

Otras alteraciones de la calidad de la leche: contaminación de la leche por esporas butíricas.

Alteraciones de la calidad de la leche



Contaminación de la leche por esporas butíricas

Anna Jubert y Juan Echeverría

Fuente: Guía Solomamitis del asesor en calidad de leche

La presencia de esporas butíricas en la leche conlleva problemas en la elaboración quesera. La importancia de **la contaminación por esporas depende sobre todo de la calidad del ensilado administrado y de la higiene durante el ordeño.**

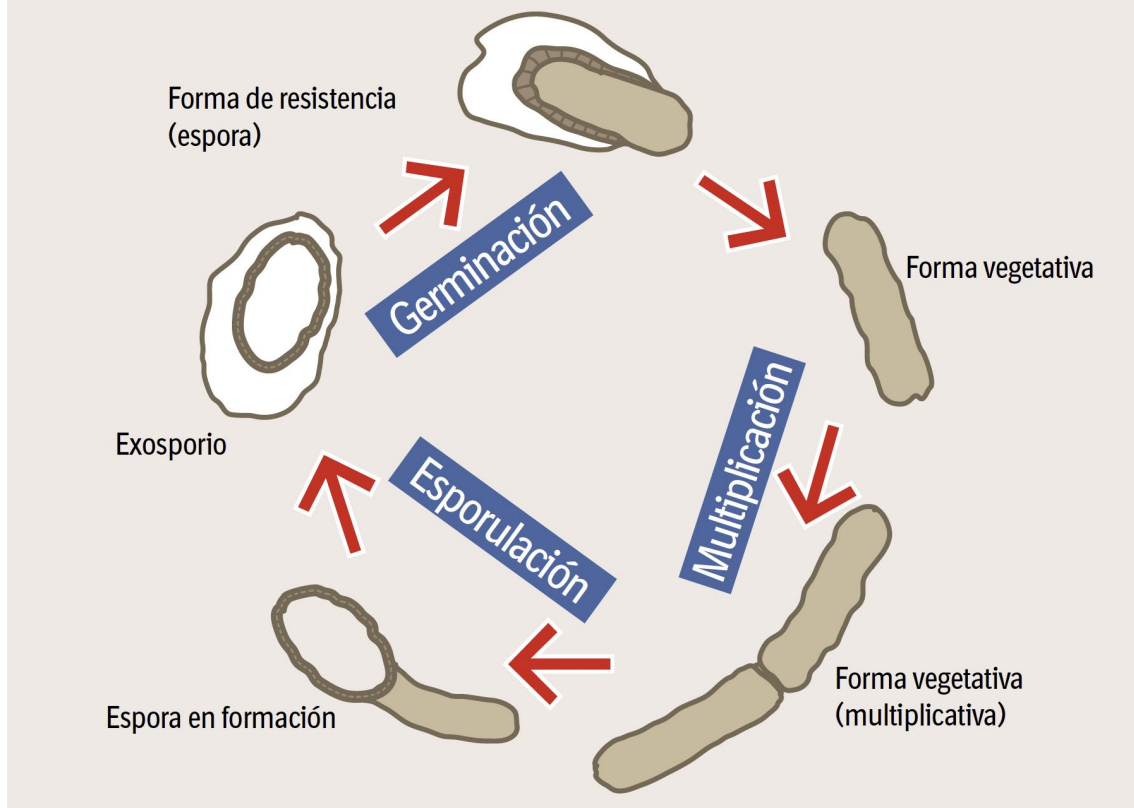
En la elaboración del queso se producen principalmente dos tipos de alteraciones o defectos de textura provocados por fermentaciones gaseosas anormales conocidas como hinchazón temprana y tardía del queso:

- **La hinchazón temprana o precoz**, que ocurre al principio de la maduración (dentro de las primeras 24-48 horas después de la fabricación del queso) se debe fundamentalmente a la proliferación de bacterias coliformes o por las levaduras. Los quesos presentan numerosos ojos de pequeño diámetro de cavidad lisa y brillante (Suárez y Colomo, 1990).
- **La hinchazón tardía o butírica (late blowing)** es un defecto que se manifiesta en los quesos de pasta dura o semidura y de corteza sólida, como el queso manchego, gouda, emmental y provolone, tras semanas o meses de maduración (Dasgupta y Hull, 1989). Se caracteriza por una hinchazón anormal, cavernosa y maloliente, de sabores desagradables, que puede hacer estallar a los quesos. Son responsables de este defecto las bacterias esporuladas anaerobias estrictas, presentes en la leche cruda o pasteurizada, pertenecientes al género *Clostridium*, principalmente la especie *Clostridium tyrobutyricum*. Estas bacterias fermentan el ácido láctico, durante el proceso de maduración del queso, con producción de ácido butírico, dióxido de carbono e hidrógeno (Su e Ingham, 2000).

Características y ciclo vital de *Clostridium*

Las bacterias que intervienen en la hinchazón tardía de los quesos, o hinchazón butírica, son dos especies no patógenas: *Clostridium butyricum* y *Clostridium tyrobutyricum*, siendo esta última considerada como la más peligrosa para la industria láctea, aunque no representa peligro para la salud del consumidor. Se trata de bacterias anaeróbicas obligadas o estrictas, es decir, que se desarrollan en ambientes libres de oxígeno, grampositivas y formadoras de endosporas termorresistentes que sobreviven a la pasteurización, pero no al tratamiento UHT o de esterilización de la leche. Se desarrollan bien a pH ácido y en torno a la neutralidad. El pH óptimo de *Clostridium tyrobutyricum* es de 5,8 y su temperatura óptima de 37 °C.

Diferentes fases y formas del desarrollo vital de *Clostridium tyrobutyricum*.

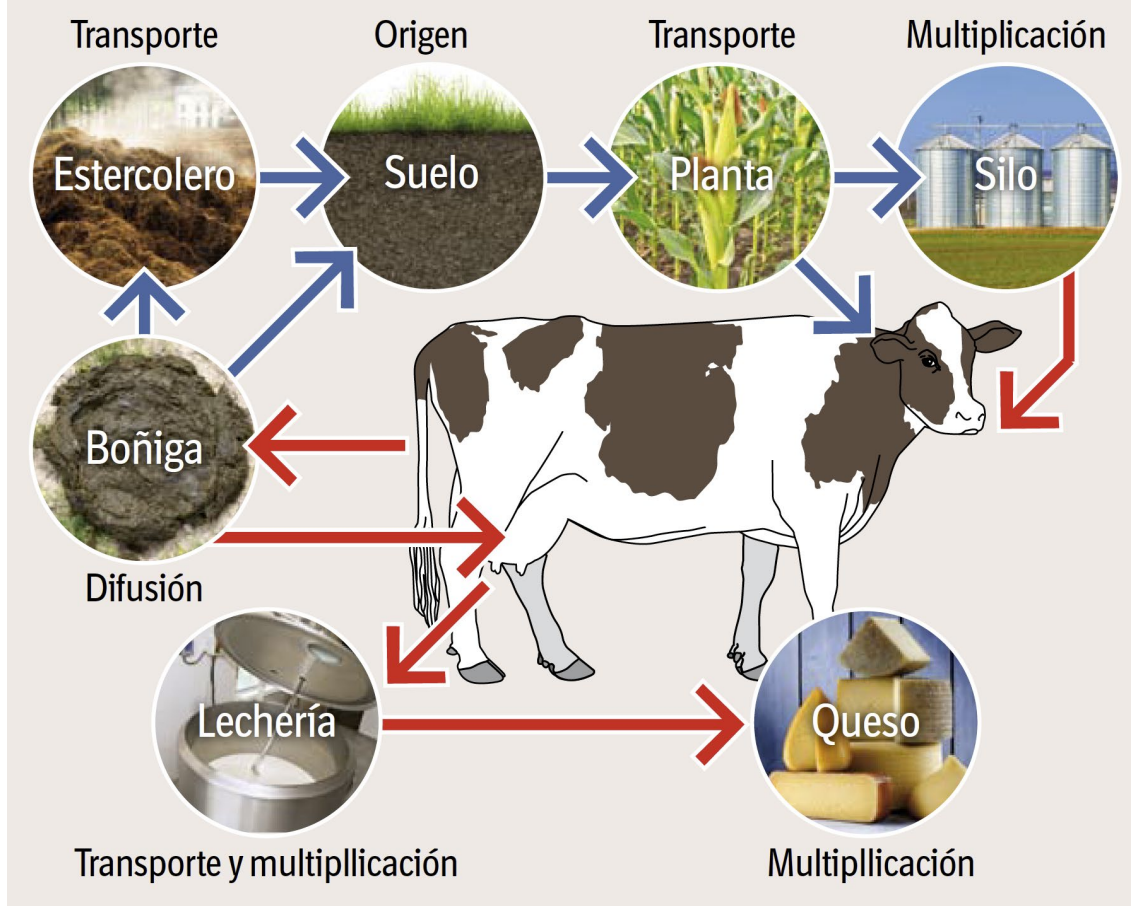


Proceso de la contaminación butírica

El suelo y la tierra, tanto del campo como de los lugares donde se almacenan los forrajes, es el hábitat natural de las esporas de las bacterias del género *Clostridium*.

Estos microorganismos se multiplican en determinadas condiciones, como sucede en los ensilados mal conservados, sobre todo en los silos que no tienen una excesiva acidez ni una gran aireación, como ocurre en los ensilados almacenados con un pH superior a 4 y un contenido elevado de nitrógeno amoniacal e incluso en el almacenamiento de forrajes secos con un elevado contenido de humedad o en ensilados contaminados con el suelo. Tras la ingestión de un alimento contaminado, las esporas resisten el paso por el tracto gastrointestinal del animal, son eliminadas a través de las heces, y en el caso de un manejo inadecuado (malas prácticas higiénicas), contaminan el medio, la sala de ordeño y otras instalaciones, llegando a la leche. La leche se contamina principalmente en el momento del ordeño, permaneciendo las esporas en estado latente hasta que se dan las condiciones adecuadas de germinación en el periodo de maduración del queso.

Ciclo de la contaminación butírica.



La contaminación inicial depende fundamentalmente del contenido en esporas del forraje que se va a ensilar, de la limpieza del silo antes del proceso de ensilaje y de los aportes de tierra durante el proceso, bien en la recolección o bien en el pisado con el tractor, si se da el caso.

Los criterios de aceptación para ensilados, utilizados en Italia y Francia, en función del nº de esporas/g se muestran en las tablas siguientes.

Criterios de aceptación para ensilados utilizados en Italia y Francia.

Niveles de contaminación (esporas/g)	Valoración (calidad del forraje)	
	Italia	Francia
<100	Óptima	Muy buena
100 a 1.000	Buena	Buena
1.000 a 5.000	Mala	Mediocre
5.000 a 10.000	Mala	Mala
>10.000	Pésima	Muy mala

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, INTA

Valores indicativos del nivel de contaminación en ensilados.

Nivel de contaminación (esporas/g)	Valoración
<100	Muy bueno
100 a 1.000	Medio
1.000 a 5.000	Mediocre
5.000 a 10.000	Malo
>10.000	Muy malo

Institut Technique de l'Élevage Bovin pour le Réseau National d'Experimentation et de Démonstration en Élevage Bovin (1985).

Y los criterios de aceptación para las heces, utilizados en Italia y Francia, en función del n° de esporas/g se muestran en las siguientes tablas.

Criterios de aceptación para las heces utilizados en Italia y Francia, en función del n° de esporas/g.

Niveles contaminación (esporas/g)	Valoración (calidad de la leche)	
	Italia	Francia
<10.000	Poco contaminada	
10.000 a 40.000	Contaminada	
>40.000	Muy contaminada	

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, INTA.

Valores indicativos del nivel de contaminación en heces.

Nivel de contaminación (esporas/g)	Valoración
<10.000	Bueno
10.000 a 40.000	Medio a mediocre
40.000 a 100.000	Malo
>100.000	Muy malo

Institut Technique de l'Élevage Bovin pour le Réseau National d'Experimentation et de Démonstration en Élevage Bovin (1985).

El nivel de contaminación de la leche por clostridios está condicionado por el número de esporas presentes en la alimentación de las vacas de ordeño, sobre todo cuando se utilizan ensilados de mala calidad, así como por las condiciones higiénicas de la explotación, en particular de la sala de ordeño (Baraton, 1985; Vissers *et al.*, 2007).

Principales fuentes de contaminación de la leche con esporas butíricas en función de la concentración de estas.

Fuente contaminante	Contaminación de la leche			
	<1.500 esporas/l	1.500-3.000 esporas/l	3.000-4.000 esporas/l	>4.000 esporas/l
BAJA <10.000 esporas/g heces <1.000 esporas/g ensilado	Higiene			
MEDIANA 10.000 a 40.000 esporas/g heces 1.000 a 10.000 esporas/g ensilado	Alimentación e higiene			
ALTA >40.000 esporas/g heces >10.000 esporas/g ensilado	Alimentación		Alimentación e higiene	

Coussi, 1988.

Reduciendo la contaminación en el silo, probablemente se reducirá la contaminación de la leche; para ello es muy importante controlar el proceso de fermentación del silo.

Una higiene deficiente en la sala de ordeño facilita la contaminación de las ubres y del equipo de ordeño por heces, favoreciendo la contaminación de la leche con esporas. En la leche del tanque, el mayor porcentaje de muestras con recuentos altos de esporas se produce en otoño e invierno, siendo los recuentos menores en verano.

Cómo afectan estas bacterias a la salud de los animales

En cuanto a la salud del animal, el consumo de silos con alto contenido en ácido butírico, aumenta el riesgo de cetosis. Cuando este ácido es absorbido en el rumen, alcanza el hígado, donde es transformado en β -hidroxibutirato (cuerpo cetónico). Como consecuencia de esta cetosis de origen alimenticio, el animal disminuye la producción de leche y su desempeño reproductivo. Además, estos silos en los que predominó la fermentación butírica, en lugar de láctica como es deseado, son rechazados por las vacas debido a su mal olor y baja palatabilidad.

Ciertos tipos de clostridios pueden causar problemas serios de salud. Una especie extremadamente tóxica es *Clostridium botulinum*. Tras la ingestión de un alimento contaminado por esta especie, las esporas resisten el paso por el tracto gastrointestinal del animal y pueden germinar y multiplicarse, formando toxinas (neurotoxina) en el intestino y provocándoles una enfermedad llamada "botulismo visceral".

Cómo afectan estas bacterias en la elaboración de los quesos

Las esporas acidobutíricas presentes en la leche por contaminación son resistentes a la temperatura de pasteurización y cuando las condiciones son favorables, a lo largo de la maduración del queso, se produce la germinación de las esporas y la multiplicación de las formas vegetativas, fermentando el lactato y liberando gas y ácido butírico.

En el desarrollo de los clostridios intervienen varios factores:

- La temperatura de almacenamiento.
- El pH de la pasta.
- El contenido en sal.
- La humedad del queso o actividad de agua (aw).
- El contenido en ácido láctico.

Estas bacterias utilizan el ácido láctico, pero cuando este alcanza una concentración suficiente (esto es, un pH <4,6) su acción es inhibitoria. Por lo tanto, los clostridios no son un problema en los quesos de coagulación ácida o mixta de carácter ácido, pero sí lo son para los quesos de pasta prensada.

Los quesos afectados por esta fermentación presentan defectos de textura y aspecto, como grietas y cavernas, que pueden llegar a provocar la rotura de la masa, e incluso defectos organolépticos (olor y sabor desagradables) debidos a la formación de ácido butírico



Pie de foto

Los clostridios representan un problema para los quesos de pasta prensada.

Estas alteraciones, aunque no suponen un riesgo para la salud, reducen la calidad del producto y condicionan su comercialización, provocando importantes pérdidas económicas.

La velocidad de aparición de la hinchazón tardía, así como la proporción de quesos afectados, está estrechamente relacionada con el número de esporas presentes inicialmente en la leche. Se considera como umbral crítico unas 200 esporas por litro de leche.

Niveles de contaminación en la leche utilizados en Italia y Francia, en función del nº de esporas/l.

Niveles contaminación (esporas/l)	Valoración	
	Quesos Italia	Calidad de la leche Francia
<200	Ausencia de hinchazón	
<400		Excelente
200 a 1.000	Algunos casos de hinchazón	
400 a 1.000		Poco contaminada
1.000 a 4.000	Hinchazón muy difundida	Contaminada
4.000 a 10.000		Muy contaminada
>10.000		Pésima

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, INTA.

Valores indicativos del nivel de contaminación en leches crudas.

Nivel de contaminación (esporas/l)	Valoración
<400	Buena
400 a 1.000	Poco contaminada
1.000 a 4.000	Medianamente contaminada
4.000 a 10.000	Muy contaminada
>10.000	Mala

Institut Technique de l'Élevage Bovin pour le Réseau National d'Experimentation et de Démonstration en Élevage Bovin (1985).

Lucha frente a la contaminación butírica

Frente a la contaminación butírica se puede actuar a dos niveles: preventivo, tomando medidas principalmente en las explotaciones, y paliativo, en las queserías. Las medidas paliativas que puede aplicar la industria para reducir este defecto son de coste muy alto e indeseables para la seguridad de los consumidores (adición de aditivos químicos); por lo tanto, la forma más efectiva es la preventiva por parte del productor, aplicando buenas prácticas desde la producción del forraje hasta el ordeño, mejorando la salud de los animales, la producción de leche y la seguridad de los consumidores.

Medidas preventivas

La mejor forma de combatir la contaminación butírica es prevenirla en su lugar de origen: las explotaciones. Para ello, son precisos la buena práctica del ensilaje y el establecimiento de estrictas medidas higiénicas en las ganaderías, tanto en los alojamientos como en la sala de ordeño y lechería.

Buena práctica del ensilaje

Para realizar un buen ensilado hay que considerar los siguientes puntos y prácticas:

- **Ensilar forraje de buena calidad**, que tenga suficiente contenido en azúcares para que sea atacado por la flora deseable. En este sentido, un buen picado ayuda a la liberación de los jugos que son azúcares solubles.
- **Presecar el forraje verde**: el contenido de materia seca del ensilado influye decisivamente en el tipo de fermentación que tiene lugar en el silo. En la mayoría de los casos, presecar el forraje verde durante 24-48 horas para aumentar la materia seca es altamente deseable. Un ensilado seco requiere menos producción de ácido láctico y se estabilizará a pH más altos que ensilados que tienen bajo contenido de materia seca.
- **Ausencia de tierra**: limpiar adecuadamente el silo antes de empezar a llenarlo y evitar la contaminación de la hierba con tierra, principal fuente de contaminación por esporas butíricas. La altura del corte va a ser crítica para determinar el ingreso de tierra y por lo tanto de esporas en los silos.
- **Ausencia de oxígeno**: compactar el silo para extraer el oxígeno y favorecer el crecimiento de bacterias lácticas y sellar la superficie abierta del silo con un plástico para prevenir la entrada de oxígeno. Para ello se debe ensilar en poco tiempo, tanto la carga como el cierre tienen que ser rápidos, nunca más de siete días. Es importante pisar bien el forraje, de forma uniforme y cerrar rápida y herméticamente el silo, evitando que se formen bolsas. El silo se dejará cerrado por lo menos dos semanas para que la fermentación alcance su fase de estabilización.
- **Descenso rápido del pH**: los forrajes con menos de un 25 % de materia seca dificultan este proceso, también los forrajes con alto contenido en proteína bruta, y mucho más los que tienen alto nivel de proteína bruta y bajo de materia seca. En estos casos se puede favorecer el descenso del pH mediante la adición de componentes como:
 - Ácidos: acidifican el medio directamente (ácido fórmico, sulfúrico, clorhídrico con sulfúrico, fórmico con clorhídrico...).
 - Fermentos lácticos: aumenta la presencia de bacterias deseables.
 - Azúcares: fomentan el crecimiento de bacterias deseables.

El empleo de aditivos en el proceso de ensilado tiene como fin contribuir a la creación de unas condiciones óptimas que permitan mejorar la conservación y el valor nutritivo del alimento resultante.

Categorías de aditivos para el ensilaje.

Tipo de aditivo	Ingrediente activo
Estimulantes de la fermentación	Bacterias acidolácticas
	Azúcares (melaza)
	Enzimas
Inhibidores de la fermentación	Ácido fórmico o su sal correspondiente
	Ácido láctico o su sal correspondiente
	Ácidos minerales
	Nitritos
	Sulfitos
	Cloruro de sodio
Inhibidores del deterioro aeróbico	Bacterias acidolácticas
	Ácido propiónico o su sal correspondiente
	Ácido benzoico o su sal correspondiente
	Ácido sórbico o su sal correspondiente
Nutrientes	Urea
	Amoniaco
	Minerales
Absorbentes	Pulpa seca de remolacha azucarera
	Paja

Adaptado de McDonald *et al.*, 1991.

Buenas prácticas de manejo

Establecer estrictas medidas higiénicas en las ganaderías, tanto en los alojamientos como en la sala de ordeño y lechería, son indispensables para disminuir los recuentos de esporas butíricas, siendo fundamental la labor de formación de los ganaderos en cuanto a buenas prácticas de manejo, así como el asesoramiento por parte de personal técnico.

Hay que tener en cuenta, a la hora de diseñar la explotación, que las estabulaciones que cuentan con suelo emparrillado son muy difíciles de controlar, ya que el ambiente que se genera produce una recirculación de las esporas butíricas que se depositan encima del alimento y dan heces con cargas muy altas de microorganismos butíricos.

También las instalaciones de ordeño que están en el mismo lugar que la estabulación de las vacas son difíciles de controlar, ya que los agujeros de admisión de aire de los colectores inyectan aire contaminado a la leche.

A la hora de diseñar estabulaciones hay que tener en cuenta dos aspectos importantes:

- Es mejor no construir estabulaciones con emparrillado.
- Es mejor construir la sala de ordeño en un lugar independiente de la estabulación de las vacas.

Control de la incidencia de esporas butíricas en las ganaderías

Puede efectuarse mediante el recuento del número de esporas butíricas en la leche cruda, en el marco de los sistemas de control de la calidad de la leche implantados por los laboratorios interprofesionales.

El análisis más empleado para el recuento de esporas butíricas, como método de referencia, es su estimación mediante la técnica, con base estadística, del número más probable (NMP). El método estima el número de esporas por lo que es necesario un tratamiento térmico previo que elimine las formas vegetativas, quedando solo las esporas. A pesar de la generalización del método, tanto la composición del medio como la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico son variables. En general, se recomienda un tratamiento térmico de 75-80 °C durante 5-10 minutos. El medio de cultivo más ampliamente utilizado es el de Bryant y Burkey con resazurina y lactato modificado (Bèrgere *et al.*, 1968). El periodo de incubación en condiciones anaeróbicas es de 7 días a 37 °C.

Medidas paliativas

Este tipo de medidas se aplican fundamentalmente en las queserías y se basan en la eliminación de gérmenes mediante diferentes tecnologías:

Tratamientos mecánicos

Los procedimientos mecánicos que pueden efectuarse para disminuir la contaminación butírica son:

- **Bactofugación:** es un método que elimina las esporas mediante una centrifugación controlada de la leche (7.000-9.000 rpm), basándose en que las esporas tienen mayor densidad respecto a los componentes lácteos.
- **Desnatado estático:** consiste en un simple proceso de desnatado por gravedad, por el que se obtienen finalmente dos fracciones, una fracción no grasa (70 %) y una fracción grasa donde se localizan las esporas.
- **Microfiltración a través de membranas de cerámica:** el método consiste en hacer pasar la leche desnatada obtenida mediante desnatado estático o con una desnatadora a través de una membrana de cerámica de 1,4 µm.

Tratamientos químicos

En lo referente a los tratamientos químicos, pueden utilizarse diferentes sustancias:

- **Nitratos:** la adición de nitrato de potasio o nitrato de sodio es una medida muy eficaz para prevenir la fermentación butírica o la hinchazón tardía en quesos. La legislación española determina una concentración máxima en el queso de 50 mg/kg, mientras que el comité de la FAO recomienda una adición de nitrato no superior al 0,02 % (200 mg/kg). La tendencia a nivel mundial es reducir el consumo de nitratos y nitritos debido a un posible efecto carcinógeno del nitrito y sus derivados. Es por ello que en Francia, Grecia e Italia no se permite la adición de nitrato a la leche para la elaboración de queso, mientras en Alemania y Holanda el máximo permitido es de 15 g de nitrato de potasio por 100 kg de leche (Burt *et al.*, 1997; Glaeser, 1989).
- **Agua oxigenada:** oxida algunos compuestos esenciales para el crecimiento microbiano, por lo que inhibe el desarrollo de los clostridios. Se recomienda una concentración del 0,1 % (de 130 volúmenes) durante 24 horas a 28 °C. Sin embargo, para leches muy contaminadas, la dosis efectiva puede ser 10 veces superior. Tras el tratamiento se añade catalasa; si bien esta enzima descompone el agua oxigenada en compuestos inocuos para la salud, provoca la oxidación de algunos componentes lácteos, así como la hidrólisis de ciertos enlaces de las caseínas, dando lugar a una cuajada más blanda y a un alargamiento del tiempo de cuajado.
- **Nisina:** la nisina es un antibiótico producido por ciertas bacterias lácticas (*Lactococcus lactis*), de amplio espectro contra bacterias grampositivas (entre ellas *Clostridium tyrobutyricum*) y la germinación de sus esporas. La legislación española autoriza una dosis máxima de 12,5 mg/kg en queso terminado.
- **Formaldehído:** la legislación italiana ha permitido el empleo de 25 ppm de formaldehído para prevenir la hinchazón tardía del queso grana padano y del provolone. En España no existe legislación específica al respecto.
- **Lisozima:** hay que tener en cuenta que la lisozima no inhibe la germinación de esporas, sino el crecimiento de las formas vegetativas que emergen de ellas durante la maduración. Con la dosis estándar (500 unidades de lisozima/ml, 25 ppm) se han obtenido resultados muy variables para los distintos tipos de queso y condiciones de producción, requiriéndose en algunos casos dosis mucho más elevadas. En España, su uso está legalizado desde mayo de 1988 para quesos de mercado interior, permitiéndose una dosis máxima de 300 mg/kg en queso acabado. No se permite en ningún caso el empleo conjunto de lisozima y nitrato potásico.

Bibliografía

Baraton, Y. La contamination du lait par les spores butyriques. Le Point Sur. Edite par L'Institut Technique de L'Elevage Bovin, 1985; 32.

Bèrgere, J.L., Gouet, P., Hermier, J., Mocquot, G. Les Clostridium du groupe butyrique dans les produits laitiers. Annales du Institut Pasteur (Paris). 1968; 19:41-54.

Burt, R., Bluthgen, A., Heeschen, W.H. Nitrate, nitrite, nitrosamines. Monograph on residues and contaminants in milk and milk products. Bulletin of the International Dairy Federation. Special Issue. 1997; 970:74-78.

Coussi, G. Butyriques et fermentation butyrique. Dossiers Techniques Veterinaires. Juillet 1988; pp. 75-96.

Dasgupta, A., Hull, R. Late blowing of Swiss cheese: Incidence of *Clostridium tyrobutyricum* in manufacturing milk. The Australian Journal of Dairy Technology. November 1989; pp. 82-87.

Glaeser, H. Use of nitrate in cheese production. Dairy Industries International. 1989; 54(11):19-23.

McDonald, C.S., Henderson, A.R., Heron, S.J.E. The Biochemistry of Silage. Chalcombe Publications, 1991; p. 340.

Su, Y.C., Ingham, S. Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. International Journal of Food Microbiology. 2000; 54:147-154.

Suárez, J.A., Colomo, B. Control de esporulados butíricos. Industria Láctea Española (ILE), Madrid, 1990; 141: 33-39.

Visser, M.M.M., Driehuis, F., Te Giffel, M.C., De Jong, P., Lankveld, J.M.G. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. Journal of Dairy Science, 2007; 90(26):928-936.