



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A *Listeria monocytogenes* Y  
CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO DE LISTERIOSIS POR  
CONSUMO DE QUESOS ARTESANALES SEMIDUROS Y COLONIA  
EN URUGUAY**

**INÉS MARTÍNEZ BERNIÉ**

**TESIS DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**URUGUAY  
2022**





**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A *Listeria monocytogenes* Y  
CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO DE LISTERIOSIS POR  
CONSUMO DE QUESOS ARTESANALES SEMIDUROS Y COLONIA  
EN URUGUAY**

**INÉS MARTÍNEZ BERNIÉ**

-----  
**Dra. Silvana Carro**  
Director de Tesis

-----  
**Dr. Fernando Sampedro**  
Co-director

-----  
**Dr. Gustavo Varela**  
Co-director

**2022**

# **INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE**

## **DEFENSA DE TESIS**

**Álvaro González Revello, MSc.**

**Unidad Académica de Ciencia y Tecnología de la Leche**

**Facultad de Veterinaria, Universidad de la República – Uruguay**

**Tomás López, PhD**

**Instituto Tecnológico Regional Suroeste**

**Universidad Tecnológica del Uruguay (UTEC) – Uruguay**

**Natalie Merlinsky, MSc.**

**Dirección General de Bioseguridad e Inocuidad Alimentaria**

**Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca**

# ACTA DE DEFENSA DE TESIS



Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República  
Uruguay



## ACTA DE TESIS DE MAESTRÍA

**ORIENTACIÓN:** Producción Animal

**LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA:** Aula 102 FVET/Plataforma Zoom, viernes 12/08/22

**TRIBUNAL:** Álvaro González, Tomás López Pedemonte, Natalie Merlinski

CI	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
1749666-2	MARTINEZ BERNIE, INES MARIA	MB. MB MB.	09

La Tesis de Maestría "*Evaluación de la Exposición a Listeria monocytogenes por Consumo de Quesos Artesanales Semiduros y Colonia en Uruguay*" defendida por la QF. Inés Martínez en el día de la fecha, aborda la caracterización del riesgo de enfermarse con listeriosis invasiva por consumo de queso artesanal (variedades nacionales Colonia y Semiduro).

El volumen de datos es adecuado para una tesis de maestría y se valora el volumen de trabajo realizado. La información presentada es original, y de importante valor para el país por tratarse de la primera evaluación de riesgo microbiológico en la temática.

El documento escrito se consideró correcto, aunque se sugiere revisar aspectos de la organización del contenido y aspectos formales de escritura (tablas, figuras).

La exposición oral fue adecuada y se realizó de forma clara. La estudiante demostró solidez en sus conocimientos y fue capaz de contestar las preguntas del tribunal con solvencia.

En base a todas estas consideraciones, el tribunal resuelve otorgar la aprobación con la calificación mencionada en la presente acta.

### TRIBUNAL

MSc. Ing. Natalie Merlinski

Dr. Tomás López

Dr. Álvaro González

### FIRMA

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia y amigas, mis hermanos y en particular a mi esposo y mis hijas, pilares fundamentales para tomar esta decisión y para el desarrollo de la maestría, gracias por la paciencia, cariño y apoyo incondicional.

A mis tutores, Silvana Carro, Fernando Sampetro y Gustavo Varela por creer en mí, apuntalarme constantemente, por su dedicación, voluntad y tiempo, por sus grandes aportes y enseñanzas que me permitieron crecer profesional y personalmente.

A Walter Gugelmeier, Mikaela Rajchman, Fernando Massa y Ronny Pelaggio, por estar siempre listos para colaborar y ayudarme en lo que fuera necesario.

A la Asociación del Queso Artesanal (ADQA) y a los responsables de los 6 establecimientos cuyas muestras fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Al Departamento de Microbiología del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) especialmente a Ana Ma. Maquieira, Paula Mussio y Rodrigo Egüez, por facilitarme el uso de las instalaciones y el procesamiento de las muestras para esta investigación.

A COLAVECO, en particular a Cecilia Abelenda, Lorena Nidegger y Jenny Madera. A Tomás Lopez de la Universidad Tecnológica (UTEC) por el apoyo para el procesamiento de las muestras y los datos necesarios para el desarrollo de la tesis.

A Gustavo Varela, Inés Mota y Valeria Braga del Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene por abrirme las puertas de sus instalaciones.

Al LATU y a Latitud-Fundación LATU, en particular a Gustavo Dominguez, por apoyarme constantemente en la decisión y realización de esta maestría.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por otorgarme la beca para el desarrollo de la maestría y por el financiamiento del proyecto FSA\_I\_2017\_1\_138945: “Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en quesos artesanales elaborados con leche cruda en Uruguay” en el cual se enmarcó esta investigación, así como a todos los integrantes del equipo de ese proyecto.

A Silvana Carro, responsable del mencionado proyecto, por haberme permitido el uso de los datos obtenidos en el mismo y por haber destinado fondos para el desarrollo de este trabajo.

A los miembros del tribunal por su tiempo y sus comentarios enriquecedores.

A todas las personas de la Dirección General de Bioseguridad e Inocuidad de Alimentos (DIGEBIA) y del Departamento de Control Sanitario de Lácteos del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), que impulsaron la realización del proyecto en el cual se enmarcó esta maestría.

A todas las personas que de una forma u otra me han alentado en este camino.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	ii
SUMMARY .....	iii
LISTADO DE TABLAS, CUADROS, FIGURAS y ECUACIONES .....	iv
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS .....	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
4. HIPÓTESIS .....	11
5. OBJETIVOS .....	11
5.1 Objetivo General .....	11
5.2 Objetivos Específicos .....	11
6. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN.....	12
7. MATERIALES Y MÉTODOS .....	13
7.1 Tipos de quesos seleccionados .....	13
7.2 Muestreo .....	15
7.3 Proceso de maduración .....	17
7.4 Condiciones de maduración controladas experimentalmente .....	17
7.5 Análisis Físicoquímicos .....	19
7.5 Análisis Microbiológicos .....	20
7.6 Modelo de evaluación a la exposición de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	20
8. RESULTADOS .....	43
8.1 Análisis Físicoquímicos .....	43
8.3 Análisis Microbiológico.....	47
8.4 Modelo de evaluación a la exposición de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	48
9. DISCUSIÓN .....	57
9.1 Análisis Físicoquímicos .....	57
9.2 Análisis Microbiológico.....	61
9.3 Modelo de evaluación a la exposición de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	63
10. CONCLUSIONES.....	70
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71
ANEXO 1- Planilla de Encuesta a productores .....	81
ANEXO 2- Protocolo de retiro de muestras.....	83

## RESUMEN

La listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) de gran impacto económico y social, dada por consumo de alimentos contaminados por *Listeria monocytogenes*. En población general produce manifestaciones intestinales leves y en población inmunodeprimida (adultos mayores, embarazadas, niños menores de 5 años, e individuos con enfermedades debilitantes o con tratamiento inmunosupresor) puede causar infecciones invasivas con una tasa de letalidad elevada (16–33%). Los brotes por listeriosis han sido vinculados a varios alimentos, entre ellos los quesos y en particular los elaborados con leche cruda. El consumo en Uruguay de quesos artesanales se estima en 4,3 kg/cápita/año. Se desconoce el efecto de sus parámetros fisicoquímicos en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y el impacto que tiene el consumo de queso artesanal en la salud pública. En esta tesis, se analizaron quesos Semiduros y Colonia de 6 establecimientos durante su maduración, 18 hormas de Semiduros se maduraron a  $10\pm 1^\circ\text{C}$  hasta su correspondiente muestreo. Así también, 15 hormas de Colonia se maduraron a  $10\pm 1^\circ\text{C}$  por 15 días, a  $20\pm 1^\circ\text{C}$  por 11 días y luego a  $10\pm 1^\circ\text{C}$  hasta sus análisis. Se determinaron pH,  $a_w$ , humedad, cloruro de sodio, materia grasa, *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* en 1 horma de cada tipo de queso y establecimiento a tiempo 0, 15, 30, 45 y 60 días y además para Semiduros a los 75 y 90 días. Los resultados de pH y  $a_w$  juntos con otras variables de entrada: recuento y prevalencia de *Listeria monocytogenes* en los dos quesos, tamaño de porción consumida, velocidad de crecimiento/decrecimiento del patógeno en ambos quesos, tipos de población (embarazadas, población vulnerable y general) y modelo dosis-respuesta a listeriosis, fueron caracterizados mediante distribuciones de probabilidad. Con ellas se construyó el modelo probabilístico de exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de queso artesanal mediante el software @Risk. Los resultados se estimaron mediante simulación Monte Carlo con 50.000 iteraciones. El pH para los Semiduros fue  $5,15\pm 0,18$  y su  $a_w$   $0,93\pm 0,01$ . Para los Colonia el pH fue  $5,41\pm 0,14$  y la  $a_w$   $0,96\pm 0,01$ . Por el consumo de cada uno y asumiendo una porción promedio de 30 g para todas las poblaciones, el modelo estimó que los Semiduros, contenían al momento del consumo 155 unidades formadoras de colonias (UFC) de *Listeria monocytogenes* y los Colonia 475 UFC. Las probabilidades de enfermar fueron en embarazadas  $3,1 \times 10^{-10}$  y  $9,5 \times 10^{-10}$ , en población vulnerable  $2,3 \times 10^{-11}$  y  $1,2 \times 10^{-10}$  y en población general  $1,2 \times 10^{-12}$  y  $6,3 \times 10^{-12}$  de Semiduros y Colonia respectivamente. Los casos de listeriosis por año resultaron para Semiduros  $2,5 \times 10^{-6}$  y  $2,4 \times 10^{-6}$  para embarazadas y población vulnerable y  $7,8 \times 10^{-7}$  para población general. Para Colonia los valores fueron entre 36 y 37 veces superiores. El modelo de exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de estos quesos artesanales en las condiciones establecidas y datos recopilados en esta tesis, sugieren que la probabilidad de contraer listeriosis es extremadamente baja en todos los grupos poblacionales evaluados y de muy bajo riesgo.

## SUMMARY

Listeriosis is a foodborne disease (FBD) of great economic and social impact, caused by the consumption of food contaminated by *Listeria monocytogenes*. In the general population, this pathogen produces mild intestinal manifestations, but in the immunosuppressed population (elderly adults, pregnant women, children under 5 years of age, and individuals with debilitating diseases or with immunosuppressive treatment) it can cause invasive infections with a high fatality rate (16-33%). Listeriosis outbreaks have been linked to various foods, including cheeses and particularly those made with raw milk. Consumption in Uruguay of artisanal cheeses is estimated at 4.3 kg/capita/year. The effect of its physicochemical parameters (pH,  $a_w$ ) on the growth of *Listeria monocytogenes* and the impact that the consumption of artisanal cheese has on public health, are unknown. In this thesis, Semi-hard and Colonia cheeses from 6 different farms were analyzed during their ripening, 18 Semi-hard cheeses were riped at  $10\pm 1^\circ\text{C}$  until their corresponding sampling. Likewise, 15 Colonia cheeses were riped at  $10\pm 1^\circ\text{C}$  for 15 days, at  $20\pm 1^\circ\text{C}$  for 11 days and then, at  $10\pm 1^\circ\text{C}$  until analysis. pH,  $a_w$ , moisture, sodium chloride, fat, *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* were analysed in 1 wheel at each time of each type of cheese and farms at 0, 15, 30, 45 and 60 days and also for Semi-hard at 75 and 90 days. The results of pH and  $a_w$  together with other input variables: count and prevalence of *Listeria monocytogenes* in the two cheeses, size of portion consumed, rate of growth/decrease of the pathogen in both cheeses, types of population (pregnant, vulnerable population and general) and dose-response models to listeriosis, were characterized by probability distributions. With them, the probabilistic model of exposure to *Listeria monocytogenes* due to the consumption of artisanal cheese was built using the @Risk software. The results were estimated using Monte Carlo simulation with 50.000 iterations. The pH for the Semi-hard was  $5.15\pm 0.18$  and their  $a_w$   $0.93\pm 0.01$ . For Colonia, the pH was  $5.41\pm 0.14$  and the  $a_w$   $0.96\pm 0.01$ . For the consumption of each one and assuming an average portion of 30 g for all populations, the model estimated that the Semi-hard, contained at the time of consumption, 155 colony forming units (CFU) of *Listeria monocytogenes* and the Colonia 475 CFU. The probabilities of becoming ill were  $3.1 \times 10^{-10}$  and  $9.5 \times 10^{-10}$  in pregnant women,  $2.3 \times 10^{-11}$  and  $6.9 \times 10^{-11}$  in the vulnerable population, and in the general population  $1.2 \times 10^{-12}$  and  $3.7 \times 10^{-12}$  of Semi-hard and Colonia respectively. Listeriosis cases per year were  $2.5 \times 10^{-6}$  for pregnant women,  $2.4 \times 10^{-6}$  for vulnerable population and  $7.8 \times 10^{-7}$  for the general population for Semi-hard, and for Colonia the values were 36-37 times higher. The exposure assessment model to *Listeria monocytogenes* due to the consumption of Semi-hard and Colonia artisanal cheeses under the established conditions and the data collected in this thesis, suggest that the probability of acquiring listeriosis is extremely rare in all population groups.

## LISTADO DE TABLAS, CUADROS, FIGURAS y ECUACIONES

<b>Tabla I.</b> Criterios microbiológicos de inocuidad aplicables en la Unión Europea para <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos listos para el consumo (LPC) (Adaptado de Bover y Garriga, 2014) .....	4
<b>Tabla II.</b> Clasificación de quesos establecida en el Reglamento bromatológico nacional (Uruguay, 1994, julio 05), de acuerdo con el contenido de humedad .....	7
<b>Tabla III.</b> Categorías de alimentos listos para el consumo (LPC) en función del riesgo relativo de contraer listeriosis (Adaptado de Bover y Garriga, 2014).....	8
<b>Tabla IV.</b> Temperaturas y tiempos de maduración en cámara fría de quesos Semiduros de las queserías evaluadas.....	17
<b>Tabla V.</b> Temperaturas y tiempos de maduración en cámara fría y caliente de quesos Colonia de las queserías evaluadas .....	17
<b>Tabla VI.</b> Resumen de las variables de entrada del modelo probabilístico de <i>Listeria monocytogenes</i> para los quesos Semiduros (SD) y el tipo de distribución asociada (cuando corresponde), con su referencia bibliográfica.....	30
<b>Tabla VII.</b> Resumen de las variables de entrada del modelo probabilístico de <i>Listeria monocytogenes</i> para los quesos Colonia y el tipo de distribución asociada (cuando corresponde), con su referencia bibliográfica.....	34
<b>Tabla VIII.</b> Variables de entrada de consumo del escenario 1: El consumo de queso Semiduro es 5 veces el inicial .....	39
<b>Tabla IX.</b> Variables de entrada de consumo del escenario 2: El tamaño de la porción de queso SD de las embarazadas es 1,5 del de la población general del escenario 1 (5 veces el inicial:1 kg/persona/año) .....	40
<b>Tabla X.</b> Variables de entrada de consumo del escenario 3: El tamaño de la porción de queso Colonia de las mujeres embarazadas es el 1,5 del de la población general .....	41
<b>Tabla XI.</b> Resumen de parámetros estadísticos de las características fisicoquímicas de los quesos Semiduros de los tres establecimientos .....	43
<b>Tabla XII.</b> Resumen de parámetros estadísticos de las características fisicoquímicas de los quesos Colonia de los tres establecimientos.....	43
<b>Tabla XIII.</b> Promedio y desviación estándar (DE) de $a_w$ y pH de los quesos Semiduro y Colonia a cada tiempo de maduración de acuerdo con la predicción obtenida de los datos.....	47
<b>Tabla XIV.</b> Resultados de búsqueda de <i>Listeria</i> spp., y <i>L. monocytogenes</i> en 25 g de quesos Semiduros a diferentes tiempos de maduración (n=18) .....	48
<b>Tabla XV.</b> Resultados de búsqueda de <i>Listeria</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en 25g de quesos Colonia a diferentes tiempos de maduración (n= 15) .....	48
<b>Tabla XVI.</b> Resumen de los resultados de las variables de salida del modelo probabilístico de <i>Listeria monocytogenes</i> para los quesos Semiduros luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk.....	50
<b>Tabla XVII.</b> Resumen de variables de salida si el consumo de queso semiduro fuera 5 veces superior (1 kg) luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk.....	51

<b>Tabla XVIII.</b> Resumen de variables de salida si el consumo de queso semiduro fuera 5 veces superior y el tamaño de porción de las embarazadas fuera 1,5 veces mayor que el original luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk.....	52
<b>Tabla XIX.</b> Resumen de las variables de salida del modelo probabilístico de <i>Listeria monocytogenes</i> para los quesos Colonia luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk.....	53
<b>Tabla XX.</b> Resumen de las variables de salida del modelo probabilístico de <i>Listeria monocytogenes</i> para el queso Colonia considerando que la porción consumida por las embarazadas es 1,5 veces mayor a lo consumido por la población general luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk.....	54
<b>Tabla XXI.</b> Promedio de variables de salida de los diferentes escenarios planteados del queso Semiduro .....	55
<b>Tabla XXII.</b> Variables de salida de los diferentes escenarios planteados del queso Colonia .....	56
<b>Tabla XXIII.</b> Resumen de los promedios de los resultados de las variables de salida de los quesos Semiduros y Colonia considerando los consumos iniciales .....	56

<b>Figura 1.</b> Estrategia de investigación para estimar la exposición a <i>Listeria monocytogenes</i> y los casos de listeriosis por consumo de quesos artesanales Semiduros y Colonia .....	12
<b>Figura 2.</b> Proceso de elaboración de quesos artesanales denominados Semiduros de las queserías visitadas .....	13
<b>Figura 3.</b> Proceso de elaboración de quesos artesanales Colonia de las queserías visitadas .....	14
<b>Figura 4.</b> Plan de muestreo (hormas extraídas) para quesos Semiduros en establecimientos: 1, 2 y 3.....	16
<b>Figura 5.</b> Plan de muestreo para quesos Colonia, cantidad de hormas tomadas en establecimientos: 4,5 y 6.....	16
<b>Figura 6.</b> Etapas del proceso de maduración hasta su análisis de las hormas de quesos Semiduros.....	18
<b>Figura 7.</b> Etapas del proceso de maduración del queso Colonia hasta el momento de su análisis.....	18
<b>Figura 8.</b> Etapas del proceso de los quesos Semiduros, desde su almacenamiento en cámara hasta el momento del consumo.....	21
<b>Figura 9.</b> Etapas del proceso de los quesos Colonia, desde su almacenamiento en cámara de maduración hasta su consumo.....	21
<b>Figura 10.</b> Evolución de <i>Listeria monocytogenes</i> en queso Semiduro Minas, producido con leche cruda. Los puntos representan los datos experimentales y las líneas representan las salidas de los ajustes de los modelos usados (Baranyi y Roberts (1994). ▀ Natural Microbiota (NM) + <i>L. monocytogenes</i> (Lm) y • NM + Lm + Bacterias ácido lácticas (BAL). Tomado de Campagnollo et al. (2018a).....	26
<b>Figura 11.</b> Evolución del pH en el centro del queso en quesos chicos (Qch) y quesos grandes (Qg) de leches de lote 1 y 2. Los resultados son promedio y desvío	

estándar de 3 ensayos del lote 1 y 2 del lote 2. ◇ Qch-1; △ Qch-2; ■ Qg-1; ● Qg-2. Tomado de Chatelard- Chauvin et al. (2015). Se recuadra en la figura, el tiempo de maduración contemplado en el presente trabajo de tesis.....	26
<b>Figura 12.</b> Evolución del $a_w$ en el centro del queso en quesos chicos (Qch) y quesos grandes (Qg) de leches de lote 1 y 2. Los resultados son promedio y desvío estándar de 3 ensayos del lote 1 y 2 del lote 2. Qch-1; Qch2; Qg-1; Qg-2. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015). Se recuadra en la figura, el tiempo de maduración contemplado en esta tesis. ....	27
<b>Figura 13.</b> Crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> durante los primeros 3 días de elaboración. Los resultados son promedios (y desvío estándar) de pruebas de 3 elaboraciones de la leche de lote 1 y 2 de la leche de lote 2. N=UFC/mL de leche (a t=0) y N= UFC/g de cuajada o queso desde las 5 a las 72 horas de elaboración. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015). ....	27
<b>Figura 14.</b> Evolución observada y pronosticada de <i>L. monocytogenes</i> en el centro de quesos elaborados con leche del lote 1. Los puntos rojos son las medidas de los recuentos, los puntos verdes son los recuentos previstos mediante los modelos. Las líneas grises representan los límites de confianza. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015). ....	28
<b>Figura 15.</b> Resultados de pH a diferentes tiempos de maduración para los quesos Semiduros de los tres establecimientos (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3) .....	44
<b>Figura 16.</b> Resultados de pH de los quesos Colonia de los tres establecimientos en función del tiempo de maduración (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3) .....	44
<b>Figura 17.</b> Resultados de $a_w$ para los quesos Semiduros en función del tiempo de maduración.....	45
<b>Figura 18.</b> Resultados de $a_w$ durante la maduración para los quesos Colonia de los tres establecimientos.....	45
<b>Cuadro I.</b> Análisis de regresión de los datos obtenidos de pH para ambos tipos de quesos.....	46
<b>Cuadro II.</b> Análisis de regresión de los datos obtenidos de $a_w$ para ambos tipos de quesos.....	46
<b>Cuadro III.</b> Resultados de crecimiento/decrecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en cada etapa para cada tipo de queso evaluado.....	49
<b>Ecuación 1.</b> pH en función del tiempo de maduración .....	22
<b>Ecuación 2.</b> $a_w$ en función del tiempo de maduración .....	22
<b>Ecuación 3.</b> Porciones consumidas por población por año .....	23
<b>Ecuación 4.</b> Porciones contaminadas consumidas por cada población .....	24
<b>Ecuación 5.</b> Probabilidad de enfermar según modelo D-R exponencial .....	24
<b>Ecuación 6.</b> Dosis ingerida al momento del consumo.....	24
<b>Ecuación 7.</b> N° de casos de listeriosis para cada población .....	29

# 1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) como un importante problema de salud pública y estima que son responsables de unas 600 millones de personas enfermas, resultando en 420.000 muertes por año. Las poblaciones más susceptibles a ETA son aquellas con debilidad en su sistema inmunológico entre ellos: los niños menores de 5 años, las embarazadas y los adultos mayores (World Health Organization (WHO), 2015). Dentro de las ETA, listeriosis es una de las de mayor impacto económico y social (Food and Drug Administration, FDA - Health Canada, 2015). De acuerdo con de Noordhout et al. (2014), citado por Churchill, Sargeant, Farber y O'Connor (2019), listeriosis es, a nivel mundial, la tercera causa de muerte por ETA y es considerada de las enfermedades zoonóticas más graves y con mayor letalidad (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2021).

*Listeria monocytogenes* es un patógeno alimentario ampliamente presente en el medio ambiente y particularmente en el de procesamiento de alimentos. La exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de alimentos puede afectar sólo a nivel gastrointestinal, pero también puede invadir otros órganos ("listeriosis invasiva"), con consecuencias que pueden incluir meningitis, encefalitis, aborto espontáneo, muerte fetal e incluso septicemia (FDA-Health Canada, 2015). Su importancia radica en que conlleva una alta tasa de hospitalización (mayor al 95%) y también alta letalidad (16 - 33%) en "poblaciones de riesgo" (personas con sistema inmunocomprometido), en particular embarazadas, recién nacidos, adultos mayores de 65 años y personas con cáncer, receptores de trasplantes de órganos o infectados con HIV, entre otras predisposiciones (Centre for Disease Control and Prevention (CDC), 2021a; ECDC, 2021; Melo, Andrew y Faleiro, 2015; Ministerio de Salud Pública (MSP), 2020; Reda et al. 2016; Ryser, 2011; WHO, 2015). Se reconocen 13 serotipos de *L. monocytogenes* (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e y 7) (Cardo, 2021, Liu, 2013), 3 de los cuales (1/2a, 1/2b y 4b) ocasionan más del 90 % de las enfermedades en humanos, siendo el serotipo más asociado a brotes el 4b en Estados Unidos (EE. UU.) (CDC, 2021a) y el 1/2a en Europa (Martínez Ríos y Delgaard, 2017). En Uruguay, Braga et al. (2017), observaron que el serotipo 1/2b fue el más prevalente, se encontró en el 54% de los casos clínicos de listeriosis y en el 46% de los alimentos analizados positivos por presencia de esta bacteria.

El tiempo entre la exposición al patógeno y la expresión de la enfermedad (período de incubación), particularmente en su forma invasiva, es generalmente de semanas, lo que dificulta la definición del alimento responsable y de la dosis ingerida que produjo la enfermedad (Buchanan, Gorris, Hayman, Jackson y Whiting, 2016). Para estimar la relación entre la dosis ingerida en el alimento y la respuesta (enfermedad) se han utilizado diferentes modelos dosis-respuesta (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y

Organización Mundial de la Salud, FAO/OMS, 2004; Pouillot, Hoelzer, Chen y Dennis, 2015). Los datos epidemiológicos han demostrado que la gran mayoría de los casos de listeriosis se producen por el consumo de más de 100 unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo del patógeno (UFC/g). Sin embargo, la probabilidad de enfermar aumenta drásticamente en poblaciones altamente susceptibles como pacientes con cáncer, HIV, enfermedades coronarias, diabetes (FAO/OMS, 2004; Pouillot et al., 2015).

En EE. UU., de acuerdo con el Centre for Disease Control and Prevention (CDC, 2021a), el promedio anual de incidencia de listeriosis fue de 0,24 casos/100.000 habitantes, con aproximadamente 260 muertes. En la Unión Europea (UE) en 2020 se reportaron 0,42 casos/100.000 habitantes, con 167 muertes (ECDC, 2021). En países en vías de desarrollo, si bien los reportes de listeriosis son pocos o inexistentes debido a la falta de notificación y/o sistematización de la enfermedad (Pereira da Silva y Pereira De Martinis, 2013), de Noordhout et al. (2014), reporta en la región de las Américas a la que pertenece Uruguay (según las regiones definidas por la OMS), de una incidencia anual de 0,47/100.000 habitantes con 544 muertes (de Noordhout et al., 2014).

Con respecto a las ETA, de acuerdo con el informe de la OMS (WHO, 2015), en América, 77 millones de personas enferman anualmente al consumir alimentos contaminados y de ellas, mueren en el entorno de 9.000 al año.

En nuestro país, las ETA son de notificación obligatoria ante el Ministerio de Salud Pública (MSP), que, mediante el Departamento de Vigilancia en Salud de la División de Epidemiología, lleva los registros sobre dichas enfermedades. En los casos sospechosos de brotes alimentarios por *Listeria monocytogenes*, un solo caso es considerado "brote" (MSP, 2015). De acuerdo con lo informado por la División de Epidemiología del MSP, en el año 2016 se registró un aumento en la incidencia anual de listeriosis. Se notificaron 17 casos de listeriosis invasiva (tasa de incidencia de 0,48/100.000 habitantes) con 7 fallecimientos, determinando una letalidad del 33%. En ninguno de los casos se logró identificar el alimento que actuó como fuente de infección (MSP, 2020). Lo informado por el MSP coincide con lo publicado por Tejera et al. (2015). De acuerdo con dichos autores, en Uruguay se han registrado casos esporádicos, sin poder establecerse un vínculo alimentario. Entre 2010-2013 se reportaron 11 pacientes (todos con factores predisponentes) con un 63% de letalidad. Así mismo, Caiata, Legnani, Mota, Braga, y Seija (2014) reportan 9 casos de listeriosis (7 fatales) durante el período 2008-2013 en el país. En 2014, además, se describió un brote intrahospitalario en recién nacidos debido a *Listeria monocytogenes* 4b, donde se vinculó el consumo de quesos y embutidos durante el embarazo del caso índice, como posibles fuentes de infección (Mota y Varela, 2014).

## 2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Los brotes por listeriosis se consideran 100 % de origen alimentario (WHO, 2015). A nivel mundial, los brotes reportados han sido vinculados a numerosos tipos de alimentos, especialmente a los “listos para el consumo” (LPC) o “ready to eat” (RTE) (Churchill et al. 2019), que son aquellos alimentos artesanales o industriales, destinados al consumo directo sin necesidad de cocinarlos ni someterlos a ningún tratamiento que implique la disminución de microorganismos previo a su ingestión. Estos incluyen productos lácteos, helados y quesos, entre los que se destacan los provenientes de leche cruda (CDC, 2017; Health Canada, 2011; Rahimi, Ameri y Momtaz, 2010; Oliver, Jayarao y Almeida, 2005). Las condiciones fisicoquímicas que influyen en su supervivencia han sido estudiadas en diversas matrices alimentarias y en medios de cultivo. De acuerdo con trabajos citados por Amaury El-Hajjaji, Niyonzima, Daube y Sindic (2018), *Listeria monocytogenes* es capaz de tolerar y crecer a temperaturas de refrigeración, en un amplio rango de pH (4,4 a 9,5), en valores de actividad de agua ( $a_w$ ) por encima de 0,92, es halotolerante, capaz de crecer hasta en 10% de sal y anaerobia facultativa, aunque dichas capacidades varían de acuerdo con la cepa. Estos factores determinan su capacidad de supervivencia, crecimiento o inhibición. Así, Wemmenhove, van Valenberg, van Hooijdonk, Wells-Bennik y Zwietering (2018), indican entre otros, como parámetros más relevantes: temperatura,  $a_w$  y pH, los que se incluyen generalmente en modelos predictivos de crecimiento de este patógeno alimentario.

En función de las características fisicoquímicas de los alimentos, se han establecido criterios de aceptación y reglamentación para alimentos LPC. Así, la Comisión Europea (CE), por ejemplo, en el reglamento N°2073/2005 menciona que *Listeria monocytogenes* es incapaz de crecer en alimentos a pH menores a 4,4 o con  $a_w$  menores a 0,92 y que una combinación de pH menor a 5 y  $a_w$  menor a 0,94 puede también inhibir su crecimiento (Amaury et al., 2018; Comisión del Codex Alimentarius (CAC), 2009). Así mismo, de acuerdo con la Comisión del Codex Alimentarius (CAC, 2009) y la Comisión Europea (CE), citados por Buchanan et al. (2016), el patógeno no puede crecer a concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) mayores a 16%, ni a temperaturas de congelación (-18°C).

Tal como lo describe Bover y Garriga (2014), el reglamento de la CE N°2073/2005, teniendo en cuenta estas características del producto (que están directamente vinculadas al riesgo asociado del alimento LPC con el posible crecimiento del patógeno durante la vida útil) y la población al cual se destina el mismo, estableció los requisitos para *Listeria monocytogenes* con el plan de muestreo correspondiente, que se resumen en la Tabla I. En general, el plan de muestreo depende del microorganismo a testear y define las unidades del producto a analizarse por cada lote de alimento, el tamaño de la muestra y los límites requeridos para que se acepte ese lote. Por ejemplo, para aquellos alimentos LPC que pueden favorecer el crecimiento de *L. monocytogenes*, que no sean los destinados a lactantes, se deben tomar aleatoriamente cinco unidades del alimento

(n=5) y analizar, a la salida de la empresa, la presencia/ausencia del patógeno. Para liberar dicho lote, ninguna unidad (c = 0) puede dar positivo a la detección de *Listeria monocytogenes*, ya que el requisito para patógenos alimentarios, tanto de m como de M es Ausencia/25g (m = M = 0). Para el caso de microorganismos indicadores, por ejemplo, donde se acepta que el alimento tenga cierta cantidad de microorganismos, m indica el menor valor del rango de aceptabilidad y M, el mayor valor de ese rango.

**Tabla I.** Criterios microbiológicos de inocuidad aplicables en la Unión Europea para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo (LPC) (Adaptado de Bover y Garriga, 2014)

Categoría de producto	Plan de muestreo		Límites		Fase en la cual se aplica
	n*	c*	m*	M*	
LPC destinado a lactantes	10	0	Ausencia en 25 g		Productos comercializados durante su vida útil
LPC que favorecen el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> y no sean destinados a lactantes	5	0	100 UFC/g		Productos comercializados durante su vida útil
	5	0	Ausencia en 25 g		A la salida de la empresa alimentaria
LPC que no favorecen el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> y no sean destinados a lactantes	5	0	100 UFC/g		Productos comercializados durante su vida útil

\*n: número de muestras a analizar; c: número máximo de unidades de muestra que puede dar resultados insatisfactorios (International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 2018); m: menor valor del rango de aceptabilidad y M: valor máximo del rango de aceptabilidad

Como se ha mencionado, *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir en condiciones adversas como pH extremo, altas concentraciones de sal, baja  $a_w$ , y temperaturas de refrigeración, por lo tanto, es posible su presencia en los establecimientos productores de quesos (Churchill et al., 2019; Melo et al., 2015). Lo anterior se evidencia porque es capaz de colonizar diferentes nichos durante mucho tiempo (con resistencia a desinfectantes y desecación), por su capacidad de formar biopelículas o *biofilms* en las superficies de la quesería de contacto directo con el queso (Wemmenhove et al., 2018; Halberg Larsen et al., 2014). Los residuos lácteos pueden promover dicha formación, posibilitando la difusión, viabilidad y multiplicación del patógeno durante el proceso de elaboración (Latorre et al. 2010). Esa capacidad de persistencia en ambientes alimentarios contribuye significativamente a su existencia y prevalencia en los productos finales, entendiéndose por prevalencia en muestras de alimentos, como la proporción o el porcentaje de muestras que contienen el patógeno con respecto al total de las muestras analizadas (Organización Panamericana de la Salud (OPS), 2021; Fajardo-Gutierrez, 2017).

El tipo de establecimiento, el cumplimiento de programas de limpieza y desinfección, así como la capacitación y entrenamiento del personal, son fundamentales para una manipulación higiénica de los alimentos y para minimizar la contaminación del producto durante el proceso de elaboración (Moreno, Barria, Moncilla y Singer 2017). En particular, para *Listeria monocytogenes* la correcta aplicación de los procedimientos de limpieza y desinfección junto con el monitoreo ambiental que comprueben su eficacia, son las prácticas más recomendadas para mantener al patógeno bajo control. Estas prácticas, junto al manejo higiénico y tratamiento térmico de la leche y el control de las características fisicoquímicas de los quesos, en particular: pH y  $a_w$  durante el proceso de maduración, pueden contribuir a evitar o minimizar la presencia del patógeno en el queso al momento de su consumo (Español, 2018; Farmhouse and Artisan Producers, Cheese & Dairy Producers European Network (FACE), 2016).

A nivel mundial, la variedad de quesos artesanales es muy amplia y una de las principales características es que muchos se elaboran con leche cruda, pudiendo ser ésta, una de las fuentes de contaminación (Amaury et al, 2018).

De acuerdo con la información del Instituto Nacional de la Leche (INALE, 2016), en nuestro país, la producción de queso artesanal es principalmente familiar y se comercializa mayoritariamente en el mercado interno. Se lo define como aquel elaborado con leche cruda, pasteurizada o termizada, con leche producida exclusivamente en ese establecimiento (Uruguay, 2003, febrero 17). La mayoría de los quesos artesanales nacionales también se elaboran con leche cruda. Si reciben algún tratamiento térmico, en general es la termización. Este proceso térmico implica, que la leche se someta, por ejemplo, a 57-68°C por 30 segundos o 60°C por 2-3 minutos, lo cual no asegura la eliminación de patógenos alimentarios como *Listeria monocytogenes* (ICMSF 6, 2005 y FACE, 2016). Así, de acuerdo con lo citado por Lianoua y Samelis (2014), dicho proceso puede favorecer incluso, el desarrollo de las bacterias que sobreviven al mismo, dado que se eliminó la mayoría de la microbiota competente.

En EE. UU., la Administración de alimentos y medicamentos (FDA por sus siglas en inglés), permite el uso de leche no pasteurizada para la elaboración de quesos, siempre que cumplan con un mínimo de 60 días de maduración a 1,7°C (FDA, 2012). Esta reglamentación se basa en que, durante esa maduración, existen cambios en la matriz: reducción de pH y  $a_w$ , mayor concentración de sal y otras condiciones, que podrían detener el desarrollo de patógenos (Brooks et al. 2012), aunque hay evidencia que *Listeria monocytogenes* puede crecer en ciertos tipos de queso durante la maduración (FDA, 2016). El Reglamento Bromatológico Nacional (RBN), Decreto 315/994, en el punto 16.4.6 contempla el uso de leche sin tratamiento térmico, para la elaboración de quesos que se maduren a una temperatura mayor a 5°C por al menos 60 días (Uruguay, 1994, julio 05).

La prevalencia de este patógeno en estos productos varía de acuerdo con el tipo de queso y con la región. Así, Churchill et al. (2019), reporta una prevalencia promedio a nivel mundial de 2,4 % (95% intervalo de confianza, 1,6 a 3,6%) en quesos blandos con humedad entre el 67,0 y 80,0%.

Amaury et al. (2018), por su parte, en una revisión sobre *Listeria monocytogenes* en distintos tipos de quesos en varios países, informan rangos de prevalencia de 0,0 a 37,5% en quesos frescos, como el Minas Frescal de Brasil o Queso fresco de México, los que coinciden con los resultados en estos mismos tipos de quesos en Austria y Turquía. Para quesos blandos y semiblandos la mayoría de los estudios de la citada revisión, informan valores entre 0,0 y 14,0%, aunque en Portugal se ha encontrado hasta 46,0%. También hacen referencia a otros trabajos que reportan prevalencia en quesos duros de 0,0 a 5,5% (Amaury, 2018).

A su vez, en trabajos puntuales de prevalencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos en Latinoamérica, se han reportado 14,2% en Ecuador (Espinosa, 2018) y 27,0% en Colombia (Ocampo et al., 2019). En la UE, de acuerdo con lo informado por la Autoridad europea de inocuidad alimentaria (EFSA por sus siglas en inglés) y el ECDC en el 2021, citado por Cardo (2021), la prevalencia de *L. monocytogenes* en quesos blandos, semiblandos y duros elaborados con leche cruda o a baja temperatura fue de 0,9 - 1%. Luchansky et al. (2017), sin embargo, no reportó presencia de *L. monocytogenes* en quesos blandos y poco madurados elaborados en EEUU. Por su parte, Zafar et al. (2020), establecen una prevalencia de 20,0% en quesos en Pakistán y Seyoum, Woldetsadik, Mekonen, Gezahegn y Gebreyes (2015), 26,7% en un estudio realizado en Etiopía.

En Uruguay, si bien existen pocos reportes de prevalencia a nivel nacional, Maquieira (2011) halló una prevalencia de 3.5% en muestras provenientes de queserías habilitadas por el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (algunas de las cuales, elaboraban quesos con leche cruda). Por otra parte, Braga et al. (2017), señalan la prevalencia de este patógeno en 3.175 muestras de alimentos retirados de diferentes puntos de venta en Montevideo. Sus resultados indican que los alimentos congelados son los de mayor prevalencia (38,0%), seguidos por quesos (10,0%). Recientemente, se determinó la prevalencia en quesos artesanales, que resultó en 5,4 % para quesos artesanales en general, 4,3 % para quesos Semiduros y 8,3 % para quesos Colonia (Proyecto ANII FSA\_I\_2017\_1\_138945, comunicación personal: Carro S.; 2022).

En nuestro país, de acuerdo con los datos oficiales, se estima que el consumo de quesos es de aproximadamente 8,7 kg/cápita/año y que los quesos artesanales representan el 50% del total (Uruguay, 2021; Fondo Nacional de Preinversión (FONADEP), 2008). Al momento, la producción de quesos artesanales serían unas 14.273 ton/año (Uruguay, 2021; INALE, 2016). Según el INALE, los tipos de quesos artesanales elaborados actualmente se producen de acuerdo con la siguiente proporción: Semiduros (39,0%), Colonia (32,0 %), Cuajada (23,0%) y Muzzarella y

Dambo con 3,0% de la producción cada uno (INALE, 2016), siendo los llamados Semiduros y Colonia los de mayor producción y, por lo tanto, se estima que son los de mayor consumo.

La normativa vigente en el RBN, (Uruguay, 1994, julio 05), establece para los quesos en general (entre otros parámetros), la ausencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g. Aunque, para quesos artesanales la reglamentación actual es la del Decreto 274/004 (Uruguay, 2004, agosto 03), con respecto a los requisitos microbiológicos de patógenos, el criterio técnico adoptado por el Departamento de Control Sanitario de Lácteos del MGAP es considerar ausencia en 25g en todas las muestras analizadas con un n=5 (Comunicación personal, Mónica Larrechart, junio 2022).

A su vez, con respecto a los parámetros fisicoquímicos, la clasificación de los quesos de acuerdo con su contenido de humedad en nuestro país se muestra en la tabla II.

**Tabla II.** Clasificación de quesos establecida en el Reglamento bromatológico nacional (Uruguay, 1994, julio 05), de acuerdo con el contenido de humedad

<b>Clasificación</b>	<b>Quesos</b>	<b>% Humedad</b>
Quesos de muy alta humedad (o de pasta muy blanda)	Blanco o requesón	> 55,0%
Quesos de alta humedad (o de pasta blanda)	Muzzarella, Cuartirolo, Magro, Roquefort	46,0% - 54,9%
Quesos de mediana humedad (o de pasta semidura),	Gruyere, Colonia, Dambo	36,0% - 45,9%
Quesos de baja humedad (o de pasta dura)	Parmesano, Sbrinz, Provolone	< 35,9 %

En Uruguay, los quesos conocidos como Semiduros son aquellos cuyo proceso de elaboración corresponde a la de quesos de pasta dura (cocida).

Por otra parte, según lo citado por Bover y Garriga (2014), los quesos se pueden clasificar de acuerdo con el riesgo relativo de contraer listeriosis en función de la humedad y de la leche de la cual provienen (Tabla III).

**Tabla III.** Categorías de alimentos listos para el consumo (LPC) en función del riesgo relativo de contraer listeriosis (Adaptado de Bover y Garriga, 2014)

<b>Categoría</b>	<b>Quesos</b>	<b>% Humedad</b>
Riesgo muy alto a riesgo alto	Elaborados con leche cruda	
Riesgo alto a riesgo moderado	Fresco no madurado: Requesón, Ricota	> 50,0 %
Riesgo moderado a riesgo bajo	Fresco cremoso	
	Blando madurado: Brie, Camembert	> 50,0 %
	Semiblando: Queso azul	39,0 % - 50,0%
Riesgo bajo a riesgo muy bajo	Duro y curado: Parmesano, Cheddar	< 39,0 %

Si se considera la información de la tabla III y la clasificación de quesos establecida por el RBN (Tabla II), se establece que:

- Los quesos artesanales nacionales provenientes de leche cruda serían considerados de muy alto riesgo.
- Aquellos quesos de pasta muy blanda y blanda con humedad > 50.0% (alta o muy alta) como el queso Blanco y Muzzarella se consideran de riesgo alto a moderado y de riesgo moderado a bajo si están por debajo de 50.0% de humedad.
- Los quesos de mediana humedad o pasta semidura al estar entre 36.0 % y 45.9%, como el Colonia o Dambo, se consideran de riesgo moderado a bajo.
- Los quesos de baja humedad o pasta dura como el Parmesano o Sbrinz con una humedad 35.9% se consideran de bajo o muy bajo riesgo.

La exposición a *Listeria monocytogenes* depende del número de unidades formadoras de colonias (UFC) que contenga el queso al momento de su consumo, el tamaño de la porción o cantidad que se ingiere por parte de la población y la frecuencia de ese consumo. Para evaluar dicha exposición, se predice el comportamiento del patógeno en el queso para estimar la concentración final (dosis ingerida en UFC) en el momento de la ingesta, mediante modelos de microbiología predictiva (MP). Así como describe Cabeza et. al (2011), citado por Leon (2014), la MP se basa en predecir el comportamiento microbiano al cambiar las condiciones ambientales y del alimento, mediante modelos matemáticos. Esto permitirá predecir la ingestión probable de *Listeria monocytogenes* por el consumo de quesos, lo que se conoce como la evaluación a la exposición, una de las etapas de la evaluación de riesgos microbiológicos (OPS, 2021).

La evaluación de riesgos es el componente científico del análisis de riesgo, herramienta que busca vincular los riesgos provenientes de los alimentos con los riesgos a la salud humana, compuesto por 3 componentes: la gestión, la evaluación y la comunicación de riesgos (OPS, 2021).

La evaluación de riesgos permite estimar sistemáticamente, el riesgo de que una población enferme al ingerir alimentos contaminados. De acuerdo con lo citado por OPS (2021), el CAC establece que dicha evaluación consta de 4 etapas: la identificación del peligro, la caracterización del peligro, la evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo.

El presente trabajo, desarrolla el modelo matemático para evaluar la exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de quesos artesanales Semiduros y Colonia, estimando la probabilidad de enfermar en diferentes poblaciones (general, embarazadas y adultos mayores de 65 años) y caracteriza dicho riesgo a través de la predicción del número de casos de listeriosis para cada una de esas poblaciones.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*Listeria monocytogenes* es uno de los patógenos alimentarios más importantes para la salud pública, dada su alta tasa de letalidad principalmente en individuos con factores de riesgo. Datos epidemiológicos muestran que generalmente la listeriosis se produce por el consumo de cantidades del patógeno por encima de 100 UFC por gramo, aunque el riesgo de infección está asociado, además, a las características del serotipo bacteriano y al sistema inmune del huésped (FAO/OMS, 2004; Pouillot et al., 2015).

Los quesos, han sido vinculados a brotes alimentarios por esta bacteria, especialmente aquellos elaborados con leche cruda. Estos productos tienen condiciones intrínsecas por ejemplo de humedad, pH y  $a_w$  que pueden favorecer o inhibir su crecimiento. Estas condiciones varían en los diferentes tipos de quesos, de acuerdo con sus procesos de elaboración, tiempos y condiciones de maduración. Esos parámetros influyen en el nivel del riesgo de los diferentes tipos de quesos y su probabilidad de enfermar, pudiendo ser categorizados en quesos de alto, moderado o bajo riesgo.

En Uruguay se producen varios tipos de quesos artesanales, la mayoría con leche cruda. Los quesos Semiduros y Colonia son los de mayor producción y consumo, sin embargo, poco se conoce sobre sus parámetros fisicoquímicos durante su maduración y el impacto de éstos en el crecimiento o inhibición de *Listeria monocytogenes*.

Si se conocen los diferentes parámetros fisicoquímicos, en particular pH y  $a_w$ , es posible predecir el comportamiento del patógeno en el queso durante su maduración para estimar la concentración final (dosis ingerida en UFC/g) en el momento del consumo. Para evaluar la exposición al patógeno, se utilizan modelos microbiológicos predictivos que pueden estimar cambios en la población microbiana en función de las características del queso (pH,  $a_w$ ) durante la maduración y vida útil hasta el momento de su consumo (FAO/OMS, 2004). Posteriormente, mediante el modelo dosis-respuesta se estima la probabilidad de enfermar por el consumo de dicha dosis en la porción y finalmente, el número de casos de listeriosis anuales se predice teniendo en cuenta el número total de porciones contaminadas consumidas por la población.

## 4. HIPÓTESIS

Los quesos artesanales locales Semiduros y Colonia, elaborados con leche cruda, generan durante su maduración, condiciones que no permiten el desarrollo de *Listeria monocytogenes* a niveles tales que impliquen un riesgo a la salud pública al momento de su consumo. Por lo tanto, la probabilidad de padecer listeriosis invasiva por consumo de estos alimentos es muy baja, incluso en aquellos individuos con factores predisponentes conocidos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Estimar la probabilidad de enfermar y predecir los casos de listeriosis invasiva, luego de la exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de quesos artesanales Semiduros y Colonia.

### 5.2 Objetivos Específicos

A. Determinar pH y  $a_w$  de los quesos artesanales Semiduros y Colonia a diferentes tiempos de maduración para incorporar en el modelo predictivo de comportamiento del patógeno en estos alimentos.

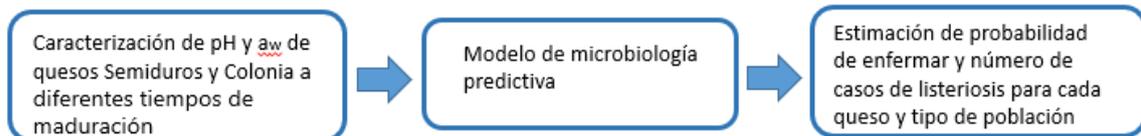
B. Predecir mediante un modelo matemático de microbiología predictiva el resultado de la exposición de diferentes grupos poblacionales (embarazadas, adultos mayores de 65 años y población general) a *Listeria monocytogenes* por consumo de queso artesanal tipo Semiduros y Colonia.

## 6. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN

Se consideraron en el presente estudio los quesos artesanales de mayor producción en Uruguay y, por lo tanto, se estiman sean los de mayor consumo, Semiduros y Colonia.

A partir de su caracterización fisicoquímica y conociendo el pH y  $a_w$  a distintos tiempos de maduración, la prevalencia y concentración inicial de *Listeria monocytogenes* en cada uno de ellos y otras variables de entrada, se pudo estimar la cantidad de UFC de este patógeno, presentes en cada porción de queso al momento del consumo mediante un modelo de microbiología predictiva.

A efectos de valorar el resultado de la exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de dichos quesos, se construyó un modelo de exposición probabilístico a partir de las variables de entrada correspondientes. Para dicho modelo, se estimó el comportamiento del patógeno en las distintas etapas de almacenamientos de los quesos, desde la maduración hasta el consumo y se caracterizaron, entre otras variables, los tamaños de porción medios para diferentes tipos de población (general, embarazadas y adultos mayores de 65 años, consideradas estas dos últimas como poblaciones de riesgo). Con ello se generaron modelos de exposición de microbiología predictiva con diferentes escenarios para estimar la dosis ingerida del patógeno en cada porción, la probabilidad de enfermar y los números de casos de listeriosis en cada uno de ellos para cada tipo de población estudiada.



**Figura 1.** Estrategia de investigación para estimar la exposición a *Listeria monocytogenes* y los casos de listeriosis por consumo de quesos artesanales Semiduros y Colonia

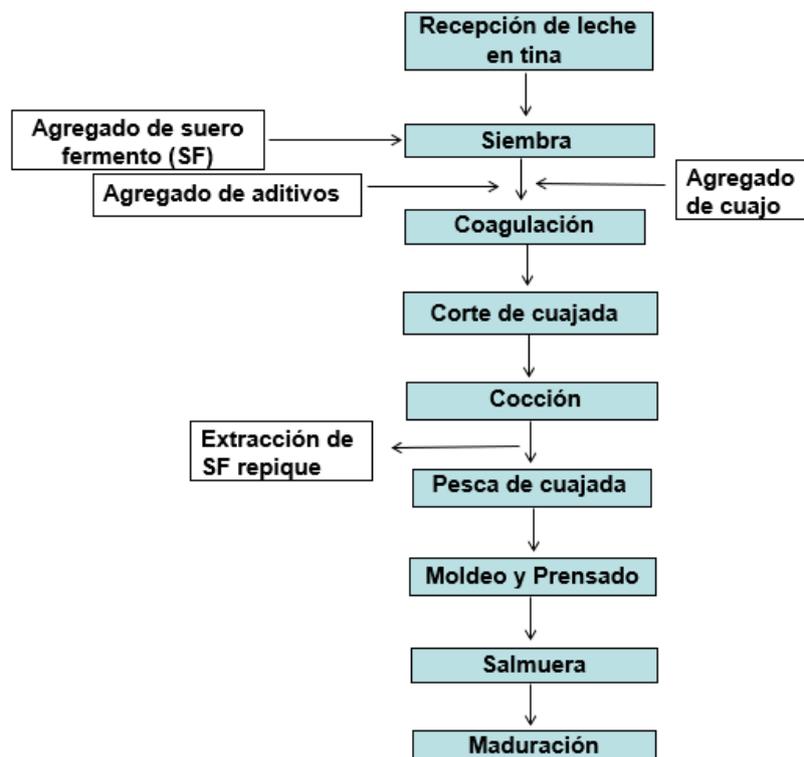
## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Tipos de quesos seleccionados

Tal como se mencionó anteriormente, los quesos artesanales producidos en mayor proporción en nuestro país son los quesos Semiduros, seguidos de los quesos Colonia (INALE, 2016).

Esta información fue confirmada en el muestreo nacional realizado entre agosto 2018 y junio 2019, en el proyecto “Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en quesos artesanales elaborados con leche cruda en Uruguay” (Proyecto ANII FSA\_I\_2017\_1\_138945, comunicación personal: Carro S.; 2022). Así, se seleccionaron para llevar adelante este trabajo, los quesos Semiduros y los quesos Colonia.

Los quesos artesanales provenientes de leche cruda llamados Semiduros, de acuerdo con lo informado por los productores visitados, se elaboran siguiendo este diagrama de flujo (Figura 2):



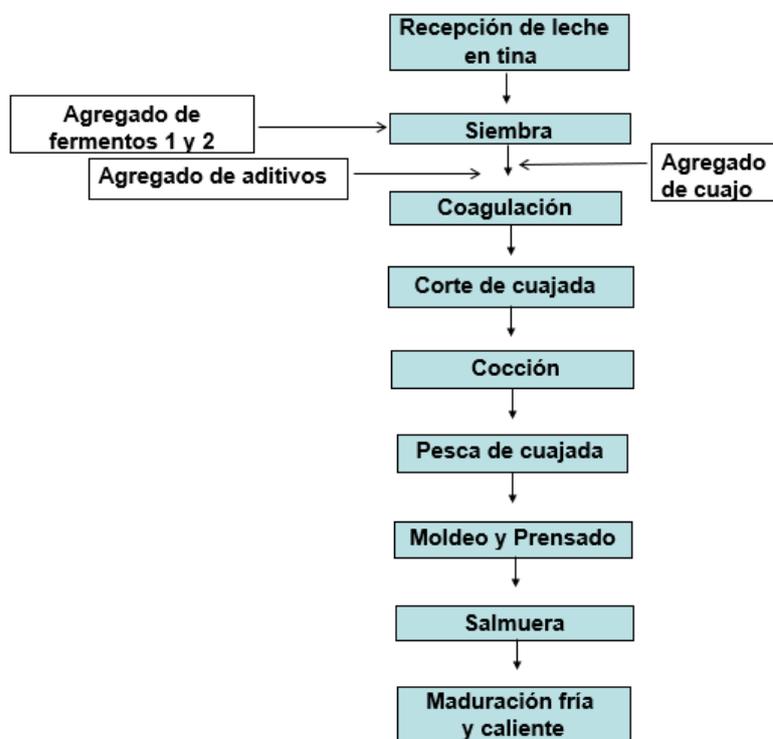
**Figura 2.** Proceso de elaboración de quesos artesanales denominados Semiduros de las queserías visitadas

Este tipo de quesos artesanales, tienen la característica de que el cultivo iniciador utilizado, el llamado suero fermento (SF), es un cultivo propio de cada establecimiento, no es un cultivo comercial. De acuerdo con los datos aportados por los productores, luego de la cocción de la cuajada que es efectuada a 45-47°C

por 20-30 minutos, y antes de la etapa de “pesca” de la misma, se extrae una alícuota de SF “fresco” que formará parte del cultivo iniciador de la próxima elaboración.

El proceso de elaboración de este tipo de quesos es de pasta dura (cocida). Dichos quesos son llamados quesos Semiduros, los que tienen características propias de cada establecimiento, dado entre otros, por ese SF. Se maduran en las denominadas “cámaras frías” a temperaturas entre 5 y 10°C hasta su venta. El tiempo de maduración varía de acuerdo con el productor.

Para el caso de los quesos Colonia, elaborados con leche cruda, tal como indican los productores seleccionados en este trabajo, los cultivos iniciadores utilizados son dos, como se muestra en el diagrama de flujo de su proceso de elaboración (Figura 3):



**Figura 3.** Proceso de elaboración de quesos artesanales Colonia de las queserías visitadas

Los fermentos 1 y 2, son comerciales y dan al queso las características sensoriales típicas, de las que se destacan su aroma y sus “ojos” que se desarrollan durante la maduración. El primero está constituido por bacterias lácticas como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (CHOOZIT RA 22 o 26 LYO), que generan ácido láctico y el segundo (CHOOZIT MG 10 LYO) por bacterias acidolácticas como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* y *Leuconostoc mesenteroides*, que dan lugar a la formación de CO<sub>2</sub>, lo cual produce en el queso la formación de los típicos ojos

y su característico sabor (Borbonet y Pelaggio, 2006). El proceso de maduración es particular para lograr esas características. Comienza con un oreo luego de la salmuera de 12 a 48 horas (4-6°C), después una maduración en cámara fría (8-11 °C) seguido de una maduración en la llamada “cámara caliente” a 20-24 °C, para volver luego a cámara fría hasta su venta (Crosa et al., 2008). De acuerdo con Crosa et al. (2008) a partir del día 11 de la primera maduración en cámara fría, se produce un cambio en la masa del queso (al disminuir su dureza y elasticidad), que es muy positivo para la siguiente etapa de formación de ojos que se dará en la cámara caliente.

## **7.2 Muestreo**

Se seleccionaron 6 establecimientos productores de quesos artesanales a partir de leche cruda: 3 de quesos Semiduros y 3 de quesos Colonia.

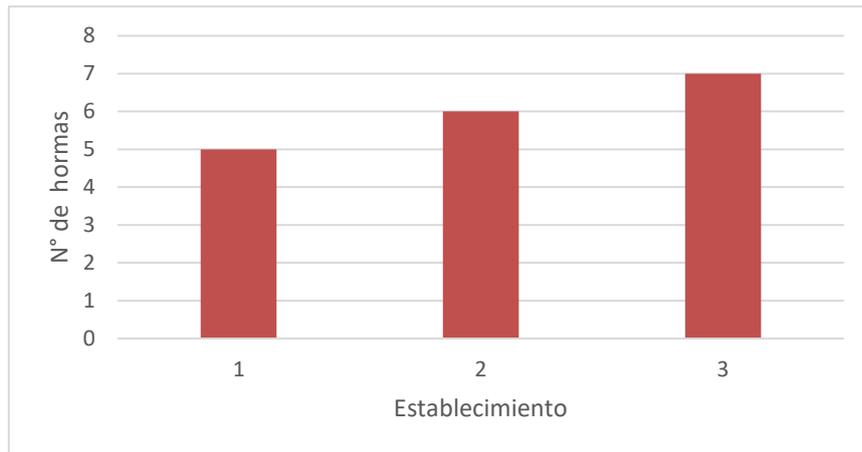
Se contactaron los responsables de esos establecimientos y se les envió una encuesta con la finalidad de conocer el proceso de elaboración y en particular, las condiciones de maduración de cada tipo de queso (Figuras 1 y 2). Se visitaron los establecimientos elaboradores para realizar la toma y remisión de las hormas correspondientes, relevando “*in situ*” las condiciones del proceso de elaboración incluyendo la maduración de cada tipo de queso (Anexo 1: Encuesta a productores).

El plan de muestreo para caracterizar los parámetros fisicoquímicos y detectar la presencia de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* en los quesos Semiduros y Colonia durante un período de maduración, se realizó durante los meses de junio y julio de 2020. Dado que dicho muestreo fue ejecutado durante la pandemia y en estado de emergencia sanitaria, se realizó un protocolo para el retiro de muestras (Anexo 2: Protocolo para el retiro de muestras de queserías artesanales en el marco de tesis de maestría).

Se estableció realizar el muestreo de un mínimo de 5 unidades de cada predio, de forma de analizar una horma cada 15 días, hasta al menos 60 días.

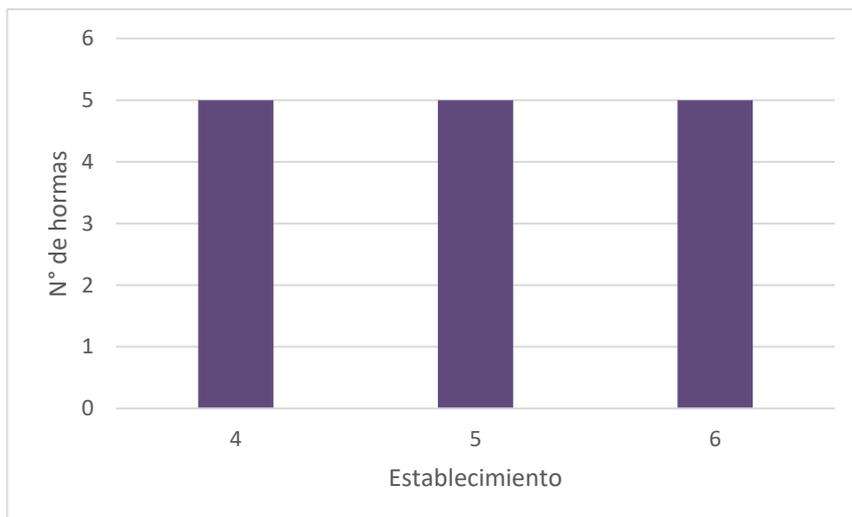
Las hormas obtenidas de cada predio correspondieron al mismo lote de producción o sea al mismo día, horario de producción y tina de producción.

De los 6 establecimientos visitados, se obtuvieron 33 hormas de quesos compuestas por 18 hormas de queso Semiduros y 15 de quesos Colonia, tal como se muestra en las figuras 4 y 5.



**Figura 4.** Plan de muestreo (hormas extraídas) para quesos Semiduros en establecimientos: 1, 2 y 3

Por un tema de disponibilidad productiva de cada establecimiento, en el caso de los quesos Semiduros, se lograron obtener 5 hormas del establecimiento 1, 6 del establecimiento 2 y 7 del establecimiento 3. Para los quesos Colonia, se obtuvieron 5 hormas de cada establecimiento.



**Figura 5.** Plan de muestreo para quesos Colonia, cantidad de hormas tomadas en establecimientos: 4,5 y 6

Las hormas, se acondicionaron para su maduración en cámaras de Latitud - Fundación LATU en las condiciones definidas previamente en función de los datos relevados en las encuestas. Éstas fueron controladas y evaluadas con sondas de control de temperatura y humedad.

Las muestras de quesos Semiduros (Establecimientos 1, 2 y 3), se analizaron a tiempo de maduración de 0, 15, 30, 45, 60 días. Para los quesos del establecimiento 2 se analizaron además a los 75 días y para el 3 a los 75 y 90 días (de acuerdo con

disponibilidad de muestras). Las muestras de quesos Colonia (Establecimientos 4, 5 y 6), se analizaron a tiempo de maduración de 0, 15, 30, 45 y 60 días.

### 7.3 Proceso de maduración

De la información relevada en las encuestas realizadas a los productores, se obtuvieron los datos de tiempos y temperaturas de maduración de cada establecimiento (a excepción del establecimiento 2 que no lo realizaba ahí mismo). Según dicha información, los quesos Semiduros, luego del oreo se llevan a madurar a la “cámara fría” hasta su venta. El tiempo y la temperatura de maduración en esta cámara, varía en cada establecimiento. En la siguiente tabla se muestran los datos aportados por los responsables de los establecimientos 1 y 3:

**Tabla IV.** Temperaturas y tiempos de maduración en cámara fría de quesos Semiduros de las queserías evaluadas

	<b>Maduración en Cámara Fría</b>	
	<b>Establecimiento 1</b>	<b>Establecimiento 3</b>
<b>Temperatura (°C)</b>	5 - 9	9 - 10
<b>Tiempo (días)</b>	≥ 30	≥ 60

En el caso de los quesos Colonia, el proceso de maduración implica cámara fría y una etapa posterior en “cámara caliente”. Luego vuelven a la cámara fría hasta su venta. Al igual que en el caso de los quesos Semiduros, las condiciones varían según el establecimiento. La tabla V muestra los datos de las condiciones obtenidas de las encuestas realizadas a los productores:

**Tabla V.** Temperaturas y tiempos de maduración en cámara fría y caliente de quesos Colonia de las queserías evaluadas

	<b>Establecimiento 4</b>	<b>Establecimiento 5</b>	<b>Establecimiento 6</b>
	<b>Maduración en Cámara Fría</b>		
<b>Temperatura (°C)</b>	12	16	10-15
<b>Tiempo (días)</b>	18	10	14
	<b>Maduración en Cámara caliente</b>		
<b>Temperatura (°C)</b>	21	25	19 - 22
<b>Tiempo (días)</b>	7	15	5 – 7

### 7.4 Condiciones de maduración controladas experimentalmente

En función de los datos aportados por los productores, en este experimento, se definieron las condiciones de temperatura y humedad de la cámara fría y caliente de Latitud/LATU utilizadas durante la maduración experimental de las hormas analizadas. Durante el período de maduración evaluado, las 33 hormas fueron

mantenidas en las condiciones de temperatura, aireación y humedad relativa controlada, correspondiente a cada tipo de queso

Así, las hormas de quesos Semiduros se acondicionaron en cámaras de maduración a una temperatura entre 9-11°C ( $10\pm 1^\circ\text{C}$ ) hasta el momento del análisis o durante 90 días de maduración.

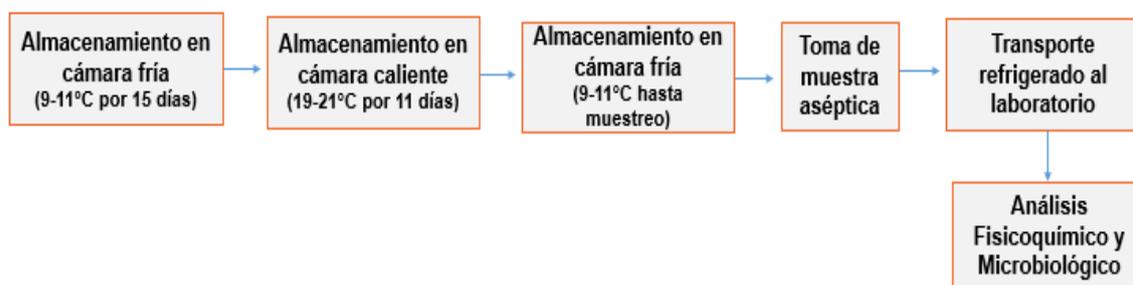
Por su parte, las hormas de quesos Colonia se colocaron en las mismas cámaras frías (9-11°C) de maduración por 15 días. Luego se trasladaron a la cámara caliente a una temperatura de 19-21 °C ( $20\pm 1^\circ\text{C}$ ) por 11 días y posteriormente, se llevaron nuevamente a la cámara fría, hasta su análisis correspondiente.

El proceso de maduración de los quesos Semiduros hasta el momento de su análisis se representa en la figura 5:



**Figura 6.** Etapas del proceso de maduración hasta su análisis de las hormas de quesos Semiduros

Por su parte el proceso de los quesos Colonia desde su maduración hasta su análisis se muestra en la siguiente figura:



**Figura 7.** Etapas del proceso de maduración del queso Colonia hasta el momento de su análisis

Al cumplir cada tiempo de maduración preestablecido, se extrajo 1 horma de cada queso, correspondiente a ese tiempo de maduración, permaneciendo el resto de las hormas en la cámara de maduración.

Se realizó una toma aséptica de la muestra de cada horma y dicha muestra se acondicionó para su traslado a los laboratorios para los análisis microbiológicos y físicoquímicos. Las muestras para análisis microbiológicos se almacenaron en cámaras refrigeradas hasta ser analizadas (en un período no mayor a 48 h,

posterior al muestreo). En el caso de los análisis fisicoquímicos, las muestras se trasladaron refrigeradas y se mantuvieron así hasta el momento de su análisis.

Asimismo, a partir de los datos de tiempos y temperaturas aportados por los productores y mostrados en las tablas IV y V, se calculó el promedio y desvío estándar de cada variable para cada tipo de queso. Con el promedio y desvío estándar, para la temperatura y el tiempo de maduración, se definió una función de distribución normal la cual se utilizó como dato de entrada para el modelo probabilístico en cuanto al tiempo y temperatura de las cámaras de maduración para cada tipo de queso.

Los tiempos y temperaturas del resto de las etapas contempladas para cada queso, desde su maduración hasta su consumo, fueron extraídos de la bibliografía o de opinión de expertos (como de la Asociación del Queso Artesanal (ADQA)). Con dicha información fueron definidas la función de distribución de cada una de esas dos variables.

### **7.5 Análisis Fisicoquímicos**

Se realizaron los análisis fisicoquímicos para la determinación de los siguientes parámetros: pH, humedad,  $a_w$ , contenido de cloruro de sodio y materia grasa a los diferentes días de maduración.

En el caso de los quesos Semiduros, se analizó una muestra de la horma de cada uno de los predios a los 0, 15, 30, 45 y 60 días. Además, se analizó una muestra de los establecimientos 2 y 3 a los 75 días y una muestra del establecimiento 3 a los 90 días de maduración. Las muestras de las hormas de queso Colonia de cada uno de los tres establecimientos, se analizaron a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de maduración.

El análisis de sólidos totales (humedad) se realizó según método de referencia gravimétrico ISO 5534:2004, basado en la determinación de dichos sólidos totales en una muestra, por diferencia de masa inicial y final. Para ello, dicha muestra es mezclada con una masa constante de arena y sometida a una temperatura de 102°C hasta obtener un peso constante. El contenido de cloruro de sodio se determinó por el procedimiento de Volhard según método AOAC, (2000), mediante la reacción del nitrato de plata con el cloruro de sodio presente en la muestra y la titulación por exceso del nitrato de plata agregado. Para medir actividad de agua se utilizó un hidrómetro automático (AquaLab Series 4 TE), basado en condensación de vapor de agua (punto de rocío), colocando la muestra en una cámara sellada con un espejo que permite determinar la condensación. Una célula fotoeléctrica y un termistor detectan el punto exacto de la condensación y de la temperatura respectivamente. El pH, por su parte, se realizó por método potenciométrico según BS, (1976). La determinación se realizó directamente en la masa del queso cuando ésta fue lo suficientemente suave y plástica. En quesos duros se aplicó sobre una

suspensión de 10 g de queso en 6 mL agua destilada y dentro de los 30 minutos de la preparación de la suspensión.

A su vez, el análisis de materia grasa se llevó adelante por el método de Van-Gulik ISO 3433:1975 (NEN 3059: 1957. Leiden, Holanda). Para ello, una cantidad pesada de muestra de queso previamente mezclada y preparada se trata con ácido sulfúrico, en el butirómetro van Gulik, de tal manera de disolver la proteína. Luego se agrega una cantidad definida de alcohol amílico. Por medio de centrifugación, la grasa se concentra en el tubo plano graduado y se lee su porcentaje en la escala del butirómetro.

### **7.5 Análisis Microbiológicos**

Se realizó la búsqueda de *Listeria* spp. mediante la metodología iQ Check *Listeria* spp. de Biorad®, método aprobado por AFNOR y AOAC (N°BRD 07/13-5/07 y N° 090701). En caso de resultado positivo, se continuó la búsqueda de *Listeria monocytogenes* por esa misma metodología.

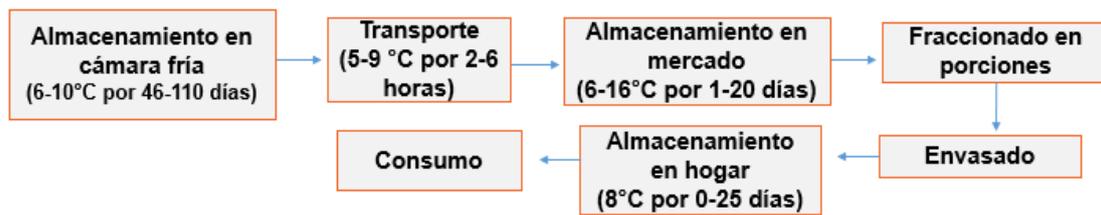
Dicha técnica analítica fue verificada previamente en el laboratorio a través de la inoculación de entre 1 y 5 UFC de *Listeria innocua* a 25 g de otras muestras de queso Semiduro y Colonia utilizadas como control, que fueron previamente confirmadas como negativas para dicho microorganismo.

Como en el caso de los análisis fisicoquímicos, para los estudios microbiológicos se analizaron muestras representativas de cada horma de los quesos Semiduros, a los 0, 15, 30, 45 y 60 días. Además, se analizó una muestra de los predios 2 y 3, a los 75 días y una muestra del predio 3 a los 90 días de maduración. Las hormas de queso Colonia de cada uno de los tres predios, se analizaron a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de maduración.

### **7.6 Modelo de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes***

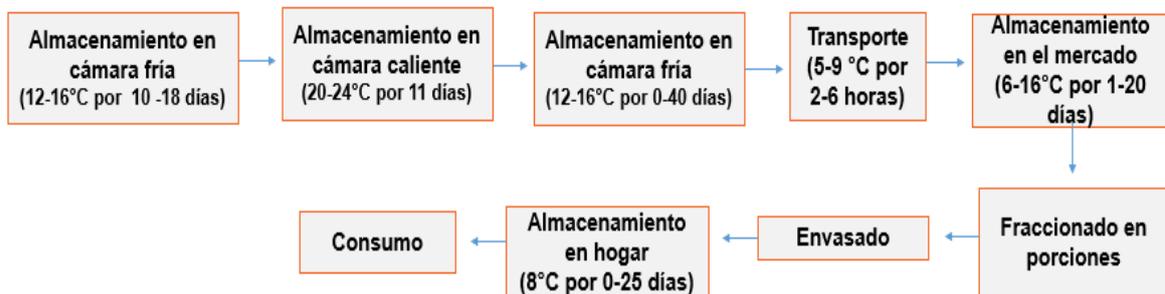
Para evaluar el nivel de exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de cada queso y los casos de listeriosis, se siguieron las etapas de cada uno desde su salida de salmuera y oreo inicial: durante la maduración, hasta el momento de su consumo.

Dichas etapas para los quesos Semiduros se representan en la figura 8:



**Figura 8.** Etapas del proceso de los quesos Semiduros, desde su almacenamiento en cámara hasta el momento del consumo

Por su parte las etapas de los quesos Colonia se muestran en la figura 9:



**Figura 9.** Etapas del proceso de los quesos Colonia, desde su almacenamiento en cámara de maduración hasta su consumo

Para el armado del modelo de exposición probabilístico de cada tipo de queso (tabla VI y VII), se obtuvieron las variables de entrada correspondientes que caracterizan a cada uno:

- Datos propios como la prevalencia de quesos Semiduros y Colonia artesanales y la concentración inicial del patógeno en cada uno de los quesos.
- El pH y  $a_w$  determinados para cada uno de dichos tipos de queso durante su maduración.
- Datos poblacionales teniendo en cuenta las diferentes poblaciones estudiadas (embarazadas, población vulnerable representada por los adultos mayores a 65 años y población general).
- Datos de consumo y tamaño de porción, para las diferentes poblaciones.
- Datos de tiempos y temperaturas de almacenamiento de los quesos en cada etapa, desde la maduración hasta el consumo.
- Datos del comportamiento de *Listeria monocytogenes* en cada etapa del proceso, hasta el momento del consumo.
- Tipo de modelo dosis-respuesta y las relaciones dosis-respuesta para las diferentes poblaciones.

Además, se incluyeron en el modelo, las ecuaciones para el cálculo de la concentración de *Listeria monocytogenes* en cada etapa, de la concentración final

del patógeno, de la dosis al momento del consumo, de la probabilidad de enfermar, del número de porciones contaminadas y de los casos de listeriosis para cada tipo de queso y de población.

Los datos de prevalencia y concentración de cada queso uno de esos quesos, surgen de un proyecto de investigación, cuyo muestreo fue representativo de la producción nacional. El proyecto evaluó quesos artesanales provenientes de 159 establecimientos y los resultados son confidenciales (Proyecto ANII FSA\_I\_2017\_1\_138945, comunicación personal: Carro S.; 2022).

El pH y la  $a_w$ , fueron obtenidos de los análisis fisicoquímicos de los quesos extraídos para este trabajo, a diferentes tiempos durante su maduración, en las condiciones antes mencionadas, como uno de los objetivos específicos de esta tesis.

Se realizó un análisis de regresión lineal para evaluar el efecto del tiempo de maduración sobre el pH y  $a_w$ , considerando el efecto de los establecimientos, para cada tipo de queso.

Se determinó el efecto de los diferentes establecimientos sobre el valor promedio de pH y  $a_w$  a tiempo 0, para determinar si existía diferencia significativa entre los establecimientos con respecto a esas dos variables en cada tipo de queso.

Asimismo, se evaluó si ambos parámetros, pH y  $a_w$ , variaron significativamente con respecto al tiempo de maduración. Se determinó significancia estadística con un nivel del 5%. Todos estos análisis se realizaron mediante el software R (R Core Team, 2018).

De acuerdo con los modelos de regresión lineal y evaluando la relación del pH y  $a_w$  con el tiempo de maduración, se calcularon los valores de pH y  $a_w$  para cada tipo de queso, obteniéndose los promedios y sus desviaciones estándar de acuerdo a estas ecuaciones:

$$pH_{ij} = \alpha + \beta_j + \gamma \text{Tiempo}_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

**Ecuación 1.** pH en función del tiempo de maduración

$$a_{w_{ij}} = \alpha + \beta_j + \gamma \text{Tiempo}_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

**Ecuación 2.**  $a_w$  en función del tiempo de maduración

Siendo  $\alpha$ , la media global a tiempo 0,  $\beta_j$  el efecto del j-ésimo establecimiento,  $\gamma$  el coeficiente asociado al tiempo de maduración y  $\varepsilon_{ij}$  el término aleatorio asociado a la i-ésima medición en el j-ésimo establecimiento.

Dichos valores de pH y  $a_w$  se utilizaron como insumos de entrada al modelo de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes* para cada tipo de queso ya

que se utilizaron para encontrar en bibliografía, el comportamiento del patógeno en quesos con características similares de esas dos variables (Campagnollo et al., 2018a), Chatelard-Chauvin, Pelissier, Hulin y Montel (2015).

Si bien se cuenta con datos nacionales de producción anual de quesos destinados a mercado interno (Uruguay, 2021), que se estima es el total de quesos consumidos por los uruguayos, no se encontraron datos específicos de consumo de quesos artesanales a nivel nacional. De dichos datos oficiales y considerando que el 50% de los quesos que nuestra población consume son artesanales (FONADEP, 2008), se estimó el consumo anual de quesos artesanales, Semiduros y Colonia clasificando a los Semiduros como quesos de pasta dura-cocida y a los Colonia como de pasta semidura, tal como se los clasifica en la reglamentación nacional (Uruguay, 1994, julio 05).

Teniendo en cuenta los kilos de producción de quesos de pasta dura (Semiduros) y semidura (Colonia y Dambo) y considerando el porcentaje de quesos Semiduros y Colonia muestreados en el proyecto en el cual se enmarca esta tesis, que implicó un muestreo estadísticamente representativo de la producción nacional, se estimó el consumo anual de cada tipo de queso. Con estos datos y de acuerdo con los datos poblacionales, fue posible estimar el consumo de cada tipo de queso en kilos por persona por año que se muestran en las tablas VI y VII.

Los tamaños de cada porción se extrajeron de bibliografía (Campagnollo, Gonzales-Barron, Cadavez, Sant'Ana y Schaffner, 2018). Se tomaron tamaños de porciones iguales para los diferentes grupos poblacionales como en el trabajo de referencia (Campagnollo et al., 2018b) y para ambos tipos de quesos.

Las porciones totales consumidas por cada población por año se calcularon teniendo en cuenta el consumo de la población y el tamaño de porción que se estima consume cada una, a través de la ecuación 3:

$$\frac{\text{Porciones}}{\text{población} \times \text{año}} = \frac{\text{Consumo} \left( \frac{g}{\text{persona} \times \text{año}} \right)}{\text{Tamaño de porción} \left( \frac{g}{\text{porción}} \right)} \times \text{Cantidad de población} \left( \frac{\text{personas}}{\text{población}} \right)$$

### **Ecuación 3.** Porciones consumidas por población por año

Por su parte, los datos poblacionales se tomaron de fuentes oficiales o de bibliografía y cuando no fue posible, se utilizaron datos extraídos de la prensa (Instituto Nacional de Estadística (INE), 2011; Montevideo Portal, 2022). Las poblaciones estudiadas fueron la población general, las embarazadas y los adultos mayores a 65 años, considerados estos dos últimos grupos como población vulnerable o de riesgo. No se consideró niños menores de 5 años ni personas inmunocomprometidas (los cuales también forman parte de la población de riesgo) por no encontrar datos poblacionales disponibles de este tipo de población, a nivel nacional.

Las porciones consumidas pueden estar o no contaminadas con el patógeno. Las porciones contaminadas, surgen de multiplicar el número de las totales consumidas por cada población, por la prevalencia del patógeno para cada tipo de queso.

$$N^{\circ} \text{ porciones contaminadas} = N^{\circ} \text{ porciones} \times \text{Prevalencia queso}$$

#### **Ecuación 4.** Porciones contaminadas consumidas por cada población

El modelo y la relación dosis-respuesta (D-R) utilizado para las distintas poblaciones, fue también obtenido de la bibliografía. Se seleccionó el modelo dosis-respuesta exponencial, ya que fue el encontrado en bibliografía de referencia de organismos internacionales para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, incluidos los quesos (FAO/OMS, 2004).

El modelo relaciona la dosis ingerida ( $D$ ) con la probabilidad de enfermar ( $P_{enf}$ ) según la fórmula que se muestra a continuación:

$$P_{enf} = 1 - e^{-kD}$$

#### **Ecuación 5.** Probabilidad de enfermar según modelo dosis-respuesta exponencial

La susceptibilidad de cada grupo de población es tomada en cuenta en el modelo a través del parámetro  $k$ , que es la probabilidad de que una sola célula bacteriana, provoque listeriosis invasiva. Siendo  $k$ ,  $1,99 \times 10^{-12}$  para las embarazadas,  $1,47 \times 10^{-13}$  para la población vulnerable y  $7,82 \times 10^{-15}$  para la población general, por lo tanto,  $k$  es mayor para la población de riesgo como las embarazadas o los adultos mayores (FAO/OMS, 2004, Pouillot et. al 2015). Así, a menor  $k$ , menor es la probabilidad de enfermar y a mayor  $D$ , mayor es dicha probabilidad.

Tal como se mencionó, para cada tipo de población, la exposición al patógeno está condicionada entonces, por la dosis que ingiera (UFC/porción) y la frecuencia de consumo, que determinarán el número de porciones consumidas.

La dosis ingerida ( $D$ ) en UFC por porción, surge de multiplicar la concentración final (cc final) del patógeno en el alimento (UFC/g) por la porción o cantidad que se consume por parte de la población en gramos (g/porción), tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$$D \left( \frac{\text{UFC}}{\text{porción}} \right) = \text{cc final} \left( \frac{\text{UFC}}{\text{g}} \right) \times \text{Tamaño de porción de queso} \left( \frac{\text{g}}{\text{porción}} \right)$$

#### **Ecuación 6.** Dosis ingerida al momento del consumo

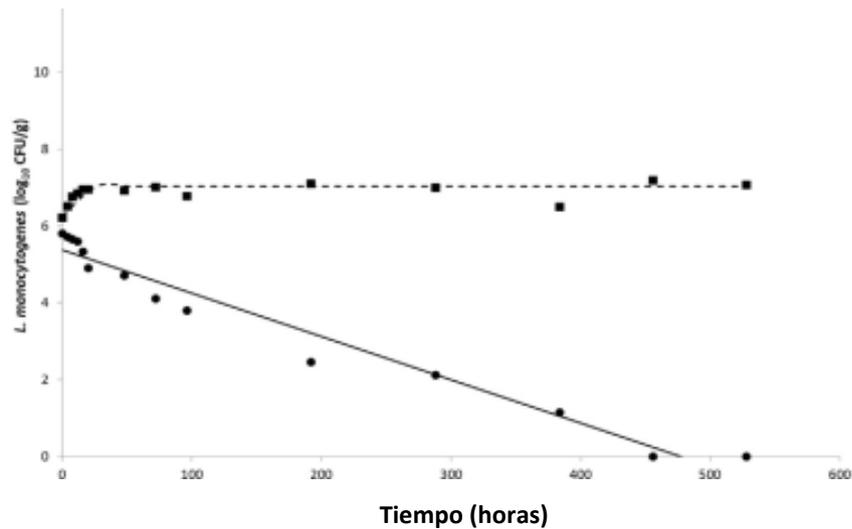
La concentración final de *Listeria monocytogenes* al momento del consumo, se calcula en función de la estimación del comportamiento del patógeno en cada etapa del almacenamiento, desde la maduración hasta el consumo. Este depende de los

tiempos y temperaturas en cada etapa y de las condiciones fisicoquímicas de cada queso.

Los datos de tiempos y temperaturas en cada etapa se obtuvieron, en el caso de la maduración, de la encuesta realizada a los productores. De estos datos se hizo promedio y desvío estándar para definir la función correspondiente, utilizando los valores mínimos y máximos como límites inferior y superior, respectivamente. Para las etapas de transporte y almacenamiento en mercados, estos datos se extrajeron de bibliografía (Campagnollo et al. 2018 b y Chatelard-Chauvin et. al 2015). Finalmente, se consideró para la etapa de almacenamiento en el hogar, información de bibliografía nacional (Vidal, A. y Tur, B., 2020) y opinión de expertos (Comunicación personal, ADQA).

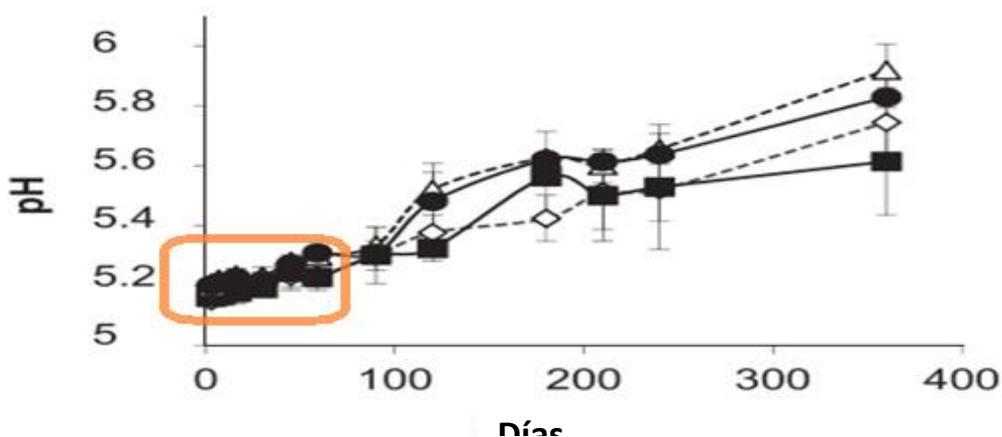
Los parámetros de comportamiento del patógeno en el queso durante el proceso de maduración, almacenamiento y consumo (fase de latencia en horas) y velocidad de crecimiento ( $\log \text{ UFC/g/h}$ ), fueron extraídos de estudios sobre el comportamiento de *L. monocytogenes* en diferentes tipos de queso, con características similares de pH y  $a_w$  a los quesos Semiduros y Colonia estudiados.

El comportamiento del patógeno en quesos Semiduros se modeló utilizando los datos obtenidos en un queso artesanal Semiduro tipo Minas elaborado con leche cruda (Campagnollo et al. 2018a), que presentó una evolución del pH similar a la de los quesos Semiduros de la presente tesis. Estos autores reportan que, al inocular con  $10^5$ - $10^6$  UFC/mL de *Listeria monocytogenes* la leche cruda para este tipo de queso, se da un crecimiento exponencial en las primeras horas de la elaboración y luego de las 24 horas, ese crecimiento se detiene y a partir de allí el recuento de *Listeria monocytogenes* permanece constante hasta el día 22 de maduración a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  (Fig. 9, tomada de Campagnollo et al. 2018a). Dado este comportamiento, para esta tesis, como las muestras fueron extraídas luego del oreo, se consideró que el recuento del patógeno no varió dentro de los primeros 22 días de maduración y, por lo tanto, la velocidad de crecimiento se consideró como nula.

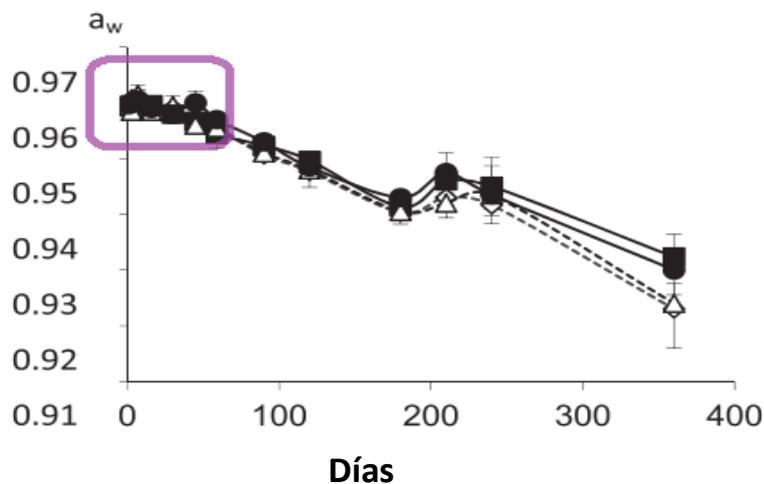


**Figura 10.** Evolución de *Listeria monocytogenes* en queso Semiduro Minas, producido con leche cruda. Los puntos representan los datos experimentales y las líneas representan las salidas de los ajustes de los modelos usados (Baranyi y Roberts (1994)). ■ Natural Microbiota (NM) + *L. monocytogenes* (Lm) y ● NM + Lm + Bacterias ácido lácticas (BAL). Tomado de Campagnollo et al. (2018a)

Un comportamiento similar describe Chatelard-Chauvin et al. (2015) en quesos tipo Cantal Salers y Laguiole elaborados con leche cruda, los que se utilizaron como punto de partida para el queso Colonia, dada su similitud en el proceso de elaboración con agregado de fermentos comerciales y sus características de pH y  $a_w$  (Fig. 10 y 11, Chatelard et al., 2015). No obstante, este trabajo señala que la maduración de este tipo de quesos se realizó solamente en cámara fría ( $9,0 \pm 0,5$  °C) hasta los 360 días.

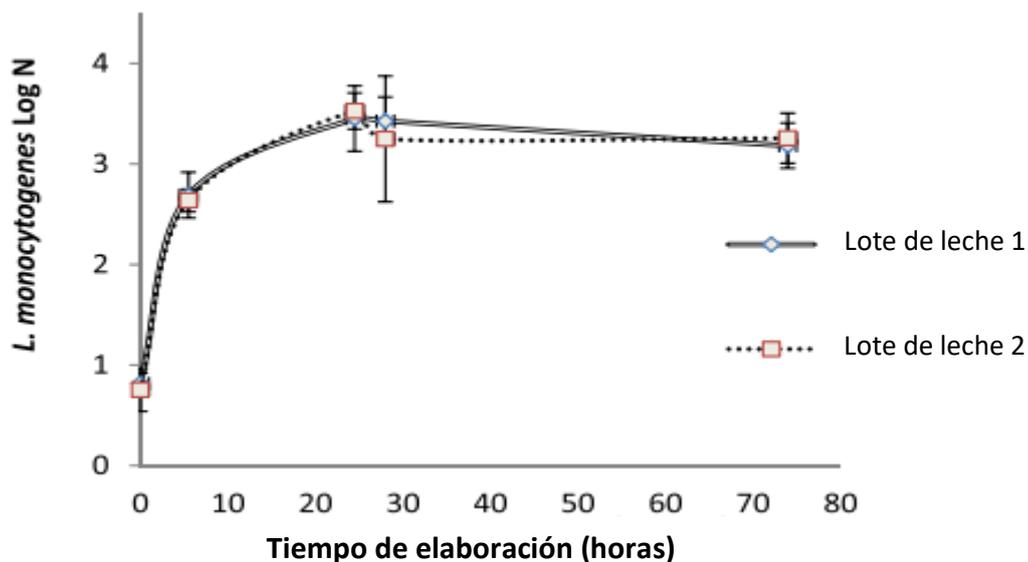


**Figura 11.** Evolución del pH en el centro del queso en quesos chicos (Qch) y quesos grandes (Qg) de leches de lote 1 y 2. Los resultados son promedio y desvío estándar de 3 ensayos del lote 1 y 2 del lote 2. ◇ Qch-1; △ Qch-2; ■ Qg-1; ● Qg-2. Tomado de Chatelard- Chauvin et al. (2015). Se recuadra en la figura, el tiempo de maduración contemplado en el presente trabajo de tesis.



**Figura 12.** Evolución del  $a_w$  en el centro del queso en quesos chicos (Qch) y quesos grandes (Qg) de leches de lote 1 y 2. Los resultados son promedio y desvío estándar de 3 ensayos del lote 1 y 2 del lote 2.  $\diamond$  Qch-1;  $\triangle$  Qch-2;  $\blacksquare$  Qg-1;  $\bullet$  Qg-2. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015). Se recuadra en la figura, el tiempo de maduración contemplado en esta tesis.

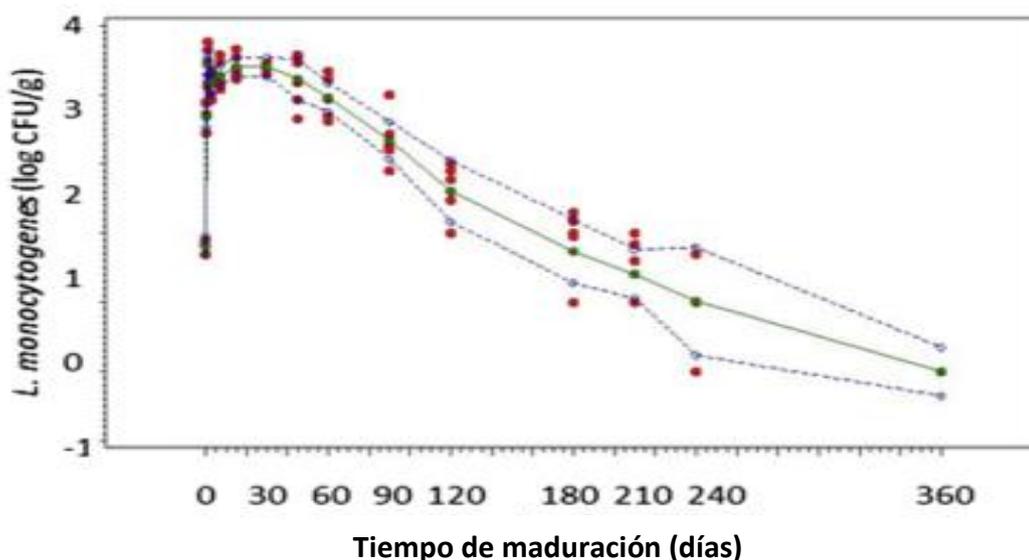
Chatelard-Chauvin et al. (2015), para la elaboración de quesos tipo Cantal Salers y Laguiole, inocularon la leche cruda con 6 UFC/mL de *Listeria monocytogenes* y observaron un crecimiento exponencial del patógeno en las primeras 24 horas de producción. Luego ese crecimiento se detuvo y se estabilizó o descendió levemente hasta el día 3 (Fig. 12, Chauvin et al.,2015).



**Figura 13.** Crecimiento de *L. monocytogenes* durante los primeros 3 días de elaboración. Los resultados son promedios (y desvío estándar) de pruebas de 3 elaboraciones de la leche de lote 1 y 2 de la leche de lote 2. N=UFC/mL de leche

(a  $t=0$ ) y  $N=$  UFC/g de cuajada o queso desde las 5 a las 72 horas de elaboración. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015).

Los autores reportan que la evolución del patógeno se dio de la siguiente manera: desde el día 3 al día 45, los niveles de *Listeria monocytogenes* se mantuvieron constantes (sin diferencia significativa apreciable). A partir del día 45, los recuentos comenzaron a descender (Fig. 13, Chauvin et al.,2015). Con esta información se modeló el comportamiento del patógeno en queso Colonia.



**Figura 14.** Evolución observada y pronosticada de *L. monocytogenes* en el centro de quesos elaborados con leche del lote 1. Los puntos rojos son las medidas de los recuentos, los puntos verdes son los recuentos previstos mediante los modelos. Las líneas grises representan los límites de confianza. Tomado de Chatelard-Chauvin et al. (2015).

De esta forma y tal como se muestra en la tabla VI, se definieron las distintas velocidades de crecimiento o decrecimiento de *Listeria monocytogenes* en las diferentes etapas de maduración y almacenamiento de cada queso hasta su consumo. Se consideró además el efecto del fraccionado en el comportamiento del patógeno (velocidad de crecimiento/decrecimiento), de acuerdo con lo descrito por Chatelard-Chauvin et al. (2015).

La concentración final de *Listeria monocytogenes* al momento del consumo, se calculó entonces como la suma de la concentración inicial y el crecimiento o decrecimiento del patógeno en cada etapa considerada.

En base a esta concentración final y el tamaño de la porción se calcula la dosis el momento del consumo de acuerdo con la ecuación 6.

Una vez calculada la dosis, se calcula la probabilidad de enfermar a través de la ecuación 5.

Así, los números de casos de listeriosis se calculan según esta ecuación:

$$N^{\circ} \text{ de casos} = Penf \times N^{\circ} \text{ porciones contaminadas}$$

#### **Ecuación 7.** N° de casos de listeriosis para cada población

El modelo probabilístico de exposición se construyó utilizando el software @Risk versión 8.2 (Palisade Inc., USA) mediante el uso de distribuciones de probabilidad para incluir la variabilidad e incertidumbre asociadas a cada variable de entrada del modelo.

Se introducen en el mismo, los datos y variables de entrada (prevalencia, concentración del patógeno y consumo estimado para cada población objetivo), como se muestra en las tablas VI a X y todas las ecuaciones mencionadas. Mediante simulación Montecarlo, el modelo calcula la concentración final del patógeno al momento del consumo, la probabilidad de enfermar y el número de casos de listeriosis invasiva para cada una de las poblaciones (embarazadas, población vulnerable y población en general).

La simulación Montecarlo considera valores de cada distribución para dar como resultado una nueva distribución mediante miles de iteraciones. Se realizaron 50.000 iteraciones para incluir todos los posibles valores de las variables de entrada del modelo, obteniéndose así, las variables de salida.

Se presentan a continuación, en las tablas VI y VII, los resúmenes de las variables de entrada de los modelos predictivos, para cada tipo de queso con los consumos calculados para cada uno y de acuerdo con los datos recabados de cada variable.

**Tabla VI.** Resumen de las variables de entrada del modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para los quesos Semiduros (SD) y el tipo de distribución asociada (cuando corresponde), con su referencia bibliográfica

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/Referencia
Variables de entrada	<b>Datos de quesos Semiduros</b>			
	Prevalencia de <i>L. monocytogenes</i> en queso artesanal	4,3%	Valor	Proyecto ANII FSA_I_2017_1_138945 (Carro S.,2022)
	Concentración de <i>L. monocytogenes</i> (log UFC/g)	1,3 ± 0,1	~ Normal (1,3;0,1; Truncada (;5))	Proyecto ANII FSA_I_2017_1_138945 (Carro S.,2022)
	pH	5,15 ± 0,11	~ Normal (5,15;0,11)	OE* 1 del presente trabajo
	a <sub>w</sub>	0,93 ± 0,01	~ Normal (0,93;0,01)	OE* 1 del presente trabajo
	<b>Datos poblacionales</b>			
	Población total del Uruguay	3.286.314 personas	Valor (PUy)	INE, 2011
	Mujeres embarazadas	34.506 personas	Valor (PEmb)	Montevideo Portal, 2022
	Población de adultos mayores	460.084 personas	Valor (PriesgoUy)	Brunet y Marquez, 2016
	Población general	2.791.724 personas	Valor	Cálculo: (PUy-PEmb-PriesgoUy)
	<b>Datos de consumo</b>			
	Consumo de queso SD artesanal per cápita (kg/persona/año)	0,19	Valor	Uruguay 2021; INALE, 2016; FONADEP, 2008
	Tamaño porción mujeres embarazadas (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tamaño porción población adultos mayores (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/Referencia	
Variables de entrada	Tamaño porción población general (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b	
	Porciones consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$1,8 \times 10^5$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población embarazadas	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$8,0 \times 10^3$	Valor	Calculado: Porciones población embarazadas x Prevalencia de quesos SD	
	Porciones consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$2,4 \times 10^6$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población vulnerable	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,1 \times 10^5$	Valor	Calculado: Porciones población vulnerable x Prevalencia de quesos SD	
	Porciones consumidas pob. general (N° porciones/año)	$1,5 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población general	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. general (N° porciones/año)	$6,4 \times 10^5$	Valor	Calculado: Porciones población general x Prevalencia de quesos SD	
	<b>Modelo dosis-respuesta: exponencial</b>				
	Embarazadas	$1,99 \times 10^{-12}$	Valor de <i>k</i>	Pouillot et al. 2015	
	Población adultos mayores	$1,47 \times 10^{-13}$	Valor de <i>k</i>	Pouillot et al. 2015	
	Población general	$7,82 \times 10^{-15}$	Valor de <i>k</i>	Pouillot et al. 2015	
	<b>Maduración en cámara fría</b>				
	Temperatura de maduración cámara fría (°C)	$8,3 \pm 1,8$	~ Normal (8,3;1,8; Truncada (5;18))	Del presente trabajo (encuesta a productores)	
	Tiempo en cámara fría de maduración (días)	$78 \pm 32$	~ Normal (78;32; Truncada (30;180))	Del presente trabajo (encuesta a productores)	

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/Referencia	
Variables de entrada	Fase lag (días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/ g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	$-1,25 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015	
	<b>Transporte Fábrica – Mercado</b>				
	Temperatura transporte (°C)	$6,7 \pm 1,6$	~ Normal (6,7;1,6; Truncada (3,6;10,9))	Campagnollo et al. 2018 b	
	Tiempo en transporte (horas)	$3,7 + 2,0$	~ Normal (8,3;1,8; Truncada (0,2;10,2))	Campagnollo et al. 2018 b	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	$-1,25 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et. al 2015	
	<b>Almacenamiento en mercados</b>				
	Temperatura almacenamiento en mercados (°C)	Min: 6,4; Promedio: 10; Max: 15,5	~Triangular (6,4;10;15,5)	Campagnollo et al. 2018 b	
	Tiempo de almacenamiento en mercados (días)	Min: 1; Promedio: 7; Max: 20	~Triangular (1;7;20)	Campagnollo et al. 2018 b	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 b	
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	$-1,25 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et. al 2015	

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/Referencia
<b>Variables de entrada</b>	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento entre 31 y 45 días post porción (log UFC/g/días)	$-2,35 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	Velocidad de crecimiento porcionado post 45 días (log UFC/g/días)	$-3,19 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	<b>Almacenamiento en hogar hasta consumo</b>			
	Temperatura almacenamiento en hogar (°C)	$7,6 \pm 0,3$	~ Normal (7,6;0,3; Truncada (3,0;16,0))	Vidal, A. y Tur, B., 2020
	Tiempo de almacenamiento en hogar (días)	Min: 0; Promedio: 7; Max: 25	~Pert (0;7;25)	Comunicación personal - ADQA
	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento entre 31 y 45 días post porción (log UFC/g/días)	$-2,35 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
Velocidad de crecimiento porcionado post 45 días (log UFC/g/días)	$-3,19 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015	

\*OE: Objetivo Específico

**Tabla VII.** Resumen de las variables de entrada del modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para los quesos Colonia y el tipo de distribución asociada (cuando corresponde), con su referencia bibliográfica

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
Variables de entrada	<b>Datos de quesos Colonia</b>			
	Prevalencia de <i>L. monocytogenes</i> en queso artesanal Colonia	8,3%	Valor	Proyecto ANII FSA_I_2017_1_138945 (Carro S.,2022)
	Concentración de <i>L. monocytogenes</i> (log UFC/g)	1,4 ± 0,2	~ Normal (1,4;0,2; Truncada (;5))	Proyecto ANII FSA_I_2017_1_138945 (Carro S.,2022)
	pH	5,41 ± 0,10	~ Normal (5,41;0,10)	OE* 1 del presente trabajo
	a <sub>w</sub>	0,96 ± 0,01	~ Normal (0,96;0,01)	OE* 1 del presente trabajo
	<b>Datos poblacionales</b>			
	Población total del Uruguay	3.286.314 personas	Valor (PUy)	INE, 2011.
	Mujeres embarazadas	34.506 personas	Valor (PEmb)	Montevideo Portal, 2022.
	Población adultos mayores	460.084 personas	Valor (PriesgoUy)	Brunet y Marquez, 2016.
	Población general	2.791.724 personas	Valor (Pgen=PUy-PEmb-PriesgoUy)	Calculo
	<b>Datos de consumo</b>			
	Consumo de queso Colonia artesanal per cápita (kg/persona/ año)	1,2	Valor	Uruguay 2021; INALE, 2016; FONADEP, 2008.
	Tamaño porción mujeres embarazadas (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al.2018 b.
	Tamaño porción población adultos mayores (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia	
<b>Variables de entrada</b>	Tamaño porción población general (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b	
	Porciones consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$1,2 \times 10^6$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población embarazadas	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$9,6 \times 10^4$	Valor	Calculado: Porciones población embarazadas x Prevalencia del queso Colonia	
	Porciones consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,5 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población vulnerable	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,3 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población vulnerable x Prevalencia del queso Colonia	
	Porciones consumidas pob. general (N° porciones/año)	$9,4 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población general	
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. general (N° porciones/año)	$7,8 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población general x Prevalencia del queso Colonia	
	<b>Modelo dosis-respuesta: exponencial</b>				
	Mujeres embarazadas	$1,99 \times 10^{-12}$	Valor de $k$		Pouillot et al. 2015
	<b>Variable</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor/ Distribución</b>	<b>Fuente/ Referencia</b>	
	Población adultos mayores	$1,47 \times 10^{-13}$	Valor de $k$		Pouillot et al. 2015
	Población general	$7,82 \times 10^{-15}$	Valor de $k$		Pouillot et al. 2015
	<b>Maduración en cámara fría</b>				
Temperatura de maduración cámara fría (°C)	$13,5 \pm 2,0$	~ Normal (13,5;2,0; Truncada (9;20))		Del presente trabajo (encuesta a productores)	

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia	
Variables de entrada	Tiempo en cámara fría de maduración (días)	14,0 ± 4,0	~ Normal (14;4; Truncada (10;18))	Del presente trabajo (encuesta a productores)	
	Fase lag (días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	<b>Maduración en cámara caliente</b>				
	Temperatura de maduración cámara caliente (°C)	22,1 ± 1,9	~ Normal (22,1;1,9; Truncada (18;26))	Campagnollo et al. 2018 b	
	Tiempo en cámara caliente de maduración (días)	10,5 + 3,6	~ Normal (10,5;3,6; Truncada (5;15))	Campagnollo et al. 2018 b	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/ g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	-1,25 x 10 <sup>-2</sup>	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015	
	<b>Maduración en cámara fría</b>				
	Temperatura de maduración cámara fría (°C)	13,5 ± 2,0	~ Normal (13,5;2,0; Truncada (8;20))	Del presente trabajo (encuesta a productores)	
	Tiempo en cámara fría de maduración (días)	Min: 0; Promedio: 10; Max: 40	~Triangular (0;10;40)	Del presente trabajo (encuesta a productores)	
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/ g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a	
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	-0,0125	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015	

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
<b>Variables de entrada</b>	<b>Almacenamiento en mercados</b>			
	Temperatura almacenamiento en mercados (°C)	Min: 6,4; Promedio: 10; Max: 15,5	~Triangular (6,4;10;15,5)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tiempo de almacenamiento en mercados (días)	Min: 1; Promedio: 7; Max: 20	~Triangular (1;7;20)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tiempo hasta cortar porciones	Min: 0; Max: 9	~Uniforme (0;9)	Supuesto
	Velocidad de crecimiento antes de 45 días (log UFC/ g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento post 45 días (log UFC/g/días)	-1,25 x 10 <sup>-2</sup>	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento entre 31 y 45 días post porción (log UFC/g/días)	-2,35 x 10 <sup>-2</sup>	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	Velocidad de crecimiento porcionado post 45 días (log UFC/g/días)	-3,03 x 10 <sup>-2</sup>	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	<b>Almacenamiento en hogar hasta consumo</b>			
	Temperatura almacenamiento en hogar (°C)	7,6 ± 0,3	~ Normal (7,6;0,3; Truncada (3,0;16,0))	Vidal, A. y Tur, B., 2020
Tiempo de almacenamiento en mercados (días)	Min: 1,0; Promedio: 7,0; Max: 25,0	~Pert (1,0;7,0;25,0)	Comunicación personal - ADQA	

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
<b>Variables de entrada</b>	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento una vez porcionado de 0 a 30 días (log UFC/g/días)	0	Valor	Campagnollo et al. 2018 a
	Velocidad de crecimiento entre 31 y 45 días post porción (log UFC/g/días)	$-2,35 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015
	Velocidad de crecimiento porcionado post 45 días (log UFC/g/días)	$-3,03 \times 10^{-2}$	Valor	Chatelard-Chauvin et al. 2015

\*OE: *Objetivo Específico*

Dado que, según los datos nacionales, el consumo de queso Semiduro artesanal es de 0,19 kg/persona/año, se modeló un escenario en el cual el consumo es 5 veces mayor (escenario 1), en cuyo caso, el consumo sería similar al de los quesos Colonia. Asimismo, se simula un escenario en el que la porción de las embarazadas es mayor a la inicial (1,5 veces mayor), por la recomendación de mayor consumo de alimentos que aporten calcio a su dieta, en ese período (UNICEF, 2013), tanto para el consumo de queso Semiduros considerado en el escenario 1, como para el consumo original del queso Colonia (escenario 2 y 3 respectivamente).

Las variables de entrada para los datos de consumo de estos tres escenarios se muestran en las tablas VIII, IX y X.

**Tabla VIII.** Variables de entrada de consumo del escenario 1: El consumo de queso Semiduro es 5 veces el inicial (1 kg/persona/año)

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
<b>Datos de consumo quesos Semiduros</b>				
<b>Variables de entrada</b>	Consumo de queso SD artesanal per cápita (kg/persona/año)	1	Valor	Supuesto
	Tamaño porción mujeres embarazadas (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tamaño porción población adultos mayores (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tamaño porción población general (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Porciones consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$9,1 \times 10^5$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población embarazadas
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$5,7 \times 10^4$	Valor	Calculado: Porciones población embarazadas x Prevalencia del queso SD
	Porciones consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,2 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población vulnerable
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$6,6 \times 10^5$	Valor	Calculado: Porciones población vulnerable x Prevalencia del queso SD
	Porciones consumidas pob. general (N° porciones/año)	$7,4 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población general
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. general (N° porciones/año)	$4,0 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población general x Prevalencia del queso SD

**Tabla IX.** Variables de entrada de consumo del escenario 2: El tamaño de la porción de queso SD de las embarazadas es 1,5 del de la población general del escenario 1 (5 veces el inicial:1 kg/persona/año)

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
<b>Variables de entrada</b>	<b>Datos de consumo quesos Semiduros</b>			
	Consumo de queso SD artesanal per cápita (kg/persona/año)	1	Valor	Supuesto
	Tamaño porción mujeres embarazadas (g)	Min: 30; Promedio: 45; Max: 90	~Triangular (30;45;90)	Supuesto
	Tamaño porción población adultos mayores (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tamaño porción población general (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Porciones consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$7,0 \times 10^5$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población embarazadas
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$3,8 \times 10^4$	Valor	Calculado: Porciones población embarazadas x Prevalencia del queso SD
	Porciones consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,2 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población vulnerable
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$6,6 \times 10^5$	Valor	Calculado: Porciones población vulnerable x Prevalencia del queso SD
	Porciones consumidas pob. general (N° porciones/año)	$7,4 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población general
Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. general (N° porciones/año)	$4,0 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población general x Prevalencia del queso SD	

**Tabla X.** Variables de entrada de consumo del escenario 3: El tamaño de la porción de queso Colonia de las mujeres embarazadas es el 1,5 del de la población general

Tipo de variable	Variable	Resultado	Valor/ Distribución	Fuente/ Referencia
<b>Variables de entrada</b>	<b>Datos de consumo quesos Colonia</b>			
	Consumo de queso Colonia artesanal per cápita (kg/persona/año)	1,2	Valor	Uruguay 2021; INALE, 2016; FONADEP, 2008.
	Tamaño porción mujeres embarazadas (g)	Min: 30; Promedio: 45; Max: 90	~Triangular (30;45;90)	Supuesto
	Tamaño porción población adultos mayores (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Tamaño porción población general (g)	Min: 20; Promedio: 30; Max: 60	~Triangular (20;30;60)	Campagnollo et al. 2018 b
	Porciones consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$8,8 \times 10^5$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población embarazadas
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas embarazadas (N° porciones/año)	$7,3 \times 10^4$	Valor	Calculado: Porciones población embarazadas x Prevalencia del queso Colonia
	Porciones consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,5 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población vulnerable
	Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. adultos mayores (N° porciones/año)	$1,3 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población vulnerable x Prevalencia del queso Colonia
	Porciones consumidas pob. general (N° porciones/año)	$9,4 \times 10^7$	Valor	Calculado: Consumo (kg) x1000/porción (g) x población general
Porciones <b>CONTAMINADAS</b> consumidas pob. general (N° porciones/año)	$7,7 \times 10^6$	Valor	Calculado: Porciones población general x Prevalencia del queso Colonia	

Los modelos para cada tipo de queso y escenarios se corrieron mediante simulación Monte Carlo utilizando @Risk y realizando 50.000 iteraciones para incluir todos los posibles valores de las variables de entrada del modelo.

Las variables de salida incluyeron: la concentración final de *Listeria monocytogenes* al momento del consumo de cada tipo de queso, la dosis ingerida del patógeno en UFC/porción, la probabilidad de enfermar y los números de casos de enfermedad (para cada población).

Tras la simulación, el modelo de exposición arrojó los valores de cada variable de salida, incluido el promedio y el intervalo de confianza del 95% (valor del percentil 2,5 y 97,5%). Las funciones de distribución de salidas de las variables son asimétricas y por esto se optó por calcular los intervalos de confianza a partir de los percentiles de los valores simulados.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Análisis Físicoquímicos

De acuerdo con el análisis descriptivo realizado de los resultados de los parámetros físicoquímicos de cada tipo de queso en función del tiempo de maduración, en la tabla XI y XII se presentan los valores máximos, mínimos, promedio y desvío estándar para cada uno de ellos.

**Tabla XI.** Resumen de parámetros estadísticos de las características físicoquímicas de los quesos Semiduros de los tres establecimientos

Parámetro	Humedad (%)	Cloruros (%)	pH	MG/ES (%) (*)	a <sub>w</sub>
Mínimo	30,0	1,91	4,78	45,5	0,91
Promedio	35,8	2,54	5,15	52,0	0,93
Desvío estándar	2,9	0,30	0,18	3,0	0,01
Máximo	41,2	3,00	5,45	57,3	0,95

(\*) MG/ES: *Materia grasa en extracto seco*

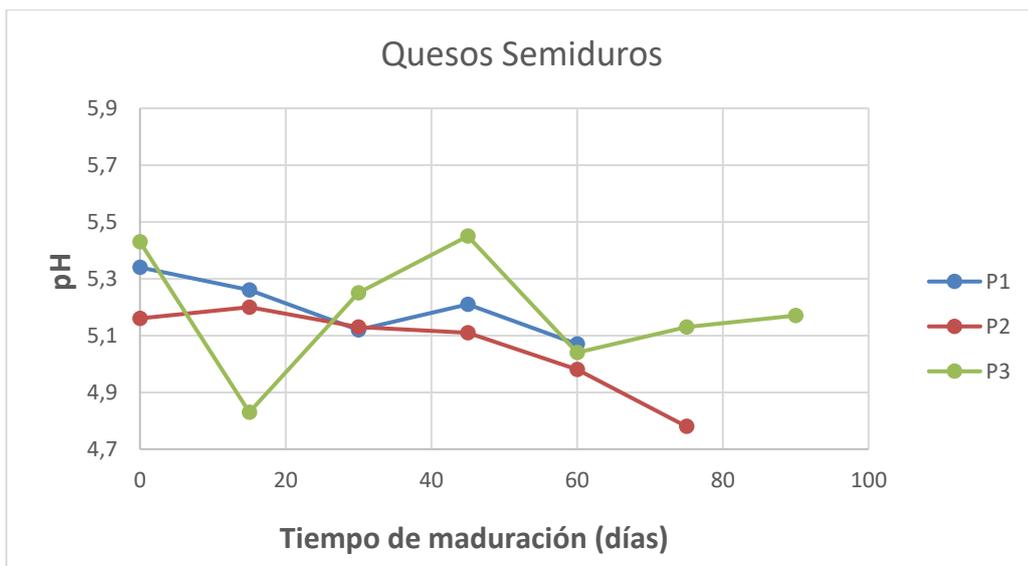
**Tabla XII.** Resumen de parámetros estadísticos de las características físicoquímicas de los quesos Colonia de los tres establecimientos

Parámetro	Humedad (%)	Cloruros (%)	pH	MG/ES (%) (*)	a <sub>w</sub>
Mínimo	31,8	1,04	5,20	50,6	0,95
Promedio	38,3	1,45	5,41	56,5	0,96
Desvío estándar	4,1	0,26	0,14	4,7	0,01
Máximo	46,1	1,89	5,73	65,7	0,97

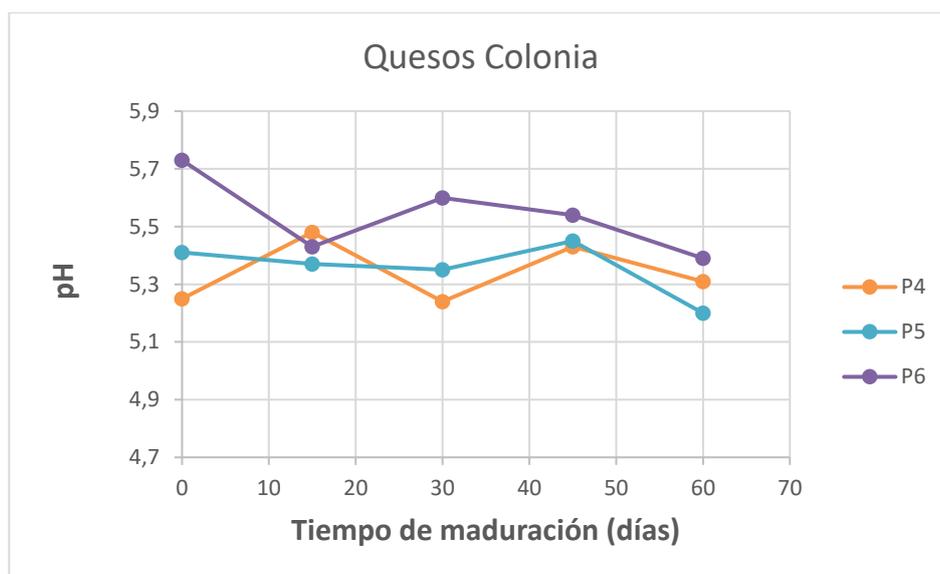
(\*) MG/ES: *Materia grasa en extracto seco*

Tanto para humedad, como para a<sub>w</sub>, los valores máximos obtenidos (41,2% y 0,95 para quesos Semiduros y 46,1% y 0,97 para quesos Colonia), surgen de quesos a tiempo de maduración inicial (día 0) y los menores valores encontrados (30,0% y 0,91 para los Semiduros y 31,8% y 0,95 para Colonia), corresponden a la muestra con el mayor tiempo de maduración (día 90 en el caso de quesos Semiduros y día 60 para los quesos Colonia).

Se presentan en las figuras 14 y 15 los datos de pH obtenidos para ambos tipos de quesos, elaborados en los tres establecimientos y su variación en el tiempo.

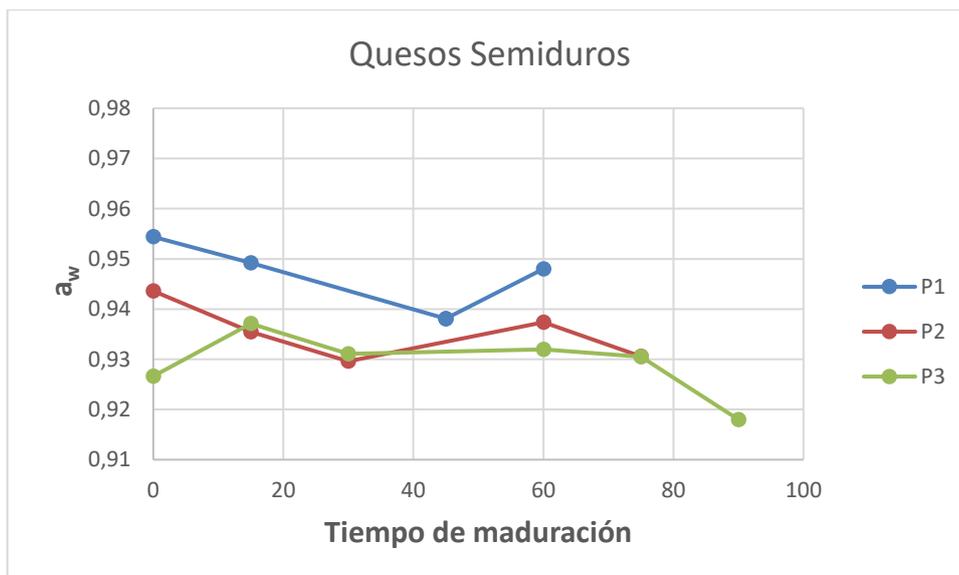


**Figura 15.** Resultados de pH a diferentes tiempos de maduración para los quesos Semiduros de los tres establecimientos (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3)

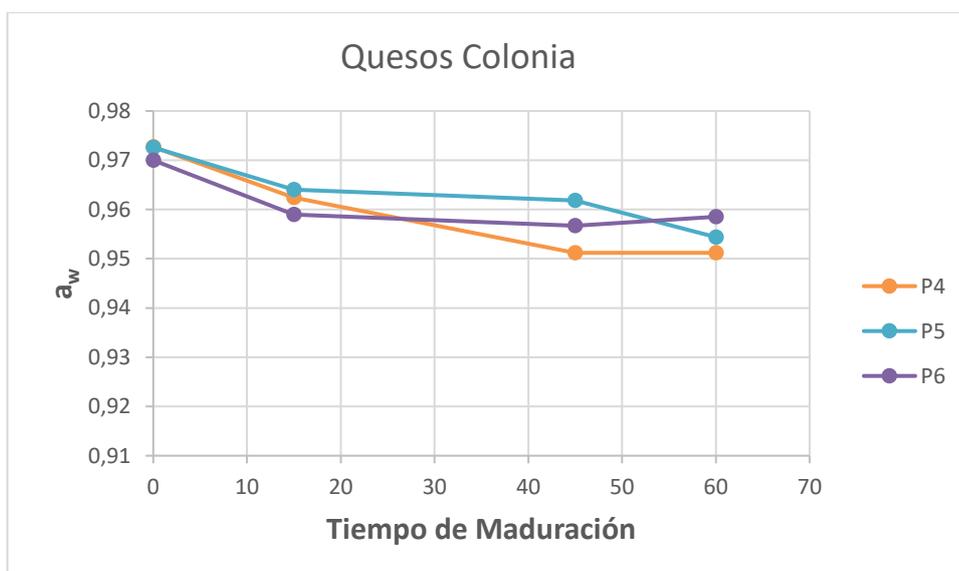


**Figura 16.** Resultados de pH de los quesos Colonia de los tres establecimientos en función del tiempo de maduración (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3)

En las figuras 16 y 17, se muestran los resultados de  $a_w$  de cada tipo de quesos en los tres predios o establecimientos, según el tiempo de maduración.



**Figura 17.** Resultados de  $a_w$  para los quesos Semiduros en función del tiempo de maduración (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3)



**Figura 18.** Resultados de  $a_w$  durante la maduración para los quesos Colonia de los tres establecimientos (P1 corresponde al productor 1, P2 al productor 2 y P3 al productor 3)

El análisis de  $a_w$  de las muestras del Predio 1, 4, 5 y 6 a 30 días y de los predios 2 y 3 a los 45 días, no se realizaron en condiciones adecuadas, por lo tanto, se descartaron dichos valores.

Del análisis de regresión lineal realizado para la variable pH de cada tipo de queso, considerando el efecto de los establecimientos y el tiempo de maduración en

condiciones experimentales, surgieron los resultados que se observan en el cuadro I:

**Cuadro I.** Análisis de regresión de los datos obtenidos de pH para ambos tipos de quesos

	pH (t=0)	p-valor	pendiente	p-valor
<b>Semiduro</b>				
Establecimiento 1	5,28			
Establecimiento 2	5,16	< 0,001	-2,73 x 10 <sup>-3</sup>	0,078
Establecimiento 3	5,31			
<b>Colonia</b>				
Establecimiento 4	5,40			
Establecimiento 5	5,41	< 0,001	-1,86 x 10 <sup>-3</sup>	0,192
Establecimiento 6	5,59			

Con respecto al pH a tiempo 0, el p-valor dio < 0,001 para ambos tipos de quesos, por lo tanto, se puede observar que existe una diferencia significativa con respecto al pH en los 3 establecimientos de cada tipo de quesos.

Por otra parte, observamos la pendiente, que muestra el efecto del tiempo de maduración en la variación del pH. No se observó una relación lineal del pH con respecto al tiempo de maduración, ni para los quesos Semiduros (p-valor: 0,078), ni para los Colonia (p-valor: 0,192). Por este motivo, el pH se consideró constante a través del tiempo para ambos tipos de quesos.

En cuadro II se muestra el resultado del análisis de regresión lineal de  $a_w$  con respecto a los establecimientos y el tiempo de maduración.

**Cuadro II.** Análisis de regresión de los datos obtenidos de  $a_w$  para ambos tipos de quesos

	$a_w$ (t=0)	p-valor	pendiente	p-valor
<b>Semiduro</b>				
Establecimiento 1	0,945			
Establecimiento 2	0,934	< 0,001	-1,07 x 10 <sup>-4</sup>	0,052
Establecimiento 3	0,929			
<b>Colonia</b>				
Establecimiento 4	0,967			
Establecimiento 5	0,972	< 0,001	-2,82 x 10 <sup>-4</sup>	< 0,001
Establecimiento 6	0,970			

Para el  $a_w$  a tiempo 0, el p-valor también dio  $< 0,001$  para ambos tipos de quesos. Existe entonces una diferencia significativa en los 3 establecimientos de cada tipo de quesos para  $a_w$ .

En el caso de  $a_w$  y el tiempo de maduración, si bien no se vio relación lineal para los quesos Semiduros (p-valor: 0,052), si se observó para los quesos Colonia (p-valor  $< 0,001$ ).

En función de dichos resultados, se presentan en la tabla XIII, los valores de promedio y desviación estándar de pH y  $a_w$  para cada tipo de queso a través del tiempo de maduración. Con estos valores se calcularon el promedio y el desvío estándar combinado de cada variable, que fueron usados como datos de entrada para el modelo de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes* en cada uno de ellos.

**Tabla XIII.** Promedio y desviación estándar (DE) de  $a_w$  y pH de los quesos Semiduro y Colonia a cada tiempo de maduración de acuerdo con la predicción obtenida de los datos

Tiempo de maduración	Semiduro		Colonia	
	$a_w$ (DE)	pH (DE)	$a_w$ (DE)	pH (DE)
0	0,931 (0,002)	5,15 (0,04)	0,969 (0,002)	5,41 (0,04)
15			0,965 (0,002)	
30			0,961 (0,001)	
45			0,957 (0,002)	
60			0,952 (0,002)	
75			0,948 (0,003) *	
90			0,944 (0,004) *	

\* Valores de  $a_w$  estimados

### 8.3 Análisis Microbiológico

De las 33 muestras analizadas en este estudio, sólo 10 quesos, durante el proceso de maduración al que fueron sometidos, dieron positivos a la presencia de *Listeria* spp. (tabla XIV). Por otra parte, no se encontró *Listeria monocytogenes* en ninguno de los 33 quesos analizados (de acuerdo con la sensibilidad de la técnica, corresponde a "Ausencia en 25 g o menos de 1 UFC en 25 g"), por lo tanto, la prevalencia del patógeno buscado para ambos tipos de quesos dio cero.

La presencia de *Listeria* spp. fue mayor en los quesos Colonia que en los quesos Semiduros, ya que, de las 10 muestras de quesos, 8 fueron en quesos Colonia y 2 en quesos Semiduros.

Los resultados microbiológicos de los quesos Semiduros se muestran en la tabla XIV y los de los quesos Colonia en la tabla XV.

**Tabla XIV.** Resultados de búsqueda de *Listeria* spp., y *L. monocytogenes* en 25 g de quesos Semiduros a diferentes tiempos de maduración (n=18)

Quesos Semiduros						
Tiempo de maduración (días)	Establecimiento 1		Establecimiento 2		Establecimiento 3	
	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>
0	-	-	+	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-
60	-	-	+	-	-	-
75	*	*	-	-	-	-
90	*	*	*	*	-	-

-: Ausencia; +: Presencia; \*Análisis no realizado

En el establecimiento 3 se pudieron muestrear 7 hormas de quesos Semiduros, en el caso del establecimiento 2, se obtuvieron 6 hormas y del establecimiento 1, no fue posible disponer de más de 5 muestras. Por este motivo, no se pudieron analizar a tiempo 75 días y 90 días de maduración para el establecimiento 1, ni a 90 días para el establecimiento 2.

**Tabla XV.** Resultados de búsqueda de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* en 25g de quesos Colonia a diferentes tiempos de maduración (n= 15)

Quesos Colonia						
Tiempo de maduración (días)	Establecimiento 4		Establecimiento 5		Establecimiento 6	
	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>
0	+	-	+	-	-	-
15	+	-	+	-	-	-
30	-	-	+	-	+	-
45	-	-	+	-	+	-
60	-	-	-	-	-	-

-: Ausencia; +: Presencia

En el caso de los quesos Colonia, se dispuso de 5 hormas por cada establecimiento, por lo tanto, se analizaron hasta los 60 días de maduración.

Los valores de prevalencia y concentración utilizados en los modelos de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes* de cada tipo de quesos, no corresponden a las muestras de la tesis, sino que son datos provenientes de un proyecto de investigación nacional cuyos resultados son confidenciales (Proyecto ANII FSA\_I\_2017\_1\_138945, comunicación personal: Carro S.; 2022).

#### 8.4 Modelo de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes*

Una vez incorporados los datos de entrada para cada etapa de los distintos quesos (tabla VI y VII) al modelo, dichos datos se simuló mediante simulación Montecarlo utilizando @Risk. Una vez realizadas unas 50.000 iteraciones para

incluir todos los posibles valores de las variables de entrada del modelo, se obtienen las variables de salida.

Así, se obtuvieron los grados de crecimiento/decrecimiento de los dos tipos de quesos en las diferentes etapas contempladas, los que, junto a la concentración inicial, dieron como resultado, la concentración final en UFC/g de *Listeria monocytogenes* en cada tipo de queso. Los valores obtenidos, se observan en el Cuadro III.

**Cuadro III.** Resultados del promedio de crecimiento/decrecimiento de *Listeria monocytogenes* en cada etapa para cada tipo de queso evaluado

<b>Etapa</b>	<b>Semiduro</b>	<b>Colonia</b>
Maduración Cámara Fría	-0,479 log UFC/g	0 log UFC/g
Maduración Cámara Caliente	-----	0 log UFC/g
Maduración Cámara Fría	-----	-0,011 log UFC/g
Almacenamiento Mercados		
Pre fraccionado	-0,055 log UFC/g	-0,029 log UFC/g
Fraccionado	-0,147 log UFC/g	-0,122 log UFC/g
Almacenamiento Hogar	-0,281 log UFC/g	-0,253 log UFC/g
<b>Concentración Final</b>	<b>0,221 log UFC/g</b>	<b>0,848 log UFC/g</b>

En función de dichas concentraciones finales y con la incorporación en el modelo de las fórmulas antes descriptas, surgen del mismo los resultados de las estimaciones de la dosis ingerida, la probabilidad de enfermar y los números de casos de listeriosis para cada población y tipo de queso como variables de salida.

Para los quesos Semiduros, los resultados de la simulación se muestran en la tabla XVI.

**Tabla XVI.** Resumen de los resultados de las variables de salida del modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para los quesos Semiduros luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk

Tipo de variable	Variable	Promedio	Intervalo de Confianza (95%)
<b>Variables de salida</b>	Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	4	0 - 21
	Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	155	3 - 804
	Dosis ingerida población adultos mayores (UFC)	155	3 - 792
	Dosis ingerida población general (UFC)	155	3 - 804
	Probabilidad de enfermar: embarazadas	$3,1 \times 10^{-10}$	$5,9 \times 10^{-12} - 1,6 \times 10^{-9}$
	Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$2,3 \times 10^{-11}$	$4,3 \times 10^{-13} - 1,2 \times 10^{-10}$
	Probabilidad de enfermar: población general	$1,2 \times 10^{-12}$	$2,3 \times 10^{-14} - 6,3 \times 10^{-12}$
	N° casos de mujeres embarazadas	$2,5 \times 10^{-6}$	$4,8 \times 10^{-8} - 1,3 \times 10^{-5}$
	N° casos de población adultos mayores	$2,4 \times 10^{-6}$	$4,8 \times 10^{-8} - 1,3 \times 10^{-5}$
	N° casos de población general	$7,8 \times 10^{-7}$	$1,5 \times 10^{-8} - 4,0 \times 10^{-6}$
N° casos de población totales	$5,6 \times 10^{-6}$	$1,1 \times 10^{-7} - 2,9 \times 10^{-5}$	

En la tabla XVII se presentan los resultados del modelo del Escenario 1.

**Escenario 1:** El consumo de queso Semiduro de la población es 5 veces la contemplada en los datos nacionales considerados en el modelo inicial (1 kg).

**Tabla XVII.** Resumen de variables de salida si el consumo de queso semiduro fuera 5 veces superior (1 kg) luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk

Tipo de variable	Variable	Promedio	Intervalo de Confianza (95%)
<b>VARIABLES DE SALIDA AFECTADAS POR EL AUMENTO DE CONSUMO</b>	Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	4	0 - 21
	Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	155	3 - 808
	Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	153	3 - 802
	Dosis ingerida población general (UFC/porción)	153	3 - 791
	Probabilidad de enfermar: embarazadas	$3,1 \times 10^{-10}$	$5,9 \times 10^{-12} - 1,6 \times 10^{-9}$
	Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$2,3 \times 10^{-11}$	$4,3 \times 10^{-13} - 1,2 \times 10^{-10}$
	Probabilidad de enfermar: población general	$1,2 \times 10^{-12}$	$2,3 \times 10^{-14} - 6,2 \times 10^{-12}$
	Nº casos de mujeres embarazadas	$1,5 \times 10^{-5}$	$3,2 \times 10^{-7} - 7,8 \times 10^{-4}$
	Nº casos de población adultos mayores	$1,5 \times 10^{-5}$	$3,1 \times 10^{-7} - 7,7 \times 10^{-5}$
	Nº casos de población general	$4,8 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-7} - 2,5 \times 10^{-5}$
Nº casos de población totales	$3,5 \times 10^{-5}$	$7,3 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-4}$	

A su vez, los resultados del escenario 2 dados por el modelo donde se simuló que la porción de las embarazadas es mayor a la inicial (1,5 veces mayor), por la recomendación de mayor consumo de alimentos o fuentes de calcio en ese período, se presentan en la tabla XVII:

**Escenario 2:** El tamaño de la porción de las mujeres embarazadas es el 1,5 del de la población general del escenario 1.

**Tabla XVIII.** Resumen de variables de salida si el consumo de queso semiduro fuera 5 veces superior y el tamaño de porción de las embarazadas fuera 1,5 veces mayor que el original luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk

<b>Tipo de variable</b>	<b>Variable</b>	<b>Promedio</b>	<b>Intervalo de Confianza (95%)</b>
<b>Variables de salida</b>	Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	4	0 - 21
	Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	230	4 - 1188
	Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	155	3 - 789
	Dosis ingerida población general (UFC/porción)	154	3 - 788
	Probabilidad de enfermar: embarazadas	$4,6 \times 10^{-10}$	$8,7 \times 10^{-12} - 2,4 \times 10^{-9}$
	Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$2,3 \times 10^{-11}$	$4,2 \times 10^{-13} - 1,2 \times 10^{-10}$
	Probabilidad de enfermar: población general	$1,2 \times 10^{-12}$	$2,2 \times 10^{-14} - 6,2 \times 10^{-12}$
	Nº casos de mujeres embarazadas	$1,5 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-7} - 7,8 \times 10^{-4}$
	Nº casos de población adultos mayores	$1,5 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-7} - 7,7 \times 10^{-5}$
	Nº casos de población general	$4,9 \times 10^{-6}$	$9,7 \times 10^{-8} - 2,5 \times 10^{-5}$
	Nº casos de población totales	$3,5 \times 10^{-5}$	$7,0 \times 10^{-7} - 1,8 \times 10^{-4}$

Para el queso Colonia, las variables de salida se presentan en la tabla XIX.

**Tabla XIX.** Resumen de las variables de salida del modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para los quesos Colonia luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk

<b>Tipo de variable</b>	<b>Variable</b>	<b>Promedio</b>	<b>Intervalo de Confianza (95%)</b>
<b>Variables de salida</b>	Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	13	1 - 59
	Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	475	25 - 2204
	Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	472	25 - 2141
	Dosis ingerida población general (UFC/porción)	474	26 - 2205
	Probabilidad de enfermar: embarazadas	$9,5 \times 10^{-10}$	$5,0 \times 10^{-11} - 4,4 \times 10^{-9}$
	Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$6,9 \times 10^{-11}$	$3,7 \times 10^{-12} - 3,1 \times 10^{-10}$
	Probabilidad de enfermar: población general	$3,7 \times 10^{-12}$	$2,0 \times 10^{-13} - 1,7 \times 10^{-11}$
	N° casos de mujeres embarazadas	$9,0 \times 10^{-5}$	$5,2 \times 10^{-6} - 4,1 \times 10^{-4}$
	N° casos de población adultos mayores	$8,9 \times 10^{-5}$	$5,1 \times 10^{-6} - 4,1 \times 10^{-4}$
	N° casos de población general	$2,9 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-6} - 1,3 \times 10^{-4}$
	N° casos de población totales	$2,1 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-5} - 9,5 \times 10^{-4}$

Para el caso del queso Colonia, el consumo es mayor que para el queso Semiduro.

Para evaluar la exposición de las embarazadas en un peor escenario, se simula un escenario en el que la porción de las embarazadas es mayor que la inicial.

**Escenario 3:** El tamaño de la porción de las mujeres embarazadas es el 1,5 del de la población general. Los resultados de la simulación se presentan en la tabla XX.

**Tabla XX.** Resumen de las variables de salida del modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para el queso Colonia considerando que la porción consumida por las embarazadas es 1,5 veces mayor a lo consumido por la población general luego de realizar 50.000 iteraciones en @Risk

<b>Tipo de variable</b>	<b>Variable</b>	<b>Promedio</b>	<b>Intervalo de Confianza (95%)</b>
<b>Variabes de salida</b>	Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	13	1 - 58
	Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	708	36 - 3231
	Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	472	24 - 2140
	Dosis ingerida población general (UFC/porción)	472	24 - 2159
	Probabilidad de enfermar: embarazadas	$1,4 \times 10^{-9}$	$7,2 \times 10^{-11} - 6,4 \times 10^{-9}$
	Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$6,9 \times 10^{-11}$	$3,5 \times 10^{-12} - 3,1 \times 10^{-10}$
	Probabilidad de enfermar: población general	$3,7 \times 10^{-12}$	$1,9 \times 10^{-13} - 1,7 \times 10^{-11}$
	Nº casos de mujeres embarazadas	$9,0 \times 10^{-5}$	$4,9 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-4}$
	Nº casos de adultos mayores	$8,9 \times 10^{-5}$	$4,8 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-4}$
	Nº casos de población general	$2,9 \times 10^{-5}$	$1,6 \times 10^{-6} - 1,3 \times 10^{-4}$
	Nº casos de población totales	$2,1 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-5} - 9,3 \times 10^{-4}$

Se muestran a continuación, la comparación entre los diferentes escenarios supuestos para cada queso, con los resultados promedio de las variables de salida.

**Tabla XXI.** Promedio de variables de salida de los diferentes escenarios planteados del queso Semiduro

<b>Variable</b>	<b>Semiduro</b>	<b>Semiduro Escenario 1 5x consumo</b>	<b>Semiduro Escenario 2 5x consumo + 1,5x embarazadas</b>
Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	4	4	4
Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	155	155	<b>230</b>
Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	155	153	155
Dosis ingerida población general (UFC/porción)	155	153	154
Probabilidad de enfermar: embarazadas	$3,1 \times 10^{-10}$	$3,1 \times 10^{-10}$	<b><math>4,6 \times 10^{-10}</math></b>
Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$2,3 \times 10^{-11}$	$2,3 \times 10^{-11}$	$2,3 \times 10^{-11}$
Probabilidad de enfermar: población general	$1,2 \times 10^{-12}$	$1,2 \times 10^{-12}$	$1,2 \times 10^{-12}$
Nº casos de mujeres embarazadas	$2,5 \times 10^{-6}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-5}$
Nº casos de población adultos mayores	$2,4 \times 10^{-6}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-5}$
Nº casos de población general	$7,8 \times 10^{-7}$	$4,8 \times 10^{-6}$	$4,9 \times 10^{-6}$
Nº casos de población totales	$5,6 \times 10^{-6}$	$3,5 \times 10^{-5}$	$3,5 \times 10^{-5}$

**Tabla XXII.** Variables de salida de los diferentes escenarios planteados del queso Colonia

<b>Variable</b>	<b>Colonia</b>	<b>Colonia Escenario 3 1,5x embarazadas</b>
Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	13	13
Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	475	<b>708</b>
Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	472	472
Dosis ingerida población general (UFC/porción)	474	472
Probabilidad de enfermar: embarazadas	$9,5 \times 10^{-10}$	<b><math>1,4 \times 10^{-9}</math></b>
Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$6,9 \times 10^{-11}$	$6,9 \times 10^{-11}$
Probabilidad de enfermar: población general	$3,7 \times 10^{-12}$	$3,7 \times 10^{-12}$
N° casos de mujeres embarazadas	$9,0 \times 10^{-5}$	$9,0 \times 10^{-5}$
N° casos de población vulnerable	$8,9 \times 10^{-5}$	$8,9 \times 10^{-5}$
N° casos de población general	$2,9 \times 10^{-5}$	$2,9 \times 10^{-5}$
N° casos de población totales	$2,1 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-4}$

Finalmente se muestran los resultados de las variables de salida de los dos tipos de quesos, como resumen de las tablas XVI y XIX.

**Tabla XXIII.** Resumen de los promedios de los resultados de las variables de salida de los quesos Semiduros y Colonia considerando los consumos iniciales

<b>Variable</b>	<b>Semiduro</b>	<b>Colonia</b>
Concentración final de <i>L. monocytogenes</i> antes del consumo (UFC/g)	4	13
Dosis ingerida mujeres embarazadas (UFC/porción)	155	475
Dosis ingerida población adultos mayores (UFC/porción)	155	472
Dosis ingerida población general (UFC/porción)	155	474
Probabilidad de enfermar: embarazadas	$3,1 \times 10^{-10}$	$9,5 \times 10^{-10}$
Probabilidad de enfermar: población adultos mayores	$2,3 \times 10^{-11}$	$6,9 \times 10^{-11}$
Probabilidad de enfermar: población general	$1,2 \times 10^{-12}$	$3,7 \times 10^{-12}$
N° casos de mujeres embarazadas	$2,5 \times 10^{-6}$	$9,0 \times 10^{-5}$
N° casos de población adultos mayores	$2,4 \times 10^{-6}$	$8,9 \times 10^{-5}$
N° casos de población general	$7,8 \times 10^{-7}$	$2,9 \times 10^{-5}$
N° casos de población totales	$5,6 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^{-4}$

## 9. DISCUSIÓN

Este es uno de los primeros estudios nacionales que evalúa características fisicoquímicas de quesos artesanales durante la maduración. En particular, a partir de los resultados del pH y  $a_w$  dados en el período de maduración analizado, se estimó el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en dichos alimentos y el resultado de la exposición a ese patógeno por el consumo de quesos Semiduros y Colonia en diferentes grupos poblacionales.

### 9.1 Análisis Fisicoquímicos

Según lo establecido en el Reglamento Bromatológico Nacional (RBN) (Uruguay, 1994), como se muestra en la tabla II, los quesos de pasta semidura o también denominados de mediana humedad, son los tipos Gruyere, Colonia y Dambo, mientras que los de pasta dura o de baja humedad son los tipos Parmesano, Sbrinz o Provolone.

De acuerdo con los resultados encontrados de humedad de los diferentes quesos artesanales de pasta dura (llamados Semiduros) estudiados, que se muestran en la Tabla XI, cuyo promedio y desvío estándar fue de  $35,8 \pm 2,9\%$ , éstos pueden clasificarse como de baja o mediana humedad, comprendida ésta entre menor a 35,9 y entre 36,0 y 45,9% respectivamente. Los valores de humedad más altos coinciden con los menores tiempos de maduración y los mismos disminuyen con el transcurso del tiempo. Así, teniendo en cuenta el valor promedio, los valores de humedad de quesos Semiduros se encontraron dentro del rango establecido en la normativa nacional vigente.

Por su parte, los quesos Colonia se clasifican por el mismo RBN como de mediana humedad (entre 36,0 y 45,9%) encontrándose el promedio de humedad de dichos quesos dentro de ese intervalo ( $38,3 \pm 4,1\%$ ). Sin embargo, algunas muestras reportaron valores por debajo de dicho rango, que serían entonces de baja humedad, como los de pasta dura. Las muestras de queso Colonia que tuvieron estos bajos valores de humedad, fueron aquellas que estuvieron con 45 o 60 días de maduración mientras que las que se encontraron por encima del máximo valor, coincidieron con muestras a tiempo 0 de maduración.

Tal como reporta Choi et al. (2016), citado por Haeng, Sun, Rackerby, Goddik y Hong (2021), quesos con mayor humedad tienen más riesgo de vehiculizar patógenos alimentarios que aquellos con humedad más baja. Según Oliveira, Corassin, Lee, Goncalves y Barancelli (2017), *Listeria monocytogenes*, no es la excepción, ya que, en quesos, su crecimiento está más vinculado a quesos frescos, blandos y semiblandos que a quesos duros y semiduros.

Los resultados obtenidos en esta tesis con respecto al porcentaje de humedad de los quesos en función del tiempo de maduración demuestran la influencia que ésta puede llegar a tener en la inocuidad del alimento y en el potencial riesgo a la salud

humana de los quesos artesanales al momento del consumo. De ahí la importancia del tiempo de maduración no menor a 60 días a temperatura mayores de 5°C, definido en la reglamentación nacional (Uruguay, 1994, julio 05).

Es de destacar que en este trabajo las condiciones experimentales de maduración fueron idénticas en temperatura y humedad para todas las hormas de cada tipo de queso, no obstante, estas condiciones son variables en los distintos establecimientos de producción de quesos artesanales a nivel nacional.

Con respecto al contenido de humedad, de acuerdo con la Tabla III, los quesos con < 39,0% de humedad serían de riesgo bajo a muy bajo y aquellos entre 39,0 y 50,0% de riesgo moderado a riesgo bajo. Teniendo en cuenta esta característica, los quesos Semiduros se podrían catalogar como de riesgo bajo a muy bajo ( $35,8 \pm 2,9$ ) y los Colonia como de riesgo moderado, bajo o muy bajo ( $38,3 \pm 4,1$ ), aunque serían de riesgo muy alto y alto por ser elaborados con leche cruda (Bover y Garriga, 2014).

Con respecto al contenido de materia grasa en extracto seco (MG/ES), los quesos Semiduros se pueden clasificar como quesos grasos, ya que el contenido de MG/ES para ese tipo de quesos esta entre 45,0 y 59,9%. Sin embargo, los Colonia mostraron ser algunos grasos y otros muy grasos, ya que se encontraron valores mayores a 60,0% de MG/ES.

En base a los resultados fisicoquímicos obtenidos para ambos tipos de quesos, que se muestran en las tablas XI y XII y de acuerdo con la literatura consultada (Possas, Bonilla-Luque y Valero, 2021, Amaury et al., 2018 y CAC, 2009), las características fisicoquímicas de los quesos Semiduro y Colonia analizados en este trabajo, son, en principio, adecuadas para el crecimiento de *Listeria monocytogenes*.

Tal como mencionan Possas et al. (2021), los cambios de las características fisicoquímicas dados en la elaboración de los distintos quesos son fundamentales en el comportamiento bacteriano allí presente. En particular para *Listeria monocytogenes*, las variaciones de pH y  $a_w$  pueden afectar este comportamiento ya que es capaz de crecer en diferentes matrices alimentarias entre valores de pH de 4,4 a 9,5 y  $a_w$  por encima de 0,92 (Amaury et al. 2018 y CAC, 2009).

En los quesos, el pH varía en el proceso de elaboración y según el tipo (Possas et al., 2021, Campagnollo et al. 2018a). En el proceso de elaboración quesero, las bacterias ácido lácticas (BAL) que forman parte de los fermentos, producen ácido láctico a partir de la lactosa, bajando el pH inicial (Martínez-Ríos, Gkogka y Dalgaard, 2020).

En el presente estudio, los resultados promedio obtenidos de pH tanto de queso Semiduro como Colonia, fueron de  $5,15 \pm 0,18$  y  $5,41 \pm 0,14$  respectivamente. En la figura 14, se muestra la variación del pH con respecto al tiempo de maduración de los quesos Semiduros y tanto en el establecimiento 1 como en el 2, se observa una

tendencia a la disminución del pH en el período de maduración evaluado, aunque estadísticamente, no se observó una variación significativa de esta variable durante el tiempo de maduración. Algo similar ocurre en los quesos Colonia, como se muestra en la figura 15. Tanto en el establecimiento 5 como el 6, se muestra un leve descenso del pH en el período evaluado, pese a que, como en el Semiduro, no se pudo verificar estadísticamente.

Si bien los valores promedio de pH encontrados para cada tipo de quesos son adecuados para el desarrollo del patógeno, el queso Colonia mostró un pH más favorable, ya que, según la bibliografía, a menor pH, menor la posibilidad, para las bacterias patógenas, de crecer o sobrevivir (Possas et al., 2021).

En relación con este parámetro en quesos, Chatelard et al. (2015) observó en quesos similares al Colonia, un descenso en las primeras 24 horas de elaboración hasta pH por debajo de 5,3. Luego reporta un aumento gradual durante los 360 días de maduración evaluados a 9°C. Eso contrasta con lo señalado por Leon (2014) que reporta una disminución del pH de 6,5 a 5,9, durante el tiempo de maduración en el queso Edam (elaborado con leche pasteurizada), un tipo de queso que se asemeja al queso Colonia en cuanto a cultivos iniciadores, pero cuya maduración fue de 24 días a temperatura similar a las temperaturas de maduración de la cámara fría del queso Semiduro (10°C) y con una humedad relativa entre 60 y 90%. Un comportamiento similar reporta Campagnollo et al. (2018a) en quesos Semiduros elaborados con leche cruda, donde el pH desciende de 6,5 a 5,4 en 22 días de maduración y de 6,4 a 5,2 cuando se le agregan BAL, en este caso la temperatura de maduración fue de 22°C por 22 días. Sin embargo, en el trabajo desarrollado por Panizzolo, Araujo, Taroco, Rodríguez y Schöpf (2011), donde se elabora queso Dambo (con agregado de cultivos comerciales), no se ven grandes cambios de pH dentro del mismo lote durante los 45 días de maduración a 11°C.

Así también, se puede observar en las figuras 14 y 15, que, en las muestras de las hormas analizadas en este trabajo durante la maduración en las condiciones experimentales, pese a partir de resultados diferentes de pH en los dos tipos de quesos a tiempo 0, dados por los diferentes establecimientos, el pH no varió significativamente durante el período de maduración analizado y los valores de pH a tiempo 60 días, fueron más cercanos entre los establecimientos.

Con respecto al  $a_w$ , como señala Possas et. al. (2021), comparando diferentes tipos de quesos, a mayor  $a_w$ , mayor la probabilidad de que se dé un crecimiento bacteriano. Dicho trabajo afirma que el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en quesos blandos y semiblandos es mayor que en quesos semiduros, como sería el Colonia, de acuerdo con la clasificación del RBN, que se muestra en la tabla II. Los últimos reportes del CDC de brotes de listeriosis en quesos fueron de quesos frescos elaborados con leche cruda. Dicho organismo estima que los quesos blandos elaborados con leche cruda tienen 50 a 160 veces más probabilidad de provocar listeriosis que aquellos elaborados con leche pasteurizada (CDC, 2021b;

CDC, 2017 y CDC, 2019). Lo reportado por Possas et al. (2021) coincide con lo descrito por Wemmenhove et al. (2018), que indica que a valores más bajos de  $a_w$ , tal como se dan después de largos períodos de maduración, se da una inhibición completa de *Listeria monocytogenes* en quesos Gouda, un queso tipo danés que si bien tiene una  $a_w >$  de 0,94, estudios de desafío han demostrado que este patógeno no pudo crecer ni en el centro ni en su superficie.

Los resultados promedio de  $a_w$  de los quesos fueron de  $0,93 \pm 0,01$  para los quesos Semiduros y  $0,96 \pm 0,01$  para los quesos Colonia, por lo tanto, el  $a_w$  de los quesos Colonia es más adecuada para el crecimiento del patógeno, aunque ambos valores se encuentran por encima de 0,92, valor indicado en otros trabajos como posible para su crecimiento (Amaury et al. 2018 y CAC, 2009).

Por otra parte, las variaciones de  $a_w$ , en el transcurso del tiempo, se muestran para ambos tipos de quesos en las figuras 16 y 17. Para los quesos Semiduros, si bien los valores son bastantes dispares entre los establecimientos a los diferentes tiempos, su puede observar un leve descenso en  $a_w$  a través del tiempo, sin una variación significativa estadísticamente. Sin embargo, los quesos Colonia mostraron un comportamiento diferente. Los quesos de los 3 establecimientos mostraron valores similares de  $a_w$  a tiempo 0 y un descenso de ésta a través del tiempo de maduración, que se reflejó en una variación estadísticamente significativa.

Estos resultados reafirman que las características fisicoquímicas de estos dos tipos de queso durante su maduración son apropiadas para el desarrollo de este patógeno alimentario, por lo tanto, estos quesos serían alimentos listos para el consumo (LPC) que pueden favorecer el crecimiento del patógeno, de acuerdo con la clasificación que se ve en la tabla I (Amaury et al. 2018 y CAC, 2009), pero de riesgo moderado, bajo o muy bajo de acuerdo con su contenido de humedad (tabla III).

Tal como se muestra en los cuadros I y II, para los dos tipos de quesos, el valor promedio a tiempo 0 para los distintos establecimientos, muestra una diferencia o variación significativa de pH y  $a_w$  (p-valor  $<$  0.001). Entonces se puede observar que la elaboración de quesos artesanales tanto Semiduros como Colonia, varía entre los diferentes establecimientos para ambas variables. El hecho de que los quesos de cada establecimiento, pese a ser del mismo tipo, tengan diferencias, es esperable. Los quesos son alimentos, cuya materia prima y proceso de elaboración son distintos en cada establecimiento; ya que dependen de la composición química y microbiológica de la leche cruda, los cultivos iniciadores, las variaciones del proceso en sí e incluso de las condiciones de higiene de cada uno.

Tal como se observa en el cuadro I, en el análisis de los resultados de pH con respecto al tiempo de maduración para ambos tipos de quesos, la pendiente es la misma, no hay diferencia significativa y no se pudo constatar una relación lineal entre pH y tiempo de maduración (p-valor de 0,078 para los quesos Semiduros y

0,192 para los quesos Colonia). Algo similar reporta Campagnollo et al (2018a) que muestra que el pH desciende inicialmente y luego aumenta para quedar en pH cerca de 5,5 a los 22 días de maduración a 22°C. Sin embargo, no coincide con lo reportado en el trabajo de Chatelard-Chauvin et al. (2015), donde el pH aumenta de forma sostenida durante la maduración del queso Chantal en el periodo de maduración evaluado, que excede largamente el tiempo de maduración analizado en esta tesis (Fig. 10, Chatelard- Chauvin et al, 2015).

Por el motivo recientemente descrito, para los dos tipos quesos, como insumo para el modelo de exposición, se supuso un comportamiento constante de pH en el tiempo, calculándose el promedio y su desviación estándar combinada, valores que se usaron para predecir el comportamiento de *L. monocytogenes* en ambos quesos durante su maduración.

En el caso de  $a_w$ , la situación fue diferente para estos dos quesos, como se puede observar en el cuadro II. En los quesos Semiduros, no se vio un efecto lineal entre  $a_w$  y el tiempo de maduración (p-valor: 0,052), por lo tanto, para este parámetro también se usó su promedio y desvío estándar combinada para el modelo de predicción del comportamiento del patógeno.

Sin embargo, para el queso Colonia, se encontró una correlación lineal entre  $a_w$  y el tiempo de maduración (p-valor de  $< 0,001$ ). Dicho parámetro se reduce en  $2,84 \times 10^{-3}$  por día. Así, se calculó promedio y su desvío estándar de  $a_w$  a cada tiempo de maduración y dada esa relación lineal, se puede estimar los valores de  $a_w$  a diferentes tiempos de maduración, más allá de los analizados, incluyendo el resto de la cadena de suministro hasta el consumo del queso en el hogar. Eso demuestra que, para este queso, con respecto al parámetro fisicoquímico  $a_w$ , a mayor tiempo de maduración más difícil las condiciones para el crecimiento del patógeno (Possas et al. 2021, Wemmenhove et. al, 2018). Esto coincide con lo observado por Chatelard-Chauvin et al. (2015) en el queso Chantal, donde el  $a_w$  disminuyó durante el tiempo de maduración del estudio (Ver fig. 11).

Estos resultados reafirman lo planteado como hipótesis de la importancia de las características fisicoquímicas durante la maduración de los quesos Semiduros y Colonia, al momento de generar o no condiciones para el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y por lo tanto en la inocuidad del producto final.

## 9.2 Análisis Microbiológico

Dado que, por las características fisicoquímicas, estos quesos pueden favorecer el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, se determinó *Listeria* spp. y luego la búsqueda del patógeno en 25 g de queso.

De las 33 muestras analizadas (18 de quesos Semiduros y 15 de Colonia), en 10 se encontró *Listeria* spp. (30,3%) y en ninguna se detectó la presencia del patógeno, tal como observa en las tablas XIV y XV. A su vez, esas 10 muestras se

distribuyeron de la siguiente forma: 8 en quesos Colonia (24,2% del total) y 2 en quesos Semiduros (el restante 6,1%). Estos resultados son comparables con algunos trabajos encontrados en quesos frescos de la región, como en Colombia donde se reporta un 22,6% de *Listeria* spp. en quesos frescos costeños, realizados en general con leche no pasteurizada (Gallegos et. al, 2007). Por otra parte, un estudio realizado en Cuba encontró una presencia de 5,6% de *Listeria* spp. en quesos Semiduros elaborados con leche pasteurizada (Martino et. al, 2005).

En esos 8 quesos Colonia, se encontró *Listeria* spp. en al menos 2 tiempos de maduración en los establecimientos 4 y 6 y en 4 tiempos de maduración en el establecimiento 5, o sea que todos los establecimientos muestreados de quesos Colonia dieron positivo a la presencia de *Listeria* spp. No así en el caso de los quesos Semiduros, donde solamente se encontró en uno de los 3 establecimientos. Si bien en el caso del establecimiento 4 y 5, los quesos Colonia que dieron positivo a la presencia de *Listeria* spp. a tiempo 0 y 15 días en el caso del establecimiento 4 y a 0, 15, 30 y 45 días en el 5, en el establecimiento 6 se detectó a los 30 y 45 días, siendo negativo a los 0 y 15 días. Algo similar sucedió con los quesos Semiduros (0 y 60 días). Por lo tanto, el hecho de que no se hallara *Listeria* spp. no se puede vincular estrictamente con el tiempo de maduración, sino que puede explicarse por las características propias de este género bacteriano. *Listeria* spp. tiene la característica de resistir a los procesos de limpieza y desinfección y crear nichos formando biopelículas en los equipos y utensilios y de esa forma contaminar los alimentos (Helberg et. al (2014)). La contaminación puede haber estado en los moldes u otros utensilios (cuchillos) y trasladarse así a un queso y no a otros, del mismo lote.

Los resultados microbiológicos en los distintos tipos de quesos se pueden explicar por las diferencias en las características fisicoquímicas de ellos, tal como se ve en las tablas XI y XII. Los quesos Colonia tienen en promedio, mayor humedad, pH y  $a_w$  que los Semiduros, por lo que poseen condiciones más favorables para el crecimiento de estos microorganismos (Oliveira et al., 2017 Possas et al., 2021). Sin embargo, con respecto a *Listeria* spp. estos valores no concuerdan con los del proyecto de investigación nacional cuyos resultados son confidenciales. En este proyecto, la prevalencia de *Listeria* spp. en quesos Semiduros fue similar que para los quesos Colonia (35,9% y 34,4% respectivamente). Mientras que la prevalencia de *Listeria monocytogenes* fue de 4,3% para los Semiduros y 8,3% para los quesos Colonia (Proyecto ANII FSA\_I\_2017\_1\_138945, comunicación personal: Carro S., 2022).

En cuanto a la prevalencia del patógeno, en las muestras analizadas en este trabajo no se encontró *Listeria monocytogenes* y esto contrasta con otros valores de prevalencia reportados en la bibliografía regional. Por ejemplo, un trabajo encontrado, señala en las Américas, una prevalencia de *Listeria monocytogenes* de 16,3% en el queso fresco elaborado con leche cruda (Merchán et. al, 2018), mientras que, en un estudio realizado en quesos blandos de Ecuador, la

prevalencia encontrada fue de 14,2% (Espinosa-Mata, Mejía, Villacís, Alban y Zapata, 2021) o en Brasil, donde se reporta una prevalencia entre 3 y 45% para quesos frescos blandos y entre 1,4 y 6% para quesos Semiduros (Campagnollo et al., 2018b). Quizás esto puede explicarse por la diversidad dada entre los diferentes tipos de quesos y los sistemas de producción.

### **9.3 Modelo de evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes***

Tal como se mencionó previamente, uno de los trabajos citados por Possas et al. (2021), hace referencia a quesos blandos o frescos y Semiduros con leche cruda y pasteurizada inoculados con este patógeno y madurados a 22°C por 22 días (Campagnollo et al, 2018 a). En ese artículo, las condiciones fisicoquímicas de los quesos son similares a los de la presente tesis, tanto en pH como en  $a_w$ .

Dichos autores señalan que, en leche cruda inoculada con *Listeria monocytogenes*, se da su crecimiento exponencial en las primeras horas de la elaboración y luego de las 24 horas, ese crecimiento se detiene, permaneciendo luego el recuento de *Listeria monocytogenes* constante. Esto coincide con lo planteado por Chatelard-Chauvin et al. (2015), en quesos elaborados con leche cruda inoculada con *Listeria monocytogenes*, donde se observó un crecimiento del patógeno en las primeras 24 horas de elaboración. Dicho crecimiento se estabiliza hasta el día 3 y los niveles del patógeno se mantienen constantes hasta el día 45 de su maduración en cámara fría. Desde el día 45 en adelante, se observó una disminución en los valores de *L. monocytogenes* que varía luego, además, una vez que la horma de queso es fraccionada. De acuerdo con este trabajo, durante el fraccionado, a partir de los 30 días y en función del material en el cual se mantenga luego del mismo (envase), y los días hasta su consumo, el patógeno va decreciendo a diferentes velocidades según los días en que el queso haya permanecido en el almacenamiento en el mercado y hasta el momento del consumo final (Chatelard-Chauvin et al., 2015). Estas fueron las condiciones que estimaron lo que sucede en los quesos Semiduros y Colonia. Cabe aclarar que a diferencia de la temperatura de almacenamiento mencionada en el trabajo de Campagnollo et al, 2018 a, los quesos Semiduros en nuestro país, de acuerdo con lo informado por los productores visitados, se maduran a una temperatura más baja, entre 5 y 10°C. No se espera entonces un aumento en los niveles del patógeno por ser estas inferiores a las temperaturas óptimas para su crecimiento. Por su parte, el queso Colonia tiene, además de la maduración en cámara fría a 10±1°C durante los primeros 10 o 15 días, la maduración luego en cámara caliente a 20±1°C por otros 7 a 10 días, para después pasar nuevamente a cámara fría. No se encontró en la literatura un trabajo que tuviera estas características y, por lo tanto, no se sabe cómo la maduración en cámara caliente podría afectar el comportamiento del patógeno. Sin embargo, de acuerdo con lo señalado por Possas et al. 2021, si el queso no permite el crecimiento del patógeno, que sería el caso hasta el día 45, se ha visto que las reducciones en el recuento del patógeno en el almacenamiento dependen de las temperaturas. A menores valores sobrevive más tiempo que a temperaturas

cercanas a las óptimas de su crecimiento. Esto sería para el caso de los  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  de la cámara caliente, debido a que se acelera el metabolismo de la bacteria para mantenerse en condiciones adversas del queso, consumiendo los recursos celulares, lo que conduce a su decrecimiento. Por lo tanto, sería adecuado esperar que el comportamiento del patógeno en la cámara caliente fuera de decrecimiento.

Para los quesos Semiduros, tal como se observa en la tabla XVI, el modelo estimó que la concentración final de *Listeria monocytogenes* al momento del consumo se encuentra entre 0 y 21 UFC/g de queso, con un promedio de 4 UFC/g. Como en este caso el consumo es el mismo para todas las poblaciones, se estima que en cada porción de queso puede haber un promedio de 155 UFC en un rango entre 3 y 804 UFC del patógeno.

Los valores resultantes del modelo del queso Colonia (que se muestran en la tabla XIX), fueron entre 3 y 4 veces mayores, con una concentración final promedio del patógeno al momento del consumo de 13 UFC/g, con un mínimo de 1 y un máximo de 59 UFC/g. Con estos datos de concentración, cada porción de queso Colonia puede contener en promedio 475 UFC de *Listeria monocytogenes*, en un rango entre 25 y 2.204 UFC. Las diferencias observadas entre ambos tipos de quesos pueden explicarse por sus características fisicoquímicas y por el mayor tiempo de maduración del queso Semiduro previo a su consumo, de acuerdo con lo declarado por los productores, lo que lleva también a un decrecimiento mayor del patógeno.

Tal como reportan varios trabajos citados por Oliveira et al. (2017), la dosis infectiva de *Listeria monocytogenes* no se conoce, además de que es variable de acuerdo con la virulencia de la cepa y la susceptibilidad del huésped. Si bien, modelos cuantitativos indicarían que en el 90% de casos de listeriosis invasiva los alimentos LPC implicados contenían más de 2.000 UFC/g (EFSA, 2018) y de acuerdo con lo informado por la FDA y el Servicio de Inspección e Inocuidad Alimentaria de Estados Unidos (FSIS por sus siglas en inglés) en el 2003 y evaluaciones de riesgos reportados por Ryser en el 2011, citados por este autor, diferentes estudios de brotes de listeriosis tuvieron como responsables alimentos con recuentos del patógeno de  $10^6$  UFC/g o más, es posible que menos de 1.000 células puedan generar listeriosis en las poblaciones más vulnerables (Ryser, 2011).

En ambos tipos de quesos y como se muestra en las tablas de resultados XVI, XVII, y XIX, la probabilidad de enfermar varía en cada población objetivo, debido a la vulnerabilidad asociada a cada grupo (Pouillot et al. 2015). Teniendo en cuenta las variables del modelo y los resultados obtenidos, la probabilidad de enfermar es extremadamente baja para todas las poblaciones evaluadas, ya que, para mujeres embarazadas, la probabilidad de enfermar es en promedio de  $3,1 \times 10^{-10}$  para quesos Semiduros y  $9,5 \times 10^{-10}$  para quesos Colonia, mientras que para la población vulnerable (personas con el sistema inmune comprometido) es de  $2,3 \times 10^{-11}$  y  $6,9 \times 10^{-11}$  respectivamente y finalmente, para la población general fue de  $1,2 \times 10^{-12}$  y  $3,7 \times 10^{-12}$ . Estos valores son mucho menores que los encontrados en otros

trabajos. Cardo (2021), en su evaluación de riesgo por el consumo de quesos, reporta 1 caso de listeriosis por cada porción de queso consumida por población vulnerable, mientras que para la población general se estiman  $8,0 \times 10^{-6}$  casos por porción. Este autor señala la variabilidad e incertidumbres asociadas a dicha evaluación de riesgo, dada, por ejemplo, por la variabilidad entre los distintos tipos de quesos. Asimismo, la FDA y Health Canada en su evaluación de riesgo por el consumo de quesos blandos elaborados con leche cruda, reporta que el riesgo promedio de contraer listeriosis es de  $1,8 \times 10^{-6}$  para embarazadas, y entre  $8,1 \times 10^{-7}$  y  $8,2 \times 10^{-7}$  para adultos mayores e inmunocomprometidos (FDA-Health Canada, 2015). Las diferencias pueden deberse nuevamente a la diferencia entre los tipos de quesos, ya que este último trabajo se refiere a quesos blandos, cuyo contenido de humedad es mucho mayor que los evaluados en esta tesis.

Si se evalúan los resultados obtenidos de la salida de los modelos predictivos aplicados en esta tesis, considerando el promedio de los valores resultantes de la simulación, podemos confirmar que, en ambos tipos de quesos, tal como se esperaba, las embarazadas tienen 13-14 veces más probabilidad de enfermar que la población vulnerable (31/2,3 y 95/6,9 para Semiduro y Colonia respectivamente), mientras que la población vulnerable tiene 19 veces más probabilidad de enfermar que la población general (23/1,2 para Semiduros y 69/3,7 para Colonia). A su vez, para los quesos Semiduros, las embarazadas tienen 258 veces más probabilidad de enfermar que la población general (310/1,2), cuando para el caso de los quesos Colonia, esa probabilidad es 257 veces superior (950/3,7). Campagnollo et al. (2018b) en la evaluación cuantitativa de riesgo que realizaron con quesos inoculados con *Listeria monocytogenes* señala que para los quesos semiduros que fueron elaborados con leche cruda e inoculados con el patógeno, la población vulnerable tuvo casi 45 veces más probabilidades de contraer listeriosis que la población general, ya que, de acuerdo a lo descrito por esos autores, el riesgo de listeriosis para la población vulnerable fue de  $2,6 \times 10^{-3}$ , mientras que para la población general fue de  $5,7 \times 10^{-5}$ . A su vez, de acuerdo al reporte de la EFSA, en los últimos años se ve una tendencia al aumento en la tasa de incidencia de listeriosis en grupo de mujeres entre 25 y 44 años, (suponen que está vinculado a los embarazos) y en personas mayores de 75 años (mayor número de personas con condiciones debilitantes) (EFSA, 2018). Además, en la UE destacan, en los últimos años, el aumento constante año a año, de casos de listeriosis en poblaciones mayores a 64 años, con 58,1 % de los casos fatales para personas entre 64 y 84 años y 22,8% para los mayores de 84 años (ECDC, 2021).

Si se observan los números de casos por año que resultan de cada modelo en función del tipo de queso en las tablas mencionadas, para el queso Semiduro, los casos de embarazadas fueron de  $2,5 \times 10^{-6}$  y de la población vulnerable de  $2,4 \times 10^{-6}$ , mientras que de la población general de  $7,8 \times 10^{-7}$  y los totales de  $5,6 \times 10^{-6}$ , mientras que para quesos Colonia los valores fueron superiores,  $9,0 \times 10^{-5}$  para

embarazadas,  $8,9 \times 10^{-5}$  para población vulnerable de adultos mayores y de  $2,9 \times 10^{-5}$  para la población general y  $2,1 \times 10^{-4}$  los números de casos totales.

Con respecto al escenario 1, al aumentar el consumo de queso Semiduro en casi 5 veces, aumenta la cantidad de porciones y porciones contaminadas a las que la población se ve expuesta. Esto genera un aumento en los números de casos de las diferentes poblaciones, de acuerdo con la ecuación 3 y 4 y tal como se observa en la tabla XXI.

En el escenario 2 y en el escenario 3, se plantea que la porción de las embarazadas es mayor a la inicial (1,5 veces), por la recomendación de mayor consumo de fuentes de calcio en ese período. Esto genera un aumento en la dosis ingerida a la cual esta población se expone (ver ecuación 6) y, por lo tanto, la probabilidad de contraer listeriosis (ecuación 5), como se refleja en las tablas XXI y XXII para Semiduros y Colonia respectivamente. Sin embargo, al aumentar el consumo y el tamaño de porción en el escenario 2 para el queso Semiduro, el número de porciones disminuye con respecto al escenario 1, por ese motivo, la probabilidad de enfermar aumenta, pero no los números de casos de embarazadas, algo similar se ve en el escenario 3 para el queso Colonia.

Pese a no contar con datos nacionales de consumo de este tipo de quesos y tomar supuestos de bibliografía con respecto a tamaños de porción, los números de casos resultantes de todos los escenarios modelados (incluidos aquellos con mayor consumo y tamaño de porciones para la embarazadas), son extremadamente bajos, por lo que, el riesgo por el consumo de quesos Semiduros y Colonia en Uruguay, en las condiciones en las cuales se realizó este trabajo, con los supuestos asumidos en los datos de entrada y con los datos generados en el mismo, es muy bajo.

Cuando se comparan los resultados de las tablas XVI de quesos Semiduros y XIX de quesos Colonia, resumidas en la tabla XXIII, podemos observar que:

- El mayor tiempo de maduración declarado del queso Semiduro lleva a que el patógeno disminuya más aceleradamente en este tipo de queso comparado con el queso Colonia. Esto lleva a la diferencia de la dosis ingerida de *Listeria monocytogenes* entre ambos tipos de quesos.
- La dosis ingerida al consumir queso Colonia es 3 veces más para las tres poblaciones evaluadas, lo que aumenta por lo tanto la posibilidad de enfermar (ver ecuación 5 y 6) para cada tipo de población, que también se multiplica por 3.
- El hecho de ingerir más dosis de *Listeria monocytogenes* al consumir queso Colonia, lleva también a que los números de casos sean en el entorno de 36-37 veces más altos ( $90/2,5$  y  $89/2,4$  para embarazadas y población vulnerable respectivamente y  $290/7,8$  para población general) que para Semiduro para todas las poblaciones estudiadas.

En base a los resultados promedio de la simulación del escenario original del queso Colonia, que fue el que dio los valores más altos, tanto de probabilidad de enfermar, como de números de casos, se puede establecer que:

- Dado que se dan  $9,0 \times 10^{-5}$  casos de embarazadas por año en 34506 embarazadas que se estiman que hay en el país, también por año, deberíamos contar con 383 millones de embarazadas para que se dé un caso de listeriosis por año por el consumo de quesos Colonia.
- $9,0 \times 10^{-5}$  casos de embarazadas por año, equivaldría a un caso por 11.111 años.
- Con los 1,2 millones de porciones consumidas por las embarazadas por año, tendríamos  $9,0 \times 10^{-5}$  casos de listeriosis, entonces, habría un caso de listeriosis por cada 13000 millones de porciones consumidas. Esta cantidad de porciones en las 34.506 embarazadas, supone que cada una debería consumir 386.000 porciones por año, o sea unas 1000 porciones por día, lo cual resulta prácticamente imposible.

Si bien los datos del modelo permiten establecer que, para ambos tipos de quesos, el evento es extremadamente raro que ocurra, los resultados observados, no explican los casos clínicos de listeriosis reportados en el país. Por lo tanto, estos casos clínicos podrían estar relacionados a otros alimentos responsables de vehiculizar *Listeria monocytogenes* que deberían considerarse en función de los hábitos de consumo de los uruguayos.

A nivel nacional entre el 2015 y el 2019 se han registrado varios casos de listeriosis por año. Tal como se informa por la División de Epidemiología del MSP, se registraron 6 casos en el 2015 con 2 fallecidos, 17 en el 2016 con 7 fallecidos, 8 casos en el año 2017 con 1 persona fallecida, 9 en el 2018 con 1 muerte y 7 en el 2019 sin muertes (MSP, 2020). Entre las víctimas afectadas por la enfermedad, la mayoría pertenecen a los grupos de población de riesgo. No se reporta en ningún caso, el alimento responsable de listeriosis, señalando que es difícil de acceder al alimento involucrado por tratarse de una enfermedad con un largo período de incubación.

Con los resultados obtenidos, se debe prestar más atención al queso Colonia, en particular se debería estudiar como la maduración en cámara caliente pueda impactar en estos valores.

Dentro de las poblaciones afectadas, tal como se mencionó y se ha visto en varios brotes a nivel internacional, que, la población de adultos mayores de 64 años, junto con las embarazadas son las poblaciones más afectadas, lo que es muy importante para tener en cuenta ya sea por la probabilidad de aborto, como afecciones neonatales. Por otra parte, al ser este un país con la población envejecida (Brunet y Marquez, 2016), esto impacta en la salud pública y en los costos asociados de los sistemas de salud.

Lo anterior queda demostrado además con el informe de la EFSA de listeriosis en la UE (EFSA, 2018), del ECDC (2021) y con el ejemplo del brote de listeriosis ocurrido por el consumo de carne mechada lista para consumir en España en el 2019. Este tuvo 216 afectados con 3 adultos fallecidos, 7 abortos declarados y varios partos prematuros, de acuerdo con lo descrito por Betelgeux, (2019) y Ballesteros (2019). La población que sufrió daños mortales fueron los mayores de 70 años y las embarazadas con la pérdida de su embarazo. Esto coincide con lo sucedido en el brote ocurrido por queso fresco en EE. UU. que terminó en mayo de 2021. De las 13 personas que enfermaron, 1 de ellas falleció y 4 estaban embarazadas, 2 perdieron el embarazo y una tuvo parto prematuro. El 73% de las personas entrevistadas, declararon haber comido queso fresco o quesos blandos (CDC; 2021b). Los brotes reafirman lo planteado por Ryser (2011), que señala que la listeriosis es una infección rara que ocurre frecuentemente en tres grupos de población en particular, las embarazadas, los recién nacidos y en las personas adultas inmunocomprometidas, incluido adultos mayores y personas que padecen cáncer, trasplantes u otras predisposiciones. De los varios brotes reportados por este autor, con una letalidad cercana al 30%, la mayoría de las víctimas se encontraron dentro de esos tipos de poblaciones.

Con el fin de generar resultados nacionales más precisos de esta evaluación a la exposición, sería fundamental:

- Determinar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en los tipos de quesos artesanales Semiduros y Colonia durante su elaboración y maduración.
- Tener datos de los hábitos de consumo de las diferentes poblaciones frente a la ingesta de este tipo de quesos: el tamaño de las porciones, la frecuencia de consumo y el consumo anual de cada uno.
- Saber la cantidad de personas en cada franja etaria para identificar mejor a cada grupo de población vulnerable: niños menores de 5 años, embarazadas, adultos mayores y personas con predisposiciones (cáncer, diabetes, diálisis, trasplantes, etc.).

Para minimizar el riesgo, sería fundamental el control del *Listeria monocytogenes* desde la producción lechera, evitando que se contamine la materia prima o que se produzca la contaminación del entorno alimentario y así minimizar la prevalencia del patógeno en los quesos (Ryser, 2011).

También es importante educar a los grupos de la población de mayor riesgo sobre la potencial consecuencia del consumo de estos alimentos para generar conciencia y reducir aún más su exposición al peligro y su probabilidad de enfermar, tal como señala Herrador, Gherasim, Lopez y Benito (2019). Este trabajo, resume los casos de hospitalización dados por listeriosis en España durante casi 20 años. El mismo deja en evidencia la vulnerabilidad de la población mayor de 65 años frente a esta ETA.

Los resultados obtenidos en esta tesis concuerdan con lo citado por varios autores, reportado por Montel et al. (2014), que señala que la listeriosis vinculada al consumo de quesos es rara y en particular, la contaminación por *Listeria monocytogenes*, no solo puede darse en el queso elaborado con leche cruda, sino también que los quesos elaborados con leche pasteurizada pueden contaminarse post pasteurización, por pasteurización incompleta o por contaminación cruzada.

Los modelos de microbiología predictiva son de gran ayuda al momento de estimar el comportamiento bacteriano en un alimento y también la probabilidad de enfermar y número de casos para diferentes poblaciones. Sin embargo, no dejan de ser una aproximación y cálculos matemáticos con variables e incertidumbres asociadas y realizadas con determinadas condiciones y supuestos (Cardo, 2021). Ante cualquier cambio de esas variables, en toda la cadena productiva, desde la producción primaria, hasta el momento del consumo, los resultados obtenidos se verán afectados.

En esta evaluación a la exposición a *Listeria monocytogenes* y caracterización de riesgo de listeriosis por el consumo de quesos artesanales elaborados con leche cruda, la incertidumbre y variabilidad viene dada entre otros por:

- La variabilidad entre los distintos quesos: su materia prima y sus diferentes procesos de elaboración, características que se comprobó varían según cada establecimiento incluso en el mismo tipo de queso e influyen en el comportamiento del patógeno.
- La variabilidad de las características fisicoquímicas de los distintos quesos durante el tiempo de maduración, en particular pH y  $a_w$ .
- La incertidumbre dada por la extrapolación de datos de una población a otra por la ausencia de los datos poblacionales nacionales reales de:
  - el consumo anual y tamaño de porción de este tipo de quesos artesanales por parte de los distintos grupos de la población nacional por franja etaria y por género, incluyendo la población de riesgo.
  - cantidad de personas en cada grupo poblacional de riesgo.
- El comportamiento de *Listeria monocytogenes* durante el tiempo de maduración en estos dos tipos de quesos. En este caso los datos de entrada se extrajeron de bibliografía extrapolando el comportamiento en quesos similares a los quesos nacionales. De hecho, no se sabe cómo puede afectar al patógeno, por ejemplo, los días de maduración en cámara caliente del queso Colonia.
- La variabilidad dada por las diferentes cepas circulantes de *Listeria monocytogenes* existentes, tanto sea por su posibilidad de supervivencia/crecimiento durante el proceso de elaboración y maduración, como en cuanto a su virulencia (Cardo, 2021).

Información relacionada con los parámetros anteriormente mencionados, logrará una evaluación a la exposición más cercana a la realidad nacional. Este trabajo

deja el modelo probabilístico de *Listeria monocytogenes* para el consumo de quesos artesanales a disposición para futuros análisis o evaluaciones.

## 10. CONCLUSIONES

Este es uno de los primeros estudios nacionales que evalúa características fisicoquímicas de quesos artesanales durante la maduración, el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en dichos alimentos y el resultado de la exposición a ese patógeno por el consumo de quesos Semiduros y Colonia en diferentes grupos poblacionales.

Durante los primeros 60 días de maduración en los quesos Semiduros, el pH y  $a_w$  no tuvieron una variación significativa ni tampoco el pH en los quesos Colonia, sin embargo, el  $a_w$  en los quesos Colonia disminuye en el correr del tiempo. Se corrobora que, pese a la variedad de las condiciones iniciales de ambos tipos de quesos en función de los establecimientos, al final de los 60 días de maduración en las mismas condiciones, los valores de pH y  $a_w$  son similares entre sí.

Los resultados de los modelos de exposición a *Listeria monocytogenes* por el consumo de quesos artesanales Semiduros y Colonia en las condiciones establecidas en este trabajo sugieren que el evento de listeriosis es extremadamente raro en todos los grupos poblacionales evaluados y de muy bajo riesgo. No obstante, las embarazadas son el grupo con mayor probabilidad de enfermar. Además, se pudo observar que el queso Colonia ocasiona entre 36 y 37 veces más número de casos que el Semiduro al comparar los números de casos promedio de ambos quesos.

Se confirma la hipótesis planteada: Los quesos artesanales locales Semiduros y Colonia, elaborados con leche cruda, generan durante su maduración, condiciones que no permiten el desarrollo de *Listeria monocytogenes* a niveles tales que impliquen un riesgo a la salud pública al momento de su consumo. Por lo tanto, la probabilidad de padecer listeriosis invasiva por consumo de estos alimentos es muy baja, incluso en aquellos individuos con factores predisponentes conocidos.

Con el fin de obtener resultados más precisos de esta evaluación a *Listeria monocytogenes*, se deberían disponer de datos nacionales de variables de entrada que actualmente no se encuentran reportados, en particular, los datos de consumo.

Dado que no se descarta la participación de otros alimentos LPC en la diseminación de este patógeno alimentario a nivel nacional, sería importante valorar su rol en la transmisión de *Listeria monocytogenes*.

Es fundamental su control en toda la cadena productiva de estos alimentos incluidos los quesos artesanales para minimizar su prevalencia en el producto final y educar a los consumidores para generar conciencia y reducir aún más su exposición al peligro y su probabilidad de enfermar.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaury, G.; El-Hajjaji, S.; Niyonzima, E.; Daube, G.; Sindic, M. (2018). Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in various types of cheese- A review. *International Journal of Dairy Technology*, 71 (4). doi: 10.1111/1471-0307.12552.
- Baranyi, J and Tamplin, ML. (2004). ComBase: A common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*, 67(9), 1967-1971.
- Ballesteros J. M. (2019). Listeriosis: realidad de un brote alimentario. *Sanid. mil.* 2019; 75 (4), 189-190. Recuperado en:  
<https://www.eurosurveillance.org/docserver/fulltext/eurosurveillance/24/21/euro-surv-24-21-4.pdf?expires=1654379135&id=id&accname=quest&checksum=03374E9330729D04BB6331B212D415DC>
- Betelgeux, 2019. Recuperado en: <https://www.betelgeux.es/blog/2019/11/28/finaliza-el-mayor-brote-de-listeriosis-en-espana/>
- Borbonet, S. Urrestarazu, P., Pelaggio, R. (2010). *Quesos artesanales. Conceptos generales y recomendaciones prácticas y productivas*. Montevideo: Laboratorio Tecnológico del Uruguay.
- Borbonet, S. y Pelaggio, R. (2006). Queso Colonia Variedad sin Cloruro de sodio. *Congreso Federación Panamericana de la leche*.
- Bover, S. y Garriga, M. (2014). Condiciones que determinan el crecimiento y supervivencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Informe final de la actividad (REF. 0404-I3020). Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Barcelona, 2014. Recuperado de:  
[https://acsa.gencat.cat/web/.content/Publicacions/Informes-tecnics/Informes\\_ACSA/informe\\_listeria\\_irta\\_2014\\_castella.pdf](https://acsa.gencat.cat/web/.content/Publicacions/Informes-tecnics/Informes_ACSA/informe_listeria_irta_2014_castella.pdf)
- Braga V., Vázquez S., Vico V., Pastorino V., Mota M.I., Legnani M., Schelotto F., Lancibidad G., Varela G. (2017). Prevalence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from foods in Montevideo-Uruguay Brazilian. *Journal Microbiology*, 48, 689-69.
- Brooks J. C.; Martinez B.; Stratton J.; Bianchini A.; Krokstrom R. y Hutkins R.; (2012). Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology*, 31, 154-158.

- Brunet, N. y Márquez, C. (2016). *Envejecimiento y personas mayores en Uruguay*. Montevideo: Unidad multidisciplinaria, Facultad de Ciencias Sociales. Universidad de la República. Recuperado de: <https://www.ine.gub.uy/documents/10181/34017/Atlas+Fasciculo+7/a80a383e-d903-40bc-8023-8d69e30988e2>
- Buchanan, R.; Gorris, L.; Hayman, M.; Jackson, T.; Whiting R. (2016). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, 1-13. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516306892?via%3Dihub>
- Caiata, L.; Legnani M.; Mota, M.; Braga, V.; Seija V. (2014). Aislamientos de *L. monocytogenes* en hospital de Clínicas 2008-2013 y caracterización molecular de cepas. *Enfoque multidisciplinario de las Enfermedades Emergentes desde la Biología Molecular a la Vigilancia Epidemiológica Nacional*. Lima- Perú.
- Campagnollo, F., Margalho, L., Kamimura, B., Feliciano, M., Freire, L., Lopes, L. Alvarenga, V., Cadavez, V., Gonzales-Barron, U., Schaffner D., Sant'Ana, A. (2018) a - Selection of indigenous LAB presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, 73, 288 – 297.
- Campagnollo, F, Gonzales-Barron, U., Cadavez V., Sant'Ana, A., Schaffner D (2018) b: Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in traditional Minas cheeses: The cases of artisanal semi-hard and fresh soft cheeses. *Food Control*, 92, 370–379. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.019>.
- Cardo Gimeno, E. (2021). *Evaluación cuantitativa del riesgo de Listeria monocytogenes asociado al consumo de queso* (Tesis de posgrado). Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. España.
- Center for Disease Control and Prevention. (2017). *Soft Raw Milk Cheese Made by Vulto Creamery*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheese-03-17/index.html>
- Center for Disease Control and Prevention. (2019). *Prevention*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/listeria/prevention.html>.
- Center for Disease Control and Prevention. (2021a). *Information for Health Professionals and Laboratories*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/listeria/technical.html>
- Center for Disease Control and Prevention. (2021b). *Brote de Listeria vinculado a queso fresco fabricado por El Abuelito Cheese Inc*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/hispanic-soft-cheese-02->

[21/esp/index.html#:~:text=Cuatro%20estados%20han%20notificado%20un,2021%20\(vea%20la%20cronolog%C3%ADa\).](#)

- Chatelard-Chauvin, C., Pelissier, F., Hulin, S., Montel M.C. (2015). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw milk Cantal type cheeses during cheese making, ripening and storage in different packaging conditions. *Food Control*, 54, 53-65.
- Churchill, K.; Sargeant J.; Farber J.; O'Connor A. (2019). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Select Ready-to-Eat Foods—Deli Meat, Soft Cheese, and Packaged Salad: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Food Protection*, 82 (2), 344–357. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-158.
- Comisión del Codex Alimentarius (CAC) (2009). Directrices sobre la aplicación de los principios generales de higiene de los alimentos para el control de *Listeria monocytogenes* en alimentos. CAC/GL 61-2007 (modificado en 2009). Recuperado de [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B61-2007%252FCXG\\_061s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B61-2007%252FCXG_061s.pdf)
- Crosa, M. J., Harispe, R., Márquez, R., Pelaggio Ettlin, R., Repiso, L., & Silvera, C. (2011). Cambios reológicos del queso Colonia durante el proceso de maduración. *INNOTEC*, (3 ene-dic), 54–56. Recuperado de: <https://doi.org/10.26461/03.09>
- de Noordhout C. M., Devleeschauwer B., Angulo F.J., Verbeke G., Haagsma J., Kirk M., Havelaar A., Speybroeck N. (2014). The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 14(11), 1073-1082. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70870-9. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4369580/>
- European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)- European Food Safety Agent (EFSA) (2021). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. Recuperado de: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2021.6971>.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2018). *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal*, 16(1):5134. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5134. Recuperado de: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5134>
- Español, M. (2018). Eficacia de la aplicación de medidas de control de *Listeria monocytogenes* en industrias elaboradoras de productos cárnicos listos para el consumo (LPC). Departamento de Producción Animal y Ciencia de alimentos, Universidad de Zaragoza. Recuperado de: <https://zaquan.unizar.es/record/70631/>.

- Espinosa, A. (2018). *Detection of Listeria monocytogenes in artisanal soft cheeses from different street markets of Ecuador*. Tesis de posgrado. Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Ecuador.
- Espinosa-Mata, E., Mejía, L., Villacís, J. Alban V., Zapata S. (2021). Detección y genotipado de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales de Ecuador. *Revista Argentina de Microbiología*, 54, 53-56.  
Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.02.013>
- Fajardo-Gutierrez, A. (2017). Medición en epidemiología: prevalencia, incidencia, riesgo, medidas de impacto. *Rev Alerg Mex.* 2017;64(1), 109-120.  
Recuperado de: <https://www.scielo.org.mx/pdf/ram/v64n1/2448-9190-ram-64-01-00109.pdf>
- Farmhouse and Artisan Producers, Cheese & Dairy Producers European Network. (2016). *European Guide for Good Hygiene Practices in the production of artisanal cheese and dairy products*.  
Recuperado de:  
[https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/biosafety\\_fh\\_guidance\\_artisanal-cheese-and-dairy-products\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/biosafety_fh_guidance_artisanal-cheese-and-dairy-products_en.pdf)
- Food and Drug Administration. (2012). Cheeses and related cheese products En *Code of Federal Regulation*. Food and Drug (Vol. 2, pp. 359-411). Washington: FDA.  
Recuperado de:  
<https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2012-title21-vol2/pdf/CFR-2012-title21-vol2-part133.pdf>
- Food and Drug Administration. (2016). FY 2014-2016 Microbiological Sampling Assignment. Raw Milk Cheese Aged 60 days (Summary Report). Recuperado de: <https://www.fda.gov/food/sampling-protect-food-supply/microbiological-surveillance-sampling-fy14-16-raw-milk-cheese-aged-60-days>
- FDA-Health Canada (2015). Joint FDA / Health Canada. *Quantitative Assessment of the Risk of Listeriosis from Soft-Ripened Cheese Consumption in the United States and Canada: Report*.
- Fondo Nacional de Preinversión (2008). FONADEP. Primer Informe de Avance. Desarrollo de la Quesería Artesanal de la Cuenca Lechera del Litoral, Departamentos de Salto Paysandú y Río Negro. Consultoría financiada con recursos de FONADEP-Salto-Paysandú-Río Negro- Uruguay: 1- 72.
- Gallegos, J., Arrieta G., Máttar S., Poutou R., Trespalacios A., Carrascal A., (2007). Frecuencia de *Listeria* spp. en quesos colombianos costeros. *Rev. MVZ Córdoba* 12(2), 996-1012.

- Haeng Nam J.; Sun Cho Y.; Rackerby B.; Goddik, L. y Hong Park S. (2021). Shifts of microbiota during cheese production: impact on production and quality. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 2307–2318. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11201-5>
- Halberg Larsen, M.; Dalmasso, M.; Ingmer, H.; Langsrud, S.; Malakauskas, M.; Mader, A.; Møretrø T.; SmoleMozina S.; Rychli K., Wagner, M.; Wallace, J.; Zentek J.; Jordan K. (2014). Review Persistence of foodborne pathogens and their control in primary and secondary food production chains. *Food Control* 44, 92-109.
- Herrador Z.; Gherasim, A.; Lopez R.; Benito, A. (2019). Listeriosis in Spain based on hospitalisation records, 1997 to 2015: need for greater awareness. *Euro Surveill.* 24(21): pii=1800271. Recuperado de: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.21.1800271>
- Ibarra-Sánchez, L.A.; Van Tassell, M.L.; Miller, M.J. (2017) Invited review: Hispanic-style cheeses and their association with *Listeria monocytogenes*. *J. Dairy Science* 100 (4), 2421–2432.
- Instituto Nacional de la Leche (INALE), 2016. Triñanes, E. Presentación sobre quesería artesanal. Reunión INALE (04/2016).
- Instituto Nacional de Estadística (INE). (2011). *Censos 2011*. Montevideo. Recuperado de: <https://www.ine.gub.uy/censos-2011>
- International Commission on Microbiological Specifications for foods (ICMSF) 6, 2005. *Microbial Ecology of food commodities*. Chapter 16: Milk and dairy products. 2nd. Edition. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- International Commission on Microbiological Specifications for foods (ICMSF) 7, 2018. *Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. Chapter 7: Sampling Plans. 2nd. Edition. © Springer International Publishing AG 2011, 2018.  
Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68460-4>
- Leon, E. (2014). *Evaluación del efecto de la temperatura sobre el crecimiento de cultivos iniciadores durante la maduración del queso tipo Edam* (Tesis de grado). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.  
Recuperado de: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3420>
- Latorre, A. A.; Van Kessel, J. S.; Karns, J. S.; Zurakowski, M. J.; Pradhan, A. K.; Boor K. J.; Jayarao, B. M.; Houser, B. A.; Daugherty, C. S.; Schukken Y.H. (2010) Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *Journal Dairy Science*, 93, 2792–2802.

- Lianou A. y Samelis J. (2014). Addition to Thermized Milk of *Lactococcus lactis* subsp. cremoris M104, a Wild, Novel Nisin A–Producing Strain, Replaces the Natural Antilisterial Activity of the Autochthonous Raw Milk Microbiota Reduced by Thermization. *Journal of Food Protection*, 77 (8), 1289–1297. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-521.
- Liu, D. (2013). Molecular Approaches to the Identification of Pathogenic and Non pathogenic *Listeriae*. *Microbiology Insights*, 6, 59–69.
- Luchansky, J.; Chen, Y.; Porto-Fett, A.; Pouillot, R.; Shoyer, B.; Johnson-Derycke, R.; Eblen, D.; Hoelzer, K.; Shaw, W.; Van Doren, J.; Catlin, M.; Lee, J.; Tikekar R.; Gallagher, D.; Lindsay, J. The *Listeria* market basket survey multi-institutional team, and Dennis, S. (2017) Survey for *Listeria monocytogenes* in and on Ready-to-Eat Foods from Retail Establishments in the United States (2010 through 2013): Assessing Potential Changes of Pathogen Prevalence and Levels in a Decade. *Journal of Food Protection*, 80 (6), 903–921. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-420.
- Maquieira, AM. (2011). *Hallazgos de Listeria monocytogenes en Quesos Artesanales en Uruguay*. Trabajo Final de Carrera de Especialista en Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (CEICA), Universidad Buenos Aires, Argentina.
- Martinez-Rios, V. y Dalgaard, P. (2017). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. *Food Control* 84, 205-214.
- Martínez-Rios, V.; Gkogka E. y Dalgaard, P. (2020). Predicting growth of *Listeria monocytogenes* at dynamic conditions during manufacturing, ripening and storage of cheeses – Evaluation and application of models. *Food Microbiology* 92. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103578>
- Martino, T.; Leyva, V., Pérez; A., de los Reyes, A.; Suarez, F. y Lara, C. (2005). Determinación de *Listeria* spp. en quesos y embutidos comercializados en Cuba. *Revista Cubana Salud Pública*; 31(3), 217-22.
- Melo, J.; Andrew P.W.; Faleiro, M.L. (2015). Review *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. *Food Research International*, 67, 75–90.
- Merchán, A; Pineda, L.; Cárdenas A.; Otálora Ma. C. y Sanches Y. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. Recuperado de: <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>

- Ministerio de Salud Pública (MSP) (2015). *Guía nacional de vigilancia y control de enfermedades y eventos sanitarios de notificación obligatoria*. Ministerio de Salud Pública, División Epidemiología, Departamento de Vigilancia en Salud.
- Ministerio de Salud Pública (MSP) (2020). *Información Epidemiológica*. Ministerio de Salud Pública, División Epidemiología, Departamento de Vigilancia en Salud.
- Montel, Ma. C.; Buchin S.; Mallet A.; Delbes-Paus C.; Vuitton D.; Desmasures N. y Berthier F. (2014). Review Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology* 177, 136–154.
- Montevideo Portal, 2022. ASSEGURADAS. Se registraron 34597 nacimientos en todo el país durante 2021; 5823 en el Pereira Rossell. Montevideo: Montevideo Portal.  
Recuperado de: <https://www.montevideo.com.uy/Salud/Se-registraron-34597-nacimientos-en-todo-el-pais-durante-2021-5823-en-el-Pereira-Rossell-uc816072#:~:text=ASSEGURADAS-.Se%20registraron%2034597%20nacimientos%20en%20todo%20el%20pa%C3%ADs%20durante,5823%20en%20el%20Pereira%20Rossell>.
- Moreno Switt, A.; Barria, C.; Moncilla, M.; Singer, R. (2017). Informe N°4 *Programa de Buenas Prácticas en la Producción de Quesos Artesanales en la Región de los Ríos*. Proyecto financiado a través del Fondo de Innovación para la Competitividad Regional (FIC-R) del Gobierno Regional y su Consejo Regional. Valdivia, Chile.
- Mota, M.I.; Varela G. (2014). Brote Intrahospitalario de Listeriosis Neonatal. *XXII Congreso Latinoamericano de Patología Clínica, XV Congreso Uruguayo de Patología Clínica*, Punta del Este. Uruguay.
- Ocampo Ibáñez, I.; González, C.; Moreno, S.; Calderón C.; Flórez Elvira L.; Olaya Ma. B.; Rivera Sánchez S.; Lesmes Ma. C. (2019). Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali-Colombia. *Acta Agronómica*, 68 (2), 108-114. Universidad Nacional de Colombia. DOI: 10.15446/acag.v68n2.77185.  
Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169960781005>.
- Oliveira C.; Corassin C.; Lee S.; Goncalves B. y Barancelli G. (2017). Chapter 5. Pathogenic bacteria in cheese, Their Implications for human health and prevention strategies. Nutrients in dairy and their implications for health and disease *Main pathogenic bacteria in cheeses*. (pp 61-75). Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00005-X>
- Oliver, S. P.; Jayarao, B. M.; Almeida, R. A. (2005). Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens & Disease*, 2, 115-129.

- Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Mundial de la Salud (2004). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo*. Roma: FAO. Recuperado de: [https://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra4\\_es.pdf](https://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra4_es.pdf).
- Organización Panamericana de la Salud (2021). *Evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos. Guía para la implementación en los países*. Washington, D.C.  
Recuperado de: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/53292/9789275323250\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/53292/9789275323250_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Possas, A.; Bonilla-Luque, O.M.; Valero, A. (2021). From Cheese-Making to Consumption: Exploring the Microbial Safety of Cheeses through Predictive Microbiology Models. *Foods*.  
Recuperado de: [https://doi.org/10.3390/foods\\_10020355](https://doi.org/10.3390/foods_10020355).
- Pereira da Silva E., Pereira De Martinis, E. (2013). Current knowledge and perspectives on biofilm formation: the case of *Listeria monocytogenes*. *Applied Microbiology Biotechnology* 97, 957–968.
- Pouillot, R.; Hoelzer, K.; Chen Y.; Dennis S. (2015). *Listeria monocytogenes* Dose Response Revisited—Incorporating Adjustments for Variability in Strain Virulence and Host Susceptibility. *Risk Analysis*, 35 (1).  
Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/risa.12235>
- Rahimi, E.; Ameri, M.; Momtaz, H. (2010) Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*, 21, 1448–1452.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Recuperado de: <https://www.R-project.org/>
- Reda, W.; Abdel-Moein, K.; Hegazi, A. Mohamed Y., Abdel-Razik, K. (2016) *Listeria monocytogenes*: An emerging food-borne pathogen and its public health implications. *Journal of Infection in Developing Countries*; 10(2), 149-154.
- Ryser, E. T. (2011). *Listeria monocytogenes*. Michigan State University, USA. Elsevier, 2011.
- Santos B. (2017). Informe de evento Enfermedades Transmitidas por Alimentos, Colombia. Recuperado de: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ETA%202017.pdf>

- Serraino, A.; Finazzi, G.; Marchetti, G.; Damienlli, P.; Riu, R., Giacometti, F.; Losio, M.N. y Rosmini, R. (2013). Fate of *Listeria monocytogenes* during production and storage of artisan water buffalo mozzarella cheese. *Journal of Food Science*, 25.
- Seyoum E., Woldetsadik D., Mekonen T., Gezahegn H., Gebreyes W. (2015). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw bovine milk and milk products from central highlands of Ethiopia. *J Infect Dev Ctries* 2015; 9(11), 1204-1209. doi:10.3855/jidc.6211.
- Tejera, D, Alonso, F, Silva, M, Modernel, J, Limongi, G, Bertullo, M, Villalba, F y Cancela, M. (2015.). Listeriosis Invasiva en Unidades de Terapia Intensiva. Revisión de una serie de casos. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2 (1). 8. Recuperado de: <https://hdl.handle.net/20.500.12008/30694>
- UNICEF Uruguay (2013). Crecer Guía para la familia sobre el embarazo y la primera infancia. Montevideo, Uruguay: *El País*, Núm. 02 de 15.
- Uruguay. (1994, julio 05). Decreto 315/994: Reglamento bromatológico nacional. Montevideo: IMPO. Recuperado de: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994>
- Uruguay. (2004, agosto 03). Decreto 274/004. Modificación al reglamento bromatológico nacional. Leche cruda. Quesos Artesanales. Montevideo: IMPO. Recuperado de: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/274-2004#2>
- Uruguay (2003, febrero 17). Decreto 65/003. Reglamentación de las exigencias para productores de quesos artesanales, acopiadores y transformadores de quesos. Montevideo: IMPO. Recuperado de: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/65-2003>
- Uruguay (2021). Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), Dirección de estadísticas Agropecuarias (DIEA). *Anuario Estadístico Agropecuario*. Recuperado de: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agriculturapesca/comunicacion/publicaciones/anuario-estadistico-agropecuario-2021>
- Vidal, A. y Tur, B. (2020). *Primera exploración de Listeria monocytogenes en refrigeradores domésticos de la ciudad de Montevideo* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Wemmenhove, E.; van Valenberg H.J.F.; van Hooijdonk, A.C.M.; Wells-Bennik, M.H.J.; Zwietering, M.H. (2018) Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in nature ripened Gouda cheese: A major role for undissociated lactic acid. *Food Control*, 84, 413-418.

WHO, World Health Organization (2015). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. <https://www.who.int/health-topics/food-safety>

Recuperado de:

[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1)

Zafar N., Nawaz Z., Qadeer A., Anam S., Kanwar R., Mudassar M., Tariq Javid M., Zafar A. and Tariq A. (2020). Prevalence, molecular characterization and antibiogram study of *Listeria monocytogenes* isolated from raw milk and milk products. *Pure Appl. Biol.*, 9(3): 1982-1987.

Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2020.90211>

## ANEXO 1- Planilla de Encuesta a productores

Relevamiento de proceso productivo y condiciones de maduración – Datos de Predios						
Ver encuesta Proyecto QA Para predios no visitados por proyecto	<b>1. DATOS GENERALES</b>					
	Nombre del Resp./Titular:		Fecha relevamiento:			
	Apellido del Resp./Titular:		DICOSE (Principal)			
	Nombre del 2do a cargo:		DICOSE (otro)			
	Apellido del 2do a cargo:		Habilitación (S/N)			
	Teléfono (principal):		Matricula			
	Teléfono:		Refrendación (S/N)			
	Correo electrónico:		" (última fecha)			
Localización/Ubicación:						
<b>2. CARACTERIZACION DEL ESTABLECIMIENTO, SUS INSTALACIONES Y PROCESOS</b>						
<b>a. Producción</b>						
Ver encuesta Proyecto QA Para predios no visitados por proyecto		Muy chico	Chico	Mediano	Grande	Muy Grande
	Lts/ día (Dec.Jur_2017)					
	Último ejercicio	<300	300-500	500-1000	1000-2000	>2000
	marcar 1 sólo					
Leche elaborada anual (litros):						
<b>b. Productos</b>						
Forma (cuadrado, rectangular, esférico, etc)	Tipo	Semiduro	Colonia	Cuajada	Dambo	Otros
	Peso promedio (kgs)					
	Cantidad (% de total)					
<b>c. Proceso</b>						
¿Realiza estandarización de materia grasa?		S/N	No realizarla		LA MAYORIA NO ESTANDARIZA	
¿Realiza control de acidez en leche?		S/N				
¿La leche recibe algún tratamiento?		S/N	Leche cruda:		Termizada (T °C / tiempo):	
Control de T°C de Leche en tina durante proceso		S/N	Pasteunzada (° / tiempo):		¿Cómo? Frecuencia?	
Tipo-Marca de fermento utilizado: suero fermento, directo, no utiliza						
Cantidad/proporción:		Aprox. 1%				
Acidez:		Medir la acidez al suero fermento antes de agregarlo a la leche. Practica para elaboración de SD.				
¿Otros agregados? Cloruro de Ca, Nitratos?		S/N	¿Cuanto?			
Agrega nitrato de sodio o sal nitro		S/N	S > Dosis		Max. 20 g/L leche	
¿Realiza control de acidez antes de coagulante?		S/N			Max. 20° Dornic	
¿Realiza algún agregado de acidulante?		S/N	¿Cual y cuanto?			
¿Tipo de cuajo? Bovino, genético, microbiano Marca y proporción:		S/N				
Temperatura de agregado						
Tiempo de acción						
Corte de cuajada. Tiempo:						
Tamaño de gránulo según tipo de queso						
Desuerado: % de suero extraído						
Temperatura de cocción		°C y tiempo				
<b>Moldeo. ¿Realiza control de acidez a salida de prensa?</b>		S/N				
<b>Prensado. Cantidad de vueltas</b>						
Presión. Tiempo						
<b>Oreo previo a salmuera</b>		S/N				
Presión. Tiempo						

		<b>c1. Semiduros</b>			
	<b>Salado. Tiempo y "Boume</b>				
Ver encuesta Proyecto QA	Mide y corrige temp. de salmuera	S/N( + -)	S > temp.prom.		
Ver encuesta Proyecto QA	e y corrige cc de sal de salmuera	S/N	S > Cada cuanto?		
Ver encuesta Proyecto QA	Renueva la salmuera ?	S/N	S > Cada cuanto? Meses		
	Rotación. Agregado de Sal seca?	S/N			
	Algún tratamiento desp. de salado	S/N			
	<b>Oreo. Tiempo y temperatura</b>	°C	Tiempo:		
	Algún tratamiento en oreo	S/N			
	<b>Maduración</b>				
Ver encuesta Proyecto QA	¿se sótno/cámara de maduración	S/N	Separado de salmuera?	S/N	
	Cuenta con Equipo de frío/aire acondicionado	S/N	S > temp.prom.		
	Tratamiento de corteza en maduración	S/N			
	Trapeado con salmuera	S/N	Cada cuanto		
	Antihongos. Nombre	S/N	A cuantos días:	Proveedor	
	Plastificante. Nombre	S/N	A cuantos días:	Proveedor	
	Pintura. Nombre	S/N	A cuantos días:	Proveedor	
	Cuántas manos de cada uno				
Ver encuesta Proyecto QA	Temp. controlada	S/N			
Ver encuesta Proyecto QA	Temp. de maduración fría	°C	Tiempo:	% Humedad:	
Ver encuesta Proyecto QA	Tiempo entre elaboración y venta	Días			
Ver encuesta Proyecto QA	Tiempo óptimo para su consumo	Días			
Ver encuesta Proyecto QA	Sabe cuál es la vida útil ?	S/N	Cuál es la vida útil ?	Días	
Ver encuesta Proyecto QA	Precio a la venta (\$U/Kg)				Se conoce al realizar la compra
<b>c. Venta: para estimar tiempo hasta el momento del consumo (Ver si amerita)</b>					
	Donde comercializa?	A intermediario en predio		Intern. fuera de predio	
		Fuera del predio (venta directa)		Feria tradicional	
		Remate		Otro	
<b>3.- MUESTREO</b>					
<b>a. Quesos</b>					
		SD	Colonia		
	Tipo				
	Nº Hormas				
	Cant. Muestras				
	Fecha Elabora.				
	Fecha Muestreo				
Comentario final productor:					
Firma de responsable:					
Documento desarrollado en base a información aportada por Tec. Lec. Ronny Pelaggio y Walter Gugelmeier					

## ANEXO 2- Protocolo de retiro de muestras



Montevideo 20 de mayo de 2020

### Protocolo para el retiro de muestras de queserías artesanales en el marco de tesis de maestría

Dada la situación actual de emergencia sanitaria por el Covid – 19 y respetando todas las recomendaciones dadas por las autoridades competentes, es que planteamos realizar el retiro de las muestras para realizar la siguiente tesis de maestría: “Evaluación a la exposición de *Listeria monocytogenes* por consumo de quesos artesanales en Uruguay y efecto de medidas para su mitigación”.

Para cumplir con uno de los objetivos específicos de dicha maestría, es necesario contar con 5 hormas de quesos de cada establecimiento, elaborados el mismo día: semiduro y tipo Colonia. De esta forma se evaluarán parámetros fisicoquímicos a diferentes tiempos de maduración.

Se concurrirá con previa coordinación al sitio previamente pautado para retirar las muestras que serán compradas al productor. Las mismas serán entregadas, de ser posible, en el exterior de cada quesería.

El muestreo se realizará conforme a las medidas descriptas en la “Guía de medidas de protección para extensionistas del proyecto Ganadería y Clima durante las visitas a predios participantes” del MGAP, que entendemos se ajustan a nuestra realidad.

<https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/noticias/Guia%20medidas%20de%20protecci%C3%B3n%20Covid%2019.pdf>

En función de lo anterior, se procederá:

- a seleccionar predios que elaboren quesos Colonia, Semiduro o ambos.
- a contactar telefónicamente a los responsables de los predios posibles de ser muestreados para conocer su situación. De esta forma se respetará aquellos que estén dentro de la población vulnerable y/o quienes estén efectuando cuarentena obligatoria.

- a coordinar con ellos la visita para el retiro/compra de los quesos e ir una vez a retirar cada tipo de queso.
- la visita será realizada con dos personas como máximo en buen estado de salud (sin resfrío ni tos) y que no hayan tenido contacto con personas sospechosas.
- a prepararse adecuadamente para el intercambio: se dispondrá de implementos, como alcohol gel e indumentaria adecuada: tapabocas, ropa de maga larga, sin elementos metálicos, etc.
- a trasladarse en vehículos institucionales previamente desinfectados, evitando así el transporte público, higienizando las superficies de mayor contacto con alcohol al 70°C para su desinfección.
- a respetar el distanciamiento social recomendado
- a lavarse las manos o desinfectarse con alcohol 70°C luego de tocar cualquier objeto o superficie
- a desinfectar los zapatos previos a la entrada y cubrirse la ropa con túnica descartable o túnica limpia reservada para tal fin, si es necesario ingresar a zona que pertenece al establecimiento.
- a coordinar y gestionar el pago con el responsable de la entrega de las muestras para minimizar el contacto (solicitar comprobante de dicho pago)
- a desinfectar la superficie de los envases de las muestras con desinfectante en aerosol, antes de colocarlas en el vehículo.