

CALIDAD E INOCUIDAD DE LA LECHE OPORTUNIDADES PARA PRODUCTORES E INDUSTRIALES*

GREGORY PAUL KEEFE

Médico Veterinario

Máster en Ciencia Animal con Énfasis en Epidemiología

Magíster en Negocios de Administración con Énfasis en Agricultura

Investigador y Docente en Producción Lechera

Colegio Veterinario Isla del Príncipe Eduardo - Canadá

gkeefe@upei.ca

Canadá

INTRODUCCIÓN

Las bacterias en la leche cruda son un problema para el comercio de leche líquida y la calidad de los productos lácteos, pues representan un riesgo potencial para la salud pública. La composición y el número de bacterias en la leche afectan la calidad y la seguridad de los lácteos. Por consiguiente, en muchas regiones hay límites al número total de bacterias en la leche cruda para asegurar la calidad e inocuidad del producto final.

Estudios de laboratorio han demostrado que la leche con un menor recuento bacteriano y un recuento de células somáticas (RCS) más bajo, produce lácteos de calidad superior y más larga vida en los anaqueles. La leche cruda está sujeta a un número de pruebas que indican la salud de la ubre, higiene en el proceso de ordeño y condiciones de almacenamiento en la finca. Estas pruebas incluyen recuento estándar en placa (REP), recuento preliminar a incubación (RPI), recuento de pasteurización en laboratorio (RPL), y recuento de coliformes (RC), al igual que el RCS. Este artículo describe cada una de estas pruebas y evalúa los riesgos a nivel de finca que están asociados con un elevado recuento para cada grupo de análisis.

La Isla Príncipe Eduardo es una pequeña provincia en la costa oriental de Canadá. La leche es procesada por una sola cooperativa propiedad de 230 productores de leche. La mayoría de los productos de la cooperativa son comercializados fuera de la provincia en un mercado altamente competitivo. La cooperativa está enfocada hacia la calidad; en ambas direcciones, en su proceso interno y en la obtención de la leche cruda desde la finca, y paga una pequeña bonificación a los productores que logren una calidad estándar en su leche. En los años 2005 y 2006 se evaluó el impacto que tenía este bono sobre la calidad del producto para el consumidor final. Los criterios para el bono incluyeron el hecho de alcanzar 4 de 5 de los siguientes objetivos: REP < 15000/mL, RPI < 25000/mL, RPL < 100/ml, RC < 25/mL y RCS < 200000/mL. Al mismo tiempo, cerca de la mitad de los productores estaban logrando los objetivos para recuentos de bacterias y RCS. Los resultados de nuestro estudio indican

* Traducción: Alejandro Ceballos Márquez, MVZ, MSc, PhD (C).



que, cuando la leche reunía los criterios de la bonificación para procesamiento como leche fluida, hubo un 60% menos de quejas acerca de la leche por parte del consumidor (Keefe y ElMoslemany, 2007). Esta investigación acerca de la realidad valida los estudios hechos en laboratorio, que demuestran que la calidad de la leche cruda es un imperativo para generar productos de alta calidad para el consumidor.

ANÁLISIS BACTERIANOS EN TANQUE DE ENFRIAMIENTO

RECuento ESTÁNDAR EN PLACA (REP)

El REP provee un estimativo del número total de bacterias aeróbicas presentes en la leche cruda. El REP está determinado por la siembra de muestras de leche diluidas en un agar estándar seguido por la incubación aeróbica por 48 horas a 32°C. Otros métodos usados como alternativa incluyen el recuento aeróbico en Petrifilm, recuento en placa con presilla (plate loop count), recuento en placa de espiral (Wehr y Frank, 2004). El Bactoscan es un método automatizado rápido que hace conteos individuales de bacterias viables usando una técnica epifluorescente; debido al recuento individual (células/mL), más que a las unidades formadoras de colonia (UFC/ml.), con esta técnica se observan recuentos mayores (Hayes y Boor, 2001).

El REP en leche cruda puede fluctuar entre menos de 1.000 cfu/mL a más de 1.000.000 UFC/ml. En los Estados Unidos, el límite máximo legal basado en la Orden para la Leche Pasteurizada es de 100.000, aunque la mayoría de los estándares industriales (puestos por los procesadores) requieren un conteo inferior a 50.000, el cual es el límite legal en Canadá (Jones y Summer, 1999). Un conteo inferior a 5.000 UFC/ml. indica higiene y enfriamiento adecuados, mientras que un valor de más de 100.000 evidencia serios problemas higiénicos durante la

producción. La mayoría de productores puede lograr un conteo inferior a 100.000 UFC/ml. si se vigilan cuidadosamente todos los aspectos de higiene (Murphy y Boor, 2.000).

RECuento PRELIMINAR A INCUBACIÓN (RPI)

Este procedimiento estima el número de bacterias psicrótróficas o bacterias que gustan del frío. La prueba es hecha mediante el mantenimiento de la leche a 12,8°C por 18 horas, seguido de un proceso estándar de REP (eliminar procederes) (Richardson, 1985). El valor de esta prueba está en la comparación con el REP para determinar si ha habido un crecimiento bacteriano significativo por el tiempo que se mantuvo fría la leche. El RPI debe ser inferior a 50.000 UFC/ml. y no más de 3 a 4 veces el valor obtenido para el REP (Murphy, 1997).

Las bacterias psicrótróficas de mayor ocurrencia en leche cruda son de forma bacilar Gram negativas, de las cuales la *Pseudomonas spp* da cuenta de al menos un 50%. Estas bacterias se encuentran generalmente en el agua, suelo y la vegetación. Se introducen en la leche como resultado de la contaminación del equipo de ordeño con alguna de estas fuentes. Si la leche se produce en condiciones higiénicas adecuadas, las bacterias psicrótróficas serán menos del 10% de la microflora de la leche (eliminar obtenida recientemente). Bajo prácticas de producción antihigiénicas, estas bacterias serán más del 70% del recuento bacteriano total (Bishop y Juan, 1988). Aunque las psicrótróficas son capaces de crecer en temperatura de refrigeración, generalmente no sobreviven la pasteurización. Cuando se encuentran en leche procesada, la contaminación post-pasteurización debe considerarse como una fuente probable (Moseley, 1980).

El aumento de las bacterias psicrótróficas es de preocupación por dos razones. Aunque la mayoría de ellas no sobrevive la pasteurización, estas bacterias producen lipasas y proteinasas que reducen la vida media de la leche en el anaquel y la calidad del producto final. Adicionalmente, algunas



bacterias psicrotróficas también son termodúricas (sobreviven la pasteurización). Estos organismos son de particular interés como causantes de deterioro del producto (Chen et al, 2003).

RECUESTO DE PASTEURIZACIÓN EN LABORATORIO (RPL)

Esta prueba cuantifica el número de bacterias termodúricas sometiendo la leche cruda a un proceso de pasteurización, usualmente 62,8°C por 30 minutos. Este procedimiento destruyen la mayor parte de las bacterias presentes en la leche, incluyendo las bacterias causantes de mastitis. Sin embargo, ciertas especies pueden sobrevivir en unos cuantos números. Estas bacterias que sobreviven pueden causar sabores extraños en la leche y reducir la vida media de los lácteos en anaqueles (Jayarao and Wolfgang, 2003). Meer et al (1991) encontraron que un 25% de todos los problemas de vida media de la leche pasteurizada y cremas lácteas en los Estados Unidos de América pueden ser causados por psicrotróficos termodúricos. Las bacterias termodúricas en la leche cruda son principalmente consecuencia de higiene del equipo durante el ordeño, así un RPL elevado indica un problema con la eficiencia de limpieza y condiciones sanitarias del equipo de ordeño (Chambers, 2002). Un RPL sobre 200 UFC/ml. se considera alto, un RPL entre 100 y 200 UFC/ml. indica una adecuada limpieza e higienización del equipo, y un RPL inferior a 100 UFC/ml. indica una excelente higiene del equipo de ordeño (Murphy, 1997).

RECUESTO DE COLIFORMES (RC)

Las bacterias coliformes son de forma bacilar, Gram negativas y fermentan la lactosa produciendo ácidos y gases. Los coliformes pueden contarse mediante la siembra de la muestra de leche en agar bilis rojo violeta seguido de la incubación a 32°C por 24 horas. Las bacterias coliformes se encuentran en el suelo, agua y

materia fecal y son también habitantes normales del tracto digestivo de las vacas. Los coliformes se destruyen fácilmente por la pasteurización, por consiguiente su presencia en leche pasteurizada indica una contaminación post-pasteurización.

La principal fuente de coliformes en leche de tanques de enfriamiento es el ordeño de vacas mojadas y sucias. Por lo tanto, el recuento de coliformes es usado como un indicador de la efectividad al preparar la vaca para el ordeño y la limpieza del ambiente en el cual éste se desarrolla (Murphy y Boor, 2002). Mientras que la mayor parte del riesgo es atribuido a factores de la vaca y ambientales, los coliformes pueden incubarse en residuos de leche dejados en el equipo de ordeño aseado a una baja temperatura y se convierte en la mayor fuente de contaminación para la leche del tanque (Chambers, 2002). Un recuento de coliformes esporádico puede ser asociado con una mastitis por coliformes no detectada (Chambers, 2002).

Los recuentos de coliformes deben ser inferiores a 50 UFC/ml., y un recuento inferior a 10 UFC/ml. indica una excelente higiene tanto en el pre-ordeño como en el equipo de ordeño (Murphy and Boor, 2000).

FUENTES DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA

La investigación que valide los datos sobre los riesgos específicos en el predio, asociados con un elevado REP, es escasa. Sin embargo, múltiples factores, incluyendo una inadecuada limpieza e higiene de las vacas, del equipo de ordeño, un ordeño sucio, vacas mojadas, inadecuado sistema de enfriamiento y problemas con mastitis clínica y subclínica, se han señalado como potenciales fuentes de contaminación (Murphy y Boor, 2000, y Jayarao y Wolfgang, 2003). Entre el 2004 y 2007, nuestro grupo de investigación condujo diferentes estudios para evaluar los riesgos a nivel de finca causantes de elevados recuentos de bacterias.



EVALUACIÓN DE LAS PRÁCTICAS DE MANEJO

Ciento cincuenta y tres de los 230 rebaños lecheros en la provincia completaron una encuesta sobre prácticas de manejo. Las asociaciones entre las prácticas de manejo y la calidad bacteriológica de la leche de tanque de enfriamiento fueron evaluadas. La estación del año fue un predictor significativo para todos los recuentos de bacterias con los valores más bajos, tendiendo a ocurrir en el invierno. Los riesgos para un elevado REP y RPI fueron similares. La cantidad de barro (costras de materia fecal) en la ubre, previo al momento del ordeño, estaba asociado con el REP y RPI más altos. Adicionalmente, el método de presellado para preparar la ubre reduciendo ostensiblemente los recuentos de bacterias, más que cualquier otro método.

Finalmente, los tipos y frecuencia de detergentes usados para el lavado del equipo de ordeño fueron importantes predictores de REP y RPI. Para RPL, el tener un sistema de purificación del agua redujo el riesgo, mientras que tener un sistema de pre-enfriamiento de la leche (plate cooler) y una inadecuada frecuencia de lavado con detergente ácido incrementó el riesgo. Es probable que un inadecuado mantenimiento de la placa de enfriamiento contribuyera al riesgo asociado con esta parte del equipo. Para RC, la remoción del pelo de la ubre (recorte de pelo largo en la ubre) y un sistema automático para el lavado del equipo redujo el riesgo, mientras que el tamaño del rebaño y la frecuencia de lavado con detergente ácido lo incrementaron.

ESTUDIO DE CASO-CONTROL

Para este estudio se evaluó la calidad de leche cruda directamente del tanque de enfriamiento

en todos los rebaños lecheros de la Isla Príncipe Eduardo ($n=230$) en un período de dos años. Quincenalmente REP, RPI, RPL y RC fueron realizados usando el método Petrifilm®. Los rebaños casos y controles fueron identificados con base en los 6 últimos resultados (realizados aproximadamente en 3 meses). Se usaron los siguientes puntos de corte: REP: <20000 , RPI: <50000 , RPL: <200 , y RC: <50 UFC/ml.

Los datos se examinaron de dos maneras. Para la escogencia de los casos versus los controles, los rebaños fueron definidos como caso si al menos 4 de 6 análisis para REP o RPI o RC o 3 de 6 para RPL, estaban por encima del corte propuesto. Para esta comparación, los rebaños control fueron aquellos con cualquiera de los recuentos por debajo del nivel indicado para el mismo período de tiempo. Para el examen de una clase bacteriana individual (REP, RPI, RPL y RC) en los casos versus los controles, los rebaños fueron definidos para un caso específico correspondiente a una clase bacteriana individual como lo fueron para los casos en general, mientras que los controles fueron rebaños con 0 de 6 recuentos altos para la bacteria específica de interés.

La recolección de datos en finca incluyó un examen de las prácticas de manejo, datos sobre las vacas, puntaje para la higiene del equipo y ambiente, rutina de ordeño y control de mastitis. Un total de 69 rebaños (39 casos y 30 controles) fueron evaluados. Para el análisis univariado de todos los casos y controles, 16 variables estuvieron asociadas con la calidad bacteriana de la leche del tanque a un valor $p < 0.10$. Cinco variables ($p < 0.05$) fueron mantenidas en el modelo multivariado final, incluyendo corte de los pelos de la ubre (factor de protección, $OR^{\S}=0,14$), puntaje para la dureza del agua (factor de riesgo si

§ La traducción del término en inglés «Odds Ratio (OR)» ha sido debatida, habiéndose propuesto el uso de Oportunidad Relativa (Martín-Moreno y Banegas, Salud pública Méx. 39(1). 1997). Una OR inferior a 1,0 indica protección y mayor a 1,0 indica factor de riesgo.



es >6 , $OR=4,08$), temperatura de inicio del lavado alcalino para la tubería del equipo (alta temperatura es factor de protección, $OR=0,93$), grado de alcalinidad al momento del lavado alcalino de la tubería (una mayor alcalinidad es de riesgo, $OR=1,005$) y puntaje para la limpieza de la parte final del pezón (una preparación más sucia posterior al pre-sellado es factor de riesgo, $OR=4,39$).

Los resultados asociados con los recuentos individuales se presentan en la Tabla 1 (medio ambiente y factores de la vaca) y en la Tabla 2 (Factores relacionados con la higiene del equipo). En general, el ambiente y los factores de la vaca estaban más fuertemente asociados con REP y RPI, y la higiene del equipo más estrechamente relacionada con RPL y RC.

Tabla 1. Asociaciones incondicionales (una variable) entre el medio ambiente y los factores relacionados con la higiene de la vaca con cada uno los recuentos bacterianos.

PARÁMETRO	REP ¹	RPI	RPL	RC
Puntaje para higiene del establo para vacas en ordeño,	3,98 ^{2*}	4,00 ^{**}		
Puntaje para higiene del establo para vacas secas,	7,42 [*]	4,72 [*]		
Puntaje para la higiene de la ubre en vacas lactantes,	7,71 [*]			
Puntaje para la higiene de la pierna en vacas lactantes.	4,73 [*]			3,22 ^{**}
Puntaje para la higiene del flanco en vacas lactantes.	3,24 ^{**}			
Puntaje para la higiene de la ubre en la vaca seca.	4,00 ^{***}			
Puntaje de limpieza del pezón.	4,60 [*]	5,52 ^{**}		4,50 [*]
Recorte del pelo de la ubre.	0,26 ^{**}			
Lavado de los pezones.	7,62 [*]	3,77 ^{**}		
Pre-sellado.	0,26 ^{**}	0,31 ^{**}		

1 REP= recuento estándar en placa, RPI = recuento preliminar a incubación, RPL = recuento de pasteurización en laboratorio, y RC = recuento de coliformes.

2 Odds ratio (ver nota al pie).

* $p < 0,01$ ** $p < 0,05$ *** $p < 0,15$

CONCLUSIONES

Hay un número de métodos de laboratorio bien establecidos que pueden emplearse para cuantificar la calidad de la leche cruda. Estas herramientas pueden ser usadas para medir la calidad higiénica de los productos lácteos que pueden ser manufacturados a partir de esta leche. Cada prueba evalúa una población bacteriana diferente dentro de la leche cruda y puede ser

usado para predecir donde están ocurriendo deficiencias en la higiene a nivel de la finca. Factores ambientales y de la vaca están fuertemente asociados con REP y RPI, y la higiene del equipo está más estrechamente asociada con RPL y RC. El mejoramiento en la calidad de la leche cruda permitirá una ventaja en los lácteos para competir con otros alimentos y bebidas adquiridos por el consumidor.



Tabla 2. Variables asociadas entre la higiene del equipo de ordeño y metodología de recuento bacteriano.

PARÁMETRO	SPC ¹	PIC	LPC	CC
TEMPERATURA				
Pre-lavado: temperatura de llenado.				0,96 ^{2*}
Pre-lavado: temperatura del drenaje.			0,95 ^{**}	0,94 [*]
Lavado: temperatura de llenado para el lavado alcalino del tanque.		0,96 ^{**}	0,97 ^{***}	0,95 [*]
Lavado: temperatura de drenaje para el lavado alcalino del tanque.			0,93 [*]	0,96 ^{**}
Lavado: temperatura inicial de lavado alcalino de la tubería.			0,95 ^{**}	0,95 ^{**}
Lavado: temperatura final de lavado alcalino de la tubería.	0,96 ^{***}		0,92 ^{**}	
QUÍMICA				
Alcalinidad de lavado alcalino del tanque (ppm).			1,001 ^{**}	
Cloro (>100 ppm) en el lavado alcalino del tanque.				0,24 ^{**}
pH del lavado alcalino del tanque.			4,3 ^{***}	
Enjuague ácido del tanque (sí vs. no).				0,22 ^{***}
Puntaje de dureza del agua (gpg ³).			1,33 ^{***}	1,25 ^{**}
Alcalinidad del lavado alcalino de la tubería (ppm).	1,003 ^{**}	1,002 ^{**}		1,002 ^{***}
Cloro (>100 ppm) en el lavado alcalino de la tubería.			0,23 ^{**}	
pH del lavado alcalino de la tubería.	2,43 ^{***}			3,23 ^{***}
OTRO EQUIPO				
Puntaje para el régimen de flujo.	0,84 ^{***}		0,79 ^{***}	
Limpieza automática del tanque.				0,12 [*]
Chequeo de la calidad bacteriológica del agua de la casa: anual vs. mayor tiempo.	2,85 ^{***}	2,85 ^{***}	8,75 ^{**}	3,52 ^{***}
Chequeo de la dureza del agua de la casa: anual vs. mayor tiempo.		2,42 ^{***}	7,00 ^{**}	3,24 ^{***}
Puntaje para la bioluminiscencia a la salida del tanque (>500 RLU).	2,62 ^{***}	2,43 ^{***}		3,91 ^{***}
Uso de sustancias para el control de la dureza del agua (sí vs. no).	0,32 ^{***}	0,08 [*]		

1 REP= recuento estándar en placa, RPI = recuento preliminar a incubación, RPL = recuento de pasteurización en laboratorio, y RC = recuento de coliformes.

2 Odds ratio (ver nota al pie)

3 Medida que indica gramos/galón, donde 1 gpg = 17,1 mg/L (ppm)

*p<0,01 **p<0,05 ***p<0,15



BIBLIOGRAFÍA

- Keefe, G., and A.Elmoslemany. 2007. Consumer acceptance of fluid milk after raw milk selection using bulk tank bacteriologic and somatic cell count criteria. Pages 218–219 in Natl. Mastitis Council Annual. Mtg.Proc., San Antonio, Texas. Natl. Mastitis Council, Inc., Madison, WI.
- Wehr, H.M., and J.H. Frank. 2004. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 17th Ed., Published by American Public Health Association, New York, USA.
- Hayes, M. C., and K. Boor. 2001. Raw milk microbiology and fluid milk products. In: Applied Dairy Microbiology, 2nd ed. (J. Steele and E. Marth, eds.) Marcel Dekker, Inc., NY. pp. 59-76.
- Jones, G. M., and S. Sumner. 1999. Testing bulk tank milk samples. Publication no. 404–405, Virginia Coop. Ext., Virginia Tech, Blacksburg.
- Murphy, S. C., and K. J. Boor. 2000. Troubleshooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. Dairy Food Environ. Sanit. 20:606–611.
- Richardson, G. H. 1985. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 15th ed. Am. Public Health Assoc. Washington, DC.
- Murphy, S. 1997. Raw milk bacteria tests: standard plate count, lab pasteurization count, preliminary incubation count and coliform count what do they mean for your farm? Pages 34–42 in Natl. Mastitis Council Reg. Mtg. Proc., Syracuse, NY. Natl. Mastitis Council, Inc., Arlington, VA.
- Bishop, J.R., and J.Y Juan. 1988. Improved methods for quality assessment to raw milk. J. Food Prot. 51:955.
- Moseley, W.K. 1980. Pinpointing post-pasteurization contamination. J. Food Prot. 43:414.
- Chen, L., R.M. Daniel, and T. Coolbear. 2003. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. International Dairy Journal 13:255.
- Jayarao, B.M, and D.R. Wolfgang. 2003. Bulk tank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and herd udder health. Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice 19:75.
- Meer, R.R., J.Baker, F.W.Bodyfelt, M.W. Griffiths 1991. Psychrotrophic Bacillus spp. in fluid milk products: A Review. J. Food Prot. 54:969.
- Chambers, J.V. 2002. The microbiology of raw milk. Pages 39–90 in Dairy Microbiology Handbook. 3rd ed. R. K. Robinson, ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.