

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“EVALUACIÓN SANITARIA DEL QUESO FRESCO
ARTESANAL EN EL EJIDO CHIHUAHUA, LA TRINITARIA,
CHIAPAS”**

POR

LEVI NORBERTO ESPINOSA GARCÍA

Tesis

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

FEBRERO 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“EVALUACIÓN SANITARIA DEL QUESO FRESCO ARTESANAL
EN EL EJIDO CHIHUAHUA, LA TRINITARIA, CHIAPAS”**

POR

LEVI NORBERTO ESPINOSA GARCÍA

QFB. Laura Ileana Olvera Dena
ASESOR PRINCIPAL

M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

FEBRERO 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

QFB. Laura Ileana Olvera Dena
PRESIDENTE

MS. Delfino Reyes Macías
VOCAL

IBQ. Cristina Esparza Alcalá
VOCAL

MC. Patricia Lara Galván
VOCAL SUPLENTE

DEDICATORIAS

A Dios Todopoderoso.

Que ha intercedido en todo momento para que pudiera hacer lo que he deseado hacer. Al que le debo todo.

A Mis Padres.

Con todo mi amor para mi madre Violeta y mi padre Aníbal, que hicieron lo imposible para que pudiera lograr mis sueños, por darme la mano cuando lo necesité, a ustedes con todo el respeto que se han ganado.

A mi Hermana.

Verónica, mi amor por siempre, me haz llenado de luz. Te amo.

A mi Amada Esposa.

Que llegaste cuando debiste de llegar, mi motivación, dadora de amor, mi todo. Te la dedico con este mi amor que me mueve a amarte cada día, Cristina.

AGRADECIMIENTOS

A mi Esposa.

Valioso apoyo en la realización de este trabajo, gracias por tu paciencia y sabiduría.

A mis Maestros.

QFB. Laura Ileana Olvera Dena, por compartir sus conocimientos conmigo y a MVZ Olivia, por su desinteresado apoyo siempre que lo necesité. Gracias.

A mis Amigos

Claudia, Moisés, Yesica, Rocío, Felipe. Gracias por estar ahí.

A Mi Alma Terra Mater

Agradezco a mi “ALMA MATER” por recibirme en su seno y brindarme todo su espacio para la realización de mi vida profesional.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Historia del queso.....	4
Definición de queso.....	5
Clasificación de los quesos.....	6
Definición de queso fresco.....	6
Justificación del queso fresco artesanal.....	7
Proceso de elaboración del queso fresco artesanal.....	8
Condiciones de crecimiento de las bacterias.....	8
Enfermedades transmitidas por alimentos.....	11
Microorganismos patógenos en el queso.....	12
Microorganismos marcadores.....	12
Microorganismos indicadores.....	13
Microorganismos índices.....	14
Generalidades de Coliformes fecales.....	14
Patología de <i>Escherichia coli</i>	15
Generalidades de <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Patología de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Generalidades de <i>Salmonella</i>	17
Patología de <i>Salmonella</i>	16
Generalidades de <i>Listeria monocytogenes</i>	18

Patología de <i>Listeria monocytogenes</i>	18
OBJETIVOS	20
HIPÓTESIS	20
MATERIALES Y MÉTODOS	21
Localización.....	21
Tamaño de la muestra.....	21
Colección de la muestra.....	21
Procesamiento de las muestras.....	22
Coliformes fecales.....	22
<i>Staphylococcus aureus</i>	23
<i>Salmonella</i>	23
<i>Listeria monocytogenes</i>	24
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	26
Coliformes fecales.....	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	27
<i>Salmonella</i>	28
<i>Listeria monocytogenes</i>	29
Área de estudio.....	31
Elaboración del queso.....	32
Especificaciones sanitarias del queso fresco artesanal sin legislación...34	
CONCLUSIONES	35
LITERATURA CITADA	36

ÍNDICE DE GRAFICAS

	Pág.
Grafica 1. Comparación de resultados obtenidos en relación a la NOM-243-SSA1 2010.....	31

RESUMEN

En México, más del 50% de la producción de quesos la constituyen la quesería artesanal, y es este uno de los alimentos que cuentan con mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser comercializado, por esta razón se le asocia con brotes de intoxicaciones alimentarias. Se colectaron muestras de 50g de queso fresco artesanal en los expendios en el ejido Chihuahua, La Trinitaria, Chiapas. Se determinó la presencia de Coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* a partir de quesos frescos elaborados con leche de vaca sin pasteurizar para evidenciar deficiencias higiénicas en el procesamiento y comercialización. Se obtuvo como resultados: coliformes fecales con 1100 UFC/g por cada una de las muestras, *Staphylococcus aureus* con menos de 100UFC/g, no se encontraron *Salmonella* ni *Listeria monocytogenes*. A pesar que *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* se encuentran dentro de los límites establecido en norma NOM-243-SSA1-2010; la elevada cantidad de bacterias coliformes encontrados indican malas prácticas de higiene en su elaboración. Haciéndolos no son aptos para consumo humano.

PALABRAS CLAVE: Lácteos, bacteria, patógeno, higiene, comercialización.

INTRODUCCIÓN

La fabricación de queso a nivel nacional se puede dividir en dos grandes grupos: Por un lado, se encuentran la fabricación de quesos con leche pasteurizada que cumple con normas oficiales; que corresponde a las empresas lácteas con mayor volumen de producción. Y por otro lado, la fabricación de quesos que se realizan a partir de leche cruda, y que no cumple con la mismas normas sanitarias establecidas, lo que implica un riesgo para la salud. A este grupo pertenece la mayoría de las medianas y pequeñas empresas (Franco, 1998).

En México, más del 50% de la producción de quesos la constituyen la quesería artesanal que es dependiente del abastecimiento de leche proveniente principalmente de sistemas de producción de doble propósito y familiar. La producción de quesos artesanales durante un periodo muy largo de la historia del país se circunscribió a los ranchos y a las pequeñas poblaciones, por lo que la población en general presenta un gusto preferencial por este tipo de quesos (FAO, 2013).

El desconocimiento de los factores que determinan la calidad y que garantizan la inocuidad de los quesos, ha sido uno de los principales problemas a los que la quesería artesanal se ha enfrentado (FAO, 2013), ya que tanto en su elaboración como en la forma de ofrecerlos resultan en un alto riesgo sanitario, debido a que las condiciones en que se expenden no son apropiadas (Reséndiz *et al.*, 2012).

Los alimentos pueden contaminarse con diferentes tipos de agentes que pueden alterar o no sus características. En dependencia del agente contaminante se distinguen la contaminación física, la química y la biológica. Esta última es la más estudiada, ya que los microorganismos causan la mayoría de las intoxicaciones alimentarias (Cristobal y Maurtua, 2003).

El queso fresco artesanal, dentro de la gama de productos lácteos elaborados, es el que cuenta con mayor número de microorganismos patógenos al momento de

ser comercializado. Por esta razón se le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicaciones alimentarias (Reséndiz *et al.*, 2012).

El análisis de la revisión bibliográfica de estudios epidemiológicos de brotes vehiculizados por leche, productos lácteos, y quesos en particular, de la especie bovina realizada por (Michanie *et al.*, 2001), reveló que la mayoría de los brotes de enfermedades producidas por el consumo de queso se presentó porque éstos fueron elaborados con leche cruda o con la mezcla de leche cruda y pasteurizada. La mayoría de los brotes obedeció al consumo de quesos frescos.

En 1985 en el sur de California, EE.UU. hubo un brote de listeriosis debido a la mala pasteurización de la leche utilizada en la elaboración de quesos estilo mexicano, el resultado fue 86 casos, 58 casos de madre-lactante y en la cual fallecieron 47 personas (Prescott *et al.*, 2002).

En México han habido reportes de intoxicaciones alimentarias, también denominadas toxiinfecciones alimentarias (Cristobal y Maurtua, 2003). Ejemplos de ellos son los siguientes:

Del 27 al 31 de octubre de 1982 se detectó un brote en Salina Cruz y Tehuantepec, Oaxaca, afectando a 64 personas con una defunción en una menor de 3 años donde la posible fuente de infección se atribuyó a queso contaminado (Epidemiología, 1983).

En la ciudad de Tepeaca, Puebla, se presentó un brote que afectó a un grupo de 19 personas que ingirieron queso fresco de vaca el 31 de marzo de 1984. Más tarde el 3 de junio del mismo año se presentaron en el mismo lugar cuatro personas con una historia clínica compatible con intoxicación alimentaria relacionada con la ingestión de queso fresco (Epidemiología, 1984).

Después, el 3 de julio de 1994 en un campo agrícola del municipio de Hermosillo, Sonora, ocurrió un brote de intoxicación alimentaria que involucró a 87 personas

de un total de 132 expuestas. La probable fuente de infección se encontró el consumo de queso fresco, entre otros alimentos (Epidemiología, 1994).

En México las autoridades responsables para el control de la inocuidad alimentaria son la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y la Secretaría de Salud (SS) a través de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios. (COFEPRIS) (Flores y Vélez, 2002), quienes han establecido medidas para un control sobre la inocuidad de los alimentos, sin embargo a pesar de los esfuerzos realizados, las enfermedades de transmisión alimentaria constituyen uno de los problemas de salud pública más extendidos en el mundo y provocan daños a la salud y pérdidas económicas (Pietro *et al.*, 2004). Por esta razón, resulta de particular importancia tratar de determinar el impacto que la venta de alimentos artesanales como el queso fresco resulta al venderlos en tianguis, y consecuentemente la presencia de enfermedades por su consumo (Reséndiz *et al.*, 2012).

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia del queso.

La historia del queso se remota hace muchos años. No se conoce exactamente donde y cuando apareció el queso, probablemente apareció después de unos hechos fortuitos como la acidificación natural de la leche de manera natural, el prensado de una leche acida con eliminación de suero, etc. Hay indicios que en el año 3000 a. C., en el oriente medio fue hecho por primera vez (Agropecuarios, 2001). Sin embargo Hay vestigios históricos (vasijas que contuvieron queso) de hace más de 6.000 años Antes de Cristo en las civilizaciones mediterráneas (Egipto, Mesopotamia) que indican la existencia de variedades de queso (Cenzano, 1995).

Se conoce ya la importancia del queso para algunas civilizaciones como la griega y la romana, y para algunos reyes y emperadores. En la biblia también existen referencias alusivas a este alimento (Agropecuarios, 2001).

Después de siglos de su consumo se descubrieron técnicas para su conservación como prensarlos para obtener quesos más secos que aguantasen desde lugares lejanos hasta el punto de consumo. La salación que contribuía, además de darle otro sabor, a su conservación. El curado también se realizaba para lograr un equilibrio entre los microorganismos del queso (Cenzano, 1995). Pero los problemas sobre la conservación dieron un gran salto cuando L. Pasteur, 1822 - 1895, químico francés, inventó el método de tratamiento por calor que actualmente se denomina pasteurización (Pak, 2003).

Las técnicas queseras europeas llegaron a nuestro continente gracias al descubrimiento de Cristóbal Colon, donde con el tiempo se volvieron autóctonos de gran categoría resultado de la evolución de varios siglos de esas técnicas en suelo americano. Después, con el transcurso de los siglos, hasta llegar al nuestro

se han ido perfeccionando las técnicas, pero el principio es el mismo (Cenzano, 1995).

Definición de queso.

Según la norma general del Codex para el queso (CODEX STAN 283-1978) emitida por el Codex Alimentarius, se entiende por queso, el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante: (a) coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema) de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso; y/o (b) técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el apartado (a) (CODEX, 2013a).

En México la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios a través de la NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, “Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba”; define a los quesos como: productos elaborados de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por

calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado (COFEPRIS, 2010).

Clasificación de los quesos.

Los quesos pueden clasificarse de acuerdo a sus características en: quesos de pasta blanda, quesos de pasta firme, quesos de pasta dura, quesos procesados y quesos frescos. Dentro de esta última clasificación, se encuentra el queso blanco, queso cottage, queso crema y queso tipo Neufchatel, requesón y queso tipo Mozzarella, por mencionar algunos. Y es aquí, donde se incluye el queso fresco artesanal (Meyer, 2006).

Definición de queso fresco.

Según el Codex Alimentarius en la norma CODEX STAN 221-2001 “Norma de grupo del Codex para el queso no madurado, incluido el queso fresco” (CODEX, 2013b), lo define: Se entiende por quesos no madurados, incluidos los quesos frescos, los productos que se ajustan a la Norma General del Codex para el Queso (CODEX STAN 283-1978) y que están listos para el consumo poco después de su fabricación.

La NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, “Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba”; lo define de esta manera: Quesos frescos, aquellos que además de cumplir con la descripción general de queso se caracterizan por su alto contenido de humedad, y por no tener corteza o tener corteza muy fina, pudiendo o no adicionarles aditivos e ingredientes opcionales (COFEPRIS, 2010).

Estos quesos tienen un elevado contenido acuoso que oscila entre 50 y 80% a causa de tal humedad, esta clase de queso no se conserva durante mucho tiempo. El queso fresco artesanal pasteurizado contiene 49% de extracto seco, 15% de grasa, 22.9% de proteína, 3% de sal, 5.4% de cenizas y un pH de 5.3 (Meyer, 2006).

Justificación del queso fresco artesanal.

En México, como en otros países en desarrollo, a la par con la economía del estado existe una economía informal vinculada a la utilización de recursos genéticos locales, entre cuyas actividades se encuentra la venta de alimentos en la vía pública (Reséndiz *et al.*, 2012). La venta de alimentos en las calles constituye un factor positivo por su posibilidad de generar empleos, movilizar gran cantidad de recursos y satisfacer la obtención de comidas rápidas, entre otras ventajas (Caballero *et al.*, 1998).

Existen más de 30 variedades de quesos mexicanos artesanales que poseen una fuerte raíz histórica y cultural. Son productos genuinos elaborados a partir de leche fluida de vaca. Algunos se elaboran desde la Colonia, otros son más recientes (Espinoza *et al.*, 2010). El queso es rico en proteínas, grasas, sales minerales y vitaminas; en niños y adultos favorece el crecimiento y fortalecimiento de huesos y dientes (Juárez *et al.*, 2011).

Se han estudiado el sabor y aroma típicos de los quesos que se han asociado a bacterias ácido lácticas (BAL) específicas identificadas a nivel molecular. Dichas bacterias se han usado en cultivos para la manufactura de quesos con el objetivo de igualar o potenciar las características sensoriales que tipifican a los quesos artesanales. Además, se ha encontrado que algunas cepas de BAL producen compuestos bioactivos como antihipertensivos, antioxidantes, entre otros, con efecto benéfico para la salud (FAO, 2013).

Proceso de elaboración del queso fresco artesanal

Previo ordeño de la ubre para obtención de la leche, generalmente con agua y en ocasiones se usa detergente.

1. Recepción de la leche. Que se lleva a cabo al amanecer.
2. Colado. Se filtra la leche a través de una membrana semipermeable, generalmente una manta de algodón para eliminar la materia física.
3. Cuajado. La coagulación de la caseína es el proceso fundamental en la fabricación de queso. Se hace generalmente con cuajo. El principio activo del cuajo es una enzima denominada *quimosina*. Su acción opera primero convirtiendo la caseína en paracaseína por la acción del cuajo, y segundo, la precipitación de la paracaseína en presencia de iones de calcio (Pak, 2003). Aunque también se puede provocar la coagulación con jugos de frutas, como el limón y con vinagre (Meyer, 2006). Después de agregar el cuajo se mezcla con un agitador de manera suave. Posteriormente se acerca a una fuente suave de calor, generalmente un fogón.
4. Cortado. Consiste en hacer de la caseína coagulada, trozos más pequeños para lograr un desuerado completo.
5. Desuerado. Con ayuda del colador, se separa el suero secretado de la materia sólida.
6. Salado y amasado. Se agrega sal a la masa que ha quedado y se mezcla de manera que quede distribuido uniformemente.
8. Moldeado. Se toma la cantidad deseada para comercializar (Kurlat, 2011).
9. Empacado. Se reemplaza el material sintético y se utilizan hojas de plátano como envoltura.

Condiciones de crecimiento de las bacterias.

Las bacterias para que puedan sobrevivir y reproducirse, necesitan ciertas condiciones, el crecimiento bacteriano está controlado por factores intrínsecos

(pH, humedad, Actividad de agua, potencial oxido reducción, nutrientes disponibles, presencia de agentes antimicrobianos naturales) y factores extrínsecos (temperatura, humedad relativa, gases CO₂, O₂, microorganismos presentes) (Prescott *et al.*, 2002):

pH. Los microorganismos no pueden soportar soluciones acidas o alcalinas fuertes. Las bacterias prefieren un pH cercano a la neutralidad (6.8-7.4). La leche fresca tiene un pH de 6.5 - 6.7.

Humedad. No pueden crecer en ausencia de humedad, cuando la humedad disponible es del 20% el crecimiento es bueno, a menos de 5% el crecimiento se detiene.

A_w. Entendiendo como Actividad de agua a la relación entre la presión de vapor de agua en el producto y la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura. las bacterias normalmente no pueden reproducirse a una A_w <0.9, aunque a bajos valores de A_w no se detiene la actividad enzimática (Pak, 2003).

Potencial oxido-reducción. Un alimento cocinado tiene menor potencial oxido-reducción (Prescott *et al.*, 2002).

Nutrientes. Las principales fuentes de alimentación son los compuestos orgánicos tales como las proteínas, grasas e hidratos de carbono, además necesitan pequeñas cantidades de elementos traza y vitaminas para el crecimiento y buen estado de las bacterias (Pak, 2003).

Agentes antimicrobianos presentes. Existe algunos compuestos como la enzima lisozima, compuestos aldehídos y fenólicos naturales, alicina, eugenol; que tienen un efecto antimicrobiano (Prescott *et al.*, 2002).

Temperatura. Es el factor más importante que afecta el crecimiento y reproducción de los microorganismos. En principio pueden desarrollarse entre el punto de congelación del agua y la temperatura a la cual coagula la proteína del citoplasma. Los límites de temperatura varían de una bacteria a otra, pero la mayoría tiene sus límites a $< 4^{\circ}\text{C}$ donde la bacteria no se muere pero baja su reproducción, la bacteria puede sobrevivir por debajo de -250°C durante 10 horas; y a $>70^{\circ}\text{C}$ e incluso a 85°C por 15 minutos donde la mayoría se muere (Pak, 2003; SECTUR, 2005).

Gases: El exceso de CO_2 puede reducir el pH inhibiendo el crecimiento bacteriano (Prescott *et al.*, 2002) oxígeno. Muchos microorganismos necesitan oxígeno libre para oxidar sus alimentos con objeto de producir energía y mantener sus procesos vitales. Mediante la oxidación completa de los compuestos orgánicos se forman agua y CO_2 .

Agua. Las bacterias no pueden crecer sin agua. Muchas bacterias mueren rápidamente por las condiciones secas, mientras que otros pueden tolerar condiciones secas durante meses. Para que la materia orgánica se aproveche debe ser soluble al agua y tener bajo peso molecular para que puedan pasar por la membrana citoplasmática, por lo tanto deben tener acceso al agua (ILRI, 2006).

Presión osmótica. Las bacterias no pueden soportar soluciones con altas concentraciones de azúcar o sal o altas presiones osmóticas. Cuando se les expone a la acción de este tipo de soluciones, el agua sale de la célula provocando deshidratación (Pak, 2003).

Tiempo. En condiciones favorables la división de las bacterias pueden tener lugar a intervalos de 20 a 30 minutos. con un tiempo de generación de 0.5 horas a una temperatura óptima, una bacteria/ml de leche pasara a ser un millón de bacterias/ml en 10 horas (SECTUR, 2005).

Leche fresca de una vaca sana contiene pocas bacterias, pero la contaminación durante la manipulación puede aumentar rápidamente el número de bacterias y por lo tanto puede producir la enfermedad. La leche es un alimento ideal y muchas bacterias crecen fácilmente en ella (ILRI, 2006).

Enfermedades transmitidas por alimentos.

Los alimentos pueden actuar como vehículos de transmisión de enfermedades. Las ETA derivan de la ingestión de microorganismos patógenos (*pathos*-enfermedad, *genesis*-origen) (Pak, 2003) seguida del crecimiento del mismo por invasión de los tejidos, liberación de toxinas o ambas, como consecuencia se desarrolla la enfermedad (Prescott *et al.*, 2002). Así las ETA pueden ocasionar: Infecciones: Aquellas que se producen al consumir alimentos con microorganismos y su proliferación. E Intoxicaciones: Las cuales se presentan cuando se consumen toxinas que desechan los microorganismos en el alimento (SECTUR, 2005) a través del ataque y rotura de células. Es posible matar a estos organismos pero no sus toxinas (Pak, 2003).

Durante la secuencia completa de manipulación de los alimentos desde el productor hasta el consumidor final, los microorganismos pueden afectar la calidad de los alimentos y la salud humana (Prescott *et al.*, 2002). Las ETA están relacionadas con deficientes prácticas higiénicas. Normalmente la ruta fecal-oral es la implicada, ya sea vía alimento, agua o fómites (Prescott *et al.*, 2002).

Un informe de la CDC (Centers of Disease Control and Prevención) de EE. UU. en el 2002, mencionó que la incidencia anual de ETA era más de 76 millones de casos de los cuales solo 14 millones podían ser atribuidas a patógenos conocidos, los cuales requerían 325 000 hospitalizaciones anuales y producían 5 000 muertes (Prescott *et al.*, 2002).

En México, según la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud, en el año 2005, la intoxicación alimentaria de origen bacteriano ocupó el cuarto lugar de las enfermedades diarreicas y el décimo respecto al total de casos notificados (SSA, 2005). Los casos de intoxicación alimentaria bacteriana reportados durante el año 2013 en el estado de Chiapas fue de 1802, y a nivel nacional de 40 147 (SUIVE, 2013). Por lo tanto aún sigue siendo uno de los principales problemas de salud pública que impacta en la calidad de vida de los consumidores.

Microorganismos patógenos en el queso.

El grupo de patógenos incluye *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* , *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Campylobacter spp*, *Yersinia enterocolítica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, así como la cepa O157:H7 de la enterobacteria *Escherichia coli* (Gonzalez y Rojas, 2005) y en algunos países *Brucella spp* y *Mycobacterium tuberculosis*. Todos ellos excepto los esporulados y los enterococos, se destruyen por la pasteurización (Lanchipa y Sosa, 2003). Muchos brotes de enfermedades producidas por los microorganismos mencionados están relacionados al consumo de lácteos (Prescott *et al.*, 2002).

Microorganismos marcadores.

Los microorganismos marcadores son aquellos cuya presencia en los alimentos advierte sobre una inadecuada manipulación de la materia prima o el alimento, la existencia de un peligro para la salud del consumidor (microorganismos, toxinas, etc.), o una falla en los procesos destinados a su saneamiento (Signorini *et al.*, 2008). La puesta en evidencia de este riesgo se basa en el examen de muestras de alimentos en busca de los propios agentes causales o de indicadores de una contaminación no admisible. Se utilizan grupos o especies de microorganismos, cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido

organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicas (Periago, 2009).

Entre los marcadores se pueden diferenciar dos grupos: microorganismos indicadores y microorganismos índices (Signorini *et al.*, 2008).

Un determinado marcador puede funcionar como índice o como indicador, incluso en un mismo alimento. Por ejemplo, la presencia de números significativos de UFC de *E. coli* pone de manifiesto: a) un tratamiento de inocuidad inadecuado, por lo tanto función indicadora, b) presencia posible de microorganismos patógenos de procedencia entérica, función de índice para microorganismos significativos en cuanto a la salud. Pero *E. coli* no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente (Periago, 2009).

Microorganismos indicadores.

Son aquellos cuya detección o presencia en números predeterminados sugiere un fallo en un proceso destinado a sanear, higienizar, descontaminar o mejorar la seguridad del alimento. En el caso del queso, los microorganismos indicadores son útiles para juzgar el funcionamiento del establecimiento, pues señalan la existencia de defectos durante la manipulación, el incumplimiento de las pautas de higiene y permiten inferir la vida útil y la inocuidad del alimento (Signorini *et al.*, 2008). Además, puede poner de manifiesto o advertir diversas deficiencias de este producto, entre ellas: a) un tratamiento térmico insuficiente, b) una contaminación posterior al tratamiento, c) un almacenamiento del producto final a una temperatura elevada (Periago, 2009).

Algunas bacterias entéricas indicadoras son: *Escherichia coli*, coliformes y *Enterobacteriaceae*. Aunque los organismos coliformes son el grupo indicador con mayor tradición en microbiología sanitaria (Caballero, 2008).

El término habitual “coliformes” comprende *E. coli* y diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. Los “coliformes fecales” incluyen un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes. Tales cultivos de enriquecimiento contienen por lo general un alto porcentaje de *E. coli* y son, por ello, muy indicativos de una probable contaminación de origen fecal del alimento. *E. coli* es un germen cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica una contaminación directa o indirecta de origen fecal. (Periago, 2009).

Microorganismos índices.

Son aquellos cuya presencia o detección a ciertos niveles supone la presencia potencial de microorganismos patógenos con estrecha relación taxonómica, fisiológica y ecológica (Signorini *et al.*, 2008). *E. coli* ha venido utilizándose como índice de posible presencia de patógenos de procedencia entérica (entre ellos, *Salmonella* spp.) en el agua y los alimentos (Periago, 2009).

Entre los grupos o microorganismos índices, las enterobacterias y *Escherichia coli* sugieren el origen fecal de la contaminación, mientras que *Staphylococcus aureus* se relaciona con la piel, las mucosas y el tracto respiratorio del hombre (Signorini *et al.*, 2008).

La presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* o *Listeria monocytogenes* implica falta de inocuidad del alimento y como consecuencia un severo riesgo para el consumidor (Signorini *et al.*, 2008).

Generalidades de Coliformes fecales.

Se denominan así principalmente las especies de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* y otras especies de enterobacterias que sean capaces de fermentar la lactosa con producción de gas (Caballero, 2008). La

definición generalmente aceptada para el término “Coliformes” describe a estos microorganismos como bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas, aunque algunos pueden ser fermentadores tardíos o no fermentadores. La mayoría de los coliformes pueden encontrarse en la flora normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces, por ejemplo *Escherichia coli*. *E.coli* requiere de un mínimo de A_w de 0.96 (Prescott *et al.*, 2002). Por su presencia constante en la materia fecal, los coliformes son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas (Camacho *et al.*, 2009).

Patología de *Escherichia coli*

Por ser quizá la bacteria más importante en el grupo de los microorganismos coliformes fecales, se hace una breve revisión a la patología de *E. coli*. Puede causar enfermedad diarreica (SSA, 2005) por varios mecanismos y se identifican varias cepas: *Escherichia coli* enterotoxigena (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH) *Escherichia coli* enteroagregante (ECEAg). La enterotoxina termolábil (LT) y termoestable (ST) causan hipersecreción en el intestino delgado. En 1982 se descubrió la cepa más patógena; *Escherichia coli* O157:H7 causante de colitis hemorrágica, síndrome hemolítico urémico (Prescott *et al.*, 2002).

Generalidades de *Staphylococcus aureus*.

Es una bacteria que pertenece a la familia *Micrococcaceae*, consiste en células esféricas (cocos) Gram positivas, termolábiles, coagulasa positiva, aerobio facultativo, inmóvil, no esporulados, que resisten concentraciones relativamente altas de sal, producen hemólisis y fermentan manitol (Caballero, 2008). Miden .5-1.5Um de diámetro, forman racimos irregulares, la pared celular contiene

peptidoglicano y ácidos teicoicos. *Staphylococcus aureus* requiere una A_w mínimo de 0.86 (Prescott *et al.*, 2002).

Sobrevive durante semanas en los cadáveres, en los tejidos y órganos de animales (carne) y, durante días, en el suelo y en la superficie de los objetos metálicos y de vidrio. También puede crecer en soluciones salinas con una proporción de hasta un 15% (INSHT, 2012).

Patología de *Staphylococcus aureus*.

En 1981 se descubrió a *Staphylococcus aureus* como causante del síndrome shock tóxico (Prescott *et al.*, 2002). Las bacterias presentes en un portador asintomático o en un enfermo se pueden propagar por las manos, ser expedidos por el aparato respiratorio o ser transportados por objetos animados o inanimados, la transmisión se produce principalmente por ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o sus toxinas (INSHT, 2012). Éstos pueden causar enfermedad en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo. La virulencia de *S. aureus* se debe al efecto combinado de factores extracelulares y toxinas junto a las propiedades invasoras de la cepa. Se ha estimado que para producir enfermedad, las cantidades de enterotoxina estafilocócica (EE) van desde 100 ng hasta 1 ng de toxina (Corona y Mendoza, 2011).

Se han identificado seis enterotoxinas diferentes designadas como A, B, C1, C2, D y E. Éstas toxinas parecen actuar como neurotoxinas que actúan sobre receptores que transmiten impulsos a los centros bulbares como la estimulación del vómito a través del nervio vago, por lo menos algunas de ellas son superantígenos y desencadenan la liberación de IL-2 y otras linfocinas (Prescott *et al.*, 2002). En general sus factores de virulencia son: coagulasa, lipasa, esterasas, elastasa, estafilocinasa, desoxirribonucleasa, hialuronidasa, fosfolipasa, proteína A, leucocidina, toxina alfa (alfa-hemolisina). Toxina beta (beta-hemolisina), toxinas exfoliativas y enterotoxinas (Quinn y Markey, 2005).

Los síntomas comprenden dolor abdominal, espasmos, diarrea, vómitos y náuseas (SSA, 2005), el inicio de los síntomas va de 1-8 horas. Figuran entre las bacterias

patógenas más importantes para el ser humano. Son habitantes normales de las vías superiores, la piel, el intestino, y la vagina. A partir de estas fuentes pueden alcanzar con facilidad a los alimentos, crecen con facilidad en carnes, productos lácteos y de pastelería (Prescott *et al.*, 2002). Los alimentos que contienen enterotoxina estafilocócica conservan su apariencia, olor y sabor normal (Corona y Mendoza, 2011). Una vez que la bacteria ha producido su toxina, se puede cocinar el alimento matando a la bacteria pero no a su toxina. (Prescott *et al.*, 2002).

Generalidades de *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, provistos de flagelos y móviles. De acuerdo con la presencia de antígenos O (lipopolisacárido) Vi (polisacárido capsular) y H (flagelar) pueden actualmente serotiparse en más de 2.300 serovariedades (Jurado *et al.*, 2010).

Patología de *Salmonella*

La fuente inicial de la bacteria es el tracto intestinal de animales. Los humanos adquieren la bacteria a través de alimentos contaminados. Una vez en el cuerpo el periodo de incubación es de 8-48 horas. La bacteria invade la mucosa intestinal donde producen una enterotoxina y citotoxina que destruyen las células epiteliales (Prescott *et al.*, 2002).

S. typhi, una de las más patógenas en el hombre, coloniza el intestino delgado, atraviesa el epitelio y se propaga al tejido linfoide, la sangre, el hígado, y la vesícula biliar donde pueden pasar nuevamente al intestino a través del colédoco (Prescott *et al.*, 2002). Se conocen tres formas clínicas de salmonelosis en el humano: gastroenteritis, fiebre entérica y una enfermedad invasiva sistémica (Caballero, 2008). Deben su patogenicidad a su capacidad para invadir los tejidos y sobrevivir dentro de los macrófagos. El antígeno Vi es una capsula que proporciona a las salmonelas cierta protección contra la fagocitosis. Cuando es fagocitada, *S. typhi* genera radicales libres oxidantes y la muerte intrafagosómica,

además las salmonelas tienen lipopolisacárido endotóxico, el cual conduce a choque séptico en pacientes con bacteriemia (Stuart, 2000).

Los síntomas son dolor abdominal, espasmos, diarrea, náuseas, vómitos y fiebre, y anorexia en una forma crónica. Las complicaciones menos comunes pero más graves pueden ser artritis y pericarditis que puede producir también un cuadro grave, con meningitis, aborto y hasta la muerte (Caballero, 2008). Durante la fase aguda de la enfermedad puede encontrarse hasta mil millones de *Salmonella* por gramo de heces. El diagnóstico se hace aislando la bacteria de las heces, orina o alimentos y también por serología (prueba de widal) (Prescott *et al.*, 2002).

Es la causa más común de ETA's en muchos países, y el primer agente causal de brotes de origen alimentario (Caballero, 2008). En EEUU los productos lácteos son identificados como uno de los principales alimentos involucrados (Stuart, 2000).

Generalidades de *Listeria monocytogenes*

Bacilo Gram positivas, catalasa-positivas, oxidasa negativas, móviles y anaerobias facultativas, tolera pH entre 5.5 y 9.5 (Quinn y Markey, 2005). Es pequeño de 0,4 - 0,5 x 0,5 - 2 μm ; crece entre 0 - 50 °C, con una temperatura óptima entre 30 - 37 °C; en medios líquidos a 20 - 25 °C, pero inmóvil a 37 °C; ácido tolerante; tolerante a sales; criotolerante; no posee cápsula; no forma espora y en placas de agar sangre produce hemólisis (Días *et al.*, 2012). Es un patógeno intracelular facultativo (Prescott *et al.*, 2002).

Patología de *Listeria monocytogenes*

Según el antígeno somático (O) y el flagelar (H) existen 11 serotipos de *L. monocytogenes*, de los cuales tres de ellos (1/2 a, 1/2 b y 4 b) son causantes del 90 % de las infecciones (Días *et al.*, 2012).

A partir de 1980 empiezan a aparecer en la literatura informes documentados de listeriosis humana, detectados por consumo de alimentos contaminados, los brotes de *Listeria* se han asociado a fuentes tales como leche contaminada, quesos, y otros alimentos, se puede encontrar formando parte de la microbiota

gastrointestinal de individuos sanos (Prescott *et al.*, 2002). En individuos inmunodeprimidos la invasión, multiplicación y transmisión célula-célula parece estar mediada por proteínas como la internalina, la hemolisina listeriolisina O y la fosfolipasa C. También utiliza los filamentos de actina del huésped para moverse dentro de las células. La manifestación primaria incluye la presencia de septicemia, meningitis (o meningoencefalitis) y encefalitis, habitualmente precedida de síntomas parecidos a los de la gripe, incluida la fiebre. También se presentan manifestaciones gastrointestinales acompañadas de fiebre. A pesar de que la morbilidad de la listeriosis es relativamente baja, la mortalidad puede alcanzar valores de alrededor del 30%. El riesgo en mujeres embarazadas es debido a la inmunosupresión asociado al embarazo. Una inmunosupresión local en la interface materno-fetal de la placenta puede facilitar la infección intrauterina, seguida de una bacteriemia materna transitoria. La infección puede dar lugar a abortos, nacimientos muertos o nacimientos prematuros (OIE, 2004). Siendo más alta que la de casi todas las otras enfermedades transmitidas por los alimentos (Días *et al.*, 2012). Uno de los diagnósticos es por cultivo bacteriano (Prescott *et al.*, 2002).

OBJETIVOS:

1. Determinar la presencia de Coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos elaborados con leche de vaca sin pasteurizar en el ejido Chihuahua, La Trinitaria Chiapas.
2. Evaluar las condiciones higiénico-sanitarias mediante la detección de microorganismos marcadores de higiene del queso fresco artesanal en el ejido Chihuahua, La Trinitaria Chiapas.
3. Determinar si el queso fresco artesanal elaborado con leche de vaca sin pasteurizar en el ejido Chihuahua, La Trinitaria Chiapas, es apto para consumo humano, mediante la comparación de los resultados microbiológicos con los que sugiere la NOM-243-SSA1-2010.

HIPÓTESIS:

Los quesos frescos comercializados en el ejido Chihuahua, La Trinitaria, Chiapas contienen Coliformes totales, *Staphylococcus aureus* fuera de norma, con ausencia de *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Localización.

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la unidad de diagnóstico en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna ubicado en periférico y carretera a Santa Fe, Torreón, Coahuila.

Las muestras fueron colectadas de los expendios ubicados en el ejido Chihuahua, Latitud 16°01'48.4"N, Longitud 91°58'20.5"W (Google, 2014), La Trinitaria, Chiapas. Los quesos tomados de anaquel se colectaron en cinco expendios entre las 7:30 AM y las 9:00 AM para evitar mayor tiempo de exposición.

Tamaño de la muestra.

Para esta investigación se utilizó un estudio epidemiológico descriptivo de corte transversal (López, 2010). El tamaño de la muestra fue por muestreo probabilístico.

Se utilizó el programa WinEpisope, en la modalidad de detectar enfermedad (Thrusfield *et al.*, 2001) para poder determinar el tamaño de la muestra. Definiendo para su estimación una probabilidad de 50 % (por ser desconocida) (Muñoz *et al.*, 2011), un error esperado de 5 % y un nivel de confianza del 95 %, resultando en 15 muestras a evaluar, lo que permite inferir los resultados hacia la población con total confiabilidad.

VARIABLES DE ESTUDIO: Por ser un trabajo descriptivo, solo se identificó la variable independiente: Presencia de los microorganismo en estudio en el queso fresco artesanal(%) (Días *et al.*, 2012).

Colección de la muestra

Se colectaron 50 g de cada muestra, posteriormente se colocaron en doble bolsa Ziploc® la cual estaba identificada con la clave de muestra, la leyenda "Queso fresco artesanal elaborado con leche no pasteurizada", productor, la fecha y la hora

en que se colectó, además se incluyó un texto con el precio del producto y las condiciones en que se encontraba al momento del muestreo (SS, 1994a). Para su conservación en el traslado se utilizaron bolsas de gel refrigerante. Posteriormente se refrigeraron a 2°C y así se mantuvo hasta el procesamiento. Acerca del manejo de la muestra con posible *L. monocytogenes* que puede crecer a temperaturas muy bajas (2 a 4°C) (Figuera *et al.*, 2005), se manejó de la misma manera, debido a que si hubiera un crecimiento, el número de bacterias no afectaría en el resultado comparativo con la norma, ya que ésta considera que para ser aceptable el producto debe estar ausente de ésta bacteria (SS, 2010a).

Los utensilios que se utilizaron, se esterilizaron en el autoclave perteneciente a la Unidad Médica Rural con CLUES: CSIMO004826 (IMSS, 2014), en el mismo ejido.

Procesamiento de las muestras.

Para procesar las muestras, se hizo una dilución primaria para obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos contenidos en la muestra destinada para el análisis. Dilución primaria, es la solución, suspensión o emulsión obtenida después de pesar o medir una cantidad del producto bajo examen y mezclarla con una cantidad de nueve veces en proporción de diluyente (SS, 1994b). Se utilizó la fórmula: Peptona 1,0 g, Cloruro de sodio 8,5 g, Agua 1,0 l que sugiere la NOM-110-SSA1-1994 de la Secretaría de Salud. Todo el material utilizado se esterilizó en autoclave AESA modelo CV300.

Coliformes fecales.

Para evaluar la eficiencia de prácticas sanitarias en la elaboración de queso fresco artesanal se utilizó el método microbiológico del número más probable (NMP), utilizado para estimar el número de coliformes presentes en productos alimenticios. El método se basa en que las bacterias coliformes, fermentan la lactosa incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas, resultando una producción de ácidos y gas el cual se manifiesta en las campanas de fermentación (SS, 1995a).

Para la realización de este método se basó en la NOM-112-SSA1-1994 de la Secretaría de Salud. Sin embargo el procedimiento detallado se complementó con el que menciona (Corona y Mendoza, 2011), aunque no hubo modificación del procedimiento original.

Staphylococcus aureus

El método utilizado permite hacer una estimación del contenido de *Staphylococcus aureus* en alimentos, se efectúa directamente en placas de medio de cultivo, con la confirmación mediante las pruebas de coagulasa y termonucleasa.

Esta prueba permite demostrar la contaminación postproceso en la elaboración del alimento la cual es usualmente debida a contacto humano o con superficies inadecuadamente sanitizadas. Los alimentos sujetos a contaminación postproceso con tipos enterotoxigénicos de *Staphylococcus aureus* representan un riesgo por la ausencia de flora competitiva que normalmente restringe el crecimiento del *Staphylococcus aureus* y la producción de enterotoxinas (SS, 1995b), aunque por la falta de pasteurización en este proceso, es posible la competencia de microorganismos en el alimento.

Se basó en el principio que menciona la NOM-115-SSA1-1994, cambiando las placas a sal y manitol, se apoyó además en el procedimiento que menciona (Corona y Mendoza, 2011).

Salmonella.

Para diversos alimentos existen diferentes protocolos para el aislamiento de *Salmonella*, todos ellos son esencialmente similares en principio y emplean las etapas de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento en medios de cultivo selectivos y diferenciales, identificación bioquímica y confirmación serológica de los microorganismos (SS, 1995c).

La técnica utilizada para la detección de *Salmonella*, se basó en la NOM-114-SSA1-1994, y describe un esquema general que consiste de 5 pasos básicos:

1. Pre-enriquecimiento, es el paso donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas a una condición fisiológica estable.
2. Enriquecimiento selectivo, empleado con el propósito de incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros organismos presentes en la muestra.
3. Selección en medios sólidos, en este paso se utilizan medios selectivos que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y permite el reconocimiento visual de colonias sospechosas.
4. Identificación bioquímica, este paso permite la identificación générica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.
5. Serotipificación, es una técnica serológica que permite la identificación específica de un cultivo.

Como medio de enriquecimiento para esta investigación, se utilizó Caldo tetrionato. Y el medio de aislamiento que se eligió fue Agar para *Salmonella* y *Shigella* (SS).

Listeria monocytogenes

El método para detectar la presencia de *L. monocytogenes* se basa en el aislamiento y la diferenciación de especies de *Listeria spp.*, principalmente por la fermentación de carbohidratos y la actividad hemolítica de los miembros de este género (SS, 1996).

Para el método en este estudio se usó como medio, Agar Sangre, basado en el principio anterior.

Se utilizó la dilución primaria, ya que en estudios donde se busca la presencia o ausencia de una determinada especie de microorganismos, como el caso de la NOM-243-SSA1-2010, no es necesario preparar diluciones mayores (SS, 1994b).

RESULTADOS.

Con las técnicas aplicadas, los resultados fueron los siguientes:

El grupo coliformes fecales fueron encontrados en todas las muestras (100%) procesadas con un resultado de 1100 UFC/g por cada una de las muestras. Por su parte, *Staphylococcus* también fue encontrado en todas las muestras (100%); al realizar la prueba coagulasa, todos resultaron negativos, lo que nos muestra un resultado de menos de 100UFC/g de *Staphylococcus aureus* (Corona y Mendoza, 2011) por cada muestra.

Empleando la técnica mencionada para esta *Salmonella*, en este estudio no fue posible encontrarla. De igual forma, el hallazgo de *Listeria monocytogenes* resultó negativo para este estudio.

DISCUSIÓN.

Coliformes fecales.

El diario oficial de la federación tiene publicado una norma creada por la secretaria de salud, la NOM-243-SSA1-2010, "Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba". En ella se establecen disposiciones sanitarias que deben cumplir los lácteos y sus derivados. Dentro de las especificaciones microbiológicas, se menciona que el queso fresco debe tener un máximo de 100 UFC/g ml de *Escherichia coli* (SS, 2010a) y no menciona un límite para organismos coliformes totales en queso fresco. Para la comparación de coliformes fecales se basó en la NOM-121-SSA1-1994, Bienes y servicios. "Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias." Donde Coliformes fecales (NMP/g) 100

Los resultados obtenidos en esta investigación están 11 veces superiores (1100 UFC/g) de lo establecido en la norma. Aunque solo excede el 10% que sugiere la Norma Técnica Peruana 202.087 que permite de 100 hasta 1000 UFC/g (Cristobal y Maurtua, 2003). Este alto número de coliformes, como se mencionó anteriormente, indica además de malas prácticas en la elaboración de los quesos, el inadecuado tiempo y temperatura durante el almacenamiento. Por lo tanto deben ser considerados como indeseables para el consumo, aun cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres organolépticos del alimento (Caballero, 2008).

Los resultados obtenidos coinciden con el trabajo realizado en Tacna, Perú, por Lanchipa y Sosa (2003) donde también se obtuvieron 1100 UFC/g de coliformes. Barrios (2006) superó este número al obtener 1600 UFC/ml de coliformes en 20 muestras, en la ciudad de Guatemala. Un número más bajo fue el que obtuvo Reséndiz *et al.*, (2012) en un estudio se realizado en la localidad de Tuzupán,

Puebla, México con 960 UFC/g de coliformes. Y casi a la par también Cristobal y Maurtua (2003) en un estudio realizado en Lima, Perú con 930 UFC/g de coliformes en promedio de un total de 39 muestras.

Aunque los resultados no siempre resultan tan altos, generalmente rebasan el límite de las normas, aunque no todos como lo menciona Márquez y García (2007) en un estudio en cuatro estados de Venezuela, donde, entre 8% y 20% del total de muestras recolectadas presentaron niveles de coliformes totales mayores a 108 UFC/g.

Generalmente cuando se hacen estudios sanitarios de quesos frescos artesanales, resultan con elevada carga de coliformes como lo demuestra Villanueva (2010) quien de 60 quesos analizados en la zona conurbada VERACRUZ-BOCA DEL RIO, México se obtuvo el 100%.

La presencia de *E. coli* es un indicador de contaminación fecal directa o indirecta y refleja falta de higiene durante la elaboración o manipulación del producto, esa contaminación advierte de la posible presencia de otros patógenos (Cristobal y Maurtua, 2003). La proporción elevada de muestras con recuentos de microorganismo mayores de 1100 UFC/g es alarmante, ya que refleja la posibilidad de contaminación fecal por la elaboración deficiente higiénicamente del producto o la exposición del alimento a condiciones que favorecen el crecimiento y la multiplicación de este microorganismo (Reséndiz *et al.*, 2012).

Staphylococcus aureus.

La NOM-243-SSA1-2010 establece que el límite máximo de *Staphylococcus aureus* es de 1000 UFC/g en queso fresco (SS, 2010a), el resultado obtenido en esta investigación (100 UFC/g) indican que la carga bacteriana está dentro de los límites establecidos por la secretaria de salud. Otros estudios han obtenido niveles similares como Márquez y García (2007), en Venezuela, en donde el 48 % de las

muestras presentaron niveles mayores a 10⁵ UFC/ g de *S. aureus*. No así para Lanchipa y Sosa (2003) quienes obtuvieron 47 000 UFC/g de *Staphylococcus aureus* en un estudio realizado en Lima, Perú. Los resultados pueden elevarse a cantidades peligrosas como los obtenidos por Cristobal y Maurtua (2003) quienes obtuvieron 313 000 UFC/g de *S. aureus*. Barrios (2006) también obtuvo una cantidad muy elevada, 980 000 UFC/ml de *S. aureus* en un estudio que se llevó a cabo en Guatemala.

El riesgo de una intoxicación se eleva cuando los resultados de los estudios de *Staphylococcus aureus* se eleva a 10⁻⁵ - 10⁻⁶ UFC/g, lo cual indica un riesgo potencial del alimento de contener la enterotoxina estafilocócica (Corona y Mendoza, 2011).

La presencia de *S. aureus* podría indicar una contaminación a partir de la piel, la boca o las fosas nasales de portadores de la infección que manipularon el alimento (Cristobal y Maurtua, 2003).

Uno de los posibles factores que influyeron a la baja cantidad de *Staphylococcus aureus* encontrada en esta investigación es, quizá, al control bacteriano debido a la producción de bacteriocinas por bacterias acidolácticas, como *Lactobacillus spp.*, que favorecería a la reducción de patógenos (Cristobal y Maurtua, 2003; Alvarez, 2011), además de la flora competitiva que como ya se mencionó, restringe el crecimiento del *Staphylococcus aureus* (SS, 1995b).

Salmonella

Salmonella es una bacteria que no debe encontrarse en los alimentos. La norma NOM-243-SSA1-2010 menciona que debe estar Ausente en 25g o mL (SS, 2010a). En los resultados de esta investigación no fue posible su aislamiento, cumpliendo con ello lo especificado en la norma. Haciendo apto para su consumo tomando en cuenta solo este criterio.

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más comunes en el mundo. Constituye un problema importante de salud pública y representa un costo significativo en muchos países (Herrera *et al.*, 2011). Esta bacteria se ha podido encontrar en diferentes estudios de alimentos, como el realizado por Bayona (2009) en Bogotá, Colombia, en donde de 68 muestras analizadas, se determinó un 11,8% de *Salmonella*. Félix *et al.* (2005) encontró la presencia de *Salmonella*, en el 3% de las muestras en un estudio realizado en Ciudad Obregón, Sonora. En un estudio llevado a cabo por Alcázar *et al.* (2006) a cuatro mercados “sobreruedas” en el sur de la ciudad de México se analizaron 120 muestras de quesos resultando 3 muestras positivas a *Salmonella*.

Sin embargo al igual que en el presente estudio, hay muchos otros donde afirman no haber encontrado esta bacteria como el realizado en Tacna Perú por Lanchipa y Sosa (2003) que en ninguna de sus muestras se detectó *Salmonella*. En Guatemala, Barrios (2006), tampoco pudo aislarla en un estudio a quesos frescos artesanales. Márquez y García (2007) no detectaron la presencia de *Salmonella* en su estudio realizado a quesos frescos en cuatro estados de Venezuela.

Como se mencionó, el aislamiento de esta bacteria se da ocasionalmente y aunque los grandes brotes de salmonela usualmente atraen atención de los medios, del 60 al 80% de todos los casos de salmonelosis no se reconocen como parte de un brote conocido y se clasifican como casos esporádicos, o no son diagnosticados como tales en absoluto (WHO, 2013).

Listeria monocytogenes

A pesar que *Listeria monocytogenes* está ampliamente distribuida en la naturaleza; pues se encuentra en heces animales, de humanos y en el suelo (Rossi *et al.*, 2008); en esta investigación el resultado fue negativo. Lo anterior resulta en el cumplimiento de lo señalado por la NOM-243-SSA1-2010 que establece que el queso debe estar ausente a *Listeria monocytogenes* (SS, 2010a).

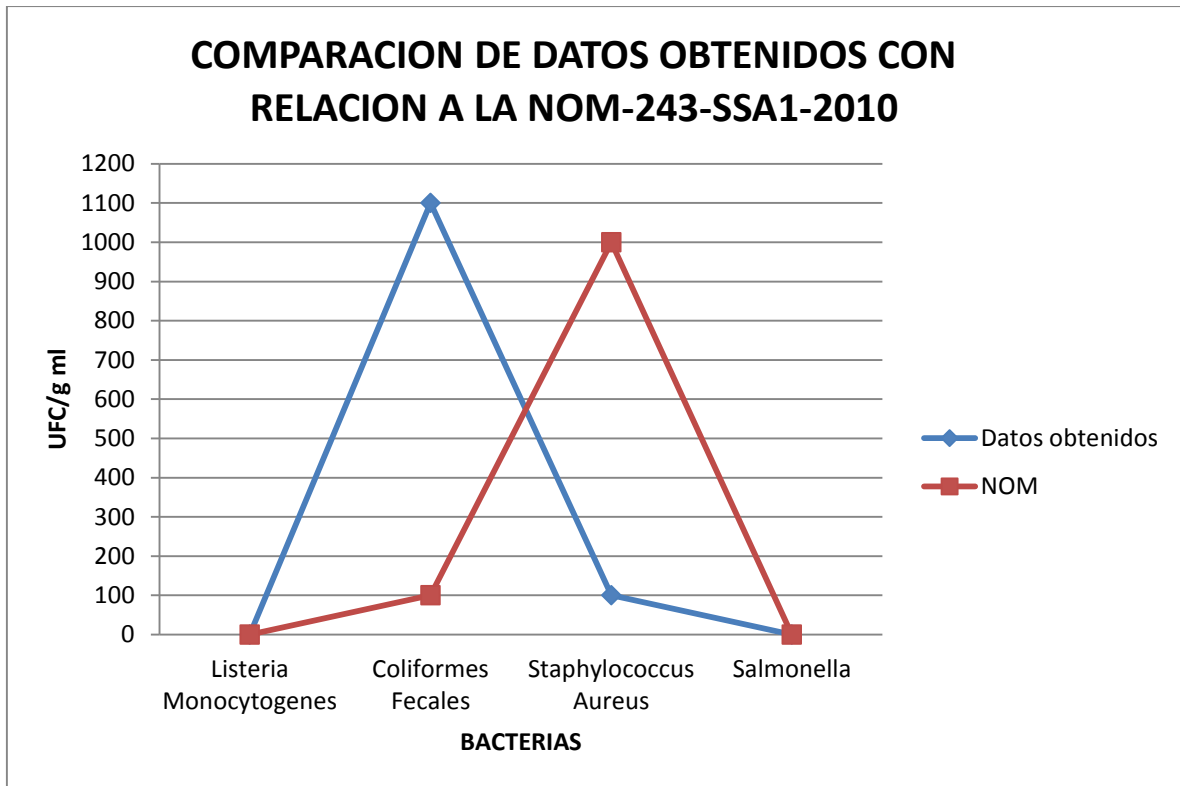
Este resultado coincide con los obtenidos por Gallegos *et al.* (2007) quienes analizaron 217 muestras de queso, obtenidas en las ciudades de Montería y Cereté, Colombia, en el año 2007, donde no lograron aislar a este microorganismo. Márquez y García (2007) por su parte tampoco detectaron esta bacteria al muestrear los quesos frescos de cuatro estados de Venezuela. Alcázar *et al.* (2006) en la ciudad de México analizó 120 muestras de queso fresco con PCR, resultando 0 positivas para *Listeria monocytogenes*.

La baja frecuencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos, puede atribuirse al posible efecto inhibitorio de los ácidos grasos propios de la leche, como el láurico, linoléico y linolénico, que son fuertemente bactericidas, así como por el ácido láctico producto de la rápida acidificación de la masa del queso (Márquez y García, 2007).

A pesar de lo descrito anteriormente Villanueva (2010) obtuvo un resultado positivo a *L. monocytogenes* de 1.6% de 60 quesos en la zona conurbada Veracruz-Boca del río. Días *et al.* (2012) también pudo hallar a este microorganismo en el 3,34 % de un total de 60 muestras en la provincia de Trujillo, Perú. De igual manera Baquero *et al.* (2006) obtuvo una positividad de *L. monocytogenes* de un 13,3 % en 30 muestras analizadas de quesos elaborados artesanalmente y expendidos en la plaza del mercado de Cáqueza, Cundinamarca, Colombia.

Lo anterior deja ver la presencia de este microorganismo en alimentos consumidos por la población, lo que hace importante seguir realizando estudios para la detección de *L. monocytogenes*, pues es considerada de importancia para la salud pública desde los años 80 y por ello, su identificación se ha convertido en una práctica relevante en la industria alimentaria (Gallegos *et al.*, 2007).

Las diferencias entre los resultados obtenidos y lo que manifiesta la norma se observa mejor en la gráfica 1.



Gráfica 1: Comparación de resultados obtenidos en relación a la NOM-243-SSA1-2010

Área de estudio

En el ejido chihuahua hay cinco productores de quesos artesanales, en promedio elaboran la misma cantidad de quesos para su expendio diario, y se comercializan en el mismo ejido. En ocasiones los quesos que llegan no son metidos inmediatamente en refrigeración y se exhiben a temperatura ambiente al alcance del consumidor. Cuando se hacen tomas de muestras de alimentos, generalmente se realizan en mercados y con vendedores ambulantes para obtener datos que muestren la situación real de la calidad sanitaria de los alimentos (Barroso *et al.*, 2007) así su calidad sería tal y como se consumiría por el comensal.

Este tipo de manejo delata las malas prácticas de almacenamiento que menciona la NOM-251-SSA1-2009 (SS, 2010b) así como el mal manejo de temperaturas del producto que menciona la Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación

S.C. (NORMEX, 2004). Mantener la cadena de frío es básico para preservar las características higiénicas del producto (Galván, 2005). Tanto los quesos envasados como los que se venden a granel requieren refrigeración constante (PROFECO, 2012).

Cuando se hacen estudios sanitarios a productos que tienen mal manejo, generalmente resulta en un elevado número de bacterias que crecen, debido a que se les proporciona el medio idóneo, principalmente la temperatura apropiada que, como menciona la FDA (Food and Drug Administration), facilita el crecimiento de bacterias patógenas (FDA, 2012).

Elaboración del queso

La elaboración del queso fresco artesanal en este ejido, es peculiar en comparación con la guía técnica para la elaboración de queso fresco publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (Juárez *et al.*, 2011).

El problema sanitario comienza desde el ordeño, pues no se llevan a cabo las buenas practicas de ordeño como lo sugiere Moscoso *et al.* (2011) en el manual publicado por la FAO.

La mala limpieza de los utensilios así como la manta en el colado también juegan un rol importante en la calidad sanitaria del producto final, pues debe desinfectarse correctamente como lo sugiere la NMX-F-605-NORMEX-2004 (NORMEX, 2004).

Uno de los puntos críticos más importante en proceso de elaboración es la pasteurización, en la cual se debe calentar la leche y mantenerla a 68°C durante 15 minutos (Kurlat, 2011), 63°C durante 30 min o una pasteurización rápida 72°C durante 15 seg. (SS, 2010a) para poder matar la mayoría de las bacterias patógenas, porque cuando hay gérmenes patógenos, pueden desarrollarse en el producto (Meyer, 2006). Sin embargo, todo este proceso se omite en la

elaboración de este tipo de queso, colocándolo como uno de los alimentos de más riesgo para consumir.

Aunque se cree que el queso hecho con leche no pasteurizada tiene un mejor aroma y sabor, la leche destinada a la fabricación de queso fresco se debe pasteurizar. La mayoría de los fabricantes (excepto los fabricantes de quesos extraduros) pasteurizan la leche para evitar el riesgo que supone no pasteurizarla, aunque su calidad se vea afectada (Pak, 2003).

Los productores piensan que al pasteurizar la leche no se llevará a cabo el proceso de coagulación correctamente, sin embargo, la inadecuada coagulación se debe a la pobre aptitud de la leche para la fabricación de queso, ya que el coagulo formado será blando, ello da lugar a grandes pérdidas de finos (partículas de caseína), así como de grasa, además de una sinéresis inadecuada durante el proceso de fabricación. Sin embargo, para conseguir un tiempo de coagulación constante y obtener una firmeza suficiente del coagulo, normalmente es suficiente con la adición de cloruro cálcico (Cl_2Ca) (Pak, 2003).

Los riesgos de los pasos siguientes, es no llevar a cabo la mayoría de las buenas prácticas de manufactura como lo indica la NOM-251-SSA1-2009 (SS, 2010b).

Lo último que hay que considerar es el proceso de empacado, donde para la envoltura se utilizan hojas de plátano para envolver el queso, y en esa presentación se ofrece al público. La PROFECO recomienda verificar que la envoltura de los quesos comercializados sean plástico, papel aluminio, cartón, recipientes de plástico u otro material garantice una protección de una posible contaminación externa (PROFECO, 2012). Si bien hasta cierto grado las hojas de plátano pueden proteger si están debidamente desinfectados, éstos son muy fáciles de romper, y la falta de desinfección de los mismos hace que también se convierta en un peligro.

Especificaciones sanitarias del queso fresco artesanal sin legislación.

La NOM-243-SSA1-2010 menciona que la leche debe someterse a un tratamiento térmico con un tiempo y temperatura determinados (ebullición, pasteurización, ultrapasteurización, esterilización o deshidratación) que garantice su inocuidad, independientemente del uso que se le dé posteriormente (SS, 2010a). Sin embargo, la producción de quesos con leche sin pasteurizar no implica necesariamente que sean de mala calidad, o que causen trastornos a la salud del consumidor. Si los primeros se elaboran con leche proveniente de enfermos, o con un mal manejo en la elaboración, transporte y almacenamiento, sí representan un riesgo y la pasteurización es una opción adecuada, pero el problema no se resuelve sólo pasteurizando, ya que al hacerlo también se eliminan los microorganismos benéficos propios de la leche o bacterias ácido lácticas (BAL), determinantes en el sabor y olor, lo que deriva en quesos de mucho menor atractivo sensorial (Espinoza *et al.*, 2010).

La norma anterior hace una excepción a la pasteurización y ésta aplica a la elaboración de quesos que por las características de éstos no pueda ser sometida a tratamiento térmico (SS, 2010a). Con un análisis más profundo sobre la tipificación de los quesos frescos, que, a diferencia de los quesos artesanales producidos en otros países, la mayoría de los quesos artesanales mexicanos, carecen de un estándar de identidad y mucho menos gozan de una denominación de origen (FAO, 2013), entonces, probablemente podrían entrar en ésta categoría. Sigue siendo necesario una legislación acorde a este alimento ya que la forma más honesta de competir en el mercado, es la elaboración de productos genuinos y de buena calidad sanitaria y sensorial (FAO, 2013).

CONCLUSIONES.

Los quesos frescos artesanales vendidos en el ejido Chihuahua municipio de La Trinitaria Chiapas contienen *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp* dentro de lo establecido de la norma NOM-243-SSA1-2010.

Los quesos mencionados contienen bacterias coliformes fuera de los límites de la norma.

La elevada cantidad de bacterias coliformes fecales encontrados indican malas prácticas de higiene en su elaboración. Haciéndolos no son aptos para consumo humano.

Los resultados de esta investigación fueron comparados con la NOM-243-SSA1-2010, sin embargo mientras no exista una tipificación del queso fresco artesanal mexicano, las especificaciones sanitarias no son legisladas por la norma anterior debido a que por las características de este alimento, no puede ser clasificada en ninguna de las categorías que se describen para el queso.

Si no es posible pasteurizar la leche para la elaboración del queso fresco artesanal, y no alterar su calidad como tal; se hace necesaria una mayor vigilancia sanitaria que promueva las buenas prácticas de manufactura así como promover prácticas zootécnicas que permitan producir leche en hatos libres de enfermedades zoonóticas.

Es necesaria una mayor inversión en investigación para implementar estrategias tecnológicas y mejorar su calidad sanitaria cuidando y conservando la identidad, tipicidad y genuinidad de los quesos artesanales mexicanos.

LITERATURA CITADA.

- Agropecuarios, E. 2001. "Productos lácteos." Grupo Editorial Iberoamericana: 85.
- Alcázar, M., M. Rubio, F. Núñez y R. Morales 2006. "Detection of Salmonella spp and Listeria monocytogenes in fresh and semi-cured cheeses that are sold on the street markets in Mexico City." VetMex 4.
- Alvarez, E. 2011. "Efectos del Lactobacillus casei ATCC 393™ sobre el *Escherichia coli* durante la vida comercial del queso fresco." Universidad Nacional del Callao Perú.
- Baquero, D., A. González y S. Fernández 2006. "Determinación de Listeria monocytogenes en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza de mercado de Cáqueza, Cundinamarca." Imbiomed 4(6): 80-83.
- Barrios, H. 2006. "Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala." UCG Guatemala: 47 - 52.
- Barroso, G., M. Lucerna, M. Cortés, L. Toranzo, M. Escabias y C. Molina 2007. "Brote de brucelosis interprovincial por ingesta de queso fresco sin higienizar." Medicina de familia 7.
- Bayona, M. 2009. "Microbiological evaluation of food acquired in streets of a northern area of Bogotá." Rev. U.D.C.A. Act & Div. Cient. 12 (2): 9-17.
- Caballero, A. (2008). Temas de higiene de los alimentos. La Habana, Cuba.
- Caballero, T. A., V. J. Carrera y F. M. Lengomín 1998. "Evaluación de la vigilancia microbiológica de alimentos que se venden en las calles." Cubana alimentaria y nutrición 12.
- Camacho, A., M. Giles, M. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez 2009. "Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos." UNAM.
- Cenzano, I. 1995. "Los quesos." AMV ediciones: 227.
- CODEX, A. 2013a. **CODEX STAN 283-1978 Norma general del Codex para el queso**. C. Alimentarius. Roma, Italia
- CODEX, A. 2013b. **CODEX STAN 221-2001** Norma de grupo del Codex para el queso no madurado, incluido el queso fresco. C. Alimentarius. Roma, Italia
- COFEPRIS 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. C. F. P. I. P. C. R. Sanitarios. México
- Corona, J. y M. Mendoza 2011. "Manual de prácticas, microbiología sanitaria." Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Cristóbal, D. y T. Maurtua 2003. "Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp." Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health 3: 158-163.
- Días, M., M. Chávez y E. Saucedo 2012. "*Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú" Ciencia y tecnología.

- Epidemiología, S. d. g. d. 1983. "Informacion de brotes notificados durante 1982." Boletín epidemiología 3.
- Epidemiología, S. d. g. d. 1984. "Brote de intoxicacion alimentaria, Puebla." Boletín epidemiología 4.
- Epidemiología, S. d. g. d. 1994. "Boletín de morbilidad y mortalidad." Boletín epidemiología 1.
- Espinoza, A., F. Cervantes, A. Villegas y A. Cesin 2010. "Los quesos tradicionales mexicanos: nuevos ilegales." La jornada del campo 29.
- FAO 2013. "Inocuidad de la quesería artesanal mexicana." Food News Latam México.
- FDA 2012. " Bacterial Pathogen Growth and Inactivation." Food and Drug Administration: 438.
- Félix, A., O. Campas y M. Meza 2005. "Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón, Sonora, México." Rev. Salud Pública y Nutrición 6(3): 8-17.
- Figuera, B., A. Cabello, L. Villalobos, Y. Valle y O. Vallenilla 2005. "Crecimiento de *Listeria monocytogenes* en atún ahumado empacado al vacío." Zootecnia Tropical 23.
- Flores, J. y A. Vélez 2002. "Comunicación y Participación La experiencia de México." FAO/OMS.
- Franco, F. 1998. Estandarizacion del proceso de fabricación el queso tipo oaxaca. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Tulancingo, Hidalgo, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
- Galván, M. 2005. "Proceso basico de la leche y el queso." Revista digital universitaria UNAM 6.
- Gallegos, J., G. Arrieta, M. Salim, R. Poutou, A. Trespalacios y A. Carrasca 2007. "Frecuencia de *Listeria spp.*, en quesos Colombianos costeños." Rev.MVZ Cordoba 12(2).
- Gonzalez, T. y R. Rojas 2005. "Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico." Salud Publica de México 47: 388-390.
- Google 2014. Place Google Maps. Google Maps
- Herrera, A., M. Quintos y M. Esteban 2011. "Salmonelosis enfermedad transmitida por alimentos." IPN-Centro Interdisciplinario de Investigacion Integral Regional.
- ILRI 2006. Microbiology. International Livestock Research Institute (ILRI)
- IMSS 2014. "Catálogo de unidades medicas del programa IMSS- OPORTUNIDADES." Instituto Mexicano del Seguro Social: 39.
- INSHT 2012. "Staphylococcus aureus." B Databio 12.
- Juárez, M., B. Moscoso, J. Hernández, M. Mérida, L. Samayoa, G. Juárez y K. Gamboa 2011. "Procesos para la elaboración de productos lácteos." Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).
- Jurado, J., M. Arenas, D. Doblas, A. Rivero y J. Torre-Cisneros 2010. "Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas." Medicine 10.
- Kurlat, J. 2011. "Queso artesanal y ricotta." INTI: 23.
- Lanchipa, L. y Y. Sosa 2003. Evaluacion de la carga microbiana patógena en la elaboracion del queso fresco en el distrito de tacna. . Facultad de Ingeniería

en Industrias Alimentarias Tacna, Perú, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann²⁹

- López, F. (2010). Epidemiología. Enfermedades transmisibles y crónico-degenerativas. México, DF, Manual moderno.
- Márquez, J. y C. García 2007. "Microflora patógena del queso blanco " telita" elaborado en cuatro estados de Venezuela." *An Venez Nutr* 20(1).
- Meyer, M. 2006. "Elaboracion de productos lácteos." *trillas*: 123.
- Michanie, S., L. Medina, D. Ghiberto, W. Prosello, P. Alia, P. Coria, J. Compagnucci, O. Costantini y J. Gallo 2001. "Epidemiología de las enfermedades transmitidas por quesos." *Enfasis Alimentación* 2.
- Moscoso, B., M. Juárez, J. Hernández, M. Mérida, L. Samayoa, G. Juárez y K. Gamboa 2011. "Buenas practicas de ordeño." Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) 10.
- Muñoz, A., M. Vargas, L. Otero, G. Díaz y V. Guzmán 2011. "Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y *delicatessen* de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008." *Biomédica* 31(3): 428-439.
- NORMEX 2004 "Manejo higiénico en el servicio de alimentos preparados para la obtención del distintivo H." Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación S.C. NMX-F-605-NORMEX-2004.
- OIE 2004. "Listeria Monocytogenes." Manual de la OIE sobre animales terrestres.
- Pak, T. 2003. "Manual de industrias lácteas." Mundi-Prensa: 432.
- Periago, M. 2009. "Microorganismos marcadores: índices e indicadores. Significado y características. Aislamiento e identificación." Universidad de Murcia: 3-12.
- Pietro, S., K. Haritchabalet, G. Cantoni, L. Iglesias, S. Mancini, A. Temperoni, J. Labanchi, N. Barbarossa, M. García, M. Cofre, S. Rosales, E. Herrero, R. Bigatti, O. Orellana y E. Larrieu 2004. "Vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Rio negro, Argentina, 1993-2001." *Medicina Buenos Aires* 64: 120-124.
- Prescott, L., J. Harley y D. Klein (2002). Microbiología. New York, McGrawHill.
- PROFECO 2012. "Resultados de estudio de calidad aplicado a quesos oaxaca." *Publica Revista del Consumidor* 53.
- Quinn, P. y B. Markey (2005). Elementos de microbiología veterinaria. Oxford, Editorial Acribia.
- Reséndiz, M., Z. Hernández, H. Ramírez y A. Pérez 2012. "El queso fresco artesanal de la canasta basica y su calidad sanitaria en Tuzupapan, México." *Actas iberoamericanas de conservacion animal*. 2: 253-255.
- Rossi, M., A. Paiva, M. Tornese, S. Chianelli y A. Troncoso 2008. "Brotos de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición." *Infectología al día* 5: 328-335.
- SECTUR 2005. "Manual de manejo higienico de los alimentos." SECTUR: 43.
- Signorini, M., G. Sequeira, J. Bonazza, R. Santina, L. Martí, L. Frizzo y M. Rosmini 2008. "Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias en la producción primaria de leche." *Rev. Cient. (Maracaibo)* 18(2).

- SS 1994a. "Toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-109-SSA1-1994.
- SS 1994b. "Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-110-SSA1-1994.
- SS 1995a. "Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-112-SSA1-1994.
- SS 1995b. "Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-115-SSA1-1994.
- SS 1995c. "Método para la determinación de salmonella en alimentos." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-114-SSA1-1994.
- SS 1996. "Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-143-SSA1-1995.
- SS 2010a. "Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba." Diario Oficial de la Federación Secretaria de Salud NOM-243-SSA1-2010.
- SS 2010b. "Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. ." Diario Oficial de la Federación Secretaria Salud NOM-251-SSA1-2009.
- SSA 2005. "Intoxicación alimentaria." Medicina de urgencias.
- Stuart, W. (2000). Microbiología. Indianapolis, McGraw-Hill.
- SUIVE, D. 2013. Casos nuevos de Intoxicación alimentaria bacteriana (A05) por fuente de notificación, Estados Unidos Mexicanos 2013, Población General. Dirección General de Epidemiología Mexico
- Thrusfield, M., C. Ortega, J. Noordhuizen y K. Frankena 2001. "WIN EPISCOPE 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine." *Veterinary Record* 14: 567-572.
- Villanueva, V. M. 2010. Frecuencia de *Brucella* spp, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos sin pasteurizar colectados en la zona con. Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz, Universidad Veracruzana
- WHO 2013. Salmonella (non-typhoidal). World Health Organization