

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Análisis microbiológico de crema de leche a la venta a granel en establecimientos de la Comarca Lagunera

Por:

MARIA GUADALUPE MARTINEZ HERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Análisis microbiológico de crema de leche a la venta a granel en establecimientos
de la Comarca Lagunera.

Por:

MARIA GUADALUPE MARTINEZ HERNANDEZ

TESIS

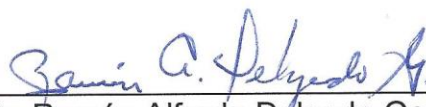
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


M.C. Margarita Y. Mendoza Ramos
Presidente


M.C. José Luis Corona Medina
Vocal


Dr. Ramón Alfredo Delgado González
Vocal


M.C. Cristina Esparza Alcalá
Vocal Suplente


MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Análisis microbiológicos de crema de leche a la venta a granel en establecimientos
de la Comarca Lagunera.

Por:


MARIA GUADALUPE MARTINEZ HERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


M.C. Margarita Y. Mendoza Ramos
Asesor Principal


M.C. José Luis Corona Medina

Coasesor


M.V.Z. Thelma Yadira Avalos López


MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019



AGRADECIMIENTOS

A Dios por todas las oportunidades de vida que me dio, por haberme dado la familia que supo sacarme adelante y por todas las bendiciones que me otorgó.

A Christian Hernandez Esquivel quien estuvo apoyándome en todo momento en las altas y en las bajas, por escucharme, darme los ánimos cuando más lo necesitaba, por haber cuidado y amado a nuestro hijo mientras yo estudiaba, Gracias.

A mi **“ALMA TERRA MATER”**

Quedando muy dentro de mi corazón por todo lo que me brindo y por formarme como profesional.

A mi asesora M.C. Margarita Yolanda Mendoza Ramos, por haberme brindado la confianza y paciencia para realizar este proyecto y por todos los conocimientos que me transmitió.

A M.V.Z. Thelma Yadira Alvalos López y M.V.Z Olivia García Morales por haberme dirigido en la realización de este proyecto y por todos los consejos y apoyo que me brindaron.

A mi compañera Ines Elizabeth Torres Ruiz por su calidez y compañerismos al compartir inquietudes, éxitos y fracasos durante la realización del estudio, por su permanente disposición y su desinteresada ayuda.

A mi compañero Uziel Iram Loya Martinez por acompañarme durante toda la carrera desde su inicio hasta su término, por el buen compañero y amigo que eres, por ser el apoyo técnico de la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

A mi madre Ana Luisa Hernandez Hernandez, quien nos defendió a capa y espada quien lucho junto conmigo, para que este gran logro se hiciera realidad, que nos costó gran trabajo y sacrificios, madre mía lo eres todo en nuestras vidas porque sin tí nada de esto hubiese pasado, eres la mejor madre del mundo y gran ejemplo a seguir, TE AMO MAMÁ.

A mi hijo Diego Esteban Hernandez Martinez, a quien le robe de su valioso tiempo para el cumplimiento de este trabajo, me impulsaste día a día para dar lo mejor de mi, por el amor incondicional que me brindaste desde tu llegada, este triunfo también es tuyo, ojalá un día que al igual que tú a mí, te inspire a dar lo mejor de ti. Te Amo hijo.

A mi padre Jose Hilario Agustín Martinez Rangel quien también, me brindo de su apoyo a lo largo de toda la carrera, gracias papá por la confianza que me brindaste.

A mis hermanas Ana Karen Martinez Hernandez y Dulce Paulina Martinez Hernandez, quienes también forman parte de este triunfo brindándome apoyo físico y emocional cuando más lo necesitaba.

RESUMEN

En la Comarca Lagunera la crema de leche suele ser expedida a granel, lo que la posiciona en un alto riesgo de contaminación, por la deficiencia de las buenas prácticas de manejo e higiene y por la inadecuada temperatura en que se oferta la crema, es por lo cual se decidió evaluar, la calidad sanitaria.

Se recolectaron 25 muestras de crema de leche, al azar en distintos establecimientos de la Comarca Lagunera, las cuales fueron procesadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Para la evaluación de la calidad sanitaria, se utilizaron como indicadores los coliformes totales, coliformes fecales y mesófilos aerobios y siendo la *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*, los patógenos responsables de la mayoría de los brotes de ETAs, se realizó su identificación en cada una de las muestras.

Los resultados obtenidos por la investigación indicaron un alto grado de contaminación, ya que en el 56% de las muestras analizadas sobrepasaron el conteo de mesófilos aeróbicos establecido por las normas oficiales mexicanas. Por otro lado, se obtuvieron niveles más bajos en coliformes totales y fecales con solo el 8% de presencia, lo cual indica que las condiciones en las que se elabora la crema fueron adecuadas. Un dato relevante en la investigación es que en el 40% de las muestras evaluadas se encontró la presencia de *Salmonella spp*, patógeno responsable de alta morbilidad y mortalidad especialmente en menores, lo que pone de manifiesto el riesgo que esto representa para la salud pública, lo más probable es que este elevado número de presencia se debe a la existencia de portadores asintomáticos entre los manipuladores.

Palabras clave: Crema de leche, Contaminación de alimentos, Calidad Sanitaria, ETAs, Portadores asintomáticos.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	3
HIPÓTESIS	5
OBJETIVOS	5
Objetivo general	5
Objetivo Específico	5
MARCO TEÓRICO	6
Inocuidad Alimentaria	6
Buenas prácticas en producción	6
Sistemas de aseguramiento de la inocuidad alimentaria	7
Codex Alimentarius	7
Codex Higiene de los alimentos	8
Sistema HACCP	8
Programa GFSI	9
ESPECIFICACIONES SANITARIAS DE LECHE Y CREMA DE LECHE	9
Leche	9
Especificaciones microbiológicas en leche	10
Crema de leche	10
Características fisicoquímicas de crema de leche	11
Especificaciones microbiológicas	11
Riesgo de contaminación	12
Indicadores	13
Mesófilos Aerobios	14
Coliformes totales	14
Coliformes fecales	15

Principales Microorganismos causantes de ETAs, que se encuentran en crema de leche.....	15
<i>Escherichia Coli</i>	16
<i>Salmonella spp</i>	17
Salmonellosis	18
<i>Salmonella typhi</i> (Fiebre entérica)	18
Manifestaciones clínicas	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	19
Mecanismo de propagación.....	19
Exotoxinas.....	19
Síndrome tóxico	20
Procesamiento de las muestras.....	22
Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.....	22
Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.	23
Identificación de bacterias del género <i>Salmonella spp</i>	25
Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	36
LITERATURA CITADA	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especificaciones sanitarias en leche pasteurizada de vaca.....	10
Cuadro 2. Requisitos físicos y químicos.....	11
Cuadro 3. Especificaciones sanitarias en crema de leche	12
Cuadro 4. Deficiencia sanitaria originada por los manipuladores	13

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resumen del proceso de secreción de leche en las células secretoras de leche.....	9
Figura 2. Mapa de los estados conformados por la Comarca Lagunera.....	21
Figura 3. Porcentajes de evaluación de mesófilos aerobios.....	29
Figura 4. Porcentaje de la presencia de coliformes.....	30
Figura 5. Porcentaje de coliformes fecales.....	31
Figura 6. Porcentaje de pruebas positivas de <i>Salmonella spp.</i>	33
Figura 7. Comparación de resultados en busca de <i>Salmonella spp</i> agar salmonella shigella y agar verde brillante.....	34

INTRODUCCIÓN

Para que un alimento sea considerado como tal, debe ser inocuo. Los alimentos nutritivos nos aportan la energía y los nutrientes necesarios para mantenernos saludables y activos. Para ello, nuestros alimentos deben superar diversas pruebas que acrediten que no contienen niveles perjudiciales de toxinas o microorganismos. Cada año fallecen en el mundo más de 420, 000 personas, y cerca de 600 millones enferman al ingerir alimentos contaminados. Con el aumento del comercio mundial, mantener la inocuidad de los productos alimentarios plantea cada vez más desafíos (FAO, 2019).

El alimento actúa como vehículo de transmisión de organismos dañinos y/o sustancias tóxicas. La estimación de la carga mundial de las enfermedades de transmisión alimentaria determinó que es causada por 31 agentes contaminantes, entre ellos son bacterias; *Vibrio cholerae*, *Listeria*, *Salmonella* spp, *Campylobacter* y *E. coli enterohemorrágica*. Virus; *Hepatitis A*, *Noravirus*, Parásitos; *Taenia solium*, *Ascaris*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, a nivel mundial y regional (Jiménez, 2018).

Muchos de los organismos que causan enfermedades en los seres humanos forman parte integral de la flora intestinal normal de animales productores de alimentos y viven sin causar daño a su salud. Carne, leche y huevos, pueden estar contaminados a través de la alimentación inadecuada de los animales, del uso inapropiado de los productos veterinarios o prácticas inadecuadas en la granja, tales como la acumulación de basura y otros residuos en lugares inapropiados. Los alimentos también pueden contaminarse durante la etapa de procesamiento debido al mal funcionamiento o limpieza inadecuada de los equipos, el uso de material de limpieza no es adecuado para el propósito, por la presencia de insectos y roedores, o debido a un almacenamiento inadecuado. Después de haber ganado la etapa de industrialización, la comida sigue expuesta a la contaminación durante la distribución de los centros, supermercados y tiendas de comestibles y en última instancia, el hogar del consumidor. Por desgracia, la información recopilada por la Organización Mundial de la Salud confirma que más del 70% de los casos de

enfermedades transmitidas por alimentos, se origina en su manejo inadecuado por parte del consumidor final (Almeida, 1998).

En un estudio realizado en el año 2007 por la Dra. Etelvina A. Rubeglio y Lic. Silvia Tesón, debido a un brote de *E. coli* enterohemorrágica en los Estados Unidos, que afectó a más de veinte estados y países importadores, como México, Canadá y Tailandia, demostró que de 68 muestras de frutas y verduras 4 muestras (5,88%) resultaron positivas para *E. coli* O157:H7 los aislamientos fueron identificados en una cebolla de verdeo y tres muestras de verduras cortadas y preparadas en bandejas para su venta. En 53 muestras de lácteos 2 muestras resultaron positivas (3,77%) para *E. coli* O157:H7 aislado en un queso mozzarella y en queso ricota, ambas muestras fueron productos no envasados y de venta al peso, de 45 muestras de alimentos preparados se encontró *E. coli* O157 en 1 de las muestras (2,22%) aislado en una pasta rellena con verdura.

La presencia de *E. coli* es habitual en la naturaleza, donde sobrevive aun en condiciones no óptimas para su desarrollo. Prueba de ello son los episodios de brote (alimentos o agua) cada vez más frecuentes. Se requieren medidas higiénicas cada vez más minuciosas en los procesos de producción, conservación, transporte y manufactura de alimentos, tanto a nivel industrial como doméstico y, especialmente, un estricto control del agua que utilizamos para consumo, riego o recreación (Rubeglio y Tesone, 2007).

Se destaca la necesidad de diseñar campañas de información y educación para alertar a la población sobre el adecuado uso de los procedimientos a seguir, tanto en la elección del alimento como en la forma de su manipulación y cocción. Concientizar a los productores y los manipuladores de alimentos sobre los peligros que acarrea desconocer las normas establecidas (Rubeglio y Tesone, 2007).

JUSTIFICACIÓN

El aumento de la demanda de alimento ha hecho crecer la industria alimentaria, lo cual conlleva al incremento de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). En México no se tiene control sobre las ETAs, o investigaciones en cuanto la calidad sanitaria de los alimentos distribuidos específicamente en la Comarca Lagunera. La venta al público de productos de leche a granel no está siendo adecuada ya que estos no tienen ningún tipo de estándares de higiene y sanidad.

Debido a que la bacteria *Salmonella spp.* es una bacteria responsable de una gran cantidad de ETAs, habiendo reportes de brotes de salmonelosis en Chile que estiman que de cada 100,000 habitantes hay un caso de salmonelosis (Fica *et al*, 2012).

En el año 2011 se registró un brote en Chile de salmonelosis debido al consumo de verduras adquiridas en distintas ferias, y debido a que es un alimento que se ingiere sin ningún tratamiento térmico esto eleva el riesgo de la adquirir salmonelosis (Fica *et al*, 2012).

En el caso de *Salmonella enteritidis*, la tasa actual de Chile es el doble de la presentada de hace 1 década (10,7 vs 5,3 casos por cada 1,000,000 habitantes) con un incremento en el año 2005 de 7 a 31 brotes anuales (Fica *et al*, 2012).

Durante una investigación realizada en el año 2006, los hospitales participantes reportaron 26 casos de bacteriemia y meningitis a causa de la bacteria del género *Salmonella spp* (Fica *et al*, 2012).

Hasta el año 2006 se registraron decesos por *Salmonella typhimurium* multirresistente, en lactantes menores de 6 meses atendidos en el Hospital General "O'Horán" del estado de Yucatán.

Este microorganismo parece causar cuadros diarreicos más severos que los provocados por otras serovariedades o por *S. typhimurium* no-multiresistente. En el

caso de *S. enteritidis*, se han registrado casos de meningitis asociada a defunciones o secuelas neurológicas graves (Zaid *et al*, 2006).

Por otro lado, la bacteria *Staphylococcus aureus* es muy común en el medio ambiente, presente en las industrias alimentarias, en suelos, agua, aire, utensilios y superficie, puede vivir en humanos y animales. Su capacidad para producir en pocas horas enterotoxinas resistentes al calor, la convierte en una bacteria causante de un gran número de intoxicaciones alimentarias. Su presencia en alimentos indica la falta de higiene durante el proceso de elaboración del alimento, diseño inadecuado de los procesos de limpieza y desinfección (Navarro, 2015).

Es por eso por lo que se decidió analizar la crema a venta a granel para demostrar el alto grado de contaminación y por ende el riesgo que representa para la salud pública, y con ello poner en marcha estándares básicos de calidad, higiene y sanidad, en los comerciantes de alimentos.

HIPÓTESIS

La crema preparada a partir de leche de vaca tiene alto contenido de grasas y proteínas y al ser expedida a granel tiene alto riesgo de presentar altas cargas microbiológicas fuera de lo aceptado en las Normas Oficiales Mexicanas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica de crema de leche expedida a granel en distintos puntos de la Comarca Lagunera.

Objetivo Específico

Determinar microorganismos indicadores; coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*.

Detectar *Salmonella* spp y *Staphylococcus aureus* en muestras crema de leche.

Determinar la carga microbiana mediante los mesófilos aeróbicos.

MARCO TEÓRICO

Inocuidad Alimentaria

La inocuidad de los alimentos puede definirse como el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos para asegurar que, una vez ingeridos no representen un riesgo apreciable para la salud. No se puede prescindir de la inocuidad de un alimento al examinar la calidad, dado que la inocuidad es un aspecto de la calidad.

La inocuidad consta de varios eslabones y lineamientos que se deben cumplir a lo largo de toda la línea de producción. Los comercializadores de alimentos cumplen con la importante función de preservar las condiciones de los alimentos durante su almacenamiento y distribución, además de aplicar, para algunos casos, las técnicas necesarias y lineamientos establecidos para la preparación de los mismos (Min Salud, 2013).

Entre los factores que contribuyen a los posibles riesgos de los alimentos, se incluyen las prácticas agrícolas y ganaderas inadecuadas, la falta de higiene en todas las fases de la cadena alimentaria, la ausencia de controles preventivos en las operaciones de elaboración y preparación de los alimentos, la utilización inadecuada de productos químicos y la contaminación de materias primas y del agua (Tarfur, 2009).

Buenas prácticas en producción.

Las BPA (buenas prácticas Agropecuarias) y las BMP (Buenas prácticas de Manufactura) son actualmente herramientas básicas con las que contamos para la obtención de producto inocuos para consumo humano; incluye tanto la higiene y manipulación como el correcto diseño y funcionamiento de los establecimientos además abarcan también los aspectos referidos a la documentación y registro de los mismos. Las BPM se articulan con las BPA y ambas son prerrequisitos del sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP de las siglas en inglés Hazard Analysis Critical Control Point) (Albo *et al*, 2011).

Sistemas de aseguramiento de la inocuidad alimentaria

Existen diversos programas, sistemas, organizaciones que se dedican a mantener la inocuidad alimentaria. La Organización de las Naciones Unidas para la alimentación (FAO) es la principal agencia especializada de las Naciones Unidas que se ocupa de todos los aspectos relacionados con la calidad e inocuidad de los alimentos, a lo largo de cada una de las fases de producción, almacenamiento, transporte, elaboración y comercialización de los alimentos. El trabajo en esta área lo lleva a cabo el Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias de la Dirección de Alimentación y Nutrición de la FAO.

Sus principales actividades son el asesorar en materia de políticas y ejecutar proyectos de desarrollo para control de la calidad e inocuidad de los alimentos, desarrollo de normas y reglamentos técnicos y de programas de aseguramiento de la calidad e inocuidad de los alimentos, programas nacionales de certificación de las exportaciones de alimentos, programas de vigilancia sobre contaminantes de alimentos y la realización de seminarios y talleres nacionales y regionales sobre cuestiones fundamentales en el área del control de alimentos (FAO, 2002).

Codex Alimentarius

La Comisión del Codex Alimentarius se encarga de ejecutar el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, que tiene por objeto proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas equitativas en el comercio de alimentos. El Codex Alimentarius (que en latín significa ley o código de alimentos) es un compendio de normas alimentarias aceptadas internacionalmente y presentadas de modo uniforme. Contiene también códigos de prácticas, directrices y otras medidas recomendadas para ayudar a alcanzar los fines del Codex Alimentarius. La publicación del Codex Alimentarius tiene por finalidad servir de orientación y fomentar la elaboración y el establecimiento de definiciones y requisitos aplicables a los alimentos, para contribuir a su armonización, y de esta forma, facilitar el comercio internacional (Codex Alimentarius, 2005).

Codex Higiene de los alimentos

Los textos básicos del Codex sobre higiene de los alimentos permiten entender de qué manera se formulan y aplican las reglas y reglamentos en materia de higiene de los alimentos. Los Principios generales de higiene de los alimentos abarcan las prácticas de higiene desde la producción primaria hasta el consumidor final, destacando los controles de higiene básicos que se efectúan en cada etapa (Codex Alimentarius, 2009).

Sistema HACCP

El Análisis de Peligros y Puntos críticos de Control (HACCP), es un sistema preventivo que busca la producción de alimentos seguros, que se basa en la aplicación de los principios técnicos y científicos en la producción y manipulación de los alimentos desde el campo hasta el consumidor. Los principios de HACCP son aplicadas a todas las etapas de la producción de alimentos básicos, como la agricultura, ganadería, elaboración y manipulación de los alimentos, los servicios de alimentación colectiva, sistemas de distribución y de gestión, así como el manejo de alimentos por parte del consumidor.

El concepto básico de relieve por HACCP es la prevención, no la inspección del producto terminado. Los agricultores y ganaderos, los responsables de la manipulación y la distribución y el consumidor debe tener toda la información necesaria acerca de los alimentos y los procedimientos relacionados con ella, porque sólo entonces se puede identificar dónde puede ocurrir la contaminación, y la forma sería posible para evitarlo. Si el "dónde" y "cómo" se sabe, la prevención se convierte en simple y obvio, y la inspección y los análisis de laboratorio son superfluas. El objetivo es, además de la preparación de alimentos de una manera segura, demostrar, a través de la documentación técnica apropiada, que el producto ha sido fabricado de manera segura. El "dónde" y "cómo" está representado por las letras acrónimo AH (Hazard Analysis) HACCP, la a evidencia de la caída de control de la fabricación de alimentos en letras CCP (Puntos de Control Crítico) (Almeida, 1998).

Programa GFSI

La iniciativa Mundial de Seguridad Alimentaria (GFSI) reúne a los actores principales de la industria alimenticia para impulsar de forma colaborativa LA Mejora continua en los sistemas de seguridad alimentaria alrededor del mundo (GFSI, 2014).

ESPECIFICACIONES SANITARIAS DE LECHE Y CREMA DE LECHE

Leche

La leche es un alimento que proporciona nutrientes esenciales y es una fuente importante de energía alimentaria, ya que contiene proteínas de alta calidad y grasas. Está constituida por calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y ácido pantoténico. Las grasas constituyen alrededor del 3 al 4 % del contenido sólido de la leche de vaca, las proteínas aproximadamente el 3,5 % y la lactosa el 5 % (FAO, 2013b).

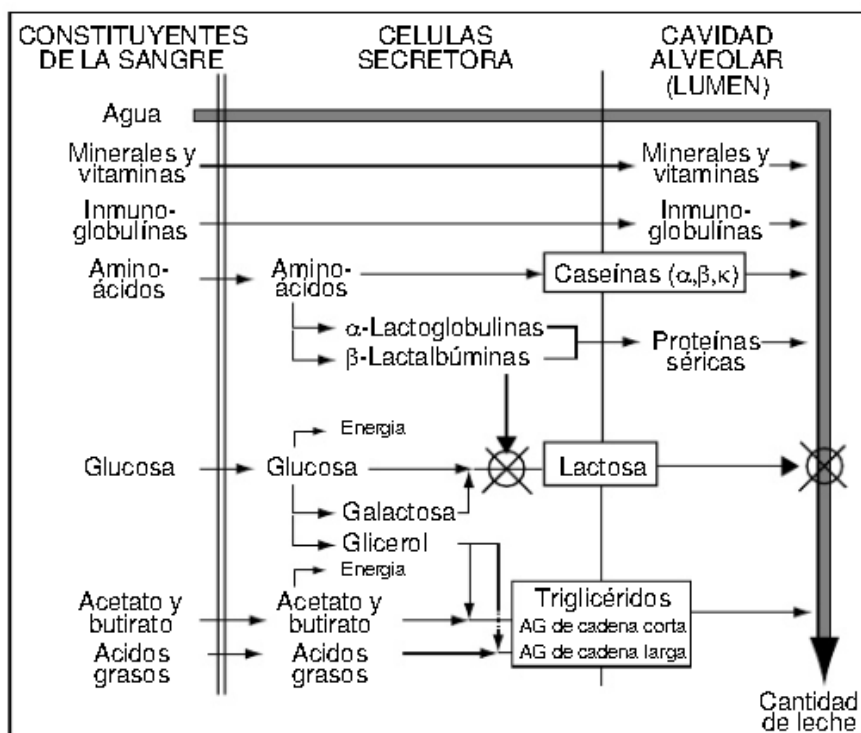


Figura 1. Resumen del proceso de secreción de leche en las células secretoras de leche (los círculos cruzados son pasos regulatorios clave) (Wattiaux, 2015).

Especificaciones microbiológicas en leche.

Cuadro 1. Especificaciones Sanitaria en leche de vaca pasteurizada (NOM-091-SSA1-1994).

ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO
Mesofilicos aerobios UFC/mL	30000
Coliformes totales UFC/mL en planta	10
Coliformes totales UFC/mL en punto de venta	20
<i>Salmonella spp</i> en 25 mL	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i> en 25 mL	Ausente
<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 mL	Negativo

Crema de leche.

Es un producto lácteo en el que se ha reunido una fracción determinada de grasa y solidos no grasos de la leche, ya sea por reposo, por centrifugación o reconstrucción, sometida a pasteurización o cualquier otro tratamiento térmico que asegure su inocuidad. El contenido de grasa va desde el 14% hasta un 30 % dependiendo de la presentación del producto (Estrada, 2011).

Características fisicoquímicas de crema de leche

Cuadro 2. Requisitos físicos y químicos (tomada de Convenin 3046-93) (Convenin, 1993).

CARACTERÍSTICAS	TIPO DE CREMA							
	DULCE		AGRIA		SABORIZADA		ACIDIFICADA	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Acidez expresada como ácido láctico (%p/p)	0,1	0,2	0,5	-	0,15	0,2	0,5	-
Grasa (%p/p)	18	-	18	-	18	-	18	-
% SNG, (%p/p)	5,2	7,7	5,2	7,7	5,2	7,7	5,2	7,7

%SNG= porcentaje de sólidos no grasa, %G= porcentaje de grasas.

En un estudio realizado en Venezuela para la evaluación de las características fisicoquímicas de la crema se determinó que la cantidad de proteína en crema depende de la leche utilizada para su elaboración y del procesamiento. La media obtenida en este estudio fue de 3.73% de proteína en crema de leche (Pacheco-de Delahaye *et al* 2008).

Especificaciones microbiológicas

La Norma Oficial Mexicana **NOM-185-SSA1-2002**, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Establece las especificaciones sanitarias vease el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Especificaciones Sanitarias en crema de leche (NOM-185-SSA-1 -2002).

ESPECIFICACIONES	LÍMITE MÁXIMO
Coliformes totales	10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	<100 UFC/g
<i>Salmonella spp</i>	Ausencia/25 g

Riesgo de contaminación

Sin duda alguna los alimentos son susceptibles a su contaminación en cualquier etapa de producción, pero la mayor parte de las infecciones tóxicas alimentarias se debe a la falta de higiene y a una defectuosa manipulación de los alimentos (Beaumont, 1986).

La leche y sus derivados pueden contaminarse cuando los animales lecheros consumen piensos o agua que contienen sustancias químicas. Otras causas de contaminación pueden ser el control inadecuado del equipo, el entorno y las instalaciones de almacenamiento (FAO, 2013a). la falta de higiene personal y los hábitos del manipulador, así como la defectuosa tecnología en la preparación de los alimentos (Beaumont, 1986).

En un estudio realizado en el año 1998, demostró que las dificultades más frecuentes causada por manipuladores, fueron el insuficiente lavado de manos y mantenimiento de los alimentos a temperaturas inadecuadas. En los controladores de las actividades alimentarias se encontraron con mayor frecuencia deficiencias por desconocimiento de aspectos técnicos y la falta de selección de etapas importantes para el control. Los principales problemas originados por los consumidores fueron los derrames de los alimentos y la mala conservación sobre los productos alimenticios ofertados (Caballero y Lengomín, 1998).

Cuadro 4. Deficiencias sanitarias originada por los manipuladores (Caballero y Lengomín, 1998).

Instalaciones con deficiencias por:	Número	Porcentaje
Insuficiente lavado de manos	200	79
Mantenimiento de alimentos a temperaturas inadecuadas:		
Durante la conservación	180	71
Durante la oferta	130	51
Manipulación excesiva o incorrecta	150	59
Tiempo prolongado entre elaboración y el consumo por:		
Preparación anticipada de alimentos	150	59
Reciclaje de alimentos	130	51
Utilización de sobrantes para preparar alimentos	101	40
Contacto con alimentos listos para el consumo con productos crudos:		
En la conservación	101	40
Durante la elaboración	77	30
insuficiente protección de los alimentos	77	30
Uso de recipientes, utensilios y superficies mal higienizadas	55	22

Indicadores

Los indicadores de calidad microbiológica son organismos (o grupos) que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos. Además de que su detección en el laboratorio es más sencilla, rápida y/o económica, los microorganismos indicadores permiten un enfoque de prevención de riesgos, puesto que advierten manejo inadecuado y/o contaminación (UNAM, 2009).

Principales microorganismos indicadores en alimentos:

– Indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso:

Mesófilos aerobios (o cuenta total)

Cuenta de hongos y levaduras

Coliformes totales

– Indicadores de contaminación fecal:

Coliformes fecales.

Escherichia coli.

Enterococos.

Cl. perfringens (UNAM, 2009).

Mesófilos Aerobios

En este grupo se incluyen todos los microorganismos, capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos en condiciones establecidas estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además las condiciones higiénicas de la materia prima y la forma en la que fueron manipulados durante su elaboración.

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos.
- La inmediata alteración del producto (Díaz *et al*, 2014).

Coliformes totales

El grupo de bacterias coliformes totales comprende todos los bacilos cortos Gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas y ácido en un lapso máximo de 48 h. a 35°C ± 1°C.

Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*. Su determinación se basa generalmente en la capacidad de fermentar lactosa (Camacho y col. 2009; UNAM, 2009). Actualmente se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos procesados (UNAM, 2019).

Coliformes fecales

El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gramnegativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a $44.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, considerados como el indicador más adecuado de contaminación con heces de animales y humanos, por ejemplo, en pescados y mariscos, carnes, leche, alimentos listos para consumo (RTE), entre otros. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo, la más prominente es la *Escherichia coli*.(Camacho *et al*, 2009; UNAM, 2019).

Principales Microorganismos causantes de ETAs, que se encuentran en crema de leche.

La pasteurización continúa siendo uno de los métodos más efectivo para combatir la presencia de patógenos en lácteos, pero no deben de olvidarse de las condiciones de conservación. La *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* son los principales patógenos causantes de Toxiinfecciones Alimentarias (TIA) en productos lácteos. En el caso de los brotes causados por *Salmonella spp*. destaca la implicación mayoritaria del serovar *typhimurium*.

Otros agentes patógenos que se presenta en menos incidencia son *Listeria monocytogenes* (serotipos 4b, 1/2 a, 1/2b y 3a) y *Escherichia coli* (enterotoxigénicas y enterohemorrágicas, principalmente del serotipo O157:H7), *Yersinia enterocolytica*, *Campylobacter jejuni*.

En la mayoría de los casos en que la leche haya sufrido un tratamiento térmico, la presencia de los microorganismos responsables se asocia a contaminaciones posteriores a su elaboración, por malas prácticas higiénicas (Artur, 2004).

Escherichia Coli

Es un bacilo corto gram negativo que se encuentra clasificado dentro de la familia Enterobacteriaceae (bacterias entéricas), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales, sin embargo, hay algunas cepas de *E. coli* patógenas que provocan enfermedades diarreicas. Estas *E. coli* se clasifican con base en las características que presentan sus factores de virulencia únicos, por lo que cada grupo provoca la enfermedad por un mecanismo diferente. Las propiedades de adherencia a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado son codificadas por genes situados en plásmidos. De manera similar las toxinas son mediadas por plásmidos o fagos.

Este grupo de bacterias se encuentra constituido por las siguientes cepas: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) *E. coli* enteroadherente difusa (DAEC). Existen otras cepas que no han sido perfectamente caracterizadas; de las cepas anteriores, las 4 primeras están implicadas en intoxicaciones causadas por el consumo de agua y alimentos contaminados (Camacho *et al*, 2009).

***Escherichia coli* enterotoxigénica ETEC**

Es reconocida como el agente causal de la diarrea del viajero, la cual se caracteriza por diarreas acuosas con o sin fiebre. Este tipo de infecciones es muy frecuente en países subdesarrollados y afecta principalmente a los niños (Camacho *et al*, 2009).

***Escherichia coli* enterohemorrágica:** EHEC produce verotoxina, denominada así por su efecto citotóxico sobre las células Vero, una línea de células renales de mono verde africano. Existen al menos dos variantes antigénicas de la toxina. La ECEH se ha asociado con colitis hemorrágica, una variedad grave de diarrea; y con el

síndrome urémico hemolítico, enfermedad capaz de producir insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. La verotoxina tiene muchas propiedades similares a la toxina shiga producida por algunas cepas de *Shigella dysenteriae* tipo 1; De los serotipos de *E. coli* que producen la verotoxina el más común y el único que puede identificarse en muestras clínicas es el O157:H7. La *E. coli* O157:H7 no emplea sorbitol y es negativa a la prueba de 4 - metilumbelliferil - b - Dglucurónido (MUG) (Camacho *et al*, 2009).

Salmonella spp

Son bacterias Gram negativas del género *Salmonella spp*, forman parte de la división bacteria, phylum proteo bacteria, orden enterobacteriales, familia enterobacteriaceae.

El género abarca 2 especies *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*:

a. *Salmonella entérica*:

S. entérica subespecie entérica (I): comprende la mayoría de los serotipos. -> 1547 serovariedades.

S. entérica subespecie *salamae* (II).

S. entérica subespecie *arizonae* (IIIa).

S. entérica subespecie *diarizonae* (IIIb).

S. entérica subespecie *houtenae* (IV).

S. entérica subespecie *indica* (VI).

b. *Salmonella bongori* (antes subespecie V).

Se estima que el 99% de las causas de salmonelosis humana es a causa de las cepas de la subespecie entérica (Bentarcor y Yim, 2012; Calva, 2002).

Salmonellosis

La *Salmonella* es el agente causal de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis. La salmonelosis humana puede dividirse en dos síndromes.

1) La fiebre entérica, que incluye la fiebre tifoidea causada por *S. typhi*, y la fiebre paratifoidea que es patológica y clínicamente similar a la tifoidea, pero con síntomas menos fuertes, causada por *S. paratyphi* A, B, o C. La fiebre entérica implica una infección sistémica, debido a la invasividad de la bacteria.

2) La gastroenteritis o envenenamiento por alimentos, la cual es la más común de las infecciones, causada por muchos serotipos. Este tipo de infecciones no es acompañada de una infección sistémica. Los serotipos más comunes en la salmonelosis no-tifoidéica son *S. typhimurium* y *S. enteritidis*.

Puede también ocurrir una invasión sistémica sin gastroenteritis, sobre todo en individuos inmunocomprometidos, como en el caso de las infecciones intrahospitalarias. Asimismo, sobre todo para la fiebre tifoidea, puede establecerse la condición de portador asintomático.

***Salmonella typhi* (Fiebre entérica)**

Es una bacteria anaerobia facultativa, pertenece al serotipo 9 y 12, son bacilos que no producen esporas y es móvil.

Manifestaciones clínicas

Su periodo de incubación en promedio es de 2 semanas, puede haber o no presencia de diarrea, se genera una ulceración distribuyéndose así al torrente circulatorio causando una septicemia, dura de 2 a 3 semanas, caracterizada por tos seca, fiebre alta e intenso dolor de cabeza. Los decesos ocurren por la ruptura del bazo ocurriendo así un choque séptico (Calva, 2002).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus pertenece a la familia Staphylococcaceae. Es Gram positivo, aunque las cepas viejas o los microorganismos fagocitados se tiñen como Gram negativo. Tiene forma de coco y puede aparecer en parejas, en cadenas o en racimos. Su tamaño oscila entre 0,8 a 1,5 micras de diámetro, es inmóvil y algunas cepas producen una cápsula externa mucoide que aumenta su capacidad para producir infección. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positiva, catalasa positiva y oxidasa negativa (INSHT, 2012).

Mecanismo de propagación

La transmisión se produce principalmente por ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o sus toxinas. En el ámbito laboral, la transmisión se produce por contacto con personas, animales (zoonosis) o elementos contaminados, ocurriendo principalmente por la contaminación de heridas y mucosas, por la inoculación accidental a través de pinchazos o cortes con objetos contaminados y por mordeduras de animales. Es responsable de muchos casos de enfermedad nosocomial (INSHT, 2012).

Exotoxinas

La liberación sistémica de toxina alfa causa un shock séptico, mientras que las enterotoxinas y TSST-1 son superantígenos que pueden causar un shock tóxico. Las enterotoxinas estafilocócicas causan emesis (vómitos) cuando se ingieren y la bacteria es una de las principales causas de intoxicación por alimentos.

La toxina exfoliativa causa el síndrome de la piel escaldada en los recién nacidos, lo que resulta en ampollas generalizadas y pérdida de la epidermis. Hay dos formas antigénicamente distintas de la toxina, ETA y ETB. Las toxinas tienen actividad esterasa y proteasa y aparentemente apuntan a una proteína que está involucrada en el mantenimiento de la integridad de la epidermis.

Síndrome tóxico

S. aureus secreta dos tipos de toxinas con actividad de superantígenos, las enterotoxinas, de las cuales existen seis tipos antigénicos (denominados **SE-A, B, C, D, E y G**) y síndrome de shock tóxico. La toxina (**TSST-1**) causa diarrea y vómitos cuando se ingieren y son responsables de la intoxicación alimentaria por estafilococos; se expresa de manera sistémica y es la causa del síndrome de shock tóxico (TSS). Cuando se expresa de forma sistémica, las enterotoxinas también pueden causar el síndrome de shock tóxico, de hecho, las enterotoxinas B y C causan el 50% de los casos no menstruales de TSS.

La TSST-1 está débilmente relacionada con las enterotoxinas, pero no tienen actividad emética y es responsable del 75% de los TSS, puede ocurrir como una secuela de cualquier infección estafilocócica si se libera una enterotoxina o TSST-1 sistémicamente, y el huésped carece de los anticuerpos neutralizantes apropiados (Todar, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

La Comarca Lagunera, región ubicada en el centro-norte de México, está conformada por parte de los Estados de Coahuila y Durango, con coordenadas de 25°32'39'84"N, 103°26'31.2' a temperaturas de alrededor de 40 a 45°C en los meses de verano, en la cual fueron recaudadas 25 muestras de crema a base de leche que estuvieran a la venta a granel, eligiendo establecimientos al azar, las muestras fueron recolectadas los meses mayo-junio del año 2018.

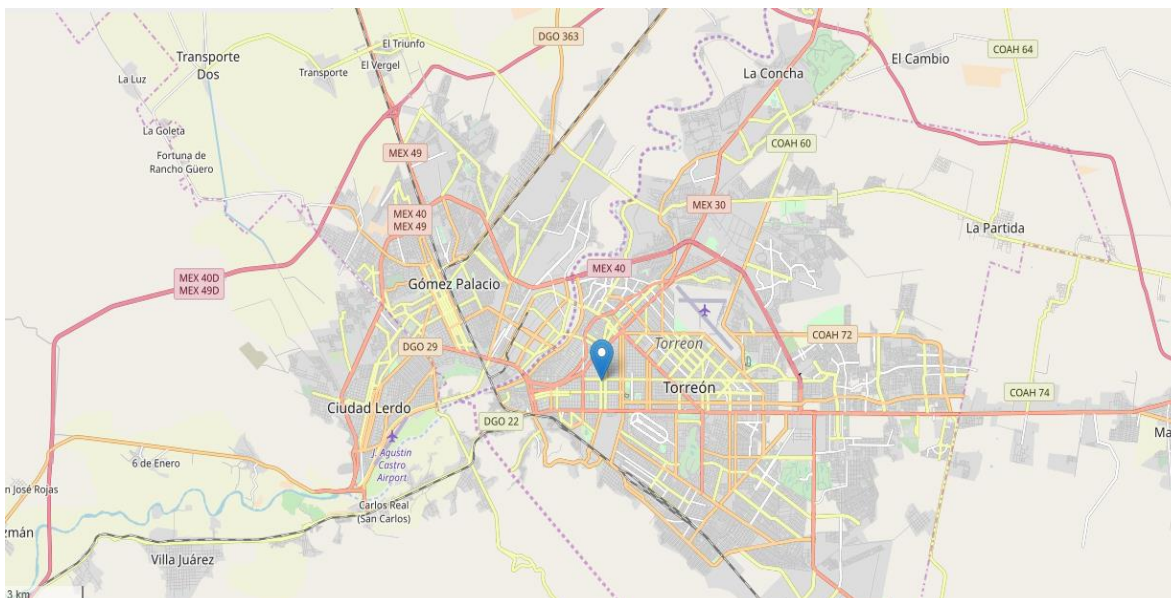


Figura 2. Mapa de los estados conformados por la Comarca Lagunera (Coast, 2004).

Las muestras de crema a base de leche fueron recolectadas según la norma **NOM-109-SSA1-1994** Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Las mismas fueron tomadas de manera semejante a la que se le ofrece al público, reservadas en bolsas ziplock o cierre hermético transportados en hieleras para su posterior procesamiento.

Procesamiento de las muestras.

Las muestras fueron trabajadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, los análisis que se realizaron fueron para evaluar su calidad sanitaria y por ende el riesgo que representan para la salud pública, los estudios se realizaron de acuerdo con las especificaciones sanitarias para la crema a base de leche, que marca la norma **NOM-185-SSA1-2002 Productos y servicios. Mantequilla cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base leche.**

Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

El método utilizado para la identificación de mesófilos aerobios fue el de conteo en placa de acuerdo con la **NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA.**

Fundamento:

La técnica vaciada en placa consiste en contar las colonias que se desarrollen en el agar métodos estándar después de 48 h de incubación a 34+- 2°C suponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio, los resultados se reportan como UFC/ml o g de muestra (NOM-092-SSA1-1994).

Procedimiento:

Se distribuyó las cajas estériles en la mesa de trabajo para marcar las con los datos de la muestra, previamente a su inoculación y se corrió por duplicado; las muestras fueron diluidas según la **NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.**

Se agregó de 12 a 15 ml del medio preparado y 1 ml de la muestra ya diluida se mezclaron mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inculó en el medio; se dejó solidificar para posteriormente, incubar las cajas en posición

invertida (la tapa hacia abajo) por $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 ± 2 h. Fueron cuantificadas como unidades formadoras de colonias. La expresión de resultados fue redactada según la **NOM-092-SSA1-1994** (NOM-110-SSA1,1994; NOM-092-SSA1, 1994).

Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Fundamento:

El método “número más probable” consta de la fase presuntiva, el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lauril sulfato de sodio, el cual permite el mantenimiento de los microorganismos que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono. Y durante la fase confirmativa se emplea como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante el cual es selectivo y solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante (Camacho *et al*, 2009).

Procedimiento:

La técnica que se utilizó para la cuenta de coliformes totales fue la **NOM-112-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES. TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE.**

Se efectuó la dilución de la muestra con 45ml de agua peptonada se agregó 5gr de la muestra, de ahí se pasan 1ml con una pipeta estéril a tubos con 9ml de agua peptonada tapados con algodón, se realizaron las siguientes diluciones 1:10, 1:100, 1:1000 (se hacen cambios de pipeta entre cada dilución), por cada dilución se pasa 1ml por triplicado a tubos con 9ml de caldo de triptosa y sulfato de lauril con campana de Durham y taparroscas para después incubarlos durante 24-48 horas a 35°C ; Las campanas con burbujas o producción de gas son considerados positivos.

Para la prueba confirmatoria de Coliforme totales se siembra 2 azadas de los tubos positivos de caldo triptosa y sulfato de lauril en tubos con 9 ml de caldo

lactosa al 2% bilis, verde brillante con su respectiva campana de Durham, se incuban durante 24- 48 horas a 35 °C. Los tubos con producción de gas o burbujas en la campana de Durham son considerados positivos (NOM-112-SSA1,1994). Los límites permisibles para cremas preparadas con leche son 10 UFC/g según la **NOM-185-SSA1-2002**.

Coliformes fecales

Fundamento:

Agar eosina y azul de metileno es un medio nutritivo por la presencia de peptona que favorece el desarrollo microbiano. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar lactosa y sacarosa, además de aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre una amplia variedad de bacterias Gram positivas. Muchas cepas de *Escherichia coli* y *Citrobacter spp.* presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras (Britania, 2018).

Procedimiento:

Previamente se utiliza la técnica NMP, en la cual crecen los coliformes con presencia bilis de gas como resultado de la fermentación de la lactosa en tubos de Bilis Verde Brillante y se resiembra en EMB para su identificación. Con un aza se agitaron vigorosamente los tubos con mayor producción de gas posteriormente se hizo un estriado en 2 medios de cultivo una se incubó a 35°C+- 1 y otro a 44°C esto con el fin de determinar bacterias termorresistentes o termo tolerantes (Camacho *et al*, 2009).

Identificación de bacterias del género *Salmonella spp.*

Fundamento

El agar verde brillante es un medio de cultivo a base de pluripectona y el extracto de levadura, constituyen la fuente de nitrógeno, vitaminas y minerales. La lactosa y la sacarosa son los hidratos de carbono fermentables, el rojo fenol es el indicador de pH, que vira al amarillo cuando hay producción de ácido a partir de la fermentación de azúcares, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el verde brillante actúa como agente selectivo que inhibe fundamentalmente el desarrollo de flora Gram positiva y de algunos microorganismos Gram negativos (Britania, 2018).

Fundamento

El agar Salmonella Shigella: Es una modificación del agar citrato desoxicolato descrito por Leifson. Se le considera un medio moderadamente selectivo, la pluripectona y el extracto de carne aportan los nutrientes para el desarrollo microbiano, las sales biliares y el verde brillante inhiben el desarrollo de una amplia variedad de bacterias gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del *Proteus spp*, la lactosa es un azúcar fermentable, el tiosulfato de sodio permite la formación de SH₂ evidenciado por la presencia de sulfuro de hierro, el rojo neutro es el indicador de pH y el agar es el agente solidificante.

Salmonella spp, *Shigella* y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen adecuadamente en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes; La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro(Aravan lab, 2015).

Procedimiento:

Para la identificación de *Salmonella* spp. se utilizó la técnica de acuerdo con el manual de metodología analítica oficial “microorganismos patógenos” volumen 1 de red nacional de laboratorios oficiales de análisis de alimentos. Para ello se realizó la siembra en 2 medios de cultivo específicos para el género *Salmonella* spp. Inicialmente se efectuó el enriquecimiento: Se utilizó Agua Peptona Bufferada (BPW) como diluyente, efectuando una dilución 1:10, posteriormente se prosiguió el enriquecimiento selectivo para lo cual se transfirió 1.0 mL del cultivo ya enriquecido (con una pipeta de vidrio de 1 mL, estéril) a un tubo con 9.0 mL de Caldo tetracionato se incubó durante 24 horas a temperatura ambiente. Para el aislamiento e identificación se agregaron 2 gotas de yodo-yodurado al cultivo obtenido del enriquecimiento selectivo. Con una aza se agitó y se mezcló el cultivo; posteriormente se estrió en placas de agar verde brillante y agar Salmonella Shigella incubando a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ (RedNaLOA, 2011).

Las colonias en el agar verde brillante consideradas positivas con colonia que van de rosas, blancas o transparentes sobre fondo rojo (Britania, 2018).

En placas de agar Salmonella Shigella serán consideradas positivas aquellas en las que hubo crecimiento de colonias transparentes con centro negro (ARAVAN LAB, 2015).

Identificación de *Staphylococcus aureus*

Fundamento:

El agar sal manitol es un medio de cultivo a base de extracto de carne, peptona de carne y tripteína constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales que promueven el desarrollo microbiano. El manitol es

el hidrato de carbono fermentable; el cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, el rojo fenol es el indicador de pH y el agar es el agente solidificante.

Se trata de un medio altamente selectivo por la alta concentración sal y fermentan el manitol, producen ácidos con lo que se modifica el medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol.

Los estafilococos coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color.

Los estafilocócicos que no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura.

Este medio de cultivo es recomendado para el aislamiento de estafilococos patógenos a partir de muestras clínicas, alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y otras materias de importancia sanitaria (Britania, 2013).

Procedimiento:

Para la identificación de *Staphylococcus aureus*, se realizó la prueba de acuerdo con la metodología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma, la cual consiste en diluir y enriquecer en 45 ml agua peptonada y 5 gr de muestra; posteriormente con una aza se agita los tubos y se realiza la siembra directa en agar sal manitol. Las cajas positivas con crecimiento característico de *Staphylococcus aureus* (colonias amarillas de tamaño medio) fueron sometidos a las pruebas bioquímicas confirmatorias (UNAM, 2011).

Pruebas bioquímicas para la identificación de *Staphylococcus aureus*.

Catalasa

Fundamento:

La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se liberan en forma de burbujas (Olmos *et al*, 2010).

Procedimiento:

En una laminilla se delimita con un crayón la zona, donde se coloca parte del crecimiento de una colonia para después agregar 2 gotas de peróxido de hidrógeno, la producción de burbujas es considerada positiva (Olmos *et al*, 2010).

Coagulasa

Fundamento:

En esta prueba se detecta la presencia de una enzima extracelular (coagulasa) que se libera al plasma e interactúa con un factor plasmático, factor reactivo de coagulasa, para producir un principio activo (la trombina) que actúa sobre el fibrinógeno, el cual se convierte en fibrina (coagulo) (Olmos *et al*, 2010).

Procedimiento:

En un vial con plasma de caballo se le agrega 2 colonias características del *S. aureus*, con ayuda de una aza, (en un medio estéril) posteriormente se pusieron a baño maría cuidando que no sobrepasara los 35 °C durante 4 horas; revisando en intervalos de una hora para observar la existencia de la formación de un coagulo (Olmos *et al*, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados son comparados con los parámetros establecidos por las Normas Oficiales Mexicanas con el fin de la verificación del cumplimiento de las mismas y la demostración de la calidad sanitaria con la que se encuentra la crema de leche expedida a granel.

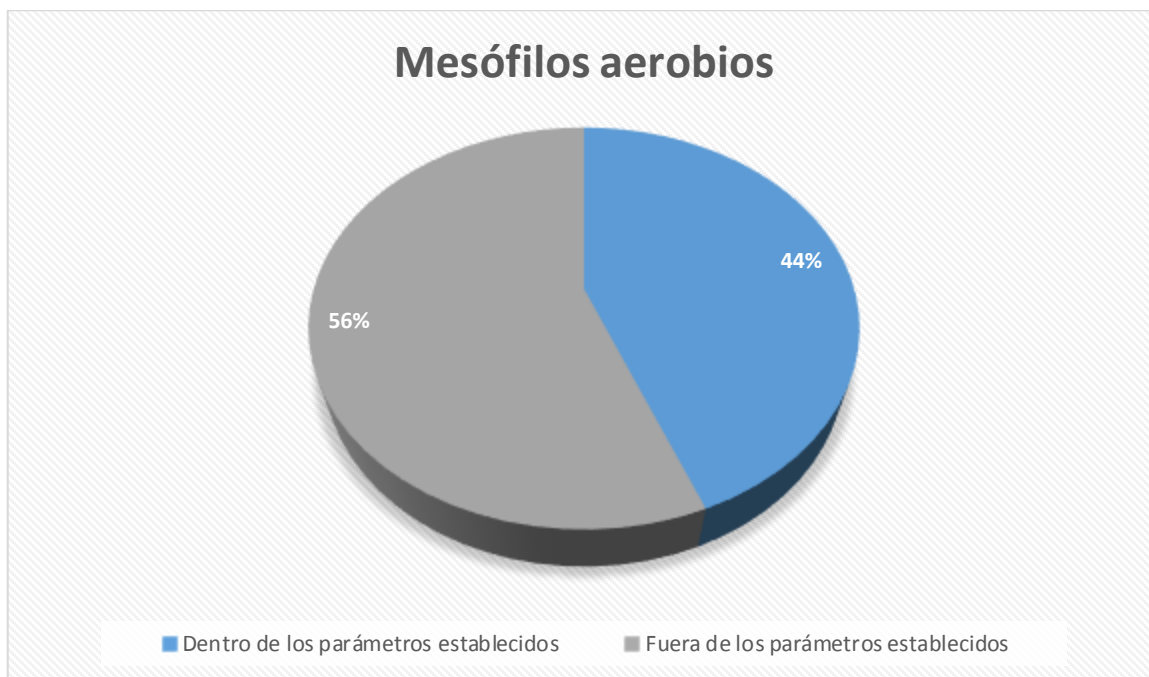


Figura 3. Porcentajes de la evaluación de mesófilos aerobios.

Como se puede observar en la **Figura 3** el 56% de las muestras analizadas presentaron una carga microbiana fuera de los límites permisibles. Con muestras de hasta 8.6×10^4 UFC/g.

Estos resultados nos revelan la elevada carga microbiana lo cual resulta alarmante ya que mientras mayor es la carga microbiana mayor es el riesgo de que existan patógenos. Aunque en estos casos no siempre se logran identificar patógenos, esto nos habla de las deficiencias de salubridad e higiene que se tiene al momento de expedir la crema a granel, lo cual probablemente se debe a la falta de educación de los vendedores sobre las buenas prácticas, manejo y conservación de los alimentos y normalización establecida en el Diario Oficial de la Federación que regula los estándares de inocuidad alimentaria.

Un número elevado de mesófilos aerobios no siempre representa contaminación con agentes patógenos, también nos habla de la falta de higiene y sanidad por parte de los manipuladores en los establecimientos donde se expide a granel.

La cuenta o análisis de mesófilos aerobios es utilizado especialmente para alimentos frescos, refrigerados y congelados listos para consumir ya que la presencia de estos microorganismos nos indica el grado de contaminación de la muestra y las condiciones que han favorecido la carga microbiológica (UNAM,2009).

Coliformes Totales

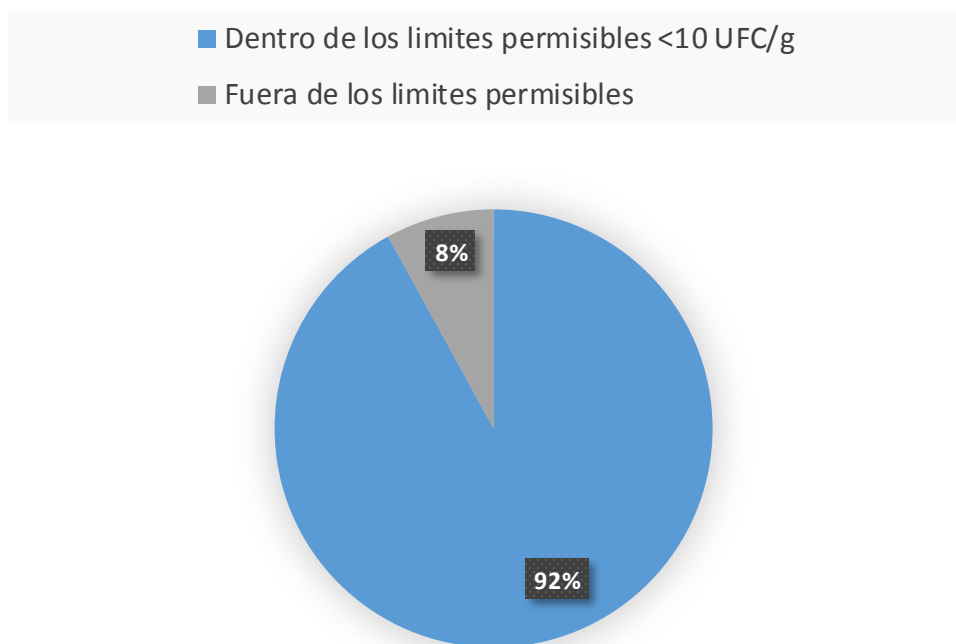


Figura 4. Porcentaje de la presencia de coliformes totales

De acuerdo con la norma **NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche**. En la figura 4. Se puede ver los porcentajes de coliformes totales, lo cual indica que el 8% de las muestras

analizadas se encontraron fuera de los límites permisibles. Sin embargo, es relativamente bajo, ya que el 92% de la muestra resultó estar bajo los parámetros permisibles establecidos por las Normas Oficiales Mexicanas.

Al igual que los mesófilos aerobios nos indica el grado de contaminación o carga microbiana, al obtener resultados de positividad bajos nos dice que en las condiciones en que se elabora la crema no tiene problemas.

El uso de coliformes como indicador sanitario puede aplicarse para la detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos sin embargo su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario (Camacho *et al*, 2009)

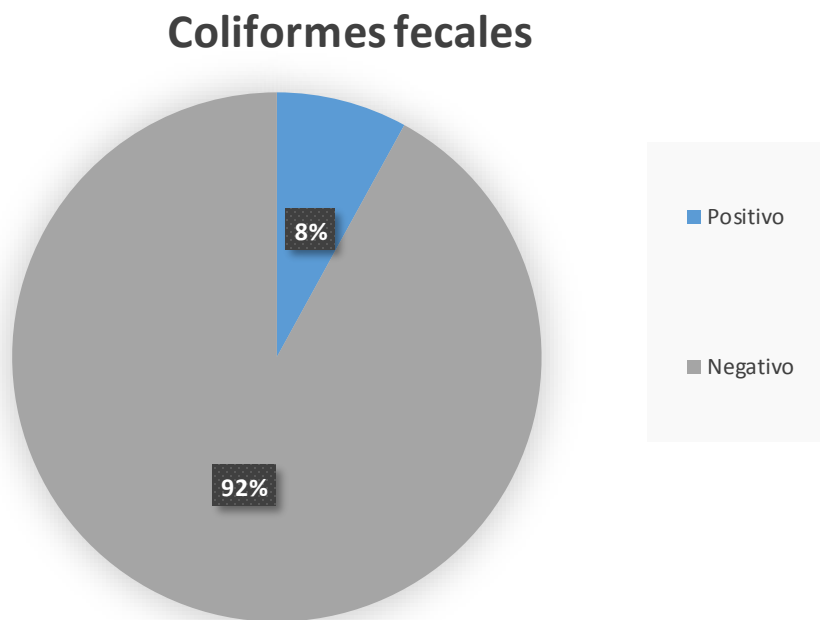


Figura 5. Porcentaje de coliformes fecales.

Como se observa en la gráfica anterior, sólo el 8% de las muestras analizadas se encontraron coliformes fecales lo cual nos indica contaminación con heces fecales humanas o animales.

La *E.coli* es una bacteria encontrada en el tracto digestivo tanto de humanos como de animales, responsables de ETA o Toxiinfecciones alimentarias (TIA), cuenta con gran variedad de serovariedades siendo la O157:H7 una de la más frecuente y patógena.

La contaminación con heces fecales puede representar un alto riesgo para la salud pública ya que este tipo de contaminación juegan un papel muy importante por los portadores asintomáticos de agentes patógenos causantes de ETAs. Es por eso la importancia de tener requisitos mínimos de higiene y capacitación a todo aquel personal que tenga contacto con alimentos.

La positividad de los coliformes fecales nos habla de la deficiencia de higiene por parte de los manipuladores, como lo es el lavado de manos antes y después de ir al baño, falta de lavado y desinfección de utensilios y contenedores que se encuentran en contacto con la crema.

A diferencia de los coliformes totales, los coliformes fecales indican específicamente contaminación de origen fecal ya que estos fueron capaces de resistir temperaturas de 44°C (Camacho *et al* 2009).

Porcentaje de pruebas positivas para *Salmonella spp.*

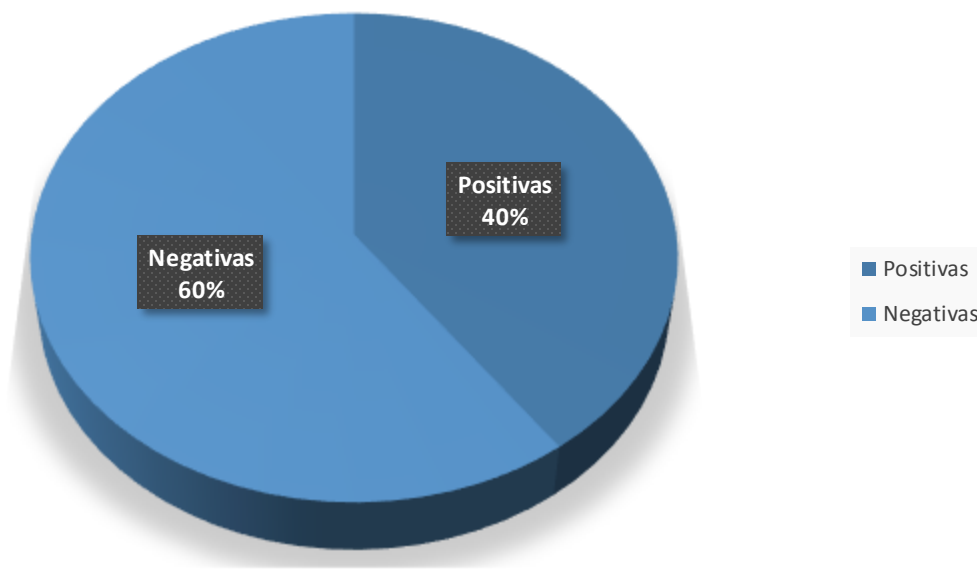


Figura 6. Porcentaje de pruebas positivas para *Salmonella spp.*

Como se muestra en la figura 6, el 40% de las muestras resultaron positivas a la presencia de *Salmonella spp.* lo cual es un resultado drástico y alarmante ya que es un alimento de consumo cotidiano, pudiendo afectar la salud del consumidor.

Algunos de los motivos de tan elevado porcentaje de las muestras positivas puede deberse a la existencia de portadores asintomáticos entre los manipuladores, aunado a las malas prácticas y la conservación de los alimentos, sumando que estos son expedidos a granel y permanecen a temperaturas inadecuadas siendo que en la Comarca Lagunera en época de verano se llegan a registrar temperaturas de hasta 45°C, lo cual favorece la replicación de microorganismos (Jiménez, 2018; Uribe y Suárez, 2006).

Al ser los seres humanos los únicos hospederos de este tipo de salmonela, la fuente de nuevas infecciones son los enfermos, los enfermos convalecientes (durante tres meses aproximadamente) y los portadores sanos crónicos (2% de las personas que

han pasado la enfermedad, más frecuente en mujeres con coleditiasis). La vía de transmisión es la fecal-oral, a través de aguas contaminadas no higienizadas, alimentos manipulados por portadores, ingestión de crustáceos contaminados o vegetales regados con aguas contaminadas (Jiménez, *et al*, 2010).

El cuadro clínico común de salmonelosis no tífica incluye diarrea, cefalea, dolor abdominal, náuseas, vómito, fiebre y deshidratación.

Las serovariedades no tíficas de *Salmonella spp*, pueden causar septicemia, meningitis, artritis, osteomielitis, neumonía, endocarditis o infecciones del sistema urinario (Uribe y Suárez, 2006).

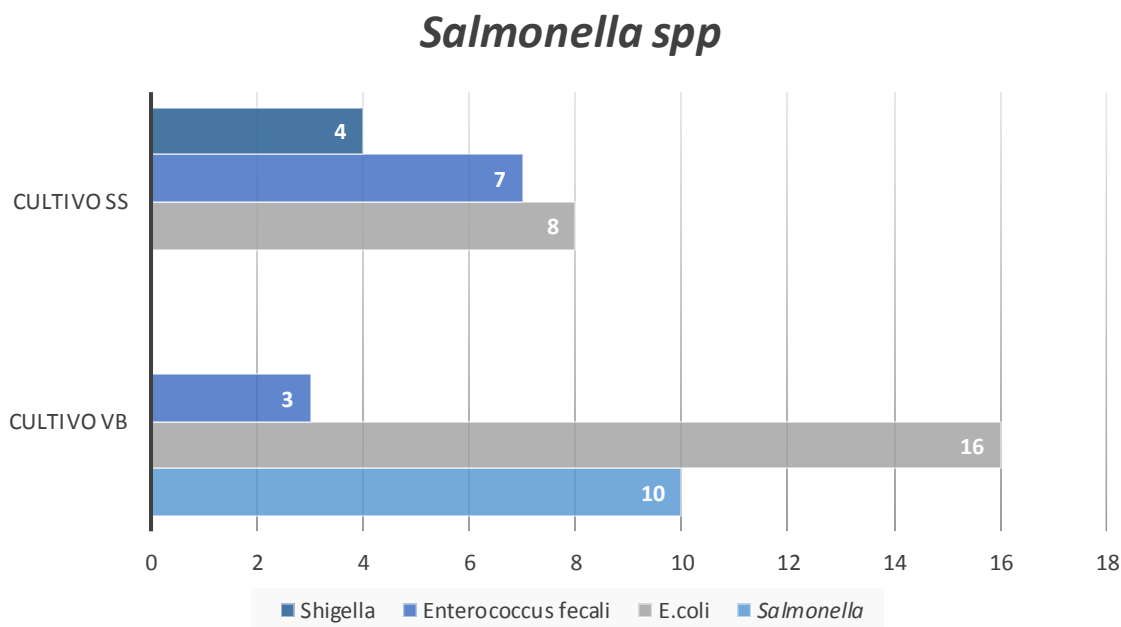


Figura 7. Comparación de resultados en busca de *Salmonella spp* en los medios agar Salmonella-Shigella y agar verde brillante.

Además del alto número de muestras con *Salmonella spp*, se identificaron otros patógenos como se muestra en la figura 7; *Shigella* en un 16%, *Enterococcus fecalis*

28% y *E. coli* en un 64% que al igual que la *Salmonella spp* que pueden ser causantes de ETAs.

Resultados de *Staphylococcus*

Las muestras analizadas resultaron ser negativas en un 100% lo que indica que se encuentra dentro de los parámetros establecidos en la norma **NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche.**

CONCLUSIONES

La investigación realizada demostró la elevada contaminación que se tiene en la crema de leche de venta a granel, esto es debido a la falta de higiene por parte de los manipuladores, aunada a las inadecuadas temperaturas en las que se oferta la crema a base de leche.

En el 56 % los establecimientos se encontró una elevada carga microbiana lo cual nos indica una deficiencia higiénico-sanitaria, este tipo de contaminación suele surgir por parte de los manipuladores.

En cuanto a los coliformes totales y fecales se obtuvo un número más bajo con tan sólo un 8% de muestras para estos microorganismos, estos datos nos hablan sobre las buenas condiciones en las que se elabora la crema de leche, evidenciando que la contaminación surgió durante la oferta.

La investigación nos revelo un porcentaje alarmante para *Salmonella spp* con un total del 40% positividad de las muestras evaluadas, esto nos hace pensar en la probable presencia de portadores “sanos” o mejor llamados portadores asintomáticos entre los manipuladores, haciéndonos suponer la falta de requisitos mínimos higiénico-sanitarias en establecimientos que expiden a granel, esto pone en alto riesgo la salud pública por lo cual, enseguida se enlistan algunas recomendaciones para el mejoramiento de la calidad sanitaria en la crema expedida a granel, y por ende el aseguramiento de la inocuidad alimentaria.

Recomendaciones para los establecimientos que expiden a granel.

- ✓ Limpieza y desinfección diaria de los utensilios y contenedores donde se expide la crema a granel.
- ✓ Verificación del correcto cierre de los contenedores.
- ✓ Mantener la crema bajo temperaturas adecuadas para su correcta conservación.
- ✓ Capacitaciones periódicas de las buenas prácticas y la importancia del buen manejo para asegurar la inocuidad.
- ✓ Verificación del lavado de manos de los manipuladores antes y después de ir al baño.
- ✓ Implementación de Procedimientos Operacionales Estandarizados y de Sanitización.
- ✓ Realización de examen médicos al personal de manera periódica, con el fin de descartar portadores asintomáticos.
- ✓ Implementación de programas y procedimientos que aseguren la calidad e inocuidad de los alimentos.

LITERATURA CITADA

1. Albo, G. Apraiz, P. Cejas, M. Lanenello, S. Hazrum, F. Jakubowski, N. Macías, E. Poderoso, E. Sammartino, R. (2011) Buenas prácticas aplicadas a los alimentos. ANMAT. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/portafolio_educativo/Capitulo4.asp [Consultado 13 de abril del 2019].
2. Almeida, C. R. (1998) Sistema HACCP como instrumento para garantizar la inocuidad de dos alimentos. Higiene Alimentar. 12(53) 12-20 pp.
3. Aravan Labs. (2015) Placas de Petri Salmonella Shigella Agar. Ficha técnica. Disponible en: <http://aravanlabs.com.uy/wp-content/uploads/2015/12/especificaciones-placas-de-petri-salmonella-shigella-agar.pdf> [Consultado 15 de abril del 2019].
4. Artur, X. (2004) Riesgos y peligros en los productos lácteos. Universidad Autónoma de Barcelona. Consumer. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2004/08/11/13957.php>. [Consultado el 12 de mayo del 2019].
5. Beaumont, J. (1986) Falta de higiene y defectuosa manipulación de los alimentos, causas principales de las intoxicaciones alimentarias. Madrid EIPÁIS. Disponible en: https://elpais.com/diario/1986/08/05/sociedad/523576804_850215.html [Consultado el 2 de mayo del 2019].
6. Betancor, L. y Yim, L. (2012) *Salmonella* y salmonelosis. Departamento de bacteriología y virología. Departamento de desarrollo biotecnológico. Disponible en: http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Salmonella_y_salmonelosis.pdf. [Consultado 9 mayo del 2019].
7. Caballero, A. & Lengomín, M. (1998) Causas más frecuentes de problemas sanitarios en alimentos. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. 12(1). 20-30pp.

8. Calva, E. (2002) *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. México. Instituto de biotecnología UNAM. Disponible en: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/> [Consultado el 10 de mayo del 2019].
9. Camacho, A. Giles, M. Ortegón, A. Palao, M. Serrano, B. y Velázquez, O. (2009) Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable NMP) 2ed. México. Facultad de Química, UNAM. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf [Consultado el 7 de abril del 2019].
10. Coast, S. (2004) Comarca Lagunera. OpenStreetMap. Disponible en: <https://www.openstreetmap.org/search?query=torreon%20gomez%20y%20lerdo#map=12/25.5592/-103.4061> [Consultado el 20 de mayo del 2019].
11. Codex Alimentarius. (2005) Alimentos producidos orgánicamente. 2 ed. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0369s.pdf> [Consultado el 3 de mayo del 2019].
12. Codex Alimentarius. (2009) Higiene de los alimentos. 4 ed. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a1552s/A1552S00.pdf> [Consultado el 3 de mayo del 2019].
13. Convenin3046-93. (1993) Crema de leche para consumo. Norma Venezolana. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/3046-93.pdf> [Consultado el 15 de mayo del 2019].
14. Pacheco-de Delahaye, E. Rojas, A y Salinas, N. (2008) Caracterización fisicoquímica de cremas de leche. Revista de la Facultad de Agronomía. 25(2): 303-317.
15. Díaz, M. Barrio, M. Darré, M. Villa, R. Condorí, M. Lazarte, D. Trevisán, V. Peirano, C. Del Bó, C. Cañete, A y Alcaide, M. (2014) Análisis microbiológicos de los alimentos. Microorganismos indicadores. Vol3. Argentina. ANMAT. Disponible en:

- http://www.anmat.gov.ar/renaloe/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf [Consultado el 18 de abril del 2019].
16. Estrada, M. (2011) El Libro Blanco de la leche y los productos lácteos. La producción de leche. México. Litho offset.
 17. FAO. (2013a) Peligros para la salud. Roma, Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/> [Consultado el 9 de mayo del 2019].
 18. FAO. (2013b) Composición de la leche. Roma, Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/> [Consultado el 10 de mayo del 2019].
 19. FAO. (2002) Sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos. Sistemas de análisis de peligros y de puntos críticos de control. Disponible en: http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/sistema.pdf [Consultado el 3 de mayo del 2019].
 20. FAO. (2019) Alimentación depende del futuro de la inocuidad alimentaria. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1187517/> [Consultado el 6 de mayo del 2019].
 21. Fica, A. Acosta, G. Dabanch, J. Perret, C. Torres, M. Jofré, L. y Weitzel, T. (2012) Salmonelosis y el tamaño y rol de estado en el Chile. Rev chil infect. 29(2) 207-214.
 22. Global Food Safety Initiative (GFSI) (2014) ¿Qué es GFSI? Disponible en: <https://www.mygfsi.com/es/acerca-de-nosotros/acerca-de-gfsi/que-es-gfsi.html> [Consultado el 11 de mayo del 2019].
 23. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo (INSHT) (2012) *Staphylococcus aureus*. España. BDATA BIOE. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf> [Consultado el 17 de mayo del 2019].
 24. Jiménez, M. A. (2018) Enfermedades transmitidas por alimentos. Secretaría de salud. San Luis Potosí, México. Disponible en:

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/334653/11_ETAS-Ma_Eugenia_Jimenez-DGE.pdf . [Consultado el 4 de mayo del 2019].

25. Jiménez, R. Muñoz, C. Delgado, A. Rivero, A. y Torres-Cisneros, J. (2010) Fiebre tifoidea y otras infecciones por *Salmonellas*. *Medicine*. 10(53) 3297-3501pp.
26. Laboratorio Britania. (2013) Manitol Salado Agar. Ficha técnica. Disponible en:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2ed6c53aed1.pdf [Consultado el 18 de abril del 2019].
27. Laboratorio, Britania (2018) E.M.B. (con Eosina y Azul de Metileno). Ficha técnica. Disponible en:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a28240e1c004.pdf [Consultado el 18 de abril del 2019].
28. Laboratorio Britania. (2018) Verde Brillante Agar. Ficha técnica. En línea:
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a297dd65f505.pdf [Consultado el 18 de abril del 2019].
29. Mercado, C. E. (2007) Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria*, 12(24), 119-131pp.
30. Ministerio de Salud Pública y Protección Social (Min Salud) (2013) Salud Pública Calidad e Inocuidad de los Alimentos. Bogotá Colombia. Disponible en:
<https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/general-temp-jd/LA%20INOCUIDAD%20DE%20ALIMENTOS%20Y%20SU%20IMPORTANCIA%20EN%20LA%20CADENA%20AGROALIMENTARIA.pdf>
[Consultado el 8 de mayo del 2019].
31. Navarro, R. (2015) *Staphylococcus aureus* en la industria alimentaria. Valencia España. BATELGEUX. Disponible en:
<http://www.betelgeux.es/blog/2015/07/09/staphylococcus-aureus-en-la-industria-alimentaria/> [Consultado el 21 de mayo del 2019].

32. Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994. bienes y servicios. leche pasteurizada de vaca. disposiciones y especificaciones sanitarias.
33. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
34. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, bienes y servicios. determinación de bacterias coliformes. técnica del número más probable.
35. Norma Oficial Mexicana NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.
36. Olmos, A. Fuentes, C. Nieto, J. Ramos, S. (2010) Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Betancour. España. Eimc. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf> [Consultado el 13 de abril del 2019].
37. Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos (RedNaLOA) (2011) Análisis microbiológicos de los alimentos. Detección, aislamiento e identificación de *Salmonella spp.* en muestra de alimentos. Vol1. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloe/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_1.pdf [Consultado el 10 de abril del 2019].
38. Rubeglio, E. A. y Tesone, S (2007) *Escherichia coli O157 H7*: presencia en alimentos no cárnicos. Archivos argentinos de pediatría, 105(3). 193-194.
39. Tafur Garzón, M. (2009) La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 22 (3), 330-338.
40. Todar, k. (2001) *Estafilococcus*. Universidad de Wisconsin. Todar's online textbook of bacteriology. Disponible en: http://textbookofbacteriology.net/staph_4.html [Consultado el 22 de mayo del 2019].

41. Universidad Autónoma de México (UNAM) (2009) Microorganismos indicadores. Departamento de programas audiovisuales. México. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf [Consultado el 13 de abril del 2019].
42. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM) (2011) Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. México Facultad de química. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/patogNOMStaphylococcusaureus_17365.pdf [Consultado el 15 de abril del 2019].
43. Uribe, C. & Suarez, M. (2006) Salmonelosis no tifoidea a través de alimentos de origen aviar. Colombia Médica, 37 (2). 151-158
44. Wattiaux, M. (2015) Secreción de leche por la ubre de una vaca lechera. Disponible en: <https://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2015/02/secrecion-de-leche-por-la-ubre-de-una-vaca-lechera-es.pdf> [Consultado el 15 de mayo del 2019].
45. Zaid, M. López, C. y Calva, E. 2006. Estudios mexicanos sobre *Salmonella*, epidemiologías vacunas y biología molecular. Revista latinoamericana microbiología. 48(2) 121-125.