CONTROL DE LA CALIDAD HIGIÉNICA DE HELADOS ARTESANALES EN POSADAS, MISIONES

von Specht, Martha / Amer, Lidia / Maubecin, Elsa
Alonso, Roxana / Bargardi, Severino.

ABSTRACT

HYGIENIC CONTROL ON ICECREAM FACTORY STORES IN POSADAS, MISIONES.

With the purpose of assesing the hygienic quality on icecream production and selling conditions, 47 icecream samples from three different stores in the city of Posadas were examined during the period 5/95 to 3/96.
Total mesophilic aerobic microorganisms, coliforms, thermotolerant coliforms, *Escherichia* coli, and *Staphylococcus* aureus counts were carried out, and *Salmonella* sp searched for.
All samples showed total mesophilic, on a 10^2 to 10^4 UFC/g average rate, a 7 to 93 NMP/g coliforms and no thermotolerant coliforms, E. coli nor Salmonella sp were found. Although these microorganisms were not isolated, it is absolutely necessary to evaluate them in case of food diseases outbreak.
For the S. aureus counts, two methods described by Food and Drug Administration (FDA) were used and it turned positive in two samples: in one 10 UFC/g and in the other 2 to 10/g (NMP)
All samples showed lower levels than the maximum ones allowed by the Argentinian Food Code for icecream production.There were no season difference from the microbiological point of view along the year.

Key Words: Hygienic Control; Bacterias in icecream factory; *Salmonella sp* in icecream.

RESUMEN

Con el propósito de conocer la calidad higiénica en helados de fabricación artesanal y formas de comercialización, se examinaron 47 muestras de helados en tres heladerías de Posadas (Misiones) durante el período 5/95 al 3/96.
Se realizaron recuentos de microorganismos mesófilos aerobios totales, coliformes, coliformes termotolerantes *Escherichia* coli, *Staphylococcus* aureus y se investigó *Salmonella sp*.
Todas las muestras presentaron microorganismos mesófilos totales, en un rango comprendido entre 10^2 y 10^4 UFC/g, coliformes de 7 a 93/g y no se detectaron coliformes termotolerantes, *E.* coli ni *Salmonella sp.* A pesar de no haberse aislado estos gérmenes es necesario tenerlos presentes siempre y estar preparados para casos de brotes de enfermedades de transmisión alimenticia.
Para el recuento de S. aureus se usaron dos métodos recomendados por la Food and Drug Administration (FDA) y resultó positivo en dos muestras, en una con 10 UFC/g y otra entre 2 y 10 /g (NMP)

Todas las muestras alcanzaron resultados inferiores a los máximos permitidos por el Código Alimentario Argentino para helados de elaboración artesanal. No se observó diferencia estacional, desde el punto de vista microbiológico, en todo el año.

Palabras Claves: Higiene en helados; Helados artesanales; *Salmonella sp* en helados.

INTRODUCCIÓN

Debido a la necesidad de aportar una base real de lo que acontece con alimentos no cárnicos en esta provincia, dado que no se cuenta con datos estadísticos o trabajos sobre el tema, se procedió a realizar un estudio de la calidad microbiológica de helados de elaboración artesanal desde mayo/95 a marzo de 1996.

La calidad higiénico sanitaria se evaluó mediante las siguientes determinaciones: a) Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos Totales (MT); b) Recuento de Coliformes (C); c) Recuento de Coliformes termotolerantes (CT) y E. coli; d) Recuento de S. aureus; e) Investigación de Salmonella sp.

Teniendo en cuenta el gran consumo de helados en esta ciudad durante todo el año, se concentró la tarea a comprobar la higiene de la fabricación, y el posterior expendio de los mismos, a fin de aportar datos a los medios e instituciones encargadas del control oficial y asesoramiento técnico a las fábricas.

Es importante tener en cuenta la posible contaminación exógena a través del factor humano (1) o la contaminación post pasterización procedente de las superficies de contacto del equipo y también de las frutas, nueces, colorantes, aromatizantes que pueden contribuir a la contaminación del producto, sobre todo si la adición se efectúa después de la pasterización.

Se sabe de la importancia del consumo de alimentos de buena calidad para resguardar la salud de la población. En nuestra zona, las diarreas infantiles son muy frecuentes y originadas por causas diversas, entre ellas los helados; ello debe inducir a efectuar controles de calidad frecuentes y estar alertas a los brotes de enfermedades de transmisión alimenticia (ETA).

La microflora de los helados antes de la pasterización es la que procede de los diversos ingredientes; sin embargo, no suelen ocurrir alteraciones, debido a que la mezcla debe ser pasterizada a temperaturas más altas que las que se utilizan para la leche, y además durante el congelamiento hay una desintegración de las células microbianas por efecto del movimiento rápido de los cristales de hielo (2).

La masa de helado líquido constituye un medio de cultivo donde puede ocurrir un rápido crecimiento microbiano, mientras que en el helado duro (-20ºC), la baja temperatura y la baja actividad de agua impide la proliferación microbiana. No obstante, no debe existir una demora entre la pasterización y la congelación para que no se produzca alteración, a menos que se vaya a utilizar como helado blando, el cual está a una temperatura de -6ºC a -7ºC.

Las ETA causadas por Staphylococcus aureus, son debidas a la contaminación post-proceso que permite su crecimiento, o en su defecto, a la aportada por la leche, ya que la enterotoxina estafilocócica (3) es termoestable y resiste al tratamiento térmico de la pasterización (4), lo que no ocurre con las enterotoxinas de Salmonella sp, las que son termosensibles.

La presencia de Salmonella sp y S. aureus en helados, como también de una flora acompañante en proporciones mayores a las permitidas, atentan a la salud pública y son un claro indicio de una labor descuidada en los puntos críticos que se debe analizar y prevenir comunicando a los fabricantes para no incurrir en errores por desconocimiento y en otros casos motivados por factores económicos personales.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS

Se examinaron 47 muestras de 500 gramos cada una de helados de fabricación artesanal a base de crema de leche, procedentes de 3 heladerías de la ciudad de Posadas, con muestreos semanales, durante el período entre mayo/95 y marzo/96. Las muestras fueron tomadas directamente de los establecimientos tal como se comercializa al público, se transportaron refrigeradas y se analizaron de inmediato a su arribo al laboratorio.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS:

Se homogeneizaron por agitación 25 g con 225 ml de agua peptonada (AP) al 0,1% (5), y se efectuaron los siguientes recuentos: microorganismos aerobios mesófilos totales (agar para recuento en placa, PCA), (UFC/g); coliformes y coliformes termotolerantes (caldo lauril sulfato , LST; caldo verde brillante lactosa bilis, BGLB) (NMP/g); E. coli, biotipo 1, (BGLB, agar eosina azul de metileno, EMB; IMViC).

DETERMINACIÓN DE SALMONELLA SP

Se realizó el pre-enriquecimiento no selectivo en AP al 1% (24 hs a 35-37ºC). Luego se sembraron los cultivos en dos caldos de enriquecimiento selectivo: selenito cistina (SC) y tetrationato (TT) . Se incubaron durante 24 horas a 43ºC.

Para el aislamiento de Salmonella se utilizaron los siguientes medios selectivos: EMB, Agar Salmonella Shigella (SS), agar bismuto sulfito (BS), agar verde brillante (VB), agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y se incubaron entre 35 y 37 ºC durante 24 -48 horas. Las siembras se efectuaron por duplicado.

De cada una de las placas, se aislaron 5 colonias presuntivas de Salmonella, previa purificación de las mismas, se sembraron en tubos de agar triple azúcar hierro (TSI) y agar lisina hierro (LIA) y se incubaron durante 24 horas a 37ºC. Luego se continuó con la identificación bioquímica y serológica de las mismas (oxidasa, ureasa, indol, rojo de metilo,Voges Proskauer, citrato, fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa, gas de glucosa, SH2)(6). La tipificación serológica de las cepas de Salmonella se efectuó con antisueros polivalentes provistos por el Instituto Nacional de Microbiología Dr. Carlos G. Malbrán, Bs. As.

DETERMINACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Para esta determinación se emplearon dos métodos (2): 1) Recuento en placas y 2) NMP. En ambos casos con 10 g de muestra en 90 ml de agua de peptona salada al 0,1% con pH 7 (7).

1) Recuento en placas: A partir de la suspensión madre homogenizada, se prepararon diluciones seriadas al décimo en agua de peptona salada al 0,1%. Se sembraron en placas agarizadas de medio de Baird Parker, adicionadas de telurito y yema de huevo. Se incubaron 48 hs a 37ºC y se efectuaron los recuentos. Las colonias típicas se repicaron para su confirmación en caldo de infusión de cerebro y corazón. Previa observación microscópica de los preparados coloreados por Gram, se efectuaron las siguientes determinaciones: catalasa, la coagulasa en tubo y la utilización anaeróbica de la glucosa. (8).

2) Técnica del NMP (9,10): Se utilizó caldo tripteína soja (CTS) con 10% de ClNa y 1% de piruvato de sodio y se incubaron durante 48 horas a 37ºC. Se estriaron luego placas de Baird Parker, y se incubaron a 37ºC durante 48 horas. Se confirmaron como se indicó anteriormente.

RESULTADOS

Los resultados de las 47 muestras analizadas se observan en las Tablas Nº 1 y 2.

Salmonella sp no se aisló en los 47 muestreos analizados, pero se recuperó la cepa patrón de Salmonella Enteritidis en los ensayos realizados.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales encontrados está en un rango de 10^2 y 10^4 UFC/g y no sobrepasó el límite establecido por el Código Alimentario Argentino (CAA) para el número máximo de bacterias permitidas en helados de elaboración artesanal (no > 2 x 10^5/g) pero, según bibliografía, el recuento total de aerobios tras la pasterización no debería ser mayor de unos cientos por mililitro de muestra (11, 4).

En lo referente al grupo coliforme, en algunos Códigos de Salud Pública de los Estados Unidos se propusieron para este grupo, valores entre 10 y 20 bact/g (2) y el CAA señala que no debe ser mayor de 1,5 x 10^2 bact/g (11). Nuestros valores oscilan entre 7 y 93 bact/g.

En base a estas comparaciones los helados estudiados poseen una calidad higiénica adecuada a nuestro CAA.

Los recuentos de S. aureus por los métodos usados dieron 10 UFC/g y otro entre 2 y 10/g (NMP), resultados éstos que se encuentran dentro de lo permitido por el CAA (11) que establece menos o igual a 5 x 10^2 NMP/g y son concordantes con otros estudios llevados a cabo por investigadores argentinos en helados artesanales, lo que en cierta forma señala que los helados estudiados poseen una buena calidad higiénica. Para realizar este tipo de análisis recomendaríamos la técnica del NMP debido a la baja cantidad de gérmenes encontrados (9, 10). Consideramos tam-

TABLA Nº1: Recuento de bacterias aerobias mesófilas totales y S. aureus en helados artesanales. Período Mayo 1995 - Marzo 1996

MUESTRAS No positivas No Analizadas	Distribución de los recuentos: (UFC/g) Mesófilos Totales	% DE MUESTRAS
6/47	$10 - 10^2$	13
31/47	$10^2 - 10^3$	65
10/47	$10^3 - 10^4$	22
	Staphylococcus aureus	
1/24*	< de 10	4

* En las primeras 24 muestras. Método de recuento en placas (B.Parker).

TABLA Nº2: Recuento de coliformes, coliformes termotolerantes, E. coli y S. aureus en helados artesanales. Período Mayo 1995 - Marzo 1996

TIPO DE RECUENTO	Distribución de los recuentos (NMP/g) Mesófilos Totales	% (Nº positivas Nº analizadas)
Coliformes	menor a 10 11 - 100	89 (42/47) 11 (5/47)
Coliformes termotolerantes	0	100 (47/47)
E. coli	0	100 (47/47)
S. aureus *	2 a 10	4 (1/23)

* En las 23 muestras restantes. Método del NMP.

bién importante, coincidentemente con otros autores, la inclusión del método de recuento utilizado en el CAA (3).

En un estudio global, se podrían obtener seguramente helados de mejor calidad microbiológica con respecto a normas de países más exigentes. Para ello deberá tenerse en cuenta una suma de otros factores para determinar el origen humano o bovino principalmente de S. aureus ya que éste es un buen indicador de la higiene de operarios y establecimientos procesadores de alimentos, más aún considerando que estas bacterias son vulnerables a tratamientos térmicos y desinfectantes (2); esto también implicaría a Salmonella sp.

Por otra parte, es fundamental el control de la calidad bacteriológica de los insumos donde es posible señalar: a) selección de ingredientes con una baja tasa bacteriana, b) el uso de tratamientos pasterizantes suficientemente intensos para reducir la carga bacteriana hasta niveles bajos, pero no lo suficientemente severos para ser perjudiciales para el producto, c) evitar la contaminación post-pasterización, d) el mantenimiento constante de la mezcla de helado a una temperatura baja (4) y e) el factor económico humano en relación a costo/beneficio de mucha importancia en nuestros días en los países en desarrollo.

En cuanto a las pruebas de identificación para S. aureus recomendadas por el FDA, la prueba de coagulasa en tubo que da 4+ debe ser confirmada por otras pruebas como acidez de la glucosa y manitol en anaerobiosis, sensibilidad a la lisostafina y termonucleasa.

El bajo recuento de mesófilos, habla de un relativamente buen diagrama de flujo de las heladerías.

Si bien no se detectó Salmonella sp en las muestras investigadas, ensayos efectuados con cepas control, revelan que el método empleado es útil para este tipo de trabajo, por la recuperación lograda.

En la ciudad de Posadas el consumo de helados no presenta una variación estacional significativa, como tampoco observamos diferencias desde el punto de vista microbiológico en todo el año. Algunos autores sostienen que los controles deberían realizarse hasta los 10 días de elaboración del helado para obtener resultados más fidedignos (12, 13), opinión con la que se coincide pensando que es un dato más que se aporta si no se conoce el comportamiento local del ambiente y las circunstancias que muchas veces motivan la fabricación de helados basándose en la mera especulación económica y muy alejada del daño al consumidor, sin tener en cuenta tampoco a los microorganismos; otros sostienen que la muerte microbiana en el helado es mínima (3).

La opinión del grupo de trabajo es que el muestreo y análisis bacteriológicos de helados deberían estar orientados a conocer la tasa total de los indicadores generales de higiene como MT, C, CT, hongos y de contaminación fecal como E. coli; y en caso de un brote de enfermedad alimentaria investigar bacterias enteropatógenas como Salmonella sp y S. aureus, entre otras. •

VON SPECHT, Martha; AMER, Lidia; MAUBECIN, Elsa; ALONSO, Roxana; BARGARDI, Severino / Cátedra de Microbiología General Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, UNaM.

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades del CIDeT que facilitaron el aporte del programa nacional de incentivo decreto 2437/93.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RUIZ, C. S. de; ALLORI, C. G. de; SAAB, O. A. de; GUTIERREZ, R. C. de; CASTILLO, M. C. de; FERNANDEZ, N. P. de; RUIZ HOLGADO, A. P. de; NADER, G. M. de. Control de Calidad Bacteriológica de Helados; VII Congreso Arg. de Microbiología, D: 2, Bs. Aires. 1995.

2. CENTORBI, O. P. de; GUZMÁN, A. C. de; CUADRADO, A. A. de; LACIAR, A. L.; ALCARÁZ, L. E.; MILÁN, M. C. de; PEDERIVA, N. B. Determinación de la calidad higiénica e investigación de Salmonella sp y Yersinia enterocolítica en helados; Rev. Arg. de Microbiología 21: 63-68. 1989.

3. RIVAS, M. Helados de elaboración industrial. Incidencia de S. aureus y enterotoxigenicidad; Rev. Arg. de Microbiología 16 Nº4: 225-232. 1984.

4. SILLIKER, J. H.; ELLIOTT, R. P; BAIRD PARKER A. C.; BRYAN, F. L; CHRISTIAN, J. H. B. B.; CLARK, D. S.; OLSON, J. C.; ROBERTS, T. A. Ecología microbiana de los alimentos. Vol. II, pág. 498-502. Ed. Acribia. Zaragosa, España. 1980.

5. HITCHINS, A. D.; FENG, P.; WATKINS, V. D.; RIPPEY, S. R.; CHENDLER, L. A. 1992. Escherichia coli and the coliform bacteria. In. Bacteriological Analytical Manual, 7th Ed. Food and Drug Administration, pp. 27-38. Arlington VA: Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International.

6. MC FADDIN, Jean F. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Panamericana S.A.Viamonte 2164. Bs.As. 1980.

7. TIMM, Frite. Fabricación de Helados, pág. 250-251, Ed. Acribia. Zaragosa, España. 1989.

8. ESTEVAO BELCHIOR, S.; DAS NEVES, M.; PUCCI, O. Estudios de bacterias aisladas en un medio selectivo para S. aureus. VII Congreso Argentino de Microbiología, D: 31, Bs. Aires. 1995.

9. PEELER, J. T.; MC CLURE, S. D. Bacteriological Analitical Manual. 7ª Ed. Food and Drug Administration. Cap. 12, Appendix 2. Ass. Off. Analit. Chem. W.D.C. 1992.

10. BENNETT, R. W.; LANCETTE, G. A. 1992. Staphylococcus aureus. Bacteriological Analitical Manual. 7ª Ed. Food and Drug Administration, pp. 161-165 Arlington VA: Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International.

11. DE LA CANAL Y ASOCIADOS S.R.L. Código Alimentario Argentino (Actualizado) Cap. 12, pag. 352-354, Buenos Aires.

12. FORMENTI, L.; TOBIA, M.; CÓRDOBA, A.; PEREZ, A. Incidencia del S. aureus en helados de elaboración artesanal. Influencia de la temperatura de conservación, VII Congreso Arg. de Microbiología. D: 3. Bs. Aires. 1995.

13. PUCCI O. H.; CORREIA, M. A.; DIAZ, A. B. Recuperación de microorganismos en medios utilizados en la industria alimentaria; VII Congreso Arg. de Microbiología, E 56. XI Congreso Latinoamericano de Microbiología. Buenos Aires. 1991.