, se exige de las empresas productoras de alimentos centrar sus esfuerzos en crear nuevas ventajas competitivas con base en la calidad, la productividad y el servicio, en garantizar la satisfacción del cliente; esto es, responder permanentemente a la confianza que éste deposita en la compañía al adquirir sus productos, sin perder de vista la condición esencial de ser productivo y eficiente en costos.

En los últimos años, favorecido por la apertura comercial de nuestro país y, en especial, por la variación en la relación cambiaria de la moneda, se ha manifestado un creciente interés internacional por nuestros productos lácteos, que no ha podido ser aten-

dido completamente debido, en gran medida, a la existencia de dificultades sanitarias en los rodeos vacunos y algunas deficiencias en la calidad de la materia prima (inhibidores, contaminantes, etc.) (OMS, 1991; Taverna & Calvino, 1999). A pesar de los logros alcanzados en materia de calidad higiénica de la leche respecto del comienzo de los años '90, aun se observan algunas deficiencias relacionadas con el manejo de la leche cruda en el tambo y durante el transporte, que se ponen de manifiesto mediante el recuento de microorganismos indicadores y que repercuten negativamente en el ingreso que reciben los productores (Taverna & Calvino, 1999; Comerón *et al.*, 2001).

Si bien es de reconocimiento general el alto nivel de tecnificación y los rigurosos controles que se realizan en la leche y los productos lácteos a nivel industrial, al igual que en todas las industrias de alimentos, es en la materia prima donde debe empezar el cuidado de la calidad del producto final (Pierson & Corlett, 1992; Cullor, 1997).

A los efectos de satisfacer esta necesidad

empresarial en los últimos años se han diseñado diversos tipos de sistemas de garantía de calidad y, en el caso de la industria de alimentos, el que más desarrollo ha tenido es el Sistema de Análisis de Peligros e Identificación y Control de Puntos Críticos (del inglés HACCP) (Bryan, 1985 y 1992; ICMSF, 1991; Bryan *et al.*, 1991; Jouve, 1993; Heredia Lobato & Garnica Anaguas, 1994; SENASA, 1996).

El sistema permite identificar etapas del proceso de producción que presentan riesgos específicos y para los cuales se pueden indicar medidas preventivas para su control. De esta forma se garantiza la inocuidad del alimento, evitando las pérdidas que ocasiona el análisis del producto final (Bryan, 1991; García, 1988). Este sistema se ha puesto en práctica de manera especial para la industria de transformación de alimentos pero puede ser aplicado a lo largo de toda la cadena alimentaria, lo cual constituye una de sus mejores ventajas para evitar la pérdida de control en cualquiera de sus eslabones, desde el productor primario hasta el consumidor final (ICMSF, 1991).

En producción primaria de leche son muy pocas las experiencias realizadas con relación a la aplicación de un sistema de gestión de la calidad, encontrándose sólo antecedentes orientados a la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por la leche (Instituto Medicina Veterinaria de Cuba, 1992; Gardner, 1997). Por el contrario, en las industrias procesadoras de leche, los sistemas de garantía de calidad son conocidos y han sido aplicados en la última década (Van Schothorst & Kleiss, 1994).

Antes de aplicar el sistema, en un establecimiento en particular, se deben conocer las condiciones específicas de producción y resulta conveniente, además, estudiar las condiciones higiénicas en diferentes etapas de la línea de proceso, a manera de diagnós-

tico de la situación inicial (García, 1988; Notermans & Jouve, 1995).

La producción primaria de leche, al ser un sistema biológico, está sometido a influencias ambientales que, en determinadas ocasiones pueden hacer variar la composición y calidad del producto obtenido. Este aspecto es tenido en cuenta por las empresas que procesan la leche, ya que influye directamente sobre la calidad del producto final.

El objetivo de este trabajo fue determinar la existencia y magnitud de las variaciones estacionales en los indicadores de higiene que manifiestan la calidad de la leche cruda en un tambo con el fin de implementar, posteriormente, el sistema HACCP.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1- TOMA DE MUESTRAS

Los muestreos se realizaron en un establecimiento productor de leche cruda, ubicado en la localidad de Iriondo, Provincia de Santa Fe (Argentina). Las muestras se recolectaron de los siguientes puntos del proceso de obtención y almacenamiento de la leche: a la salida de la ubre, luego del pre-enfriado (intercambiador a placas con agua a temperatura ambiente) y del tanque de enfriamiento (Rosmini *et al.*, 2004). Esta última muestra estuvo constituida por leche obtenida en el ordeño anterior y almacenada por 12 horas a una temperatura menor a 8°C más el agregado de la leche obtenida simultáneamente con el muestreo. En todos los casos, las muestras estuvieron constituidas por tres subunidades extraídas al azar del conjunto total. En el caso de la leche a la salida de la ubre, cada subunidad de muestra estuvo formada por leche proveniente de diez animales seleccionados al azar. Esta extracción se realizó posteriormente al lavado de los pezones con agua de pozo y la eliminación de los primeros “chorros de leche”.

También se obtuvieron muestras de las manos del ordeñador, constituida por una única subunidad y el muestreo se realizó mediante enjuague directo de las mismas en caldo lactosado al 10% inmediatamente antes de comenzar el ordeño. Asimismo se muestrearon las pezoneras, realizándose al inicio del ordeño mediante enjuague directo de su parte interna con caldo lactosado al 10%, estando constituida la única subunidad por el enjuague de las cuatro partes que componen el sistema.

Una vez obtenidas las muestras, se las transportó refrigeradas al Laboratorio de Análisis de Alimentos (Departamento de Salud Pública Veterinaria) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional del Litoral (UNL) para su análisis inmediato. Se realizó un muestreo por semana, con un intervalo aproximado de 7 días, hasta completar 44 muestreos distribuidos a lo largo de las cuatro estaciones climáticas correspondientes al período 2001-2002.

## 2- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Las muestras de leche de las diferentes etapas de la línea de proceso y del enjuague de las manos del ordeñador, fueron sometidas a los siguientes análisis microbiológicos: recuento total de microorganismos psicrotrofos, mesófilos, termodúricos, hongos y levaduras, enterobacterias y *Staphylococcus aureus* (Thomas, 1971; ICMSF, 1984; Mossel & Moreno, 1985). Al enjuague de las pezoneras se le analizó el número total de microorganismos psicrotrofos, mesófilos, termodúricos, hongos y levaduras y enterobacterias.

A partir de cada muestra (leche o enjuague de las manos del ordeñador y de las pezoneras) se prepararon diluciones decimales utilizando agua peptonada al 0,1%, de acuerdo con las recomendaciones de la AOAC, para

facilitar el recuento posterior. Un volumen de 1ml de cada una de las diluciones de cada muestra fue sembrado, por duplicado, en placas de Petri estériles de 100 mm de diámetro. Posteriormente se agregaron 15 ml del agar, fundido y templado, requerido para cada determinación.

Para el recuento de microorganismos psicrotrofos, mesófilos y termodúricos se utilizó el agar para recuento en placa (Biokar, Beauvais, Francia). La temperatura y tiempo de incubación para el recuento de psicrotrofos fue de 7 °C durante 10 días, mientras que para los dos grupos restantes fue de 37 °C durante 48 horas. Para la determinación de microorganismos termodúricos, las muestras se sometieron a un calentamiento de 63 °C durante 30 minutos, previo a la siembra (ICMSF, 1984).

El recuento de hongos y levaduras se determinó en agar YGC (Biokar, Beauvais, Francia) incubando a 25 °C durante 5 días (Norma IDF 94B, 1990). Para el recuento de entero-bacterias se utilizó agar violeta rojo bilis glucosa (Biokar, Beauvais, Francia), incubando las placas a 37°C durante 24 horas (ICMSF, 1984).

La determinación de *S. aureus* comenzó con la siembra de 0,1 ml de cada dilución en la superficie de agar Baird-Parker (Merck, Darmstad, Alemania), homogeneizándola mediante el empleo de espátulas de Drigalsky. Transcurridas 48 horas de incubación a 37 °C, las colonias presuntivas se sembraron en caldo Infusión Cerebro Corazón (Merck, Darmstad, Alemania) durante 24 horas a 37 °C y, a partir de este cultivo fresco, se realizaron las pruebas de la termonucleasa y coagulasa. Para la primera determinación se empleó agar para la verificación de DNA-sa (Merck, Darmstad, Alemania), mientras que la prueba de la coagulasa se realizó exponiendo el cultivo fresco con plasma de conejo (ICMSF, 1984).

## 3- VERIFICACIÓN DE LA

## HIGIENE DE LA UBRE

Antes de realizar cada uno de los muestreos se realizó la verificación, mediante observación, del estado de higiene de las ubres. La información obtenida se registró en la planilla de muestreo.

## 4- ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

A los resultados obtenidos (parámetros objetivos de calidad higiénico-sanitaria) se aplicaron las siguientes herramientas estadísticas para extraer conclusiones. Para cada punto de muestreo de leche y dentro de éste para cada microorganismo indicador, se evaluó (utilizando el Análisis de la Varianza) la existencia de diferencias al comparar las cuatro estaciones del año. Cuando se hallaron diferencias se aplicó el test de comparaciones múltiples de Tukey para determinar los grupos que eran diferentes (Steel & Torrie, 1998). Los análisis estadísticos fueron realizados empleando el paquete estadístico SPSS ver. 8.0.

## RESULTADOS

Los recuentos de enterobacterias, psicrotrofos y mesófilos obtenidos, a partir de la leche extraída directamente de la ubre, du-

rante las estaciones de verano y otoño fueron superiores ( $P < 0,05$ ) a los encontrados en el invierno y la primavera. En los recuentos realizados para microorganismos termodúricos, se observaron tres grupos con valores diferentes ( $P < 0,05$ ). Los resultados hallados durante verano y otoño fueron superiores a los encontrados en el invierno y éstos, a su vez, superaron a los de primavera. Los recuentos obtenidos para los hongos y las levaduras permiten agrupar a las estaciones del año en tres grupos diferentes ( $P < 0,05$ ): los valores más elevados se encontraron en el otoño, seguidamente aparecen el invierno y el verano y, por último, la primavera, en la cual se presentaron los recuentos más bajos del año para este grupo microbiano. En lo que respecta a *S. aureus*, se observaron diferencias ( $P < 0,05$ ) entre los recuentos obtenidos en el otoño y la primavera, pero no existieron ( $P > 0,05$ ) para las dos estaciones climáticas restantes (Cuadro 1).

En el Cuadro 2 se presentan los indicadores microbiológicos obtenidos, a partir de la leche, antes que recibiera el tratamiento con frío (leche colectada luego de su paso por el intercambiador a placas). Los recuentos de microorganismos mesófilos, psicrotrofos y enterobacterias obtenidos durante las estaciones climáticas verano y otoño fueron significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) a los

Cuadro 1: Variación estacional de los indicadores de higiene ( $\log_{10}$  UFC/ml de leche) en la leche extraída directamente de la ubre.

Determinación	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	X	std	X	std	X	std	X	std
Mesófilos	4,88 a	0,48	5,15 a	0,40	4,10 b	0,55	3,85 b	0,57
Psicrotrofos	3,47 a	0,49	3,93 a	0,61	2,57 b	0,59	2,71 b	0,91
Termodúricos	3,15 a	0,53	3,14 a	0,46	2,20 b	0,52	1,80 c	0,53
Hongos y Levaduras	1,65 b	0,61	2,09 a	0,69	1,53 b	0,63	1,00 c	0,49
Enterobacterias	2,50 a	0,55	2,39 a	0,76	1,41 b	0,54	1,08 b	0,55
<i>S. aureus</i>	1,26 ab	1,77	2,25 a	1,32	1,44 ab	1,18	0,56 b	1,00

abc Los valores seguidos por letras diferentes, varían significativamente ( $P < 0,05$ )

Cuadro 2: Variación estacional de los indicadores de higiene (logUFC/ml de leche) en la leche extraída luego del intercambiador a placas.

Determinación	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	X	std	X	std	X	std	X	std
Mesófilos	4,80 a	0,65	4,89 a	0,37	3,95 b	0,44	3,82 b	0,62
Psicotrofos	3,56 a	0,61	3,76 a	0,68	2,20 b	0,58	2,62 b	1,09
Termodúricos	3,03 a	0,56	2,65 b	0,44	1,53 c	0,37	1,22 c	0,33
Hongos y Levaduras	1,56 a	0,49	1,67 a	0,40	1,61 a	0,35	1,64 a	0,50
Enterobacterias	2,75 a	0,57	2,49 a	0,50	2,02 b	0,59	1,98 b	0,63
<i>S. aureus</i>	0,33 a	0,99	0,87 a	0,83	1,01 a	0,88	0,33 a	0,63

abc Los valores seguidos por letras diferentes, varían significativamente ( $P < 0,05$ )

Cuadro 3: Variación estacional de los indicadores de higiene (logUFC/ml de leche) en la leche extraída del tanque de enfriamiento

Determinación	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	X	std	X	std	X	std	X	std
Mesófilos	5,15 a	0,59	5,26 a	0,59	4,34 b	0,53	4,05 b	0,55
Psicotrofos	3,67 a	0,79	4,35 a	0,89	2,69 b	0,48	2,45 b	0,96
Termodúricos	3,25 a	0,86	2,81 b	0,51	1,57 c	0,49	1,43 c	0,26
Hongos y Levaduras	1,93 ab	0,49	2,18 a	0,62	1,87 b	0,21	1,66 b	0,46
Enterobacterias	3,94 a	0,26	3,47 a	0,72	2,36 b	0,49	2,53 b	0,48
<i>S. aureus</i>	0,70 ab	1,39	1,43 a	0,91	0,93 ab	0,80	0,33 b	0,60

abc Los valores seguidos por letras diferentes, varían significativamente ( $P < 0,05$ )

registrados en invierno y primavera. Para los microorganismos termodúricos, los valores encontrados durante el verano fueron superiores ( $P < 0,05$ ) a los obtenidos en el otoño y éstos a su vez difirieron ( $P < 0,05$ ) de los encontrados en invierno y primavera. No se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) a lo largo del año en los recuentos de hongos y levaduras y *S. aureus*.

En el Cuadro 3 se exponen los resultados obtenidos de los análisis efectuados a la leche depositada en el tanque de enfriamiento. Al igual que en los dos puntos de muestreo analizados anteriormente, los recuentos de microorganismos psicotrofos, mesófilos y enterobacterias registrados durante el verano y el otoño fueron superiores ( $P < 0,05$ ) a los hallados en las dos estaciones climáticas restantes. Para el grupo microbiano termodúricos, los valores encontrados durante el

verano fueron superiores ( $P < 0,05$ ) a los del otoño y éstos, a su vez, mayores ( $P < 0,05$ ) a los registrados durante el invierno y la primavera. Los valores de los recuentos para hongos y levaduras durante el otoño fueron superiores ( $P < 0,05$ ) con respecto a los encontrados durante el invierno y la primavera, pero no se diferenciaron ( $P > 0,05$ ) de los valores del verano. En lo referente a *S. aureus* los recuentos observados durante el otoño fueron superiores ( $P < 0,05$ ) a los de primavera, pero no mostraron diferencias ( $P > 0,05$ ) con los registros del verano e invierno.

Los recuentos de microorganismos mesó-filos totales realizados en las manos del ordeñador, fueron significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) durante las estaciones verano y otoño, encontrándose los menores recuentos durante la primavera. En el caso de los microorganismos psicotrofos los

Cuadro 4: Variación estacional de los indicadores de higiene ( $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>) de las manos del ordeñador

Determinación	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	X	std	X	std	X	std	X	std
Mesófilos	2,77 a	0,60	2,52 a	0,40	1,87 b	0,32	1,62 b	0,22
Psicotrofos	1,82ab	0,43	1,97 a	0,32	1,05 bc	0,43	0,90 c	0,57
Termodúricos	1,44 a	0,54	1,16ab	0,50	0,88 ab	0,25	0,59 b	0,23
Hongos y Levaduras	0,27 a	0,31	0,62 a	0,52	0,79 a	0,46	0,33 a	0,31
Enterobacterias	0,88 a	0,70	0,47ab	0,55	0,24 ab	0,34	0,02 b	0,05
<i>S. aureus</i>	0 b		0,68 a	0,94	0 b		0 b	

abc Los valores seguidos por letras diferentes, varían significativamente ( $P < 0,05$ )

Cuadro 5: Variación estacional de los indicadores de higiene ( $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>) de las pezoneras

Determinación	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	X	std	X	std	X	std	X	std
Mesófilos	4,03 a	0,67	3,04ab	0,25	2,80 b	0,96	2,25 b	0,95
Psicotrofos	2,94 a	0,71	3,12 a	0,71	1,64 a	1,52	1,54 a	1,01
Termodúricos	2,50 a	0,87	1,51 b	0,82	0,93 b	0,40	0,68 b	0,38
Hongos y Levaduras	0,83 a	0,78	1,30 a	0,82	1,27 a	1,00	0,48 a	0,63
Enterobacterias	1,63 a	0,94	1,44 a	1,06	0,16 ab	0,35	0,51b	0,82

abc Los valores seguidos por letras diferentes, varían significativamente ( $P < 0,05$ )

mayores valores se encontraron en el otoño y el verano, resultando superiores ( $P < 0,05$ ) a los obtenidos en la primavera. Los valores correspondientes a los recuentos de microorganismos termodúricos y a las enterobacterias solo resultaron diferentes ( $P < 0,05$ ) entre el verano y la primavera, estaciones que tuvieron el mayor y el menor valor, respectivamente, para ambos grupos. Por su parte, los niveles de hongos y levaduras halladas en las manos de los operarios no variaron ( $P > 0,05$ ) a lo largo del año, hallándose los mismos en bajas concentraciones. No se aislaron colonias de *S. aureus* en las manos del ordeñador a excepción de muy bajos niveles durante el otoño (Cuadro 4).

Los recuentos de microorganismos mesófilos de las pezoneras fueron significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) en las muestras obtenidas durante el verano, encontrándose el menor valor durante la primavera pero sin que resultara diferente ( $P > 0,05$ ) de los

correspondientes al otoño y al invierno. Los microorganismos termodúricos resultaron superiores ( $P < 0,05$ ) en el verano, sin que fueran significativas las diferencias ( $P > 0,05$ ) entre los recuentos de las otras tres estaciones. El recuento de enterobacterias presentó una gran variabilidad, resultando superiores ( $P < 0,05$ ) los valores del verano y del otoño respecto de la primavera. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en recuentos de psicotrofos y hongos y levaduras muestreados a lo largo del año (Cuadro 5).

En la Fig. 1 se presenta la variación estacional exhibida en el recuento de microorganismos mesófilos totales, teniendo en cuenta los diferentes puntos de muestreo evaluados. En él se puede apreciar claramente que durante las estaciones del verano y otoño, los valores oscilaron en torno a 5 log UFC/ml de leche mientras que en invierno y primavera, esos recuentos declinaron, en

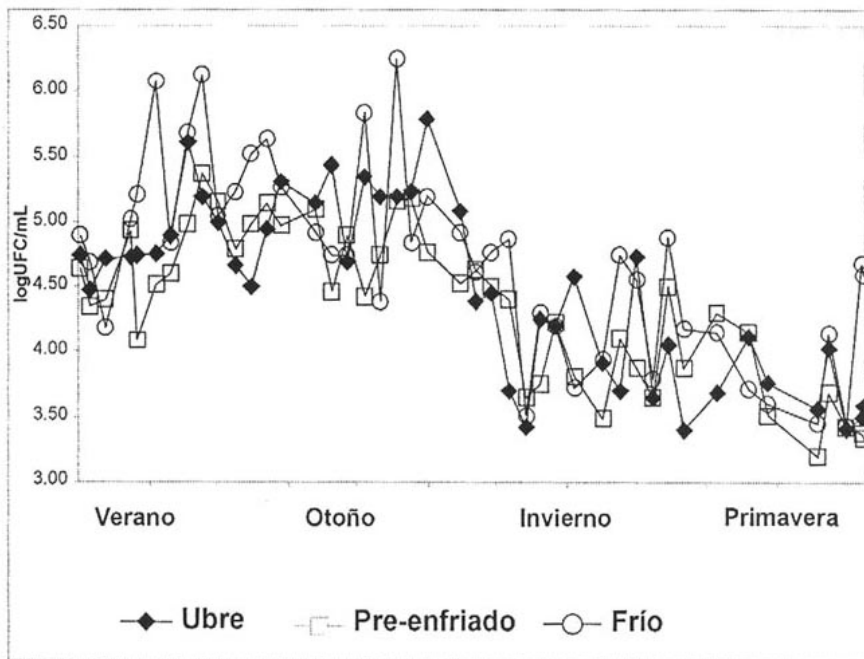


Fig. 1: Variación del recuento de microorganismos mesófilos totales por estación climática.

promedio, 1 log UFC/ml de leche.

En 7 de los 11 muestreos efectuados durante el verano, se consignó que las ubres estaban muy sucias con barro y materia fecal antes de iniciar el ordeño. Durante el otoño, 4 de 11 muestreos tuvieron ubres sucias; mientras que esta condición solo se encontró en un muestreo de los 22 realizados durante el invierno y la primavera.

## DISCUSIÓN

El recuento de microorganismos mesófilos es una medida de las condiciones de higiene del establecimiento y la insuficiente higiene del sistema de obtención de leche en forma integral es la causa más frecuente de altos recuentos de este tipo de organismos (Calvinho *et al.*, 1998 y 2001).

Si comparamos los recuentos de microorganismos totales en la leche del establecimiento en estudio con los exigidos por la Unión Europea (Directiva 92/46/CEE) para sus tambos (< 5 logUFC/ml) (Taverna & Calvinho, 1999) podemos apreciar que el promedio anual de microorganismos cumple con las mencionadas exigencias internacionales. No obstante ello, la variación de los valores entre las distintas estaciones produjo que durante el primer semestre del año los recuentos fueran superiores a las exigencias mencionadas.

En estudios sobre calidad de leche (Taverna & Calvinho, 1999; Taverna *et al.*, 2001) de establecimientos ubicados en la misma región, se demostró que el 57% de la leche producida presentaba recuentos de bacterias mesófilas inferiores a 5 log UFC/ml en promedio anual y entre el 80 y 85% de



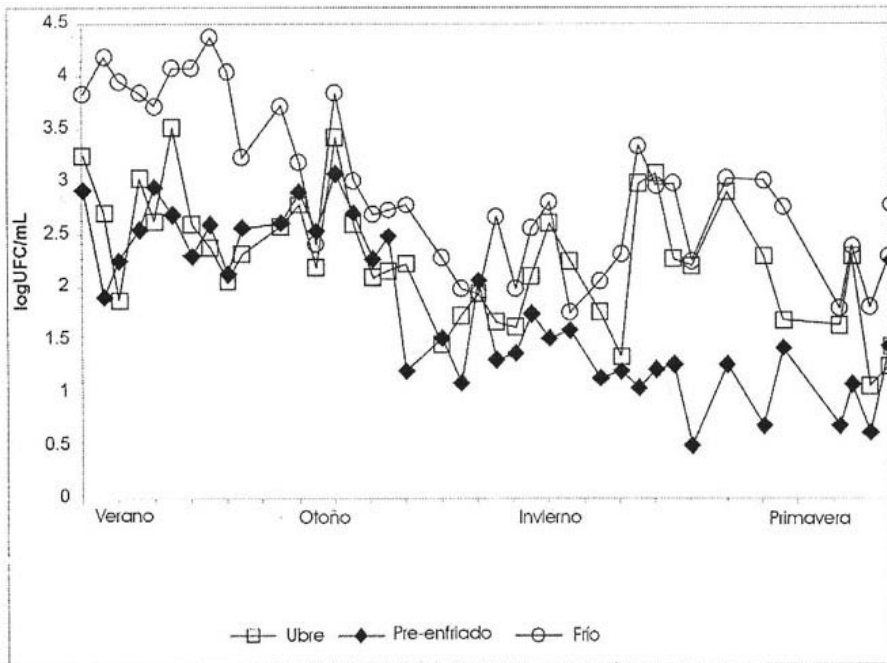


Fig. 2: Variación del recuento de enterobacterias por estación climática.

la leche se encontraba dentro de parámetros adecuados de calidad y apta para cualquier transformación industrial. No se hace mención en esos estudios a la existencia de diferencias en los recuentos entre las estaciones. Paralelamente, el nivel de mesófilos hallados en las manos del ordeñador y pezoneras fueron superiores durante el verano y otoño, indicando falta de higiene en todo el sistema de obtención y almacenamiento de la leche.

El recuento de organismos coliformes indica contaminación fecal probablemente producido por un pobre manejo higiénico de la rutina de ordeño, así como una deficiente higiene del equipo de ordeño. Valores superiores a 150 coliformes por mililitro (2,17 log UFC/ml de leche) son indicativos de higiene deficiente y muy raramente podrían ser el resultado de ordeñar vacas con mastitis

causada por estos microorganismos (Calvinho *et al.*, 1998 y 2001).

De acuerdo a los resultados del presente estudio, la leche obtenida directamente de la ubre y luego del intercambiador a placas, durante el verano y otoño se encontraron por sobre el valor indicado como referencia, disminuyendo a valores aceptables en las dos estaciones restantes. Es importante destacar que se utilizó una metodología de muestreo que respetaba las condiciones de trabajo rutinarias, de forma de poder evaluar la carga microbiana real. Al no existir un procedimiento de desinfección de las pezoneras podría una parte de los microorganismos presentes en la leche provenir de esa fuente. Debido a que se trata de una rutina de trabajo, es lógico esperar que esta mayor carga de gérmenes se produzca durante todas las estaciones climáticas, no

obstante, es muy probable que tenga mayor incidencia en aquellas en las que las condiciones del ambiente favorecen la presencia de un mayor número de microorganismos y, por consiguiente, mayores niveles de contaminación.

Las manos del ordeñador y las pezoneras presentaron un comportamiento similar, hallándose las mayores concentraciones durante el verano y el otoño, disminuyendo significativamente los niveles hacia el invierno y primavera. Por su parte, la concentración de enterobacterias halladas en el tanque de enfriamiento se presentó por sobre los niveles recomendados a lo largo de todo el año, aunque los mayores valores también se produjeron a lo largo del verano y el otoño.

En la Fig. 2 se muestra la variación estacional en el recuento de enterobacterias discriminado por punto de muestreo. Al igual que en el desarrollo de microorganismos mesófilos totales, es fácilmente observable la diferencia existente en los recuentos de enterobacterias en la leche obtenida durante las estaciones del verano y otoño en comparación a la extraída durante las dos estaciones restantes. Paralelamente se puede apreciar que en el transcurso del verano y del otoño, las diferencias en los recuentos entre la leche proveniente del tanque de enfriamiento y del pre-enfriado son marcadas; comportamiento que no se observa en las restantes estaciones, en donde dichas diferencias en los recuentos -aunque estadísticamente difieren- se reducen. Esto podría ser consecuencia del mayor aporte de microorganismos contaminantes que la leche recibe durante esas estaciones a lo largo del proceso de extracción. No debería descartarse, además, que una carga microbiana inicial elevada, acompañada de la elevación de la temperatura de la leche del tanque al mezclar la leche fría del ordeño anterior con la actual (solo parcialmente

refrigerada por el intercambiador a placas que funciona con agua a temperatura ambiente), elevase la temperatura de la leche almacenada y favoreciera la multiplicación de los microorganismos durante el verano y otoño.

El recuento de organismos termodúricos es indicativo de higiene inadecuada del equipo de ordeño o de practicar el mismo con ubres mojadas o cargadas de suciedad. Otras causas comunes de elevados recuentos son bombas que pierden, uniones sanitarias viejas, pezoneras u otras piezas de goma deterioradas y depósitos de “piedra de leche”. Este tipo de microorganismos provienen del medio ambiente de la vaca y normalmente desarrollan en el equipo de ordeño. Se consideran aceptables, valores de 200 a 300 UFC/ml de leche (2,3-2,5 log UFC/ml de leche) (Calvinho *et al.*, 1998 y 2001). La leche obtenida durante el verano y otoño evidenció recuentos de termodúricos por sobre los valores de referencia, independientemente del punto de muestreo evaluado. Paralelamente, las manos del ordeñador y pezoneras mostraron el mismo comportamiento, con altos recuentos durante verano-otoño en comparación con las restantes estaciones climáticas.

El recuento de *S. aureus* orienta sobre el nivel de infección de las glándulas mamarias en el rodeo. Sin embargo, la ausencia en el aislamiento de estos patógenos, no es indicativo de ausencia del mismo (Calvinho *et al.*, 1998 y 2001). La estacionalidad mostrada en los tres grupos microbianos anteriormente analizados, no se evidenció para *S. aureus*, quien mostró bajos niveles a lo largo de todo el año (recuentos inferiores a 2,25 log UFC/ml), no presentando estos recuentos riesgos para la salud de los consumidores (ICMSF, 1984). Las manos del ordeñador también evidenciaron bajos recuentos de *S. aureus*, siendo baja su participación en la contaminación láctea. Estudios realizados por Revelli & Rodríguez (2001) en la zona

noroeste de la provincia de Santa Fe y sur de Santiago del Estero, mostraron una clara estacionalidad de los agentes responsables de la mastitis bovina, destacando una mayor prevalencia de *S. aureus* y enterobacterias en el período otoño-invierno (agosto 1999 a julio 2001).

Los microorganismos psicrotrofos son aquellos capaces de crecer a temperaturas de 7 °C o inferiores (Marshall, 1979), aunque su temperatura óptima de multiplicación sea superior. Si bien son eliminados durante la pasteurización de la leche, sus enzimas (lipasas y proteasas) son termorresistentes (Adams *et al.*, 1975; Gebre-Egziabher *et al.*, 1980; Fairbairn & Law, 1986; Marshall, 1996) y generan importantes cambios negativos en la calidad de los productos lácteos (Adams *et al.*, 1975; San José *et al.*, 1987). Dentro de este grupo microbiano, las *Pseudomonas* son las más frecuentemente reportadas en leche cruda. La óptima actividad de las enzimas (proteasas y lipasas) generadas por psicro-trofos, se encuentra a temperaturas próximas a los 20 °C, pero una considerable síntesis se observa a bajas temperatura (Fairbairn & Law, 1986; Shah, 1994). Bajo condiciones de higiene, menos del 10 % de los microorganismos totales son psicrotrofos, comparado con el 75 % de participación en la carga microbiana total de la leche cuando no se contemplan medidas higiénicas (Champagne *et al.*, 1994; Humbert *et al.*, 1997; Nielsen, 2002). Si bien este grupo microbiano nunca alcanzó porcentajes de participación tan elevados, sí fue posible observar que durante el otoño, la leche obtenida a la salida del intercambiador a placas y del tanque de enfriamiento, presentaba concentraciones superiores al 10 % (marcado como referencia) de la flora microbiana total; porcentajes que no fueron alcanzados en las restantes estaciones del año.

A lo largo del presente estudio se puede

observar una marcada estacionalidad en el recuento de microorganismos psicrotrofos, mesófilos, termofílicos, hongos y levaduras y enterobacterias en los tres puntos de muestreo evaluados. Los recuentos para dichos microorganismos indicadores resultaron ser significativamente mayores ( $P < 0,05$ ) en las estaciones de verano y otoño.

Las condiciones climáticas de verano, caracterizadas por elevada temperatura y humedad, así como las intensas lluvias que se registran en la región entre los meses de diciembre y marzo, favorecen un mayor nivel de microorganismos presentes en el ambiente y que pueden pasar a la leche, a través del animal o de los utensilios e instalaciones destinadas al ordeño. En la región donde se ubica el establecimiento bajo estudio, el 60-65% de las precipitaciones anuales se encuentran concentradas durante el verano y otoño (Servicio Meteorológico Nacional, 2003). Esto coincide que la observación de una mayor frecuencia de ubres sucias en las estaciones de verano y otoño y estaría justificando la existencia de un mayor número de micro-organismos en la leche durante esas estaciones.

Otros parámetros de calidad de la leche han demostrado ser estacionales. Las concentraciones de grasa y proteína siguen un patrón cíclico a lo largo del año de acuerdo al tipo de alimentación consumida (Taverna *et al.*, 2002; Gallardo, 2003). Igualmente la producción láctea se ve afectada por el estrés térmico sufrido durante los meses de verano (Valtorta *et al.*, 2002; Valtorta, 2003). En este mismo sentido, estudios realizados por Negri *et al.* (2002) demostraron que la estabilidad térmica de la leche es marcadamente estacional, siendo las leches obtenidas en otoño las más estables térmicamente, mientras que las obtenidas durante el invierno-primavera son las más inestables.

Probablemente, la menor higiene evidenciada durante el verano y otoño, producto

de las precipitaciones más abundantes y frecuentes registradas durante ese período y a la consecuente mayor presencia de barro y materia fecal en el ambiente, fueron las principales fuentes de contaminación láctea desde la ubre, manos del ordeñador y del equipo de ordeño. La limpieza de las ubres previo al ordeño no resultó totalmente efectiva, durante el primer semestre del año, para disminuir significativamente la carga microbiana, especialmente enterobacterias.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran una marcada estacionalidad en los indicadores microbiológicos de higiene en la leche cruda, independientemente del punto de muestreo evaluado.

Los niveles obtenidos durante las estaciones climáticas verano y otoño fueron significativamente mayores (menor calidad higiénica) a los observados en el invierno y primavera.

Esto justifica la adopción de medidas higiénicas especiales en las estaciones más problemáticas con el fin de disminuir el promedio anual de microorganismos en leche cruda. Por otra parte, dichas medidas especiales pueden dejar de aplicarse en las estaciones climáticas en las cuales los valores de los indicadores están muy por debajo del promedio anual, con lo cual se racionaliza el costo del sistema.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS; D.M., BARACH, J.T. & SPECK, M.L. 1975. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J. Dairy Sci.*, 58: 828.
- BRYAN, F. L. 1985. Procedures for Local Health agencies to Institute a Hazard Analysis Critical Control Points Program for food safety assurance in food service operations. *J. Environ. Health.*, 47: 241-245.
- BRYAN, F. L. 1991. Bases y principios para la implementación del sistema HACCP en la elaboración de alimentos. Curso Internacional de Especialización. Buenos Aires, UADE/Food Control.
- BRYAN, F. L. 1992. Evaluaciones por análisis de peligros en puntos críticos de control. Guía para identificar peligros y evaluar riesgos relacionados con la preparación y la conservación de alimentos. Ginebra, OMS. pp. 86.
- BRYAN, F. L.; BARTLESON, C. A.; COOK, C. O.; FISCHER, P.; GUZWICH, J.; HUMM, B.; SWANSON, R. C. & TODD, E. C. D. 1991. Procedures to implement the hazard analysis critical control point (HACCP) system. Ames (Iowa), International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians.
- CALVINHO, L. F.; CANAVESIO, V. R. & AGUIRRE, N. 1998. Análisis de leche del tanque de frío: Una herramienta para detectar problemas y proponer soluciones. Publicación Miscelánea N° 89: 73-74.
- CALVINHO, L. F.; CANAVESIO, V. R. & AGUIRRE, N. 2001. Análisis de leche de tanque de frío. *Chacra* n° 843: 70.
- CHAMPAGNE, C. P.; LAING, R. R.; ROY, D. & MAFU, A. A. 1994. Psychrotrophs in dairy products: Their effects and their control. *Crit. Review Food Sci. and Nut.*, 34 (1): 1-30.
- COMERON, E.; OROSCO, D.; LAUXMAN, A.; SCHNEIDER, G.; BORGA, S.; ZEHNDER, R. & TAVERNA, M. 2001. El impacto económico de la calidad de la leche en la Cuenca Central Argentina. Anuario 2000 del Instituto de Tecnología

- Agropecuaria (INTA). [http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/anuario2000/a2000\\_p105.htm](http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/anuario2000/a2000_p105.htm)
- CULLOR, J. S.** 1997. HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points): Is it Coming to the Dairy?. *J. Dairy Sci.*, 80: 3449-3452.
- FAIRBAIM, D. J. & LAW, B. A.** 1986. Proteinasas of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *J Dairy Res*, 53: 139- 177.
- GALLARDO, M.** 2003. Alimentación y composición química de la leche. *Mercoláctea 2003*: 1-6.
- GARCÍA, B. M.** 1988. El sistema de análisis de riesgo y puntos críticos. Su aplicación a las industrias de alimentos. Zaragoza, Acribia.
- GARDNER, L. A.** 1997. Testing to Fulfill HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) Requirements: Principles and Examples. *J. Dairy Sci.*, 80: 3453-3457.
- GEBRE-EGZIABHER, A., HUMBERT, E.S. & BLANKENAGEL, G.** 1980. Heat-stable proteases from psychrotrophs in milk. *J. Food Prot.*, 43: 197.
- HEREDIA-LOBATO, J. & GARNICA-ANAGUAS, R.** 1994. Aplicación de análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos en la elaboración de puntos cármicos. México, Secretaría de Salud.
- HUMBERT, G.; GUNGAMP, M. C. & LINDEN, G.** 1997. Method for the measurement of lipase activity in milk. *J. Dairy Research*, 64: 465-469.
- ICMSF.** 1984. Microorganismos de los alimentos. Vol.1: Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza, Acribia.
- ICMSF.** 1991. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control. Zaragoza, Acribia.
- INSTITUTO DE MEDICINA VETERINARIA DE CUBA.** 1992. Vigilancia epidemiológica de la calidad sanitaria de la leche, provincia Las Tunas, Cuba. Proyecto conjunto Instituto de Medicina Veterinaria de Cuba-INPPAZ/OPS/OMS.
- JOUBE, J. L.** 1993. Incorporating HACCP into quality systems (ISO 9000) Ecole Nationale V Vétérinaire France. Proc. 11<sup>th</sup> Inter. Symp. WAVFH, 24-29 oct., pp. 63-67.
- MARSHALL, R.T.** 1979. Psychrotrophic bacteria. Their relationship to raw milk quality and keeping quality of cottage cheese. 1<sup>st</sup> Biennial Marschall International Cheese Conference, Madison, Wisconsin, sept. 13.
- MARSHALL, R.T.** 1996. Critical points to control: contamination, growth and enzymatic activity. Proc. Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk, Wolfpassing, Austria.
- MOSSEL, D. A. A. & MORENO, B.** 1985. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, Acribia.
- NEGRI, L.; CHÁVEZ, M. S.; TAVERNA, M. A.; RUBIOLO, A. & PÁEZ, R. B.** 2002. Variaciones estacionales de la estabilidad térmica de la leche cruda de silo y de la leche entera en polvo. En IX Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos – Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología (Buenos Aires).
- NIELSEN, S. S.** 2002. Plasmin system and microbial protease in milk: Characteristics, roles and relationship. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 6628-6634.
- NORMA IDF Standard 94B.** 1990. Milk & Milk Products. enumeration of Yeasts & Moulds. Colony count Technique at 25°C.
- NOTERMANS, S. & JOUBE, J. L.** 1995. Quantitative risk analysis and H.A.C.C.P.: some remarks. *Food Microbiol.*, 12: 425-429.
- OMS.** 1991. Evaluación de ciertos residuos de fármacos de uso veterinarios en los alimentos. 38° Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Serie de Informes Técnicos. Ginebra, OMS.
- PIERSON, M. D. & CORLETT, D. A.** 1992. HACCP. Principles and Applications. New

- York, Van Nostrand Reinhold.
- REVELLI, G. R. & RODRÍGUEZ, C. G.** 2001. Prevalencia de agentes etiológicos causales de mastitis bovina en la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. Respuesta a la sensibilidad antimicrobiana. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 23: 48-53.
- ROSMINI, M. R. ; SIGNORINI, M. L.; SCHNEIDER, R. & BONAZZA, J. C.** (2004) Evaluation of two alternative techniques for counting mesophilic aerobic bacteria in raw milk. *Food Control*, 15 (1): 39-44.
- SHAH, N. P.** 1994. Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*, 49 (8): 432-437.
- SAN JOSÉ, C., FERNÁNDEZ, L. & PALACIOS P.** 1987. Compositional changes in cold raw milk supporting growth of *Pseudomonas fluorescens* NCDO 2085 before production of extracellular proteases. *J. Food Protection*, 50 (12): 1004-1008.
- SENASA.** 1996. Manual de procedimientos aplicación del sistema HACCP análisis de riesgo y puntos críticos de control. Buenos Aires, Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA).
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL.** 2003. [www.meteofa.mil.ar/bdatos/imagenes](http://www.meteofa.mil.ar/bdatos/imagenes). Última actualización al 30/09/2003.
- STEEL, R. G. & TORRIE, J. H.** 1998. Bioestadística, Principios y Procedimientos. 2e. México, Mc Graw Hill/ Interamericana de México S.A.
- TAVERNA, M & CALVINHO, L.** 1999. "Calidad de leche. Dónde estamos parados?". *Infortambo*, 127: 74-78.
- TAVERNA, M.; CALVINHO, L. F.; CANAVE-SIO, V. R.; NEGRI, L.; PÁEZ, R.; CARLÓN, V. & CUATRIN, A.** 2001. Caracterización de la calidad higiénico sanitaria de la leche producida en la cuenca lechera central de la Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 21 (Supl. 1): 270.
- TAVERNA, M.A.; CUATRIN, A. L. & QUAINO, O.A.** 2002. Estudio del comportamiento en el tiempo de la concentración de la materia grasa y la proteína de la leche producida en Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 22 (Supl. 1): 38.
- THOMAS, S. B.** 1971. Técnicas bacteriológicas para el control lactológico. Zaragoza, Acribia.
- VALTORTA, S. E.; LEVA, P. E.; GALLARDO, M. R. & SCARPATI, O. E.** 2002. Respuestas de la producción lechera durante eventos de olas de calor. En 15<sup>o</sup> Conference on biometeorology and Aerobiology – 16<sup>th</sup> International Congress on biometeorology, Kansas (E.U.A), pp. 98-101.
- VALTORTA, S.** 2003. Manejo del estrés térmico sobre la composición de la leche. *Mercoláctea 2003*, INTA EEA Rafaela.
- VAN SCHOTHORST, M. & KLEISS, T.** 1994. HACCP in the dairy industry. *Food Control*, 5 (3): 162-166.