

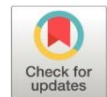


## Impacto de las bacterias psicotróficas en la calidad microbiológica y la vida útil de la leche refrigerada: una revisión sistemática de la evidencia científica

*Impact of psychrotrophic bacteria on the microbiological quality and shelf life of chilled milk: a systematic review of the scientific evidence*

- <sup>1</sup> Jorge Alfredo Arcentales Morocho  <https://orcid.org/0009-0001-4199-1651>  
Universidad Católica de Cuenca (UCACUE), Cuenca, Ecuador.  
Bioquímico Farmacéutico  
[jorge.arcentales.36@est.ucacue.edu.ec](mailto:jorge.arcentales.36@est.ucacue.edu.ec)
- <sup>2</sup> Jonnathan Gerardo Ortiz  <https://orcid.org/0000-0001-6770-2144>  
Universidad Católica de Cuenca (UCACUE), Cuenca, Ecuador  
Bioquímico Farmacéutico (Laboratorio Clínico Molecular).  
[jonnathan.ortiz@ucacue.edu.ec](mailto:jonnathan.ortiz@ucacue.edu.ec)



### Artículo de Investigación Científica y Tecnológica

Enviado: 13/03/2026

Revisado: 09/04/2026

Aceptado: 27/05/2026

Publicado: 18/06/2026

DOI: <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v9i2.3695>

Cítese: Arcentales Morocho, J. A., & Gerardo Ortiz, J. (2026). Impacto de las bacterias psicotróficas en la calidad microbiológica y la vida útil de la leche refrigerada: una revisión sistemática de la evidencia científica. *Anatomía Digital*, 9(2), 152-169. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v9i2.3695>



ANATOMÍA DIGITAL, es una Revista Electrónica, Trimestral, que se publicará en soporte electrónico tiene como misión contribuir a la formación de profesionales competentes con visión humanística y crítica que sean capaces de exponer sus resultados investigativos y científicos en la misma medida que se promueva mediante su intervención cambios positivos en la sociedad. <https://anatomiadigital.org>  
La revista es editada por la Editorial Ciencia Digital (Editorial de prestigio registrada en la Cámara Ecuatoriana de Libro con No de Afiliación 663) [www.celibro.org.ec](http://www.celibro.org.ec)

Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 International. Copia de la licencia: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons en la 4.0

International. Copia de la licencia:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**Palabras claves:**

Autot Bacterias  
psicrotróficas; leche  
refrigerada; calidad  
microbiológica; vida  
útil; deterioro  
microbiológico;  
enzimas  
termoestables;  
Pseudomonas spp.

**Keywords:**

Psychrotrophic  
bacteria;

**Resumen**

**Introducción:** la disminución de la calidad microbiológica de la leche refrigerada es uno de los principales desafíos que enfrenta la industria actual, además los potenciales riesgos para la salud sino también por los efectos económicos y tecnológicos que tiene en la cadena de producción. **Objetivos:** en el vigente estudio tiene como objetivo analizar como las bacterias psicrotróficas que influyen en la calidad microbiológica y en la vida útil de la leche refrigerada, tanto leche cruda como pasteurizada. Estas bacterias poseen la capacidad de crecer a bajas temperaturas y producen enzimas termoestables que afectan las proteínas y grasas de la leche, lo que provoca su deterioro incluso después de tratamientos térmicos como la pasteurización. **Metodología:** se realizó una revisión sistemática de artículos científicos publicados entre los años 2015 y 2025, lo cuales se consultó en bases de datos indexadas como *SciELO*, *Scopus*, *PubMed* y *Science Direct*. La elección se efectuó mediante criterios de inclusión y exclusión previamente definidos, por esta razón se consideró estudios originales relacionados con bacterias psicrotróficas en la leche cruda refrigerada y enzimas termoestables las cuales son las que deterioran la leche. Sin embargo, después del proceso de evaluación se incluyeron 14 investigaciones para el análisis final. **Resultados:** los resultados evidenciaron que el género *Pseudomonas* especialmente *Pseudomonas fluorescens*, este fue el microorganismo más frecuente, se reportan recuentos bacterianos elevados durante el almacenamiento en frío y la producción de proteasas y lipasas termoestables las cuales son las responsables de proteólisis, lipólisis y alteraciones sensoriales. **Conclusiones:** se concluye que la refrigeración por sí sola no garantiza la estabilidad del producto, por lo tanto, es fundamental reforzar las prácticas de higiene y el control en toda la cadena láctea para proteger y cuidar la calidad y así prolongar una vida útil del producto. **Área de estudio general:** Ciencias en la Salud. **Área de estudio específica:** Microbiología de Alimentos. **Tipo de artículo:** Revisión Bibliográfica sistemática.

**Abstract**

**Introduction:** the decrease in the microbiological quality of refrigerated milk is one of the main challenges facing the

refrigerated milk;  
microbiological  
quality; shelf life;  
microbiological  
deterioration;  
thermostable  
enzymes;  
*Pseudomonas* spp.

current industry, in addition to the potential health risks but also due to the economic and technological effects it has on the production chain. **Objectives:** The current study aims to analyze how psychrotrophic bacteria influence the microbiological quality and shelf life of refrigerated milk, both raw and pasteurized milk. These bacteria could grow at low temperatures and produce thermostable enzymes that affect the proteins and fats in milk, causing them to deteriorate even after heat treatments such as pasteurization. **Methodology:** A systematic review of scientific articles published between 2015 and 2025 was conducted, which was consulted in indexed databases such as SciELO, Scopus, PubMed, and ScienceDirect. The choice was made using previously defined inclusion and exclusion criteria, for this reason original studies related to psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk and thermostable enzymes were considered, which are those that deteriorate milk. However, after the evaluation process, 14 investigations were included for the final analysis. **Results:** The results showed that the genus *Pseudomonas*, especially *Pseudomonas fluorescens*, was the most frequent microorganism, high bacterial counts are reported during cold storage and the production of thermostable proteases and lipases, which are responsible for proteolysis, lipolysis, and sensory alterations. **Conclusions:** It is concluded that refrigeration alone does not guarantee the stability of the product, therefore it is essential to reinforce hygiene practices and control throughout the dairy chain to protect and care for quality and thus prolong the shelf life of the product. **General area of study:** Health Sciences. **Specific area of study:** Food Microbiology. **Type of article:** Systematic bibliographic review.

## 1. Introducción

La disminución de la calidad microbiológica de la leche refrigerada es uno de los principales desafíos que enfrenta la industria actual, además los potenciales riesgos para la salud sino también por los efectos económicos y tecnológicos que tiene en la cadena de producción (1)(2), el alimento es muy nutritivo que contiene proteínas de alto valor biológico como lactosa, lípidos, vitaminas y minerales, lo que lo convierte en el sustrato

perfecto para el crecimiento microbiano (3). En el momento de la demanda, este producto puede contaminarse con diversos microorganismos del ambiente como el agua de limpieza, la piel del animal e incluso del propio cuerpo del manipulador. Es una estrategia comúnmente utilizada para contaminarse y lo que provoca el crecimiento bacteriano además no elimina por completo el riesgo de proliferación microbiana, especialmente cuando hay bacterias patógenas presentes que pueden multiplicarse a bajas temperaturas (4). La mayoría de las bacterias psicrófilas crecen en condiciones de almacenamiento entre 2 y 7 °C, sin embargo, las bacterias psicrófilas dominan la microbiota de la leche refrigerada lo que provoca cambios progresivos en el producto lácteo.

Estas bacterias no necesariamente poseen una temperatura óptima de crecimiento en valores bajos, presenta la capacidad de multiplicarse en ambientes fríos lo que asigna una ventaja competitiva frente a otros microorganismos, como resultado en el tiempo de almacenamiento la microbiota de la leche cruda refrigerada tiende a estar dominada por este grupo microbiano que generalmente altera progresivamente la calidad del producto (5).

Entre los géneros frecuentes que se asocian en el deterioro de la leche refrigerada se encuentran *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Aeromonas spp.*, y diversos de la familia *Eterobacteriace*, las *Pseudomonas* ha sido reconocida por su alta producción de enzimas extracelulares con actividad proteolítica y lipolítica, estas enzimas son secretadas y actúan sobre los principales componentes de la leche, como la caseína y los triglicéridos lo cual provoca la degradación de proteínas y grasas (6).

Estas enzimas tienen una relevante característica de su estabilidad térmica ya que puede resistir tratamientos térmicos convencionales incluidos la pasteurización, aun cuando el proceso térmico elimine las células bacterianas viables, las enzimas que se produjeron pueden permanecer activas y continuar afectando la calidad del producto final (7).

La acción proteolítica lleva a la hidrólisis de las caseínas, la cual altera la estructura coloidal de la leche y afecta también su estabilidad, como consecuencia se puede ver fenómenos como la coagulación prematura, la formación de sedimentos o la disminución de la capacidad de gelificación de productos derivados. Por otro lado, la actividad lipolítica llega a producir la liberación de ácidos grasos libres los cuales son responsables de sabores y olores no deseados comúnmente conocido como rancidez (8).

Estos cambios afectan a muchas propiedades de la leche como sensoriales y también a las características tecnológicas de la leche comprometiendo su aptitud para la elaboración de derivados como quesos, yogures y leches fermentadas.

El tamaño del problema se incrementa cuando se considera que la leche cruda puede permanecer almacenada durante varias horas o incluso días antes de su procesamiento industrial, lo cual depende también de las condiciones logísticas y del transporte (9).

Durante este periodo, incluso bajo refrigeración las bacterias psicrotróficas pueden afectar concentraciones elevadas si las prácticas de higiene no son estrictas o si existe problemas en la cadena de frío.

Diversos estudios señalan que una alta carga inicial de bacterias psicrotróficas se correlaciona con una reducción significativa de la vida útil del producto pasteurizado, debido a que existe una acumulación de enzimas termoestables, de esta manera el problema no solo limita únicamente a la leche cruda, sino en este caso se extiende a los productos procesados afectando la percepción del consumidos y la competitividad del sector (10).

Desde una visión económica el daño apresurado de la leche implica pérdidas considerables para los productores e industrias, también la disminución de la vida útil se traduce en devoluciones, descartes y una reducción del tiempo de comercialización lo que afecta directamente a los ingresos.

Por lo tanto, puede afectar también la presencia de defectos sensoriales a la reputación de la marca y disminuir la confianza del consumidor, además en los mercados cada vez son más exigentes donde la calidad e inocuidad alimentaria son prioridad y el control de la microbiota psicrotrófica se convierta en un aspecto estratégico para garantizarla sostenibilidad del mismo producto (11).

En su contorno sanitario la mayoría de las bacterias psicrotróficas afiliadas al deterioro no son necesariamente patógenas, algunas especies pueden representar un riesgo potencial especialmente cuando se trata de leche destinada a gente vulnerable, por lo tanto y genera metabolitos indeseables que llega afectar la calidad nutricional del producto afecta la degradación de componentes lácteos, por lo tanto es recomendable aplicar las buenas prácticas de manufactura son elementos esenciales dentro de los programas de calidad (12).

La inspección de las bacterias psicrotróficas debe abordarse de manera íntegra considerando a todas las etapas de la cadena láctea, en el nivel primario debe tener condiciones adecuadas de higiene durante el ordeño, asegurando la limpieza y desinfección de los equipos, utilizando agua limpia y de calidad garantizando un enfriamiento rápido e inmediato de la leche. En el transporte y almacenamiento es prioridad mantener las temperaturas constantes y evitar cambios que favorezcan el crecimiento microbiano como también a nivel industrial la implementación de sistemas de análisis de peligro y punto crítico de control que contribuye e identifica los riesgos asociados.

En esta circunstancia, la presente revisión sistemática se plantea como una herramienta para sintetizar y analizar críticamente la certeza científica disponible sobre el impacto de las bacterias psicrotróficas en leche cruda refrigerada. La consulta se realizó en bases de datos como *PubMed*, *Scopus*, *SciELO*, *ScienceDirect* y *Google Scholar* estas bases de datos nos permitió recopilar estudios relevantes que abordan tanto la caracterización microbiológica como las consecuencias tecnológicas y económicas del deterioro del

producto. El análisis conjunto con la información facilita la comprensión de los factores que influyen en la proliferación de estos microorganismos, además en la producción de enzimas termoestables, así como las estrategias más efectivas para su control.

Entender la dinámica de las bacterias psicrotróficas en la leche refrigerada no solo contribuye al fortalecimiento del conocimiento científico, sino también ofrece fundamentos técnicos para la toma de decisiones en el sector productivo. La optimización de las prácticas de manejo, el desarrollo del método de detección y mejora continua de los procesos de refrigeración representan líneas de acciones prioritarias para preservar la calidad microbiológica y tecnológica de la leche (13).

## 2. Metodología

Incluirá un párrafo donde se incluya el diseño, tipo, nivel y modalidad de investigación, métodos, procedimientos y técnicas de investigación. El presente trabajo se desarrolla como una revisión bibliográfica de tipo sistemática, ya que integra información científica actual para analizar el comportamiento de las bacterias psicrotróficas en la leche refrigerada y su impacto en la vida útil del producto. Este enfoque permite reunir, comparar y sintetizar resultados de estudios publicados en bases de datos académicas reconocidas.

### *Elaboración de la pregunta PICO*

*P – Población / Problema:* leche refrigerada (cruda y pasteurizada).

*I – Intervención / Exposición:* presencia y crecimiento de bacterias psicrotróficas.

*C – Comparación:* condiciones de almacenamiento adecuadas contra las prácticas que favorecen el crecimiento psicrotrófico (o leche con baja presencia vs. alta presencia de psicrotróficas).

*O – Outcome / Resultado:* impacto en la vida útil y en la calidad fisicoquímica y sensorial del producto lácteo.

*Pregunta:* ¿Cómo influye la presencia y proliferación de bacterias psicrotróficas en leche refrigerada (cruda y pasteurizada), en comparación con condiciones de almacenamiento controladas o con baja carga microbiana, sobre la vida útil y la calidad fisicoquímica y sensorial del producto lácteo?

### *Criterios de búsqueda y selección de bibliografía*

Para la recopilación de información se utilizaron diversos buscadores académicos y bases de datos indexadas, entre ellas: SciELO, Scopus, Latindex, PubMed, ScienceDirect. Se emplearon palabras clave relacionadas con el tema, tales como:

“leche refrigerada”, “bacterias psicrotróficas”, “enzimas termoestables”, “*Pseudomonas* spp.”, “deterioro microbiano de la leche”, “vida útil de la leche”, “calidad microbiológica”.

Las estrategias de búsqueda se complementaron con operadores booleanos, como: AND (psicrotróficas AND leche refrigerada), OR (proteasas OR lipasas termoestables), NOT

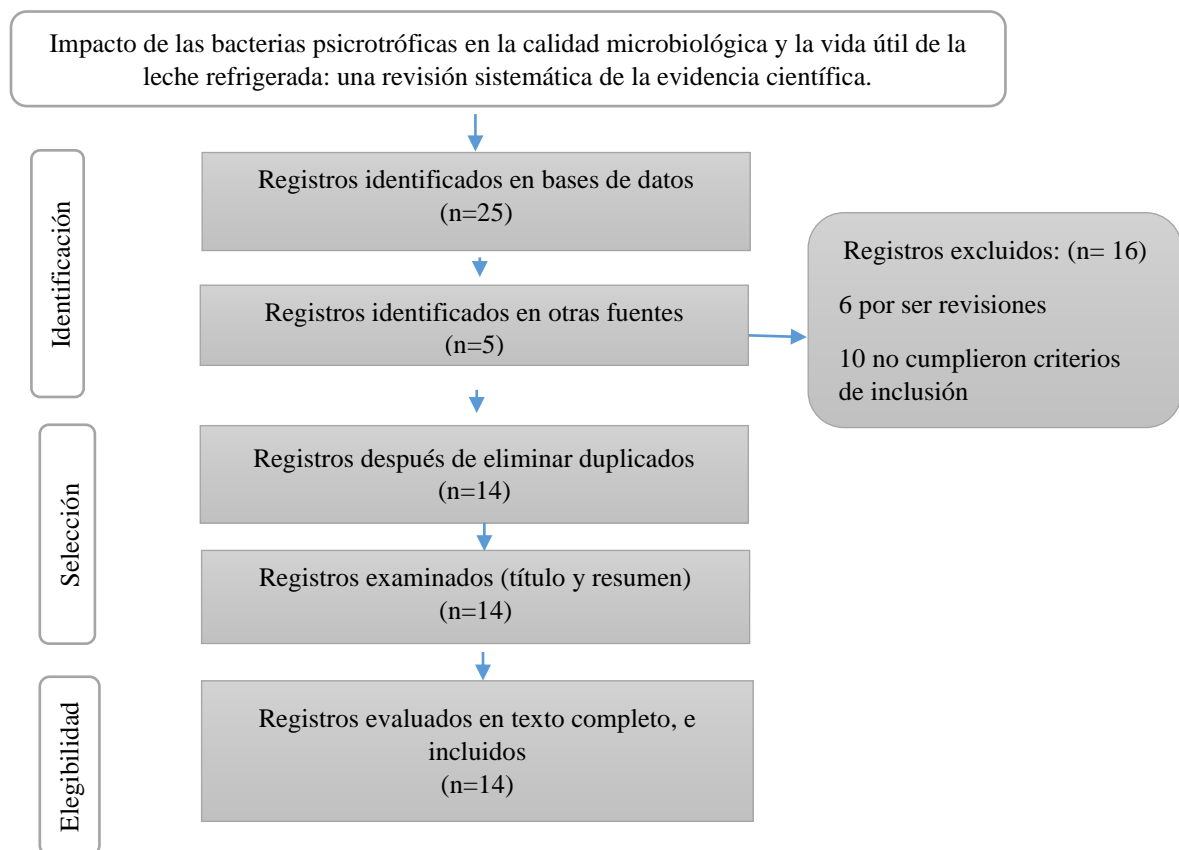
(NOT enfermedades zoonóticas, para eliminar resultados no pertinentes). Uso de comillas para búsquedas exactas (“psychrotrophic bacteria in milk”) (**Figura 1**).

*Criterios de inclusión*

- Artículos publicados entre 2015 y 2025.
- Estudios disponibles en texto completo.
- Investigaciones indexadas en bases confiables.
- Trabajos que aborden deterioro microbiano, enzimas termoestables o calidad de leche refrigerada.
- Publicaciones en español e inglés.

*Criterios de exclusión*

- Artículos duplicados en distintas bases.
- Estudios relacionados con microorganismos no psicrotróficos.
- Documentos sin respaldo científico o sin revisión por pares



**Figura 1.** Metodología de selección de estudios

El análisis conjunto de los estudios seleccionados evidencia que las bacterias psicrotróficas representan el principal factor microbiológico asociado al deterioro de la leche refrigerada, tanto en su estado crudo como después de procesos térmicos (14)(15)(16). La mayoría de las investigaciones incluidas correspondieron a estudios

experimentales y observacionales realizados en diferentes regiones geográficas, entre las que destacan (14)(17), lo que permite una visión amplia y consistente del fenómeno en distintos sistemas de producción y procesamiento lácteo.

En relación con el tipo de muestra y la etapa de la cadena láctea, predominó el estudio de leche cruda bovina almacenada en refrigeración durante la producción primaria y el almacenamiento en tanques de enfriamiento (14)(15)(18)(19), aunque algunos trabajos abordaron leche pasteurizada y productos UHT durante etapas de procesamiento y almacenamiento. En todos los casos, la refrigeración, aun cuando se mantiene dentro de rangos considerados adecuados (entre 2 y 7 °C), no impidió el crecimiento de bacterias psicrotróficas (14)(18)(20)(21).

### 3. Resultados

Los resultados muestran un claro predominio del género *Pseudomonas*, particularmente *Pseudomonas fluorescens*, como el microorganismo más frecuentemente aislado en leche refrigerada (14)(15)(18)(19)(20)(21). En varios estudios, este género representó más del 80 % de los aislamientos (15)(20), alcanzando frecuencias cercanas al 94 % en muestras de leche cruda. Otros géneros identificados incluyeron *Acinetobacter*, *Aeromonas* (14), *Bacillus* (22), *Chryseobacterium*, *Empedobacter*, *Pantoea*, *Janthinobacterium* y *Flavobacterium* (22), aunque con menor frecuencia y distribución variable según el origen de la muestra y las condiciones de almacenamiento.

Cuando se reportaron recuentos bacterianos, estos oscilaron generalmente entre  $10^3$  y  $10^7$  UFC/mL, observándose un incremento progresivo asociado al tiempo de refrigeración (14)(21). Algunos estudios demostraron que incluso tras la pasteurización y las poblaciones residuales de bacterias psicrotróficas pueden sobrevivir y multiplicarse durante el almacenamiento refrigerado, especialmente cuando se presentan desviaciones de temperatura (16)(23).

En cuanto a los métodos de identificación, se evidenció el uso combinado de técnicas microbiológicas tradicionales y herramientas moleculares, como la amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA y la espectrometría MALDI-TOF MS (16)(23). Estas metodologías permitieron una identificación precisa de los microorganismos aislados y la selección de cepas con alto potencial deteriorador (24)(25)(26).

Un hallazgo consistente en la mayoría de los estudios fue la producción de enzimas extracelulares, principalmente proteasas y lipasas, por parte de las bacterias psicrotróficas aisladas (14)(24)(25)(26). Diversas investigaciones demostraron que estas enzimas presentan un alto grado de termoestabilidad, presento su actividad incluso después de tratamientos térmicos convencionales como la pasteurización y, en algunos casos, procesos UHT (16)(23)(24)(26). La actividad enzimática fue detectada a temperaturas de refrigeración (15)(21), lo que explica la continuidad del deterioro durante el almacenamiento.

Los principales efectos de deterioro reportados incluyeron proteólisis de la fracción proteica, lipólisis de la grasa láctea, aparición de sabores amargos o rancios, olores desagradables, cambios en la textura (14)(21)(23)(26), y disminución de la estabilidad del producto. Adicionalmente, algunos estudios señalaron la formación de biofilms y alteraciones fisicoquímicas como factores que intensifican la pérdida de calidad (20)(22). Finalmente, los resultados indican una relación directa entre la presencia de bacterias psicrotróficas, la producción de enzimas termoestables y la reducción de la vida útil de la leche refrigerada (16)(20)(21). Estos hallazgos confirman que el control de estas bacterias es un aspecto crítico para preservar la calidad microbiológica y tecnológica de la leche a lo largo de la cadena láctea (14)(15)(24).

En la **Tabla 1** se presenta una síntesis comparativa de los 14 estudios incluidos según la metodología PRISMA.

**Tabla 1.** Síntesis comparativa 14 estudios

No	Autor	País / región	Tipo de estudio	Tipo de muestra	Tamaño muestra	Tipo de leche / Etapa de cadena láctea.	Género Bacteriano	Métodos de identificación	Tipos de enzimas	Efectos de deterioro	Vida útil
1	Zhang et al. (2021) (1)	Irán 202	Estudio experimental cuantitativo de laboratorio.	Leche cruda fría y fresca refrigerada enriquecida hasta 5 días.	206 aislados bacterianos de leche fría refrigerada.	Leche cruda fresca refrigerada / Producción primaria, almacenamiento refrigerado previo al procedimiento.	Principalmente <i>Pseudomonas spp.</i>	MALDI-TOF MS para identificación de bacterias aisladas.	Proteasas y lipasas termoestables	Si es producida por proteasas y lipasas.	No Aplica.
2	Ribeiro et al. (2018) (2)	Brasil 2018	Experimental.	Leche cruda refrigerada.	Múltiples muestras de tanques de leche.	Cruda / Almacenamiento.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> y <i>aeromonas</i> .	Fenotípicos y moleculares.	Proteasas y lipasas	Proteólisis, lipólisis.	Reducción durante refrigeración.
3	Lampugnani et al. (2019) (3)	Brasil 2019	Experimental.	Leche cruda.	50 muestras de tanques de enfriamiento de granjas.	Cruda refrigerada / Producción primaria y almacenamiento.	<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Dominantes</i> .	Cultivo microbiológico tradicional más identificación molecular (PCR 16S) para <i>P.</i> fluorescens.	Proteasas	No aplica.	No aplica.
4	Zarei et al. (2023) (4)	Irán 2023	Experimental in vitro.	Leche cruda refrigerada.	Aislamiento bacteriano.	Cruda / Almacenamiento.	<i>Bacillus</i> .	Bioquímicos y moleculares.	Proteasas	Proteólisis y biofilm.	No aplica.

**Tabla 1. Síntesis comparativa 14 estudios (continuación)**

No	Auto r	País / región	Tipo de estudio	Tipo de muestra	Tamaño muestra	Tipo de leche / Etapa de cadena láctea.	Género Bacteriano	Métodos de identifica ción	Tipos de enzimas	Efectos de deterioro	Vida útil
5	Qin et al. (2024) (5)	China planta de producción de leche pasteurizada, Shaanxi 2024	Estudio experimental observacional aplicado una línea de producción real.	Leche cruda y leche procesada durante etapas de producción industrial.	363 muestras recolectadas en diferentes lugares de producción.	Cruda al inicio y pasteurizada en etapas de producción / Producción primaria, transporte de leche, planta de procesamiento, pasteurización.	<i>Pseudomonas spp.</i>	Secuenciación de 16s rDNA y análisis filogenético para selección representativa de cepas.	Proteasas y lipasas.	Cambios de pH.	No aplica.
6	Mayorga et al. (2024) (7)	Ecuador (PUCE, Quito). 2024	Estudio experimental observacional.	Leche cruda, pasteurizada y UHT.	No aplica.	Cruda, pasteurizada y UHT / Producción primaria, procesamiento y almacenamiento UHT.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Janthinobacterium</i> , <i>Flavobacterium</i> .	Aislamiento microbiológico y técnicas moleculares a nivel de especie.	Enzimas deterioradoras termoestables.	No aplica.	No aplica.
7	Rincón et al. (2016) (8)	Venezuela 2016	Estudio observacional experimental.	Cepas de <i>Aeromonas spp.</i> Aisladas.	120 cepas de <i>Aeromonas</i> (59 de <i>A. hydrophila</i> , 61 de <i>A. caviae</i> ) y hemaglutininas / Primaria.	Análisis en laboratorio de expresión e DNAsa, gelatinasa, aseinasa, lecitinasa hemolisinas y hemaglutininas / Primaria.	<i>Aeromonas spp.</i>	No reporta.	Pruebas fenotípicas para actividad de enzimas.	Caseña mal olor, sabor desagradable.	No aplica.
8	de Oliveira et al. (2015) (9)	Sudáfrica 2015	Estudio experimental observacional (aislamiento y caracterización microbiológica).	Productos lácteos locales con almacenamiento en frio; previo; aislamiento bacteriano y pigmentos.	18 aislados bacterianos psicrófilos pigmentos.	Productos lácteos y derivados / Almacenamiento en frio, procesamiento.	<i>Chryseobacterium spp.</i> y <i>Empedobacter spp.</i>	Análisis molecular y sistema BIOLOG para perfiles metabólicos relacionados con producción de enzimas hidrolíticas.	Proteasas y lipasas.	Implica actividades hidrolíticas de aislamiento psicotrófico pigmentado.	No aplica.

**Tabla 1. Síntesis comparativa 14 estudios (continuación)**

No	Autor	País / región	Tipo de estudio	Tipo de muestra	Tamaño muestra	Tipo de leche / Etapa de cadena láctea.	Género Bacteria	Métodos de identificación	Tipos de enzimas	Efectos de deterioro	Vida útil
9	Condé et al. (2022) (10)	Brasil (Minas Gerais). 2022	Estudio experimental observacional cuantitativo	Leche cruda refrigerada.	159 aislados bacterias caracterizadas. 46 seleccionadas para identificación detallada.	Cruda refrigerada / Recolección primaria y almacenamiento en frío en tanques a granel.	<i>Pseudomonas spp.</i>	Caracterización morfológica y bioquímica	Proteasas, lipasas y lecitinasa.	Si mediante la actividad proteolítica observada en varios aislados.	No aplica
10	Marchand et al. (2009) (11)	Brasil. 2009	Estudio experimental cuantitativo	Leche cruda pasteurizada refrigerada bajo diferentes condiciones de almacenamiento.	No aplica.	Pasteurizada refrigerada / Procesamiento de pasteurización y almacenamiento refrigerado hasta consumo.	<i>Pseudomonas spp.</i>	Bioquímicas y moleculares	Si permanecen activas en leche incluso después de tratamientos térmicos típicos como la pasteurización debido a psicotróficos resistentes.	Recubrimiento bacteriano total y producción enzimática que predicen deterioro.	Su vida útil es dependiente de si el almacenamiento es de 4 °C varia puede ser días.
11	Peretti et al. (2025) (12)	Brasil. 2025	Experimental.	Leche cruda refrigerada.	No aplica.	Leche cruda / Almacenamiento.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> .	Fenotípicos y bioquímicos.	Proteasas.	Degradación proteica.	No aplica.
12	Yuan et al. (2019) (13)	China. 2019	Experimental.	Leche cruda.	No aplica.	Leche cruda / Producción, almacenamiento.	<i>Pseudomonas spp.</i>	Bioquímicas moleculares MALDI-TOF.	Proteasas y lipasas.	Cambios sensoriales como su sabor y aroma y tecnológicos como la inestabilidad proteica e incremento de la lipólisis.	No aplica.
13	Yuan et al. (2018) (14)	China. 2018	Experimental invitro.	60 cepas.	No aplica.	Leche cruda / Almacenamiento	<i>Pseudomonas spp.</i>	Fenotípicos, y moleculares.	Proteasas y lipasas.	Proteólisis intensa, lipólisis.	No aplica.

**Tabla 1.** Síntesis comparativa 14 estudios (continuación)

No	Auto r	País / región	Tipo de estudio	Tipo de muestra	Tamaño mue stra	Tipo de leche / Etapa de cadena láctea.	Género Bacteriano	Métodos de identificaci ón	Tipos de enzimas	Efectos de deterioro	Vida útil
14	Martin et al. (2018) (19)	Brasil	Estudio experimental microbiológico y bioquímico	Leche cruda refrigerada.	No aplica	Leche cruda refrigerada / Almacenamiento primario.	<i>Pseudomonas (especificamente Pseudomonas fluorescens).</i>	Aislamiento microbiológico seguido de producción recombinante de genes.	Proteasa extracelular y lipasa extracelular.	Proteasa, caseína, contribuyen a la degradación proteica.	No aplica.

#### 4. Discusión

Los estudios que se analizaron coinciden en señalar a *Pseudomonas fluorescens* como el principal microorganismo psicotrópico asociado al deterioro de la leche cruda refrigerada (14)(19). Reportan una alta frecuencia de aislamiento de este microorganismo, superando el 80% en varios casos y alcanzando recuentos de hasta  $10^7$  UFC/mL durante el almacenamiento a 4-7°C (15)(18), además confirmaron el predominio de *Pseudomonas spp.* tanto en leche cruda como en plantas de procesamiento, evidenciando que su presencia no se limita a la producción primaria sino puede persistir durante el transporte y el procesamiento industrial (20)(21). Esta investigación demuestra que la problemática es consistente en distintos contextos geográficos y sistemas productivos.

En un vínculo con la actividad enzimática la mayoría de los autores reportan la producción de proteasas y lipasas termoestables como el principal mecanismo de deterioro de la leche cruda refrigerada (26).

Se caracteriza especialmente la proteasa AprX y la lipasa LipM producidas por *P. Fluorescens* confirmando su estabilidad térmica incluso después de los tratamientos de pasteurización.

En las investigaciones fueron evidenciadas que la resistencia enzimática es a 72°C durante 15 segundos (17), y por lo tanto Peretti et al. (12) demuestran que la pasteurización reduce la carga microbiana inicial (<2 log UFC/mL), y la actividad enzimática residual continúa afectando la calidad durante el almacenamiento refrigerado, especialmente bajo abuso térmico (8–10 °C) (16). También reforzaron este hallazgo al observar actividad enzimática residual incluso después de tratamiento UHT debido a que su impacto dañino no depende únicamente de la supervivencia bacteriana, sino de la persistencia de enzimas extracelulares (22).

Por lo tanto, *Pseudomonas fue* predominante, ya que algunos estudios ampliaron la diversidad microbiana que involucra e identifica especies de género *Bacillus*, destacando su actividad proteolítica y su capacidad de formación de biofilm (24).

Evaluaron factores de virulencia en *Aeromonas hydrophila* evidenciando la producción de enzimas como gelatinasa y caseinasa con precauciones sensoriales (mal olor y sabor desagradable) (25). Así como identificaron bacterias pigmentadas como *Chryseobacterium bovis* y *Empedobacter brevis* con un potencial hidrolítico que sugiere

que el deterioro está asociado a una comunidad microbiana más diversa, aunque con menor frecuencia que *Pseudomonas spp.* (27)(28)(29).

Existe un crecimiento progresivo entre 4- 7 °C especialmente entre las 48 horas y hasta 5 días de refrigeración reportando recuentos entre 3,0 y 7.1 log UFC/mL en leche cruda refrigerada (18), por otro lado se observa un crecimiento significativo entre 24 y 48 horas las cuales demostraron pequeñas variaciones térmicas entre (8–10 °C) que aceleran significativamente la producción enzimática y la reducción de la vida útil (16), también señala que la vida útil disminuye considerablemente después de 5 días de almacenamiento continuo, incluso bajo refrigeración (21).

Con respecto a los métodos de identificación se observa una evolución metodológica entre distintos estudios mencionados como importantes herramientas moleculares como secuenciación 16S rDNA y MALI-TOF MS (20), también emplearon principalmente la caracterización fenotípica y bioquímica, esta transición metodológica permitió una identificación más precisa a nivel de especie y una mejor comprensión del potencial enzimático específico de cada aislado (14).

## 5. Conclusión

- En conclusión, la revisión bibliográfica evidencia que los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* y *Enterobacter* se asocian con mayor frecuencia a la leche cruda y pasteurizada contribuyendo los principales responsables del deterioro microbiológico durante el almacenamiento refrigerado. La producción de enzimas proteolíticas y lipolíticas termoestables permanece activa tras la pasteurización y otros tratamientos térmicos, provocando cambios sensoriales, fisicoquímicos y microbiológicos que disminuyen la vida útil y la calidad del producto final. La refrigeración de la leche no constituye un método suficiente para inhibir el crecimiento de bacterias psicrótroficas, dependiendo de los factores como el tiempo prolongado de almacenamiento, las variaciones de temperatura la carga microbiana inicial y las deficiencias en las prácticas de higiene favorecen su proliferación, lo que provoca una negatividad en la calidad microbiológica del producto.

## 6. Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en relación con el artículo presentado.

## 7. Declaración de contribución de los autores

Todos autores contribuyeron significativamente en la elaboración del artículo.

## 8. Costos de financiamiento

La presente investigación fue financiada en su totalidad con fondos propios de los autores.

## 9. Referencias Bibliográficas

- (1) Zhang D, Palmer J, Teh KH, Flint S. Identification and selection of heat-stable protease and lipase-producing psychrotrophic bacteria from fresh and chilled raw milk during up to five days storage. *Lebenson Wiss Technology* [Internet]. 2021 [cited 2026Mar.10];134(110165). Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110165>
- (2) Ribeiro Júnior JC, de Oliveira AM, Silva F de G, Tamanini R, de Oliveira ALM, Beloti V. The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *Journal of Dairy Science* [Internet]. 2018 [cited 2026Mar.10];101(1):75-83. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13069>
- (3) Lampugnani C, Was MZ, Montanhini MTM, Nero LA, Bersot L dos S. Quantification of psychrotrophic bacteria and molecular identification of *Pseudomonas fluorescens* in refrigerated raw milk. *Arquivos Do Instituto Biológico* [Internet]. 2019 [cited 2026Mar.10]; 86:e1212018. Available from: <https://doi.org/10.1590/1808-1657001212018>
- (4) Zarei M, Elmi Anvari S, Maktabi S, Saris PEJ, Yousefvand A. Identification, proteolytic activity quantification and biofilm-forming characterization of Gram-positive, proteolytic, psychrotrophic bacteria isolated from cold raw milk. *PLoS One* [Internet]. 2023 [cited 2026Mar.10];18(9): e0290953. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0290953>
- (5) Qin X, Cheng J, Qiu Y, Guan N, Gupta TB, Wu S, et al. Characterization of psychrotrophic and thermotolerant bacteria in raw milk using a multi-omics approach. *Microbial Genomics* [Internet]. 2024 [cited 2026Mar.10];10(11). Available from: <http://dx.doi.org/10.1099/mgen.0.001311>
- (6) Chang G, Li Q, Wang T, Zhang B, Wu W, Lv C, et al. Characterization of *Pseudomonas* spp. contamination and in situ spoilage potential in pasteurized milk production process. *Food Research International* [Internet]. 2024 [cited 2026Mar.10];188(114463):114463. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114463>
- (7) Mayorga Estrella E, Marcial Coba MS. Detección de bacterias psicrotróficas y enzimas deterioradoras en leche cruda y procesada por Ultra Alta Temperatura (UHT) [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador PUCE, Quito, Ecuador] [Internet], 2024 [citado 2026Mar.10]. Disponible en: <https://repositorio.puce.edu.ec/items/93cb1325-6227-455f-aa49-5cc0bc01f3a4>
- (8) Rincón VG, Fuenmayor BA, Castellano GM, Barrios UR, Colina ChM, Nuñez FG. Factores de virulencia en cepas de aeromonas spp. *Kasmera* [Internet]. 7 de

- agosto de 2016 [citado 2026Mar.10];44(2):121-133. Disponible en: <https://www.produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/22504>
- (9) de Oliveira GB, Favarin L, Luchese RH, McIntosh D. Psychrotrophic bacteria in milk: How much do we really know? Brazilian Journal of Microbiology [Internet]. 2015 [cited 2026Mar.10];46(2):313-321. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246220130963>. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4507522/>
- (10) Condé PR, Pinto CL de O, Gandra SO, Campos RCAB, Silva RR da, Costa JF da, et al. Identification of the contaminating psychrotrophic bacteria in refrigerated bulked raw milk and the assessment of their deteriorating potential. Semina: Ciências Agrárias [Internet]. 2022 [cited 2026Mar.10];43(2):739-750. Available from: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/44325>
- (11) Marchand S, Vandriesche G, Coorevits A, Coudijzer K, De Jonghe V, Dewettinck K, et al. Heterogeneity of heat-resistant proteases from milk Pseudomonas species. International Journal of Food Microbiology [Internet]. 2009 [cited 2026Mar.10];133(1-2):68–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.027>
- (12) Peretti GA, Mallmann S, Peretti GL, De Dea Lindner J, Longhi DA, Galvão AC, et al. Modeling lipase and protease production by psychrotrophic bacteria in refrigerated pasteurized milk. International Dairy Journal [Internet]. 2025 [cited 2026Mar.10];167(106284). Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106284>
- (13) Yuan L, Sadiq FA, Burmølle M, Wang NI, He G. Insights into psychrotrophic bacteria in raw milk: a review. Journal of Food Protection [Internet]. 2019 [cited 2026Mar.10];82(7):1148-1159. Available from: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-032>
- (14) Yuan L, Sadiq FA, Liu T-J, Li Y, Gu J-S, Yang H-Y, et al. Spoilage potential of psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B [Internet]. 2018 [cited 2026Mar.10];19(8):630-642. Available from: <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.B1700352>
- (15) Gasparini GBFB, Amorim FR, de Souza Correa S, Bruzaroski SR, Fagnani R, de Souza CHB, et al. Psychrotrophs in raw milk: effect on texture, proteolysis index, and sensory evaluation of smoked provolone cheese. Journal of Science of Food and Agriculture [Internet]. 2020 [cited 2026Mar.10];100(8):3291-3296. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.10329>
- (16) Adams DM, Barach JT, Speck ML. Effect of psychrotrophic bacteria from raw milk on milk proteins and stability of milk proteins to ultrahigh temperature treatment. Journal of Dairy Science [Internet]. 1976 [cited

- 2026Mar.10];59(5):823-827. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84282-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84282-8)
- (17) Qin X, Cheng J, Qi X, Guan N, Chen Q, Pei X, et al. Effect of thermostable enzymes produced by psychrotrophic bacteria in raw milk on the quality of ultra-high temperature sterilized milk. *Foods* [Internet]. 2023 [cited 2026Mar.10];12(20):3752. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/foods12203752>
- (18) Hantsis-Zacharov E, Halpern M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology* [Internet]. 2007 [cited 2026Mar.10];73(22):7162–7168. Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00866-07>
- (19) Martin NH, Boor KJ, Wiedmann M. Symposium review: effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science* [Internet]. 2018 [cited 2026Mar.10];101(1):861–870. Available from: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13339>
- (20) Román S, Guerrero L, Pacheco L. Evaluación de la calidad físico química, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias* [Internet]. 2003 [citado 2026Mar.10];13(2). Disponible en: <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/14972>
- (21) de la Torres–Moreira JA, Montalvo–Lozada MA, Meza–Barrezueta JO, Rivadeneyra–Espín VG, Gallegos–Guerra KA, Villamarín KK. Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda en la industria láctea de Napo, Ecuador. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias* [Internet]. 2025 [citado 2026Mar.10];35(2):10. Disponible en: <https://www.produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/44050>
- (22) Morandi S, Pica V, Masotti F, Cattaneo S, Brasca M, De Noni I, et al. Proteolytic traits of psychrotrophic bacteria potentially causative of sterilized milk instability: genotypic, phenotypic and peptidomic insight. *Foods* [Internet]. 2021 [cited 2026Mar.10];10(5):934. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/foods10050934>
- (23) von Neubeck M, Baur C, Krewinkel M, Stoeckel M, Kranz B, Stressler T, et al. Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. *International Journal of Food Microbiology* [Internet]. 2015 [cited 2026Mar.10]; 211:57–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.001>
- (24) Quigley L, O’Sullivan O, Stanton C, Beresford TP, Ross RP, Fitzgerald GF, Cotter PD. The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews* [Internet]. 2013 [cited 2026Mar.10];37(5):664-698. Available from: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>

- (25) Wang X, Su B, Geng F, Liu Z, Liu X, Sun R, et al. Detection and identification approaches of psychrotrophic bacteria in raw milk and dairy products: a review. Food Chemistry [Internet]. 2026 [cited 2026Mar.10];498(Pt 2):147263. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.147263>
- (26) Machado SG, da Silva FL, Bazzolli DMS, Heyndrickx M, Costa PM de A, Vanetti MCD. Pseudomonas spp. and serratia liquefaciens as predominant spoilers in cold raw milk: predominant spoilers in cold raw milk. Journal of Food Science [Internet]. 2015 [cited 2026Mar.10];80(8):M1842-849. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12957>
- (27) Lu Y, Wu Q, Zhu L, Qin Y, Li A, Makalar PK, et al. Dairy spoilage enzymes: a review of impacts and diagnostic tools. Food Research International [Internet]. 2026 [cited 2026Mar.10];227(118272):118272. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2025.118272>
- (28) Tenecela Valencia EM, Ortiz Tejedor JG. Bacteriological analysis of raw milk sold in Tarqui-Ecuador. Anatomía Digital [Internet]. 2023Jul.20 [cited 2026Mar.10];6(3):116-31. Available from: <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i3.2619>
- (29) Lojano Collantes DJ, Quezada Córdova CF, Pacheco Cárdenas KE. Identifying staphylococcus aureus in goat milk delivered to markets in Cuenca – Ecuador. Anatomía Digital [Internet]. 2023Jun.1 [cited 2026Mar.10];6(2.1):6-17. Available from: <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i2.1.2569>

El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Anatomía Digital**.



El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Anatomía Digital**.

