



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
Campus Loma Bonita

LICENCIATURA EN ZOOTECNIA

TESIS

**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE Y QUESO FRESCO
DISTRIBUIDOS EN LA ZONA CENTRO DEL MUNICIPIO DE LOMA
BONITA, OAXACA, MÉXICO.**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN ZOOTECNIA
P R E S E N T A:
ROCHEL ANAI BERNABÉ PEÑA**

DIRECTOR DE TESIS:

M. C. CAROLINA ANTONIO ESTRADA

Loma Bonita, Oaxaca, 2016



UNIVERSIDAD DEL PAPAŁOAPAN
Campus Loma Bonita

LA PRESENTE TESIS TITULADA "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE Y QUESO FRESCO DISTRIBUIDOS EN LA ZONA CENTRO DEL MUNICIPIO DE LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO" PRESENTADA POR EL PASANTE ROCHEL ANAI BERNABÉ PEÑA, BAJO LA ASESORIA DE LA M.C. CAROLINA ANTONIO ESTRADA, HA SIDO REVISADA Y ACEPTADA POR EL JURADO EXAMINADOR PARA SER DEFENDIDA EN EL EXAMEN PROFESIONAL Y OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN ZOOTECNIA.

JURADO EXAMINADOR

Asesor: M.C. Carolina Antonio Estrada

Revisor: M.C. Nicolás Valenzuela Jiménez

Revisor: Dr. Mario Alberto Dominguez Magaña

Revisor: Dr. Julio Cesar Serrano Niño

LOMA BONITA, OAXACA, MÉXICO, JUNIO DE 2016.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme seguir en este mundo y darme la sabiduría necesaria para continuar con este proyecto de vida.

A la Universidad del Papaloapan (UNPA) por ser parte de ella y el haberme brindado la oportunidad de continuar con mi carrera.

A mi asesora de tesis: M.C. Carolina Antonio Estrada a la que admiro por su inteligencia, sencillez, humildad y por ser parte fundamental en la realización de este trabajo, por su paciencia, dedicación y por creer en mí, gracias.

A mis revisores: M.C. Nicolás Valenzuela Jiménez, Dr. Mario Alberto Dominguez Magaña, Dr. Julio Cesar Serrano Niño, por las aportaciones y observaciones que hicieron en la redacción del trabajo.

A mis profesores (as): de los cuales me llevo sus enseñanzas, Principalmente a la maestra Dr. (c) Tania Zuñiga Marroguin, Dr. Ma. Teresa Kido, Dr. Miguel Angel Sánchez Hernández, Dr. José Angel Rueda Barrientos, Dr. Bertín Maurilio Joaquín Torres, Dr. José Abad Zavaleta, M.C Cecilio Ubaldo Aguilar Martínez, James Patrick Killough, M.C. Cesar Julio Martínez Castro, Ing Cesar Herrera Fuentes, gracias por su apoyo y amistad.

A mis colegas y amigos (as): Karina Luna, Yosio Ramírez, Antonio Marín, Manuela Cruz, Xóchitl Garcia, Andrés Morales, Mariano Mauleon, Benedicto Maya, Varinia Juárez, Oscar Hugo, Alberto Medel, José Azamar, Daniel Moreno, Efraín Rojas, Nemesio Lopez, Verónica Rosas, por sus enseñanzas en estos años.

En particular a Benjamín Reyes Cornejo, por el apoyo incondicional en el trascurso de este trabajo, por sus regaños y enseñanzas de todo corazón gracias.

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis está dedicado a mis Padres: *Juana Inés Peña Flores* y *Alfredo Bernabé Espejo*, que día a día han estado ahí apoyándome en todas y cada una de mis decisiones, fuente de apoyo y aliento durante los desafíos de la escuela y vida.

A mis hermanos *Sandra Estela Bernabé Peña*, *Carlos Alfredo Bernabé Peña* y *Daniel Bernabé Peña*, por su apoyo incondicional y por todo su amor.

A mi amado sobrino, esa personita que me hace sonreír cada día que esta frente a mí, *Bryan Borbonio Bernabé*.

A mis abuelos que aunque ya no están conmigo siempre creyeron en mí, y cada vez que estaban junto a mí no hacían otra cosa que darme palabras de aliento, *Estela Espejo Serrano*, *Tomasa Flores Clavijo*, *Fidel Peña Morales* y *Jesus Bernabé Del Valle*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo general.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. HIPÓTESIS.....	6
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
4.1. Leche.....	7
4.1.1. Producción y consumo a nivel nacional de leche	7
4.1.2. Producción y consumo a nivel estatal y regional de leche	10
4.2. Composición química y valor nutritivo de la leche	12
4.2.1. Importancia del consumo de la leche	12
4.3. Factores que modifican la calidad de la leche	14
4.3.1. Factores biológicos.....	16
4.3.1.1. Principales microorganismos causantes de la pérdida de calidad en leche	17
4.4. Enfermedades causadas por la ingesta de leche y derivados contaminados microbiológicamente.....	25
4.5. Organismos encargados de vigilar la inocuidad y calidad de la leche en México	27
4.5.1. Normas vigentes para el cuidado de la inocuidad de la leche y derivados.....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS	32
5.1. Ubicación de muestreo y análisis	32
5.2. Muestras.....	32
5.3. Métodos.....	32
5.3.1. Toma, transporte y preparación de las muestras de leche para su análisis microbiológico (NOM-109-SSA1, 1994)	33
5.3.2. Toma, transporte y preparación de muestras de queso para su análisis microbiológico (NOM-109-SSA1, 1994)	33

5.3.3. Determinación de mesófilos aerobios en leche y queso (NOM-092-SSA1, 1994).....	34
5.3.4. Determinación de coliformes totales en leche y queso (NOM-113-SSA1-1994).....	35
5.3.5. Determinación de mohos y levaduras en leche y queso (NOM-113-SSA1-1994).....	35
5.3.6. Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en leche y queso (NOM-115-SSA1-1994).....	36
5.4. Análisis de datos.....	37
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
6.1. Recuento de mesófilos aerobios.....	39
6.1.1. Mesófilos aerobios en leche.....	39
6.1.2. Mesofilos aerobios en queso.....	43
6.1.3. Comparación entre las cargas de mesofilos aerobios en leche y queso.....	46
6.2. Recuento de coliformes totales.....	49
6.2.1. Recuento de coliformes totales en leche.....	49
6.2.2. Recuento de coliformes totales en queso.....	53
6.2.3. Comparación entre las cargas de coliformes totales de leche y queso.....	56
6.3. Recuento de mohos y levaduras.....	59
6.3.1. Recuento de mohos-levaduras en leche.....	59
6.3.2. Recuento de mohos-levaduras en queso.....	64
6.3.3. Comparación de mohos-levaduras en leche y queso.....	67
6.4. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	70
6.4.1. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en leche.....	70
6.4.2. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en queso.....	72
6.4.2. Comparación de <i>Staphylococcus aureus</i> entre leche y queso.....	74
6.5. Identificación de los puntos de venta con mayor contaminación.....	77
7. CONCLUSIONES.....	83
8. RECOMENDACIONES.....	85
9. LITERATURA CITADA.....	86

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química de la leche de vaca	12
2	Principales intoxicaciones alimentarias y microorganismos responsables.....	25
3	Producción de leche y queso por productor.....	38
4	Valores estimados de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios cuantificados en leche, sembrados en agar para métodos estándar	41
5	Valor estimado de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios cuantificados en queso sembrados en agar para métodos estándar..	44
6	Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios en leche y queso sembrados en agar para métodos estándar	47
7	Valores estimados de la media y desviación estándar de coliformes totales cuantificados en leche, sembrados en agar rojo violeta bilis lactosa	50
8	Valor estimado de la media y desviación estándar de coliformes totales cuantificados en queso sembrados en agar rojo violeta bilis lactosa.....	54
9	Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de coliformes totales en leche y queso sembrados en agar rojo violeta bilis lactosa	57
10	Valor estimado de la media y desviación estándar de mohos-levaduras, cuantificados en leche sembrados en agar papa y dextrosa.	60
11	Valor estimado de la media y desviación estándar de mohos-levaduras, cuantificados en queso sembrado en agar papa dextrosa.	65
12	Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de mohos y levaduras, cuantificados para leche y queso.	68
13	Valor estimado de la media y desviación de <i>Staphylococcus aureus</i> , cuantificados en leche sembrada en agar baird parker.....	71
14	Valor estimado de la media y desviación de <i>Staphylococcus aureus</i> , cuantificados en queso sembrado en agar baird parker.....	73
15	Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de <i>Staphylococcus aureus</i> en leche y queso.	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Producción pecuaria a nivel nacional.	8
2	Principales estados productores de leche	9
3	Producción porcentual de leche de las regiones del Oaxaca.	10
4	UFC de mesófilos aerobios en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.....	42
5	Morfología colonial de mesófilos aerobios en leche sembrados por vaciado en placa en agar para métodos estándar.	43
6	Morfología colonial de mesofilos aerobios en queso, crecimiento de colonias en agar para métodos estándar sembrados por la técnica de vaciado en placa.....	46
7	UFC de mesófilos aerobios en muestras analizadas de leche y queso.	49
8	UFC de coliformes totales en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.	52
9	Morfología colonial de coliformes totales en leche crecimiento de colonias en agar rojo violeta bilis lactosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.....	53
10	UFC de coliformes totales en muestras de queso analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.	55
11	Morfología macroscópica de las UFC de coliformes totales, obtenidas en agar rojo violeta bilis lactosa inoculado con muestras de queso mediante la técnica de vaciado en placa.....	56
12	UFC de coliformes totales en muestras analizadas de leche y queso.....	58
13	Morfología macroscópica de las UFC de mohos y levaduras en leche, crecimiento de colonias en agar papa y dextrosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.	64
14	UFC de mohos-levaduras en queso, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas	66

15	Morfología colonial de mohos y levaduras en queso, colonias en agar papa dextrosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.	67
16	UFC de mohos y levaduras en leche y queso	69
17	UFC de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.....	72
18	UFC de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras queso analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas	74
19	UFC de <i>Staphylococcus aureus</i> en leche y queso.....	76
20	Morfología colonial de <i>Staphylococcus</i> , en agar baird parke, siembra por extensión..	77
21	Localización de los puntos de venta	78
22-A	Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Mesófilos aerobios.....	79
22-B	Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Coliformes totales.	80
22-C	Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Mohos y levaduras.....	81
22-D	Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para <i>Staphylococcus aureus</i>	82

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar de manera general: mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus* en leche cruda y queso fresco que se obtienen y distribuyen en la zona centro del municipio de Loma Bonita Oaxaca, como índice de calidad sanitaria. Se analizaron muestras de leche y queso de quince productores. Los resultados obtenidos en cada una de las determinaciones, fueron comparados con valores de referencia establecidos en la NOM-243-SSA1-2010 para leche y queso fresco. No se observó diferencia significativa entre el crecimiento de mesófilos aerobios en leche entre los productores, pero sí en queso ($P < 0.05$), siendo el queso del productor L (15,983 UFC/g) el de mayor crecimiento y B (2,245 UFC/g) el de menor contaminación. Los coliformes totales presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) únicamente para el queso entre productores M (27,500 UFC/g) y Ñ (4,692 UFC/g). En mohos y levaduras la diferencia ($P < 0.05$) detectada fue en leche para los productores E (10,500 UFC/mL) y F (1,060 UFC/mL) y en el caso de *Staphylococcus aureus* la diferencia se observó en queso ($P < 0.05$) entre los productores E (10,590 UFC/g) y M (180 UFC/g). Se concluye que la presencia de coliformes totales es predominante en todos los productores tanto en leche como en queso, al presentarse crecimientos superiores a los establecidos en la norma oficial mexicana antes mencionada, para todos los microorganismos analizados, los productos son considerados un riesgo sanitario para la salud pública.

Palabras claves: calidad sanitaria, riesgo sanitario, leche cruda, queso fresco.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine and quantify, as an index of sanitary quality, aerobic mesophilic bacteria, total coliforms, molds and yeasts, and *Staphylococcus aureus* in raw milk and fresh cheese produced and sold in the municipality of Loma Bonita Oaxaca. Cheese and milk samples from fifteen producers were analyzed. The results obtained for each determination were compared with reference values established in the Official Mexican Standard NOM-243-SSA1-2010 for milk and cheese. With respect to growth of aerobic mesophilic bacteria, no significant difference was observed between the milk from the different producers. However, in cheese there was a difference ($P < 0.05$); cheese from producer L (15,983 CFU/g) had the highest growth and from producer B (2,245 CFU/g) the lowest contamination. Significant differences ($P < 0.05$) were observed in total coliforms only for cheese from producers M (27,500 CFU / g) and Ñ (4,692 CFU / g). In molds and yeasts the difference ($P < 0.05$) detected was for milk producers E (10.500 CFU / mL) and F (1,060 CFU / mL), and in the case of *Staphylococcus aureus* the difference was observed in cheese ($P < 0.05$) for producers E (10,590 CFU / g) and M (180 CFU / g).

It is concluded that the presence of total coliforms is predominant in all producing both milk and cheese, to appear higher than those established in the official Mexican standard above, for all microorganisms analyzed growth, products are considered a health risk to public health.

Key words: Sanitary quality, health risk, raw milk, fresh cheese.

1. INTRODUCCIÓN

La leche por sus características nutricionales, es uno de los alimentos de mayor importancia en muchos países del mundo, su calidad nutricional depende de factores como la raza del animal, tipo de alimentación, estación del año, condiciones ambientales y sanitarias. Un mal manejo durante su producción y almacenamiento la convierte en un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades de carácter zoonótico, u otras ocasionadas por patógenos que se reproducen durante su obtención y proceso de transformación (Magariños, 2001).

Deficiencias en el manejo de la misma y su procesamiento para la obtención de productos derivados, repercute directamente en la salud humana, pues numerosos son los casos de enfermedades alimentarias asociadas al consumo de lácteos con baja calidad sanitaria (Hernández *et al*, 2014).

La primera prueba en forma de que los productos lácteos podían transmitir organismos patógenos e infectar al ser humano la proporcionaron Fleming *et al.* (1985), quienes estudiaron un brote que afectó a 49 personas, 7 casos ocurrieron en fetos o infantes y 42 en adultos inmunosuprimidos. Se implicó como fuente de infección el consumo de leche entera o parcialmente descremada, pasteurizada. Aunque no se logró aislar el agente causal en los cultivos de leche, se supo que en el ganado de donde se obtuvo la leche, se habían identificado casos de listeriosis.

Rossi *et al.*, en el 2008 estudiaron los casos de *Listeria monocytogenes*, el cual es un patógeno que cuando se encuentra en los alimentos, puede causar serias enfermedades, principalmente en grupos de alto riesgo como

inmunocomprometidos, mujeres embarazadas y neonatos. *Listeria monocytogenes* es una importante causa de abortos, septicemia o infección del sistema nervioso central (Torres *et al.*, 2005). Antiguamente, los brotes se vinculaban con una gran variedad de alimentos, especialmente carnes procesadas (salchichas, paté, productos precocidos); en la actualidad, la mayoría se vinculan al consumo de leche cruda o quesos elaborados con leche sin pasteurizar (Eduardo *et al.*, 2008). La importancia de la listeriosis para la salud pública no siempre es reconocida, sobre todo porque es una enfermedad relativamente rara, en comparación con otras más comunes como la salmonelosis (Rossi *et al.*, 2008). Sin embargo, debido a su alta tasa de letalidad, la listeriosis se encuentra entre las causas más frecuentes de muerte por enfermedades transmitidas por alimentos ocupando la segunda posición, después de la salmonelosis. Los cambios en la forma de producción, almacenamiento y distribución de los alimentos han propiciado diversos brotes.

En las últimas décadas, muchos países han encaminado intensos trabajos hacia la prevención de la listeriosis; la notable reducción de su incidencia en la década de los 90, sugiere una relación positiva con las medidas implementadas (Herrera, 2013).

Molina y Eslava en el 2014 investigaron a la *Escherichia coli* y su enfermedad diarreica aguda la cual es una enfermedad intestinal generalmente infecciosa y autolimitada, dicha enfermedad, es uno de los problemas de salud pública de mayor importancia en el mundo. De acuerdo con estudios efectuados por la Organización Mundial de la Salud y el Fondo de las Naciones Unidas para la infancia (2013), las enfermedades diarreicas agudas son un problema de salud

de la población infantil, principalmente en los países en desarrollo donde se producen anualmente entre 5 a 6 millones de muertes, constituyendo la segunda causa global de mortalidad infantil. Se señala que el 20% de las muertes infantiles se debe a diarrea y sólo el 39% de los niños con diarrea recibe el tratamiento recomendado. *E. coli* es responsable de aproximadamente 630 millones de casos de diarrea en el mundo y entre 5 a 6 millones de muertes al año, afectando principalmente a la población infantil de países en desarrollo. Además se ha reportado su participación en cerca del 50% de las infecciones urinarias intrahospitalarias y en el 90% de las infecciones de este tipo en pacientes ambulatorios.

Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) los derivados lácteos ocupan el quinto lugar entre los alimentos que frecuentemente ocasionan enfermedades de transmisión alimentarias entre países centroamericanos como México, ya que son alimentos que por su alto contenido nutricional y bajo costo son consumidos comúnmente (Brawde, 1991; Hobbs, 1997).

La leche cruda recién ordeñada es un producto altamente propenso a contaminación, que necesita ser procesada bajo condiciones estrictas para garantizar la calidad higiénico-sanitaria y prolongar su vida útil y así evitar efectos negativos importantes tanto en ella como en las personas que la consumen. Es por ello que la verificación periódica de los centros de abastecimiento de esta importante materia prima, así como de sus productos derivados, resulta importante y necesaria para garantizar la calidad biológica de los productos que se ofrecen al consumidor y con ello ayudar en la prevención

de enfermedades letales que terminen causando desastres en la sociedad (Molina, 2012; León y Victor, 2015). Caso particular el de Loma Bonita, ciudad perteneciente a la región Papaloapan del estado de Oaxaca, la cual se caracteriza por tener significativa producción de leche y derivados, en donde hasta el momento no se han realizado estudios sobre la calidad biológica de lácteos y sus derivados, a pesar de que estos productos son considerados como de primera necesidad y contemplados en la canasta básica de los pobladores de esta ciudad.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Identificar y cuantificar la presencia de mesofilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus* en leche cruda y queso fresco que se distribuyen en la zona centro del municipio de Loma Bonita, Oaxaca, como índice de calidad sanitaria.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Determinar la carga de coliformes totales, mesofilos aerobios, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus* en leche fresca.

2.2.2. Determinar la carga de coliformes totales, mesofilos aerobios, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus* en queso fresco.

2.2.3. Identificar la diferencia entre la carga microbiana de la leche fresca como materia prima y el queso fresco como producto derivado.

2.2.4. Con base en los resultados obtenidos y de acuerdo con lo establecido en la NOM-243-SSA1-1994, identificar las zonas de riesgo sanitario en la zona centro del municipio de Loma Bonita, Oax.

3. HIPÓTESIS

H1: Existe una diferencia significativa entre la carga microbiana de la leche como materia prima y el queso fresco como producto derivado.

H2: La leche cruda y el queso fresco que se distribuyen en la zona centro del municipio de Loma Bonita, son un riesgo sanitario para la salud pública, al presentar elevado contenido de microorganismos patógenos y no cumplir con las características microbiológicas de calidad que emiten las Normas Oficiales Mexicanas.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Leche

La leche es el líquido secretado por las glándulas mamarias, cuyo fin es servir de alimento al recién nacido (Spreer, 1991). Se entiende por leche natural al producto íntegro, no alterado ni adulterado y sin calostros, del ordeño higiénico, regular, completo e interrumpido de las hembras mamíferas, domésticas, sanas y bien alimentadas (Menjivar y Carlos 2011). Por legislación la denominación de leche se entiende única y exclusivamente a la leche de vaca, para las otras especies de mamíferos se designa indicando el nombre de la especie por ejemplo: leche de cabra (Gil, 2010).

4.1.1. Producción y consumo a nivel nacional de leche

De acuerdo con el servicio de información agroalimentaria y pesca por medio de la Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca Y Alimentación (SAGARPA) se estima que la producción nacional fue de 11,129,921 miles de litros en el 2014. Del total de producción pecuaria a nivel nacional, la leche es la tercera actividad de importancia productiva por encima de la producción de cerdo y huevo. En la Figura 1, se muestran los rubros de producción pecuaria nacional en el 2013 (CANILEC, 2014; SIAP, 2015).

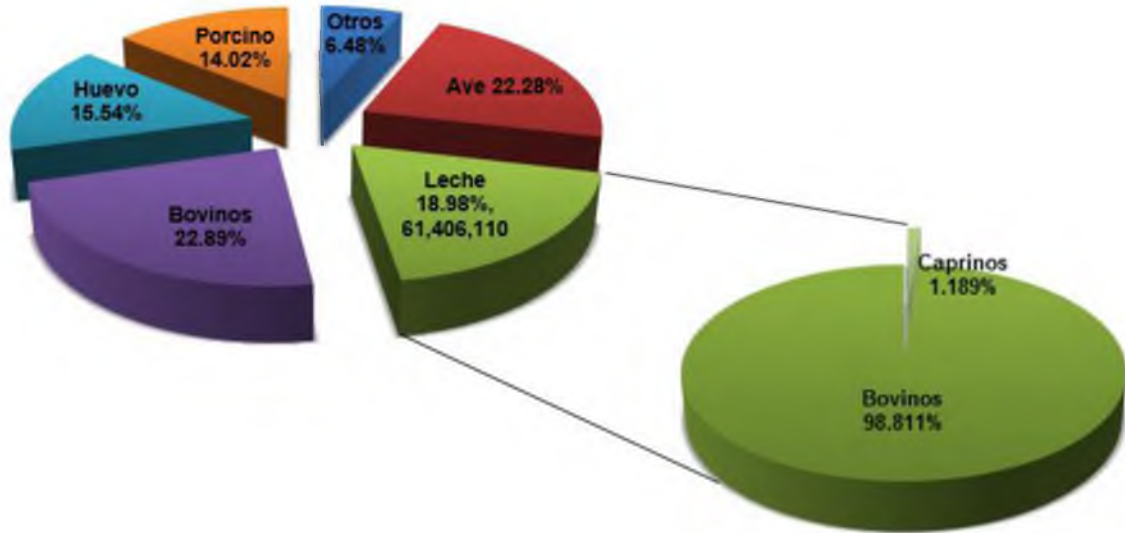


Figura 1. Producción pecuaria a nivel nacional

Fuente: (SIAP, 2014)

La producción de leche se clasifica de acuerdo al nivel tecnológico empleado para tal fin, existiendo actualmente el sistema especializado, semiespecializado y familiar o de traspatio. Cada sistema aporta una cantidad específica a la producción nacional; en el 2014, el sistema especializado aportó el 50.6% de la producción total de leche, al familiar se le atribuye un 28.1%, por su parte el semiespecializado produce 21.3% (SIAP, 2015; SAGARPA, 2006). La producción de leche se distribuye en el país como se observa en la Figura 2, destacando Jalisco como el estado con mayor producción de leche en el país, en segundo lugar Coahuila, y en tercero Durango, Oaxaca no aparece entre los primeros diez estados productores de leche del país (SIAP, 2015).

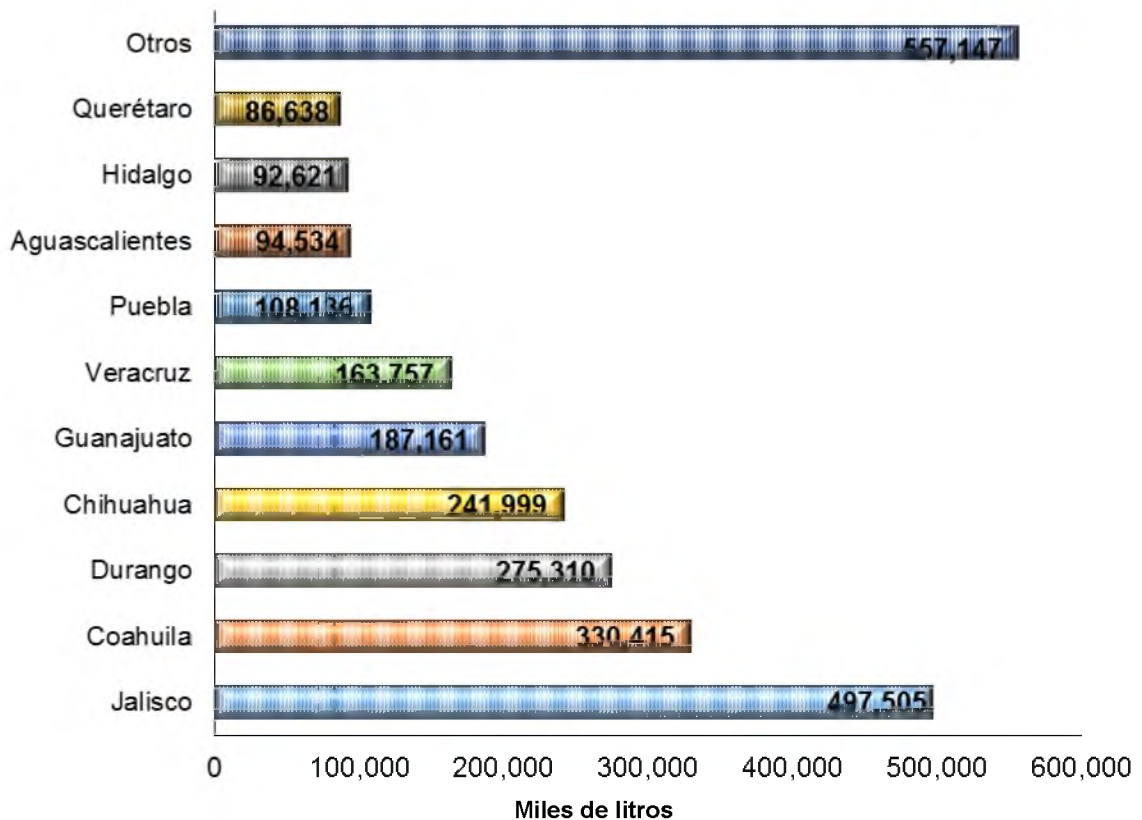


Figura 2. Principales estados productores de leche (Datos preliminares).
Fuente: (SIAP, 2015)

Esta producción se destina principalmente a dos grupos de productos: el primero, la pasteurización y envasado de leche fluida, dicho proceso es realizado por grandes empresas de capital nacional e internacional, aproximadamente el 53% del volumen de leche producido en el país se destina para este mercado: y el segundo para derivados lácteos entre los que encontramos quesos, crema, yogurt, helados, entre otros (47%)(SAGARPA, 2008). La producción de derivados lácteos alcanzó en el 2014 un volumen de 167 mil 878 toneladas, de los cuales la industria de quesos utilizó 53 mil 994 toneladas en el 2014 (PLM, 2014). El consumo per capital de leche fue de 125 litros (Ferriz, 2014).

4.1.2. Producción y consumo a nivel estatal y regional de leche

Oaxaca ocupa el 16° lugar en producción de leche a nivel nacional, con 140,148 miles de litros y un valor de producción de 815,152 miles de pesos (SIAP, 2015), dicha producción se encuentra distribuida en las diferentes regiones del estado. En Oaxaca, en la región fría como lo es el Valle Central, la producción de leche es tecnificada en su mayoría, con razas especializadas, esto se ve reflejado en la contribución del 34 % de la producción total del estado (Figura 3), mientras que en las regiones cálidas-húmedas como lo es el Papaloapan, se practica principalmente la producción familiar o de traspatio con ganado de doble propósito, teniendo una producción de un 17.49% siendo la segunda región con mayor producción (Arteaga, 2008).

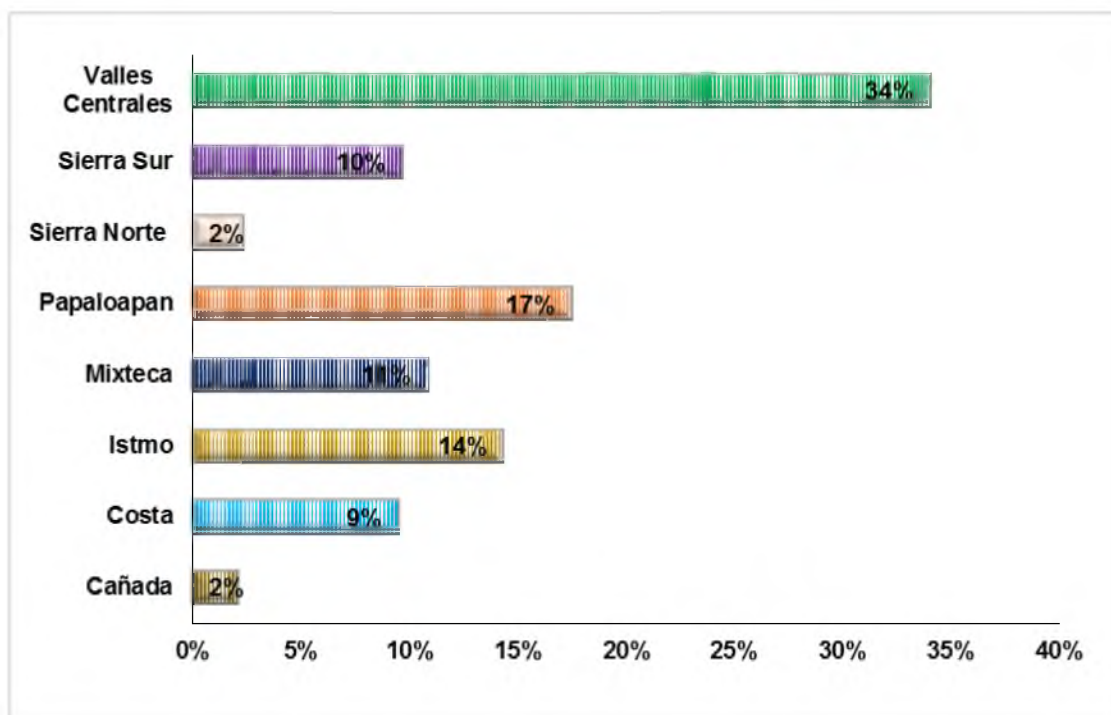


Figura 3. Producción de leche porcentual de las regiones del Oaxaca.
Fuente: Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015; Hernández *et al*, 2011.

La Secretaría de economía, en el 2014, reportó que el consumo de leche

en la población oaxaqueña fue del 90%, registrándose en el estado un consumo per capita de 68.7 litros. La población oaxaqueña tiene un consumo alto de leche principalmente en tres tipos de productos: a) yogurt, b) queso fresco y c) queso Oaxaca o queso de hebra (quesillo), siendo las características sensoriales mostradas por los productos así como el precio y la costumbre étnica las razones de preferencia para un tipo de producto específico, (Arteaga, 2008). Lo anterior demuestra la elevada demanda de leche y derivados lácteos por parte de los habitantes oaxaqueños; sin embargo esta demanda varía entre las regiones debido a la disponibilidad que se tiene de esta materia.

El municipio de Loma Bonita Oaxaca, se encuentra localizada en la región del bajo Papaloapan y se caracteriza por tener un clima tropical. Este municipio alcanza una producción de leche de 50,596 litros diarios distribuidos en todo el municipio, de los cuales el 30% es transformado en queso fresco, 20% en quesillo, 10% es vendida a empresas procesadoras y el 40% restante es vendido por las calles como leche fresca. Por sus propiedades nutricionales, versatilidad en la cocina regional, su bajo costo, además de ser productos aptos para personas de cualquier edad, los lácteos son parte de la dieta de los pobladores de la región; al ser producidos por los lomabonitenses se obtienen a un precio accesible. En algunos casos son preferidos por sobre los productos comerciales, principalmente el queso fresco y quesillo por el sabor peculiar de estos, en el caso de la leche esta se obtiene a un menor precio (H. Ayuntamiento de Loma Bonita, 2010; Asociación Ganadera de Loma Bonita, 2014).

4.2. Composición química y valor nutritivo de la leche

La leche está constituida por agua, grasas, proteínas, vitaminas y minerales, además de concentraciones menores de otras sustancias (Cuadro 1), que en conjunto forman un sistema físico-químico estable de varios cientos de compuestos. El equilibrio de estos compuestos sólidos establece diversos estados de dispersión presentes en la leche que no se alcanzan a observar a simple vista (Badui, 2012).

La calidad de los componentes químicos de la leche hacen de esta materia una importante portadora de nutrientes de fácil digestión para los consumidores, por eso es de gran importancia en la dieta básica de los mexicanos (Garcia, 2013).

Cuadro 1. Composición química de la leche de vaca

Componente	Porcentaje presente (%)
Agua	87.35
Sólidos totales	12.65
Proteínas	3.25
Caseína	2.78
Del suero	0.47
α -lactoalbúmina	0.063
β - lactoglobulias	0.251
Inmuloglobulias	0.051
Seroalbúmina	0.04
Lactoferrinas	0.038
Otras	0.027
Grasa	3.76
Hidratos de carbono	4.84
Lactosa	4.7
Sales	0.8

Fuente: Badui, 2012.

4.2.1. Importancia del consumo de la leche

Para la nutrición humana, la importancia del consumo de la leche reside

básicamente en la calidad de sus componentes, es decir, la calidad de sus proteínas y carbohidratos, su alta digestibilidad, el contenido de calcio y de vitaminas como el retinol (A₁), la tiamina (B₁) y la riboflavina (B₂) las cuales le confieren alto valor biológico (PROY-NMX-F-700-COFECALE-2012). Es por esto que organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), recomiendan este alimento indispensable en la nutrición humana, principalmente para los niños, mujeres embarazadas y adultos mayores (Latham, 2002).

La leche y sus derivados son alimentos de gran valor nutricional por lo que no pueden ser fácilmente desplazados ni sustituidos por otros productos en la alimentación diaria. Sus componentes son parte importante del metabolismo celular de todo organismo, ejemplo de ello es la función que realiza el fosforo, calcio y la vitamina D en el fortalecimiento de los huesos, el magnesio en el desarrollo de huesos sanos y ayuda en la regulación sanguínea, el potasio en la regulación del balance de líquidos en el organismo, y la influencia de la vitamina A, en el desarrollo de la vista, salud de la piel y el sistema inmune (Norma Oficial Mexicana NOM 043- SSA-2005-2), (Latham, 2002). El consumir lácteos es altamente benéfico para la salud, de acuerdo con Shin *et al.* (2013), reducen el riesgo de padecer obesidad; Weaver *et al.* (2010) y Abreu *et al.* (2014), le atribuyen a la leche la propiedad de evitar tener una baja masa ósea, infartos, síndromes metabólicos y algunos tipos de cáncer. Por su parte Yuan *et al.* (2013) confirmó que los lácteos reducen la presión sanguínea en jóvenes,

Digioia *et al.* (2014), indica una reducción de factores de riesgo de enfermedades crónicas y Tanaka *et al.* (2010) confirma que el consumo de leche reduce la prevalencia de caries dental.

4.3. Factores que modifican la calidad de la leche

La calidad de la leche muy pocas veces puede permanecer constante, esto debido a numerosos factores que provocan el cambio en los componentes presentes y modifican así su valor nutritivo y/o su calidad (De los Reyes, 2010). Dichos factores se enlistan a continuación:

a) Raza. Las características individuales dentro de una misma raza y la selección genética son muy variadas y tienen gran influencia sobre las características químicas de la leche, principalmente en lo que se refiere al contenido de materia grasa y resistencia a enfermedades que causan diversos patógenos (De los Reyes, 2010).

b) Alimentación. Es un factor importante el cual ha demostrado incidir en casi todas las propiedades, es decir, la composición química, características sensoriales y valor nutritivo varían según la dieta bajo la cual esté el animal (Heer, 2007).

c) Época del año. Afecta principalmente en la composición química de la leche, la grasa y las proteínas son de los componentes que varían con base en la estación del año, esto debido a la disponibilidad de alimento y la composición de este, así como las condiciones de temperatura las cuales repercuten en la ingesta de los animales y en la acumulación de biomoléculas energéticas secundarias; dichos cambios se observan en mayor intensidad en animales de

pastoreo (Avelino *et al.*, 2010).

d) Factores sanitarios de ordeño y manipulación. Se ha encontrado que, al ser la ordeña la actividad más importante en la explotación lechera, esta debe estar dirigido a reducir al mínimo la contaminación, pues en ella intervienen factores físicos, químicos y biológicos, los cuales terminan afectando significativamente la calidad de esta materia prima (Martínez *et al.*, 2011).

e) Contaminación física. Hace referencia a la alteración de la calidad de la leche por agentes que modifican las características sensoriales, estas pueden ser: la contaminación por objetos depositados accidentalmente en la leche, la contaminación de apariencia por el uso de utensilios sucios, la captación de olores indeseables por parte de la leche al ser recolectada en lugares no aptos para el proceso de ordeño, etc. (De los Reyes, 2010; Martínez *et al.*, 2011).

f) Contaminación química. Se refiere a los solutos depositados intencional o accidentalmente en la leche, como por ejemplo: la adulteración de la leche por adición de agua o azúcares sintéticos, adición de colorantes o almidones, así también la presencia de algunos insecticidas o antibióticos, etc. Los cambios químicos ocurren con frecuencia también durante el proceso industrial de elaboración de derivados lácteos al aplicar diferentes aditivos a la leche durante su transformación (Alais, 1985; De los Reyes, 2010).

g) Contaminación biológica. La leche es un adecuado medio para el desarrollo de microorganismos que provocan cambios en sus componentes y en consecuencia alteran sus características físico-químicas, sensoriales, tecnológicas y sobre todo biológicas, convirtiéndola en ocasiones en una

materia prima de más valor nutritivo o en algunos casos en una fuente importante de infección sanitaria para el consumidor (Noa, 2000; Heer, 2007).

4.3.1. Factores biológicos

Dentro de los factores importantes que hacen variar la calidad química bioquímica y sensorial de la leche, encontramos a los microorganismos como los principales responsables. Aunque algunos son parte de los componentes biológicos de la leche y algunos otros son indispensables para la formación de textura de productos lácteos tales como las bacterias ácidas lácticas, en las que se encuentran: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus*, *Bifidobacterium* (Arrieta, 2011), existen algunos otros que ocasionan daños en la composición de esta materia y sus productos derivados, disminuyendo la calidad sanitaria y la vida útil de la leche, además de ser una fuente de enfermedades para los consumidores (Navarro, 2006).

La leche secretada por la ubre de una vaca sana contiene una microflora característica propia e inocua, que generalmente no ocasiona daño en la salud del que la consume, dentro de las cuales encontramos a: *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Estafilococcus* (Alais, 1985).

Sin embargo, durante el ordeño, la leche está expuesta a contaminación cruzada provocada por microorganismos externos al propio animal, sobre todo los existentes en el estiércol, suelo, agua; además en la parte externa de la ubre y zonas próximas a la misma. Los utensilios que se emplean en el ordeño

y las superficies que contactan con la leche son quizás las dos fuentes de contaminación extrínsecas más importantes para la leche, entre los que se incluyen principalmente los cubos o máquinas de ordeño, coladores, bidones o perolas y equipos de refrigeración (Del Castillo, 2004).

Los contaminantes biológicos están asociados a un gran número de agentes microbianos que pueden encontrarse en la leche y afectarla desde el momento de su producción, dependiendo en gran medida de las prácticas de higiene y sanidad en la manipulación durante la producción, transporte, proceso y venta. Por tanto, es de interés general conocer la diversidad de microorganismos atacantes así como el efecto causado tanto en la leche como en las personas que la consumen (Celis, 2009).

4.3.1.1. Principales microorganismos causantes de la pérdida de calidad en leche

La leche debido a su compleja composición bioquímica y por su alto contenido de agua, es un buen sustrato para los microorganismos que la utilizan para su reproducción y que provocan reacciones proteolíticas, lipolíticas, o sacarolíticas (Noa, 2000; Badui, 2013), convirtiéndolas en un riesgo para la salud del que la consume, al producir sustancias patógenas que pueden provocar graves daños en el consumidor (Rangel, 2010; Pinto, 2013; Noa, 2000; Badui, 2013).

Uno de los microorganismos importantes en la alteración de la leche y derivados son los de la familia de las *enterobacterias*, estas tienen elevado poder patógeno, algunas son heterofermentativas y grandes productoras de gases, producen sustancias viscosas y sabores desagradables, por lo que

pueden alterar significativamente las características de la leche y sus productos derivados.

Dentro de las *enterobacterias*, las más comunes encontradas en los productos lácteos son las del grupo coliforme, su presencia indica baja calidad higiénica en la leche cruda y pasteurizada; entre las enterobacterias comunes de la leche cruda se encuentra: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp* (Alais, 1985; Jay, 2005; Ramon, 2003).

Regularmente las enterobacterias forman parte de la microbiota del intestino y de otros órganos del ser humano y de especies animales, por lo que su presencia en el agua y en la leche se relaciona principalmente con una contaminación de origen fecal (Estrella, 2013).

Los coliformes totales son bacterias en forma de bacilos, facultativamente aerobios, gram negativos que no forman esporas y fermentan la lactosa (Madigan, 2003). El término bacterias coliformes se utiliza para designar a las enterobacterias frecuentes encontradas en los medios significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche. Varias especies de la familia *Enterobacteriaceae* son los responsables de graves enfermedades infecciosas, que pueden adquirir carácter epidémico, en el caso de los productos lácteos las salmonelas son las más temibles (Alais, 2001).

Se entiende como coliformes todos los representantes de la familia *Enterobacteriaceae* que desdoblan la lactosa produciendo ácido y gas. Géneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter*, son indicadores de falta de higiene en la rutina de ordeña. Los coliformes se determinan con

medios líquidos y sólidos debido a su acción sobre la lactosa. Con medio de cultivo sólido forman ácido, y con líquido forman gas. Se determinan mediante siembra en medio agar rojo violeta lactosa bilis (BRVA) o caldo verde brillante lactosa bilis (BGLB) (Heer, 2007).

Entre los microorganismos patógenos de mayor importancia sanitaria para la leche y derivados se encuentran los del género *Staphylococcus*, son aerobios facultativos, fuertes fermentadores; causan mastitis y provocan enfermedades o intoxicaciones en los humanos. El *Staphylococcus aureus* produce una enterotoxina que causa fuertes trastornos intestinales en los humanos, la cual es termorresistente y no es destruida por la pasteurización (Arrieta, 2011).

El *Staphylococcus aureus*, es un microorganismo de gran importancia médica, desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano, forma parte de la familia *Micrococaceae*, género *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre. Es un coco gram positivo, no móvil. Forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. El microorganismo produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en agar sangre. Sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas (Howe et al., 1996 : Kanafani y Fowler, 2006).

Staphylococcus aureus posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades. Produce lesiones superficiales de la piel

y abscesos localizados en otros sitios. Causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis. Es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del shock tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo. Además, causa septicemia, impétigo y fiebres (Velázquez, 2005; Shopsisin, 2001).

Existen reportes ocasionales de brotes donde se involucraron productos vegetales cocidos y papas fritas. Productos enlatados como duraznos, hongos, jamón y sardinas contaminados antes de ser sometidos al proceso de enlatado, también han ocasionado brotes. Alimentos fermentados elaborados a partir de carne, leche y vegetales, así como productos deshidratados y de pastelería, se han reportado como responsables de brotes (Mota y Fernandez, 2012).

También un grupo general que ataca la leche y derivados son los microorganismos clasificados como mesófilos aerobios (crecen a temperatura ambiente y en presencia de oxígeno), Según Vanderzant y Splittstoesser (1992), se agrupan en dos géneros importantes: *Bacillus* y *Sporolactobacillus* formadores de endoesporas las especies encontradas en la mayoría de los alimentos, son generalmente extensos y no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano. Los mesófilos son utilizados principalmente como indicadores de la calidad del procesamiento y son todos aquellos microorganismos que crecen en presencia de oxígeno.

El género Fungí también está presente en la contaminación de la leche, los hongos son microorganismos eucariontes, pueden existir en dos formas

morfológicas: mohos y levaduras. Los mohos consisten de filamentos conocidos como hifas estas se encuentran formando estructuras ramificadas conocidas como micelio, las masas de micelio tienen la apariencia de fibras de algodón. No tienen gran importancia en la leche líquida pero si tienen un mayor efecto en los quesos (Ellner, 2000; Vargas, 2006). Las levaduras que suelen encontrarse en la leche cruda son las del género *candida* y son causantes de las espumas producidas en las leches debido a las fermentaciones alcohólicas gaseosas producidas por la lactosa presente y la acción de estos agentes (Vargas, 2006). Los mohos y levaduras, están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o como agentes contaminantes y en los equipos con mantenimiento sanitario inadecuado, provocan el deterioro fisicoquímico de los alimentos debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos, originando mal olor, alterando el sabor y el color en la superficie de los alimentos que han sido sus sustratos. Los mohos y las levaduras pueden sintetizar metabolitos tóxicos termorresistentes capaces de soportar algunas sustancias químicas o condiciones extremas como la irradiación, y los más importante, presentan capacidad para alterar sustratos haciéndolos susceptibles al crecimiento de bacterias patógenas (Sauceda, 2011).

Según Pelczar y Reid (1966), muchas levaduras relacionadas con los animales de sangre caliente no son patógenas, o por lo menos lo son ligeramente. Normalmente las bacterias del tracto intestinal las mantienen reprimidas. Cuando un organismo es sometido a tratamientos con antibióticos, las levaduras pueden proliferar libremente y causar infecciones que pueden

adoptar forma de enfermedades de la piel (*Candida albicans*), que puede dar origen a infecciones generalizadas de bronquios y pulmones. El *Cryptococcus neoformans* causa una infección sistémica grave que afecta al cerebro y meninges. Es importante mencionar que estas levaduras no se adquieren a través de los alimentos.

La cuantificación de hongos (mohos y levaduras) en los alimentos es de gran importancia, pues existen ciertos tipos de estos microorganismos que ocasionan graves daños tanto en la materia prima y productos derivados, como en las personas que los consuman, además de producir sustancias aún más patógenas que ellos mismos. Tal es el caso de las micotoxinas, las cuales según Tortajada *et al.*, (2001), son sustancias nocivas para la salud, generadas por el crecimiento de hongos que contaminan los alimentos. La presencia de toxinas implica la posible existencia de otras debido a que un solo hongo produce diferentes micotoxinas.

Entre los hongos toxigénicos destaca el género *Aspergillus* con dos variedades, el *A. flavus* y el *A. parasiticus*, por generar las aflatoxinas que son potentes hepatocarcinógenos. El *A. flavus* produce aflatoxinas B1 y B2, mientras que el *A. parasiticus* produce aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, las cuales son tóxicas y cancerígenas (Vázquez-Belda, 1995).

Las micotoxinas del género *Fusarium* están relacionadas con el cáncer del esófago en los humanos. La ocratoxina C producida por el *A. ochraceus* y por el *Penicillium verrucosum*, está implicada con la tumorigénesis de las vías urinarias (Tortajada *et al.*, 2001).

Otras de las bacterias que modifican las características de la leche y productos lácteos y que causan daño a los consumidores son las bacterias esporuladas, estas son bacterias aeróbicas con actividad enzimática variada, produciendo acidificación, coagulación y proteólisis. Dentro de este tipo de bacterias se encuentran las del género *Clostridium* estos son anaerobios estrictos producen gas y algunos producen toxinas patógenas, como el *Clostridium botulinum* en la leche cruda, su crecimiento es inhibido por las bacterias lácticas; cobran importancia en productos lácteos como en leche pasteurizada, quesos fundidos, leches concentradas, quesos de pasta cocida. Resisten la pasteurización por su capacidad de producir esporas, las cuales solo se destruyen a temperaturas por encima de 100 °C (Amiot, 1991; Celis, 2009).

También se pueden encontrar las *Acromobacterias*, las cuales son aerobias, saprófitas, con actividad enzimática limitada, las cuales son parte esencial de la microflora psicrófila que prolifera en la leche conservada a bajas temperaturas. Producen sustancias viscosas ó coloreadas que afecta significativamente las características sensoriales de la leche (Celis, 2009).

Otros de los microorganismos con efectos patógenos o indeseables encontrados en la leche, son los *Streptococos lactis*, los bacilos psicótrofos gramnegativos y las bacterias termodúricas (Frazier, 1993). Estos microorganismos aparte de afectar la calidad de esta importante materia prima, afectan principalmente también la salud del consumidor.

En el ambiente también se encuentran los Alcaligenes, los cuales producen ciertas características indeseables en la leche y subproductos, como por ejemplo: *Alcaligenes viscolactis* produce viscosidad en la leche y *Alcaligenes*

metalcaligenes produce un crecimiento mucoso en la superficie del requesón. Estos microorganismos proceden del estiércol, piensos, suelo, agua y polvo (Alais, 1985, Celis 2009).

Otro género importante que en ocasiones resulta contaminante de leche y productos lácteos es el género *Flavobacterium*, especies que producen pigmentos de color variable del amarillo al naranja, pueden producir coloraciones anormales. Algunas especies son psicótropas (García, 1993).

Algunos de los microorganismos que podemos encontrar como parte de la microflora natural de la leche son los pertenecientes al género *Micrococcus* los cuales, tiene poca actividad enzimática y son débiles fermentadores, por lo tanto son de muy poca importancia como agentes adulteradores en leche. Sin embargo por ser la flora más abundante en leche cruda y tener cierta capacidad proteolítica, los *micrococcus* pueden llegar a ser culpables de las alteraciones en leche pasteurizadas mal almacenadas (Alais, 1985; Celis, 2009).

No todos los microorganismos presentes en la leche representan un peligro para la salud pública. Ejemplo de ello son las bacterias lácticas, las cuales son parte de la microflora natural de la leche y su presencia no representa una influencia negativa, por el contrario, son consideradas como prebióticos en los organismos que las contengan y sirven en ocasiones como indicadores cualitativos de la higiene en la ordeña y la posterior conservación de la leche (Amores *et al.*, 2004; Santillán *et al.*, 2014).

4.4. Enfermedades causadas por la ingesta de leche y derivados contaminados microbiológicamente

Los contaminantes biológicos son seres vivos del tipo bacteria o parásito, con un determinado ciclo de vida que, al penetrar en el ser humano, ocasiona enfermedades de tipo infeccioso. Pueden encontrarse en la mayoría de los alimentos ya sea por contaminación directa natural de la fuente o durante el proceso de manufactura (Isabel, 2011).

Las bacterias presentes en la leche son de cuatro tipos: bacterias no patógenas, bacterias fermentadoras de ácido láctico, bacterias de putrefacción y bacterias patógenas, siendo estas últimas, la de mayor peligro para la salud del consumidor al provocar graves enfermedades infecciosas e intoxicaciones alimentarias (Noa, 2000), las principales bacterias en México y los productos en los que mayormente se han encontrado son las expuestas en el Cuadro (2) descrito por García (2003).

Cuadro 2. Principales microorganismos responsable de intoxicaciones alimentarias:

Organismo	Productos lácteos implicados
<i>Salmonella spp.</i>	Leche, nata
<i>Salmonella typhi</i>	Leche, quesos, postres
<i>Staphylococcus aureus</i>	Leche, quesos
<i>Campylobacter jejuni</i>	Leche
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Leche
<i>Escherichia coli</i>	Leche, queso, postres

Fuente: García, 2003.

Dentro de las principales enfermedades causadas por el consumo de lácteos contaminados encontramos las siguientes:

a) Shigelosis también conocida como disentería bacilar, es una enfermedad causada por *Shigella sonnei*, los síntomas de esta enfermedad son los siguientes: fiebre, dolores articulares, escalofríos y diarrea no sanguinolenta con

moco, Della *et al.* (2015) reportaron un brote causado por la crema de almendras, la cual contiene algunos lácteos entre sus ingredientes.

b) Brucelosis es causada por las bacterias *Brucella spp*, los síntomas de esta enfermedad infecciosa son fiebres altas, malestar general y dolor de cabeza; los animales y personas recién infectadas a menudo experimentan abortos espontáneos (Cabrera *et al.*, 2014).

c) Cólera, enfermedad infecciosa aguda, provocada por la bacteria *Vibrio Cholerae*. Caracterizada por diarrea agudas y vómitos ocasionales. Pueden causar deshidratación extrema, lo que puede provocar la muerte. La enfermedad requiere cuarentena y es de declaración obligatoria nacional e internacionalmente (Máttar y Bermúdez, 2000).

d) Fiebre tifoidea o Salmonelosis, es una enfermedad bacteriana sistémica cuyo agente infeccioso es *Salmonella typhy*, sus síntomas consisten en fiebre elevada y sostenida (39°C-5R 40°C), pueden presentar debilidad, dolor abdominal, dolor de cabeza y pérdida de apetito, también es frecuente la hepatoesplenomegalia (aumento del tamaño del hígado y del bazo), en algunos casos aparece una erupción cutánea de manchas planas de color rosa en Salmonelosis que es la misma enfermedad pero con mayor impacto, se diferencia por la presencia de diarrea (Amin *et al.*, 2015; Herrera y Rodríguez, 2012).

e) Gastroenteritis enterotóxica estafilocócica, infección por *Clostridium* e infección por un grupo de especies bacterianas coliformes, los síntomas consisten en diarrea, vómito, dolor abdominal y calambres (Garrido, 2013).

f) Gastroenteritis aguda, el agente causal es la bacteria *Escherichia Coli*

perteneciente a grupo de los coliformes, los síntomas son diarrea aguda, dolor estomacal, el enfermo se puede deshidratar con facilidad (Narváez y Plazas, 2015).

4.5. Organismos encargados de vigilar la inocuidad y calidad de la leche en México

Debido a que las enfermedades alimentarias han ido en aumento a nivel mundial, en México se han creado programas cuyo objetivo es vigilar la calidad sanitaria en la producción de alimentos en cada una de las cadenas agropecuarias existentes.

Entre los principales organismos de vigilar la inocuidad en la producción y transformación de la leche en México, se encuentra el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), que es una dependencia federal del gobierno de México, vinculada al Departamento de Regulación y Fomento Sanitario de la Secretaría de Salud (COFEPRIS, 2015) y el Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados (COFOCALEC), organismo privado, sin fines de lucro, cuyo objetivo principal es promover en el país la calidad de la leche y sus productos a lo largo de la cadena, incluyendo a los consumidores (COFOCALEC. 2015).

4.5.1. Normas vigentes para el cuidado de la inocuidad de la leche y derivados

En México, el Programa Sectorial de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, establece dentro de su visión, lograr mayor

eficiencia en la producción y andamiaje comercial agrícola, pecuario y pesquera, para que sean actividades redituables y se sitúen con alto margen de competitividad y sustentabilidad, tanto en la economía global, como en nuestro propio abastecimiento cuidando de manera particular la inocuidad durante la producción y transformación, así como en las operaciones de valor agregado. De acuerdo con esto, en México se creó el Comité Nacional de Sistema Producto Leche de México, quien en coordinación con los organismos encargados de vigilar la inocuidad en la producción y transformación de esta materia pecuaria (SENASICA, COFEPRIS Y COFOCALEC) además del sector social, privado y público, es el responsable de elaborar, modificar y/o cancelar Normas Mexicanas referentes a equipos, procesos, productos y métodos de prueba aplicables a la leche y sus derivados.

El Comité Nacional de Sistema Producto Leche de México, tiene como uno de sus objetivos brindar y actualizar información relacionada con esta cadena de valor y hacer llegar la información a todos los involucrados en esta actividad. A continuación se enlistan algunas de normas aplicables a leche y derivados.

Equipo:

CLAVE	TITULO
NMX-F-700-COFOCALEC-2012	Sistema producto leche. Alimento lácteo, leche cruda de vaca. Especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.
NMX-F-715-COFOCALEC-2006	Sistema producto leche. Especificaciones para el enfriamiento y almacenamiento de leche cruda en las explotaciones lecheras.
NMX-F-720-COFOCALEC-2006	Sistema producto leche. Especificaciones para el transporte de leche cruda, así como para el enfriamiento y almacenamiento de la misma en centros de acopio.

Proceso:

CLAVE	TITULO
NMX-F-718-COFOCALEC-2006	Sistema Producto Leche alimentos, lácteos. Guía para el muestreo de leche y productos lácteos.
NMX-F-726-COFOCALEC-2007	Sistema producto leche. Requerimientos para los servicios a equipos de ordeño y sistemas de enfriamiento en los centros de producción o explotación lechera.
NMX-F-730-COFOCALEC-2008	Sistema producto leche. Alimentos lácteos, prácticas de higiene recomendadas para la obtención de leche.

Producto:

CLAVE	TITULO
NMX-F-700-COFOCALEC-2012	Sistema producto leche, Alimento lácteo, leche cruda de vaca, especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.

NMX-F-703-COFOCALEC-2012	Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Leche y producto lácteo (o alimento lácteo). Fermentado o acidificado. Denominaciones, especificaciones y métodos de prueba.
NOM-184-SSA1-2002	Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.
NOM-155-SCFI-2012	Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
NOM-091-SSA1-1994.	Bienes y servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

Métodos de prueba:

CLAVE	TITULO
NMX-F-702-COFOCALEC-2004	Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Determinación de fosfatasa residual en leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado, helados y sorbetes. Método de prueba.
NMX-F-705-COFOCALEC-2012	Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Determinación de la cuenta total bacteriana en leche cruda por citometría de flujo. Método de prueba.
NMX-F-706-COFOCALEC-2012	Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Determinación de la cuenta de células somáticas en leche cruda por citometría de flujo. Método de prueba.
NMX-F-712-COFOCALEC-2005	Sistema producto leche. Alimentos lácteos. Determinación de aflatoxina M1 en leche fluida por cromatografía de líquidos de alta resolución. Método de prueba.

NOM-243-SSA1-2010	Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
PROY-NOM-155-SCFI-2001	Proyecto de norma oficial mexicana, leches, formula láctea y producto lácteo Combinado-denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
NOM-109-SSA1-1994.	Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
NOM-110-SSA1-1994	Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
NOM-120-SSA1-1994	Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación de muestreo y análisis

El presente estudio se realizó con muestras de leche y queso fresco adquiridos en varios puntos de venta de la zona centro del municipio de Loma Bonita, Oaxaca, cuya ubicación geográfica es 17° 6' 30" longitud Norte y 96° 44' 40" latitud Oeste (INEGI, 2005), durante los meses de Septiembre a Diciembre del 2014.

El análisis microbiológico de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio Químico-Biológico de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita, localizada en la ciudad de Loma Bonita, Oax.

5.2. Muestras

La obtención de muestras se realizó en coordinación con la Asociación Ganadera de Loma Bonita, Oaxaca, con el objetivo de identificar la calidad sanitaria de muestras pertenecientes a 15 productores adscritos a esta dependencia y que comercializan su producto en la zona centro del municipio. Las muestras de leche y queso fresco, este último obtenido a partir de la leche muestreada, se tomaron directamente de las perolas y cestos de expendio respectivamente, en los puntos de venta para el consumidor. Las muestras se recolectaron y trataron de acuerdo con los métodos descritos a continuación y utilizando para ello materiales y reactivos adquiridos con proveedor.

5.3. Métodos

Los métodos utilizados en el desarrollo del estudio fueron los descritos en las

Normas Oficiales Mexicanas vigentes para leche, los cuales se describen a continuación.

5.3.1. Toma, transporte y preparación de las muestras de leche para su análisis microbiológico (NOM-109-SSA1, 1994)

Se colectaron 100mL de leche de cada punto de muestreo. Dicho volumen fue recolectado del contenedor de venta al consumidor, agitando previamente el bidón para que la muestra fuese homogénea. Las muestras de leche fueron colocadas en frascos de vidrio estériles, se cerraron e identificaron con: fecha y hora de recolección, volumen recolectado, procedencia de la muestra, lugar de muestreo y temperatura de la muestra. Las muestras fueron transportadas en mochila térmica ámbar a 8 °C hasta el laboratorio para su preparación y análisis.

Las diluciones de muestras de leche se realizaron colocando 1mL de leche en un tubo de ensaye con 9mL de solución reguladora de fosfatos estéril ajustada a pH 7.2 (dilución 1×10^{-1}). A partir de esta dilución, se tomó 1mL y se colocó en otro tubo con 9mL del diluyente (dilución 1×10^{-2}). A partir de esta, se preparó la dilución 1×10^{-3} siguiendo el mismo procedimiento descrito en la norma (NOM-110-SSA1, 1994).

5.3.2. Toma, transporte y preparación de muestras de queso para su análisis microbiológico (NOM-109-SSA1, 1994)

Se colectaron 100g de queso fresco en cada punto de venta. Las muestras se tomaron directamente de la bandeja ubicada en el mostrador de venta al consumidor y se colocaron en bolsas ziploc® estériles, las cuales fueron identificadas: con fecha y hora de recolección, peso recolectado,

procedencia de la muestra, lugar de muestreo y temperatura de la muestra, se transportaron en mochila térmica ámbar a 8°C al laboratorio para su preparación y análisis.

De cada muestra de queso se tomaron 10g y se mezclaron con 90 mL de solución diluyente (solución reguladora de fosfatos ajustada a pH de 7.2), se agitó de 1 a 2 minutos hasta obtener una solución homogénea. Se esperó a que la solución se sedimentara (dilución 1×10^{-1}) y posteriormente se agregó 1mL de la muestra a un tubo de ensaye con 9mL de solución reguladora de fosfatos (dilución 1×10^{-2}). Esta última solución se agito y se transfirió 1mL de ella a otro tubo con 9mL también de solución reguladora de fosfatos (dilución 1×10^{-3}) (NOM-110-SSA, 1994). Esto se realizó para cada muestra de queso, obteniendo tres diluciones seriadas que fueron sembradas en el medio específico para cada análisis.

5.3.3. Determinación de mesófilos aerobios en leche y queso (NOM-092-SSA1, 1994)

Para la determinación de mesófilos aerobios, se utilizó la técnica de vaciado en placas de vidrio (cajas petri), utilizando 1mL de cada dilución en agar para métodos estándar, el cual se preparó con base en las recomendaciones del proveedor.

Se sembró una placa por dilución realizada de cada muestra y se incubó durante 48 ± 2 horas a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación se retiraron las placas de la incubadora y con ayuda del contador de colonias se contaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

obtenidas en cada placa. Se registraron las UFC que se encontraron en el intervalo de 25 a 250 colonias y se calculó la cuenta promedio en cada dilución y por gramo de muestra.

5.3.4. Determinación de coliformes totales en leche y queso (NOM-113-SSA1-1994)

La determinación de coliformes totales se realizó sembrando en agar de rojo violeta bilis lactosa 1mL de cada dilución, aplicando para ello la técnica de vaciado en placa y preparando previamente el medio de cultivo según las indicaciones del proveedor.

Las placas sembradas se incubaron de manera invertida durante 24 ± 2 horas a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación, con ayuda del contador de colonias se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 UFC con colonias color rojo oscuro rodeadas de un halo de precipitación color rojo claro o rosa y elevación convexa con diámetros de 0,5 a 2,0mm.

Se calculó el número de coliformes por mililitro y por gramo para cada muestra, multiplicando el número de colonias identificadas por el inverso de la dilución correspondiente y se reportaron como las UFC/g o UFC/mL en placa de agar rojo violeta bilis lactosa, incubados a 35°C durante 24 ± 2 horas.

5.3.5. Determinación de mohos y levaduras en leche y queso (NOM-113-SSA1-1994)

Para la siembra y conteo de mohos-levaduras se sembró 1mL de cada dilución en agar papa y dextrosa ajustado a pH de 3.5 con ácido tartárico y preparado conforme a las especificaciones del proveedor.

Las placas de vidrio fueron sembradas mediante la técnica de vaciado en placa

e incubadas de forma invertida durante 5 días a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación se contaron las placas que contenían entre 10 y 150 colonias para mohos y para levaduras y se multiplicó cada resultado por el inverso de la dilución.

El resultado de esta determinación se reportó como las UFC/g o UFC/mL de mohos y levaduras en agar papa y dextrosa acidificado incubados a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3.6. Determinación de *Staphylococcus aureus* en leche y queso (NOM-115-SSA1-1994)

La determinación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* se realizó por siembra directa. Se sembraron 0.1 mL de cada dilución sobre la superficie de agar Baird Parker, previamente preparado conforme a lo establecido por el proveedor y utilizando para ello la técnica de siembra por extensión.

Las placas de vidrio sembradas se incubaron de forma invertida a temperatura de 35°C durante 45 horas. Transcurrido este tiempo, se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 colonias negras, circulares, brillantes, convexas, lisas y de diámetro de 1 a 2 mm con halo claro alrededor.

El resultado de esta determinación se reportó como las UFC/g y UFC/mL de *Staphylococcus aureus* en agar baird parker incubados a 35°C . Para el caso de las placas que contenían menos de 15 colonias típicas, se reportó el total de UFC/g para queso y UFC/mL en leche de la muestra agregando la nota de "valor estimado".

5.4. Análisis de datos

Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados obtenidos fueron comparados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando para ello el programa SAS (2005), con un α de 0.05. La comparación de medias entre variables (productores de leche y queso) a evaluar se realizó mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia del 95%.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados en este trabajo estiman la microflora total presente en las muestras analizadas (leche y queso), las cuales provienen de las unidades de producción (sistemas familiares) de 15 productores, que para fines del presente trabajo, se identifican por letras del abecedario para mantenerlos en el anonimato (Cuadro 3).

Cuadro 3. Producción de leche y queso por productor

ID	Raza de los animales en producción	Producción de leche (L/día)	Producción de queso (kg/día)
A	Cebú/Suizo	100	9
B	Suizo	60	6
C	Suizo	200	18
D	Cebú/Suizo	40	*
E	Suizo Americano y Europeo	800	20
F	Cebú/Suizo	40	*
G	Cebú/Suizo	50	5
H	Cebú/Suizo	70	6
I	Cebú/Suizo	300	**
J	Cebú/Suizo	400	38
K	Cebú/Suizo	60	6
L	Cebú/Suizo	90	7
M	Holandés/Cebú/Suizo	600	50
N	Cebú/Suizo	100	8
Ñ	Cebú/Suizo	1000	60

ID. Identificación del productor

* Solo producen queso en caso de merma.

** Solo produce queso Oaxaca.

Como se puede observar en el cuadro 3, el 80% de las muestras provienen de raza F1 (cebu/suizo), el 13% únicamente de suizo y el 7% de

europeo. Esto contribuye en gran medida a nuestro estudio, debido a que, a pesar de ser la raza un parámetro no estandarizado en el análisis, resultó en más del 50% semejante en las muestras.

El 53% de los productores trabajan con un volumen de leche igual o mayor a 100 litros por día, el resto trabaja con volúmenes variables que van desde los 40 a los 70 L/día. De total de productores, el 53% destina el 100% de la producción de leche a la elaboración de queso fresco artesanal, el 13% destina únicamente el 80% para este fin y solo un 13% de productores destina únicamente entre un 20 y 50% de leche a la producción de queso; el porcentaje restante de leche en cada uno de los casos se destina a la venta de leche en fresco. Únicamente un 7% de los productores destina el 100% de la leche a la producción de queso Oaxaca y un 13% destinan el 100% de la leche a la venta en fresco y solo procesan queso en caso de merma. Con base en esto, este último porcentaje de productores que incluye al productor D, F, e I, no fue considerado para el análisis microbiológico en queso.

6.1. Recuento de mesófilos aerobios

6.1.1. Mesófilos aerobios en leche

Dentro del grupo de los mesófilos aerobios se incluyen a todas las bacterias, mohos y levaduras, capaces de desarrollarse a temperaturas entre 30 y 35°C, además de microorganismos inoocuos y/o patógenos que soportan o necesitan oxígeno para subsistir (Ruera, 2006).

Desafortunadamente no existe un parámetro establecido por las Normas Mexicanas para el crecimiento de mesófilos aerobios en leche fresca, sin

embargo, las cantidades obtenidas de crecimiento microbiano en UFC/mL para las muestras analizadas no excedieron el límite permisible para leche pasteurizada (30,000 UFC/mL) establecido en la NOM-092-SSA1-1994, situación que designa a las muestras del presente estudio como aptas para consumo, pero con precaución, al tener presencia de este tipo de microorganismos.

El Cuadro 4 presenta la media y desviación estándar del contenido de mesófilos aerobios en leche para cada uno de los puntos de muestreo. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre productores para cargas mesofílicas en leche, aunque numéricamente, se observan amplios contrastes entre productores en el conteo de mesofilos; por ejemplo, el productor E que presenta mayor contaminación con $9,900 \pm 7,728$ UFC/mL duplica la carga mesofílica del productor C que tiene la menor carga ($4,277 \pm 1,332$ UFC/mL). La carga promedio de los quince productores analizados fue de 6,373.53 UFC/mL. La carga obtenida en esta determinación es similar entre productores.

La presencia de mesófilos aerobios evidencía la calidad sanitaria de las muestras, así como las condiciones de manipulación, que en este caso, se puede asumir que las condiciones de ordeño y cuidados sanitarios de la leche no se están llevando de manera adecuada por los productores o responsables y resulta similar en todos los casos, ya que todas las muestras de leche presentaron crecimiento microbiano.

Cuadro 4. Valores estimados de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios cuantificados en leche, sembrados en agar para métodos estándar.

Productor	UFC/MI
A	6972 ± 1100 ^a
B	6100 ± 1288 ^a
C	4277 ± 1332 ^a
D	7130 ± 1000 ^a
E	9900 ± 7728 ^a
F	6382 ± 473 ^a
G	4425 ± 462 ^a
H	5350 ± 1411 ^a
I	6135 ± 4359 ^a
J	5470 ± 2396 ^a
K	7273 ± 2626 ^a
L	7242 ± 2742 ^a
M	5945 ± 1068 ^a
N	5537 ± 2294 ^a
Ñ	7465 ± 4305 ^a
EE	1706

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

El error estándar se representa (EE).

*Excede el límite permitido por la NOM-092-SSA1-1994.

De acuerdo con lo anterior y con base en lo descrito por Perdomo (2010), las variaciones entre productores que se observan en el presente análisis, se relacionan con la contaminación bacteriana de residuos de leche que han quedado en la superficie de los implementos usados regularmente en la ordeña, el manejo inadecuado al obtener y almacenar la leche, ubres sucias o no higienizadas y la no refrigeración rápida de la leche recién ordeñada. Por otro lado de acuerdo a lo descrito en la NOM-092-SSA1,1994, un recuento bajo de mesófilos no implica o asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado, como en este estudio, no

significa la presencia de flora patógena. En la Figura 4 se observa con mayor claridad que incluso los productores con cargas mesofílicas más elevadas no superan ni la mitad del valor establecido por la norma para leche pasteurizada.

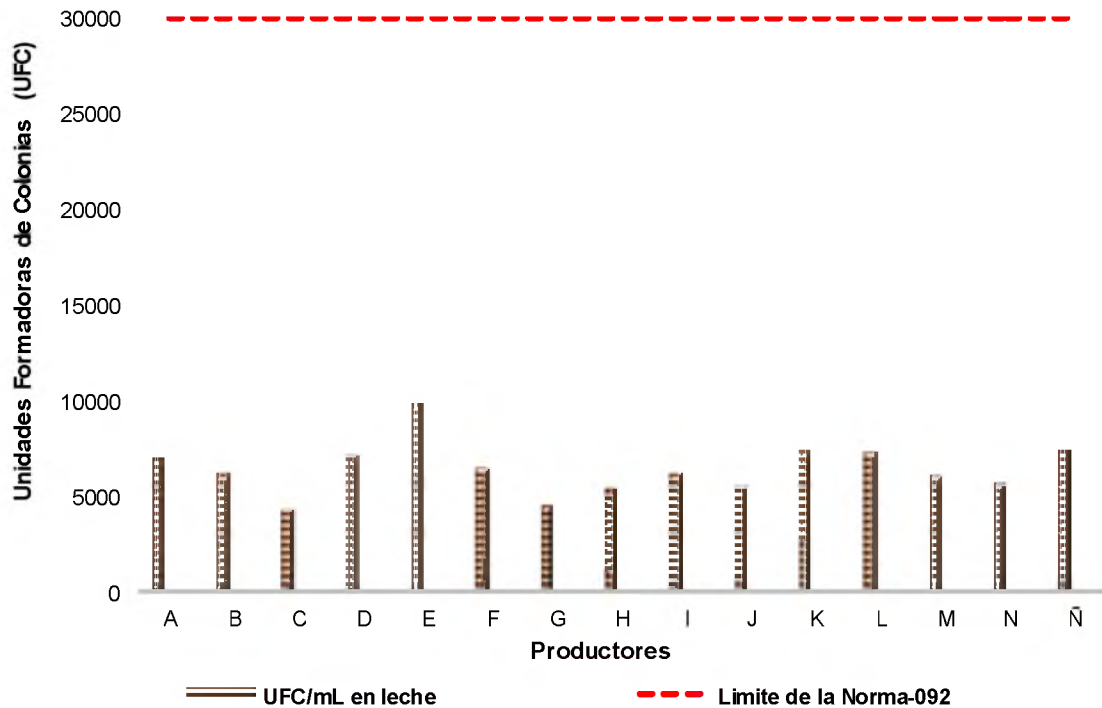


Figura 4. UFC de mesófilos aerobios en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.

La Figura 5 muestra la morfología macroscópica de las unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas en el 100% de las muestras de leche, sembradas mediante la técnica de vaciado en placa en Agar para métodos estándar. En ella se pueden observar diferentes tipos de forma, bordes, elevación, transparencia y cromogénesis, siendo las más encontradas las de forma circular e irregular, con borde entero y dentado, elevación plana,

transparencia translúcidas y opacas y con cromogénesis amarilla, blancas y crema. De acuerdo con este tipo de morfologías, las colonias grandes, planas, blanquecinas, de forma irregular, bordes lobulados, que se observan en la figura podría tratarse de *Enterococcus* sp., de acuerdo con lo descrito por Saxer, *et al.* (2013). Las colonias con morfología puntiformes con bordes lisos y cromogénesis blanca a crema corresponde a las bacterias *Lactobacillus bulgaricus* mientras que las de cromogénesis amarilla con borde irregulares corresponden a *Streptococcus thermophilus* (Barios, 2011).

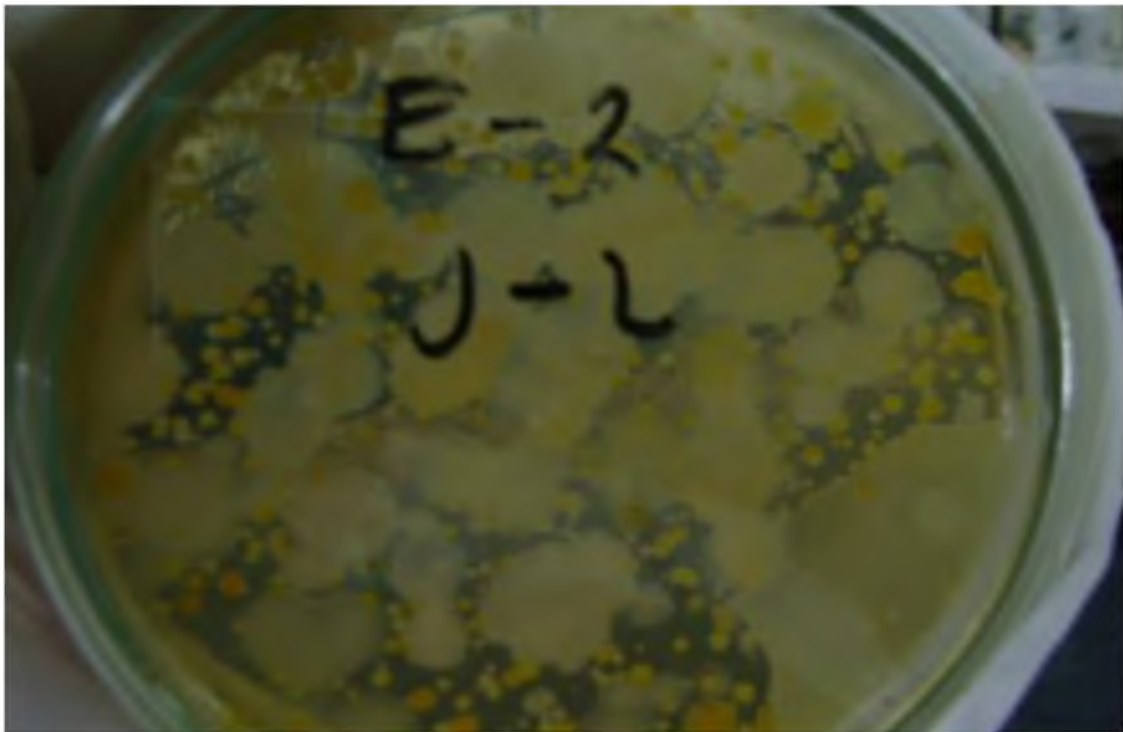


Figura 5. Morfología colonial de mesófilos aerobios en leche sembrados por vaciado en placa en agar para métodos estándar.

6.1.2. Mesofilos aerobios en queso

Todos los cultivos de las muestras de queso presentaron crecimiento de mesofilos aerobios. Los resultados que arrojó el estudio se presentan en el cuadro 5, en donde se observan diferencias significativas entre quesos

analizados ($P < 0.05$), siendo los cultivos con menor contaminación los correspondientes a los productores B ($2,245 \pm 862$ UFC/g), A (2312 ± 1030 UFC/g) y E (2272 ± 175^b UFC/g) y el de mayor contaminación el L ($15,983 \pm 10068$ UFC/g).

Cuadro 5. Valor estimado de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios cuantificados en queso sembrados en agar para métodos estándar

Productor	UFC/g
A	2312 ± 1030^b
B	2245 ± 862^b
C	10665 ± 2218^{ab}
D	SD
E	2272 ± 175^b
F	SD
G	6437 ± 4178^{ab}
H	7890 ± 2227^{ab}
I	SD
J	7412 ± 1893^{ab}
K	12440 ± 5051^{ab}
L	15983 ± 10068^a
M	12803 ± 9038^{ab}
N	8437 ± 2860^{ab}
Ñ	2312 ± 3479^{ab}
EE	2624

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones \pm su desviación estándar.

Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre productores $P < 0.05$.

El error estándar se representa (EE).

*Excede el límite permitido por la NOM-092-SSA1-1994.

La variabilidad estadística que se observa en los resultados de la carga mesófilica en queso puede deberse principalmente a los utensilios y equipos utilizados durante el procesamiento de la leche por parte de cada productor, además de las condiciones del lugar o el tratamiento aplicado a la leche en cada caso (Baca, 2009; Morales *et al*, 2012). Dávila *et al.*, (2006), han detectado dos puntos de peligro y de control crítico en la elaboración de

queso. El primero consiste en que el personal que elabora el queso no sigue las indicaciones sanitarias básicas, tales como lavarse las manos al iniciar la elaboración del producto, y durante el proceso si realiza alguna actividad ajena a la elaboración o toca algo externo al producto. El segundo, consiste en que los encargados de la elaboración no utilizan la ropa adecuada o utilizan la ropa destinada para el área de producción en otras áreas.

La Figura 6 muestra la morfología macroscópica de las UFC obtenidas en el 100 % de las muestras de queso sembradas mediante la técnica de vaciado en placa en Agar para métodos estándar, se observan colonias con forma irregular, bordes lobulados, elevación plana y cromogénesis blanca, con base en esto y de acuerdo con Barrios (2006), al parecer se trata de *Bacillus sp.* y *Lactobacillus bulgaricus*, dichas bacterias resultan inocuas y se caracterizan por ser bacterias ácido lácticas (Bartram, 2003).

Otros tipos de morfología encontradas fueron las de forma irregular, puntiformes, con borde entero y dentado, elevación plana, transparencia translúcidas y opacas y con cromogénesis blanca y crema.

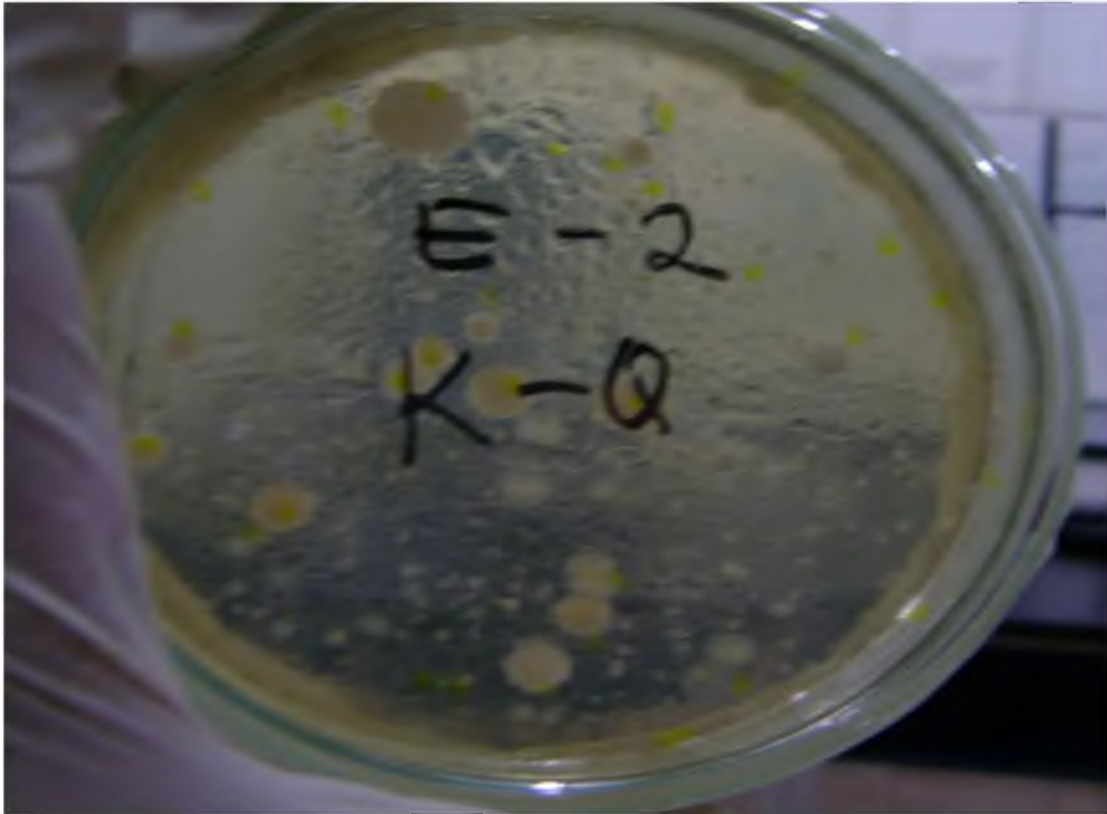


Figura 6. Morfología colonial de mesofilos aerobios en queso, crecimiento de colonias en agar para métodos estándar sembrados por la técnica de vaciado en placa.

6.1.3. Comparación entre las cargas de mesofilos aerobios en leche y queso

El cuadro 6 presenta la comparación entre la carga microbiana obtenida para mesófilos aerobios en leche como materia prima y en queso fresco como producto derivado. Como se observa en los resultados, no existen diferencias significativas entre las UFC detectadas al comparar las muestras para cada productor. Es de esperarse que cualquier producto elaborado a partir de una materia prima contaminada, resulte igual o mayormente contaminada, sin embargo, en el presente estudio se observó lo contrario para algunos casos, un 33.3% de las muestras analizadas presentaron una disminución en las cargas en queso, aunque estos casos no

son estadísticamente significativos, el otro 66.6% presentan una contaminación mayor en queso que en leche.

Cuadro 6. Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de mesófilos aerobios en leche y queso sembrados en agar para métodos estándar.

Productor	UFC/mL de leche	UFC/g de queso
A	6,972 ± 1100 ^a	2,312 ± 1030 ^a
B	6,100 ± 1288 ^a	2,245 ± 862 ^a
C	4,277 ± 1332 ^a	10,665 ± 2218 ^a
E	9,900 ± 7728 ^a	2,272 ± 175 ^a
G	4,425 ± 462 ^a	6,437 ± 4178 ^a
H	5,350 ± 1411 ^a	7,890 ± 2227 ^a
J	5,470 ± 2396 ^a	7,412 ± 1893 ^a
K	7,273 ± 2626 ^a	12,440 ± 5051 ^a
L	7,242 ± 2742 ^a	15,983 ± 10068 ^a
M	5,945 ± 1068 ^a	12,803 ± 9038 ^a
N	5,537 ± 2294 ^a	8,437 ± 2860 ^a
Ñ	7,465 ± 4305 ^a	2,312 ± 3479 ^a
EE	1706	2624

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

El error estándar se representa (EE).

Para el caso en que la carga microbiana resulta mayor en leche que en queso, de acuerdo con Davila *et al.* (2006), se debe a la adición de cloruro de sodio (Sal de mesa), Badui (2012), menciona que las moléculas de cloruro de sodio disminuyen la actividad de agua, que no es otra cosa que la cantidad de agua libre disponible para el crecimiento microbiano y para los procesos químicos y enzimáticos. Los microorganismos necesitan presencia de agua para la mayoría de los procesos metabólicos, por lo cual al no poder utilizarla disminuye su crecimiento.

El caso contrario donde el queso resultó más contaminado que la leche, puede deberse principalmente a que una vez obtenida la leche después del

ordeño, esta pasa demasiado tiempo sin ser refrigerada, debido a que la leche obtenida del primer animal ordeñado tiene que esperar hasta que sea colectada la leche del último animal, para poder ser transportada al lugar de procesamiento (González *et al.* 2016). Otra razón es la distancia que la leche debe recorrer desde el lugar de la ordeña hasta el área de elaboración del queso. Por otra parte, uno de los factores que inciden en la contaminación indirecta de la leche son los diferentes tipos de transportes que utilizan los productores para trasladar la leche al lugar de procesamiento. Por ejemplo, el productor L utiliza una carreta jalada por caballo para el traslado; esto retarda la llegada de la materia prima al lugar de procesamiento, y probablemente el tiempo de traslado propicie un mayor tiempo de proliferación y un aumento en la carga microbiana.

La Figura 7 muestra la comparación de las UFC's tanto de la leche como del queso fresco respecto al valor máximo establecido en la Norma Oficial Mexicana 092 para leche pasteurizada (30,000 UFC/mL) en cuanto a mesófilos aerobios se refiere. El comportamiento de los conteos se presentó en algunos casos de la manera esperada, ya que se sospechaba que al tener materia prima contaminada (leche) los quesos estarían igual de contaminados o aún más, la carga mayor de estos microorganismos en queso supera a todos los conteos para leche. Sin embargo hay productores que lograron disminuir sus cargas mesofílicas, tal es el caso de los productores A, B, E y Ñ. Esto podría deberse, de acuerdo con Mohamed y Omer (2010) a un manejo adecuado al elaborar el queso, o a un exceso de sal en su producto.

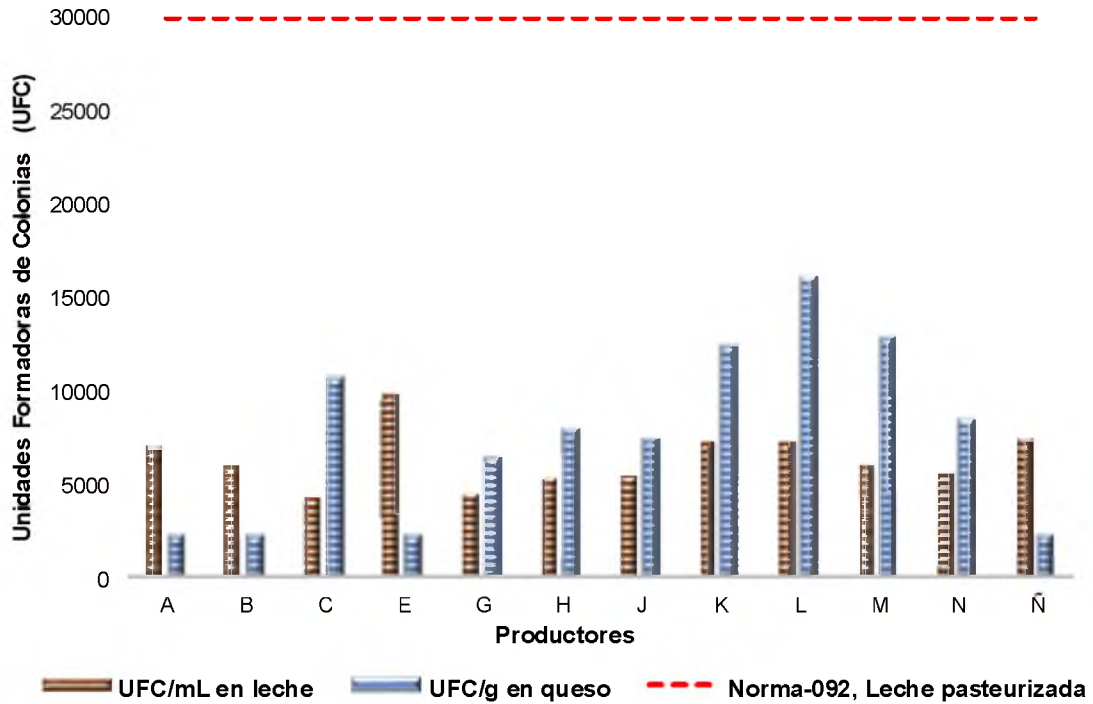


Figura 7. UFC de mesófilos aerobios en muestras analizadas de leche y queso.

6.2. Recuento de coliformes totales

6.2.1. Recuento de coliformes totales en leche

El cuadro 7 muestra las UFC/mL obtenidas para muestras de leche sembradas en Agar rojo violeta bilis lactosa, en el cual, se observa una cantidad elevada de crecimiento microbiano para cada productor. A pesar de que numéricamente el productor I presenta la carga más alta con $12,930 \pm 117$ UFC/mL, y el productor M la menor carga con $1,283 \pm 1,403$ UFC/mL, estadísticamente no se presentaron diferencias significativas entre productores para el caso de la leche. Esto infiere que el manejo sanitario inadecuado persiste en todos los ranchos productores y que tanto las instalaciones como las prácticas resultan semejantes en todas las unidades

de producción. Como mencionan Reyes y Soltero (2015), la elevada cantidad de este tipo de microorganismos está relacionada con el manejo sanitario inadecuado del proceso de extracción de leche, salud de los animales, las malas prácticas o falta de limpieza y desinfección del pezón antes del ordeño, limpieza y desinfección del equipo y superficies que contactan con la leche, así como de los utensilios de recolecta, higiene del personal y refrigeración inmediata de la leche a una temperatura menor a 6 °C.

Cuadro 7. Valores estimados de la media y desviación estándar de coliformes totales cuantificados en leche sembrada en agar rojo violeta bilis lactosa.

Productor	UFC/mL de leche
A	5695 ± 5523 ^a *
B	10593 ± 6233 ^a *
C	11210 ± 693 ^a *
E	12875 ± 3217 ^a *
F	1830 ± 1000 ^a *
G	1848 ± 1771 ^a *
H	5383 ± 5264 ^a *
I	12920±1403 ^a *
J	8693±2839 ^a *
K	11400±2475 ^a *
L	6775±2934 ^a *
M	1283±117 ^a *
N	1695±276 ^a *
Ñ	4168±4430 ^a *
EE	3539

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

De acuerdo con el crecimiento microbiano obtenido en esta determinación, el 71.5 % de las muestras analizadas supera las 4,000 UFC y el resto contiene una cantidad menor a 2,000 UFC (figura 8), sin embargo, el 100 % exceden el límite establecido por la norma mexicana NOM-243-SSA1-2010, quien establece que la leche destinada a consumo humano debe contener una cantidad ≤ 20 UFC/mL de coliformes totales. Esta condición coloca a todas las muestras de leche analizadas en este estudio como alimentos con riesgo para la salud del consumidor. Lo anterior se debe a que, dentro del grupo de coliformes totales se encuentra la *Escherichia coli* (Torres-Llanez, *et al.*, 2005), enterobacteria que juega un papel importante como agente patogénico de gastroenteritis, enfermedad caracterizada por diarrea sanguinolenta, dolor abdominal y fiebre y que de acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), es una de las principales causas de muerte en los niños en países en desarrollo (Massoc, 2008). De acuerdo con Tortora *et al.*, (2007), la presencia de coliformes en leche indica principalmente una mala higiene de la ubre al ordeñar, un área de ordeño con presencia de lodo o heces de las misma vacas u otros animales. En contraste con nuestros resultados, Bermúdez *et al.* (2006), y Arrieta (2011), han reportado valores de 1,000,000 UFC/mL de bacterias coliformes; valores muy superiores a los encontrados en los análisis realizados en el presente estudio. Delgado y Maurtua (2003), reportaron conteos de coliformes totales de 9,330 y Dávila *et al.* (2006), de 4,969 en la leche cruda, conteos similares a los encontrados en el estudio.

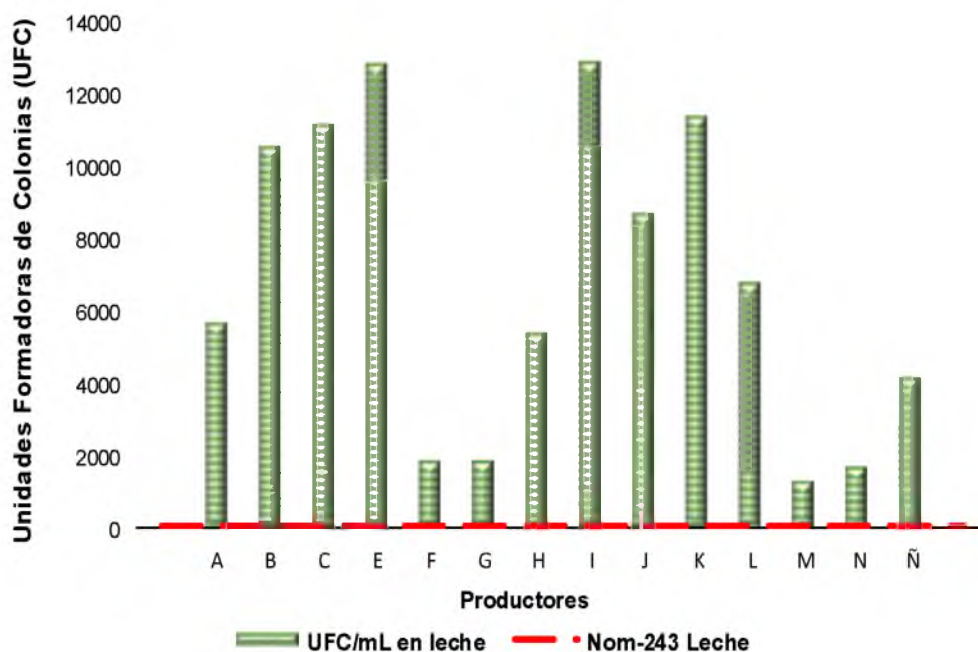


Figura 8. UFC de coliformes totales en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.

En la figura 9 se puede observar la morfología macroscópica de las colonias crecidas en agar de rojo violeta bilis lactosa a partir de muestras de leche sembradas mediante la técnica de vaciado en placa. Las colonias presentan una morfología característica a coliformes totales coincidiendo con lo descrito por Frazier (2000) y con lo descrito por la NOM-113-SSA1-1994, donde se describe a este grupo de bacterias como unidades circulares con borde liso, con un halo de coloración blanca en la periferia, y presentando un color rosa más intenso en el centro. Estas colonias contiene microorganismos patógenos como lo es la *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, entre otras, además de ser indicadores de contaminación fecal, ya sea de heces humanas o de animales es por esto que son los microorganismo más representativos de la higiene de un producto alimentario (López *et al.*, 2001).

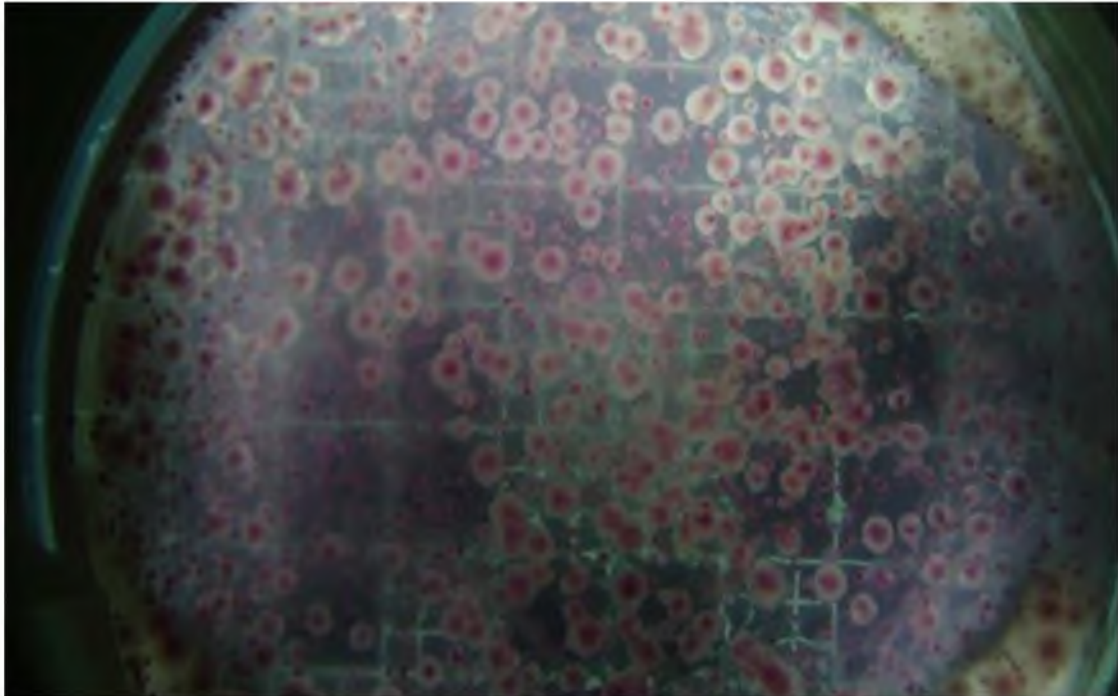


Figura 9. Morfología colonial de coliformes totales en leche crecimiento de colonias en agar rojo violeta bilis lactosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.

6.2.2. Recuento de coliformes totales en queso

De acuerdo con los resultados obtenidos para el crecimiento de coliformes totales en muestras de queso, en el cuadro 8 se puede observar que existe diferencia significativa ($P < 0.05$) entre productores para el crecimiento de este tipo de bacterias, siendo los productores M y Ñ el de mayor y menor contaminación con 27,500 UFC/g y 4,692 UFC/g, respectivamente.

Esta notable diferencia estadística puede ser causada por varias razones, entre las que destacan: la adición de Cloruro de sodio (sal de mesa), la cual varía entre productores, la higiene del personal, el saneamiento aplicado a los animales, las condiciones de sanidad de las instalaciones en las que elaboran los quesos y sobre todo el tiempo que pasan los quesos sin refrigeración al ser trasladados al lugar de venta. Esto último incide de manera importante en

el crecimiento de coliformes, pues al ser trasladados a temperatura ambiente y ser el queso uno de los sustratos más ricos para el crecimiento microbiano, las bacterias coliformes encuentran las condiciones óptimas para poder desarrollar su fase exponencial de manera significativa.

Cuadro 8. Valor estimado de la media y desviación estándar de coliformes totales cuantificados en queso sembrado en agar rojo violeta bilis lactosa.

Productor	UFC/g en queso
A	7745 ± 5169 ^{bc} *
B	9698 ± 845 ^{bc} *
C	10025 ± 2440 ^{bc} *
E	9115±686 ^{bc} *
G	11000± 990 ^{bc} *
H	7777± 110 ^{bc} *
J	11350± 1202 ^{bc} *
K	10753± 569 ^{bc} *
L	20500± 9899 ^{bc} *
M	27500± 1000 ^a *
N	11445± 4674 ^{ab} *
Ñ	4692± 5385 ^c *
EE	2780g

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

A pesar de que se encontró diferencia estadística entre muestras, el 100 % de ellas se encuentran con una carga microbiana elevada (Figura 10) y por encima del intervalo permitido por la norma (NOM-243-SSA1-2010), la cual establece como límite máximo una carga ≤ 100 UFC/g para quesos de suero. A pesar de estos resultados, es necesario comentar que las cargas encontradas en las muestras del presente estudio resultan con menor

contaminación al compararlas con las cargas reportadas por Moreno-González, *et al.* (2007) y Perdomo (2010) para este mismo tipo de quesos en lugares como Veracruz y Chiapas, las cuales presentaron cargas de 500,000 y 3,500,000 UFC/g de coliformes totales, respectivamente.

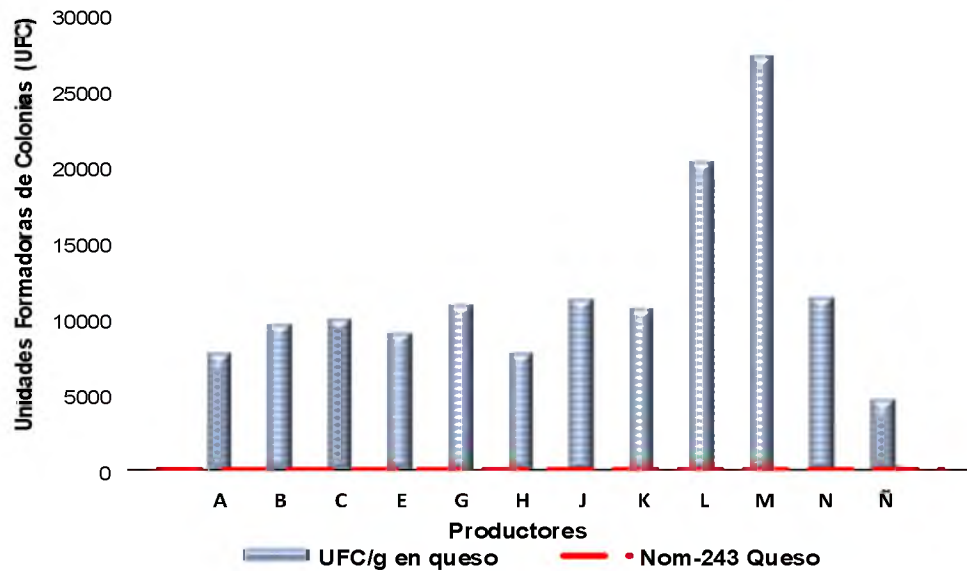


Figura 10. UFC de coliformes totales en muestras de queso analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.

La Figura 11 muestra la morfología de colonias obtenidas al sembrar muestras de queso en medio selectivo para coliformes totales, las características de las UFC coinciden con lo descrito por Frazier (2000), pues resultaron de colonias circulares con borde liso, halo de coloración blanca en la periferia, y presentando un color rosa más intenso en el centro.

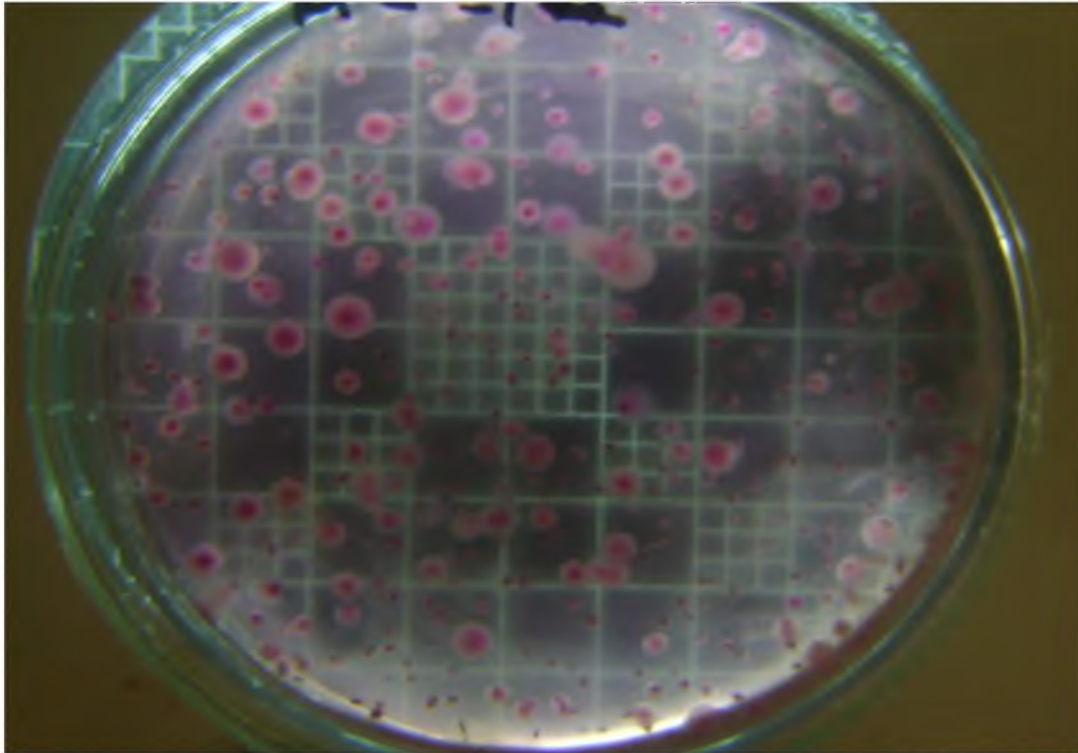


Figura 11. Morfología macroscópica de las UFC de coliformes totales, obtenidas en agar rojo violeta bilis lactosa inoculado con muestras de queso mediante la técnica de vaciado en placa.

6.2.3. Comparación entre las cargas de coliformes totales de leche y queso.

El cuadro 9 muestra la comparación entre la carga microbiana obtenida para coliformes totales en leche como materia prima y en queso fresco como producto derivado. Como se observa en los resultados, no existen diferencias estadísticas significativas en todos los casos, es decir, para algunos productores la carga presente en la leche resulta estadísticamente ($P < 0.05$) semejante que en el queso como sucede para los productores C, M, N y Ñ (correspondiente al 27% del total de productores), lo que indica la correcta aplicación de las buenas prácticas de procesamiento.

Por el contrario, el 73% restante de productores presentaron diferencia estadística significativa entre las cargas de coliformes totales para leche y

queso. De este porcentaje de productores se esperaba que las cargas de UFC de coliformes totales encontradas en queso fueran superiores a las encontradas en leche, sin embargo, en el presente estudio se observó lo contrario, pues un 33.3% de las muestras analizadas presentaron una disminución en las cargas en queso y un 66.6% presentaron contaminación mayor en queso que en leche.

Cuadro 9. Comparación del valores estimados de la media y desviación estándar de coliformes totales en leche y queso sembrados en agar rojo violeta bilis lactosa.

Productor	UFC/mL en leche	UFC/g en queso
A	5695 ± 5523 ^a	7745 ± 5169 ^a
B	10593 ± 6233 ^a	9698 ± 845 ^a
C	11210 ± 693 ^a	10025 ± 2440 ^a
E	12875 ± 3217 ^a	9115±686 ^a
F	1830 ± 1000 ^a	SD
G	1848 ± 1771 ^a	11000± 990 ^a
H	5383 ± 5264 ^a	7777± 110 ^a
I	12920±14043 ^a	SD
J	8693±2839 ^a	11350± 1202 ^a
K	11400±2475 ^a	10753± 569 ^a
L	6775±2934 ^a	20500± 9899 ^a
M	1283±117 ^a	27500± 1000 ^a
N	1695±276 ^a	11445± 4674 ^a
Ñ	4168±4430 ^a	4692± 5385 ^a
EE	3539	2780

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencia significativa entre productos P<0.05.

SD: Sin determinar

EE: error estándar.

Se esperaría que el comportamiento de los productores fuese muy similar al del productor Ñ donde el aumento de la carga microbiana para queso fue pequeño o casi igual al de la leche, o como los productores B, C, E y K que

lograron disminuir sus cargas en un 10%, esto refleja el cuidado en las prácticas de sanidad durante la elaboración del queso, así como la aplicación de una concentración adecuada de Cloruro de sodio y la rapidez de enfriamiento para el queso.

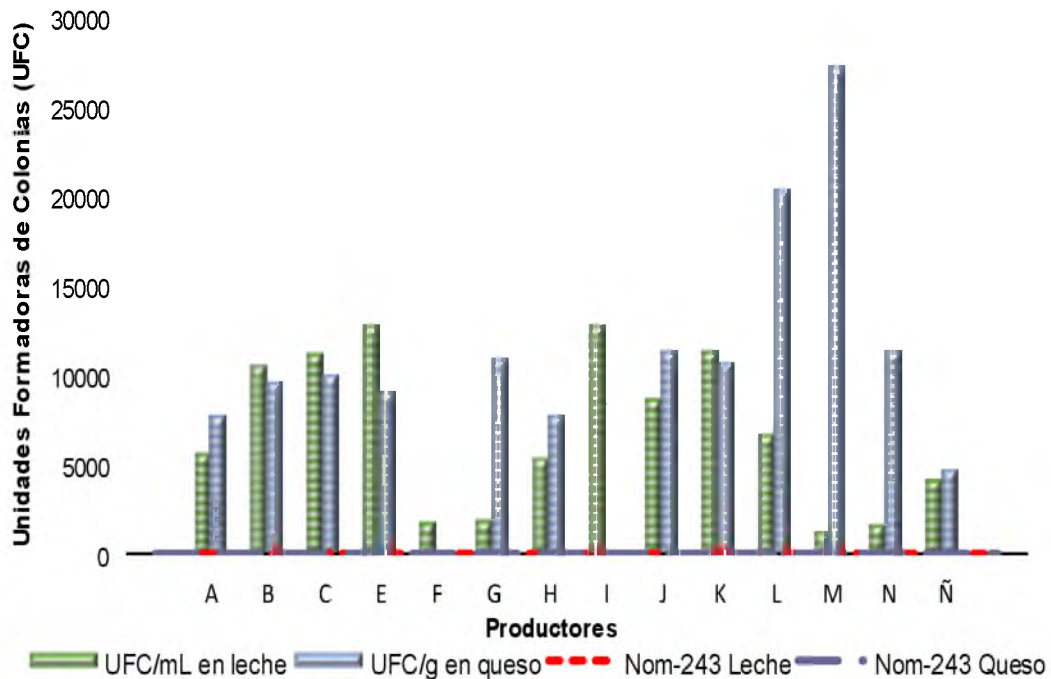


Figura 12. UFC de coliformes totales en muestras analizadas de leche y queso.

En lo que respecta a las colonias identificadas en las siembras de muestras de queso y leche, la morfología observada en ambos crecimientos resultó semejante en la forma, borde, elevación y cromogénesis, diagnosticándose con esto la presencia de coliformes totales en ambas muestras. Esto debido a que al haber presencia de coliformes totales en la leche y no aplicarse ningún método de pasteurización o desinfección, al no realizarse estas prácticas la leche no se reducirían las cargas, ni mucho menos se eliminarían, pero si puede ocurrir un crecimiento de este tipo de microorganismos, incrementando

la carga inicial de acuerdo con el tiempo y las condiciones en la que se encuentre la materia. Dávila *et al.* (2006), comprobaron que la cuajada es un punto crítico de contaminación, ya que las cargas microbianas aumentan cuando se deja la leche en reposo a temperatura ambiente y descubierta para que se precipiten las proteínas. Lo anterior, permite el crecimiento de los microorganismos existentes en el producto o la llegada de algunos otros, que han sido transportados por el aire o por insectos tales como moscas, grillos entre otros. No todos los productores dejan descubierto su producto, algunos los cubren con trapos para evitar la caída de basura, y el reposo de los insectos, esto evita la llegada de nuevos microorganismos pero el crecimiento de los que se encuentran en el medio siguen su proceso. Sin embargo, después del reposo se extrae la cuajada, donde se eliminan líquidos y se le agrega cloruro de sodio (sal de mesa); Anjan y Marth (1995), reportaron que adicionando cloruro de sodio (1.5% a 1.75% del peso total de la cuajada) se disminuía en su totalidad la carga de coliformes totales de la ordeña, siempre y cuando la misma se haya realizado con las condiciones sanitarias adecuadas, si después de este proceso el producto es contaminado. No obstante, como se observa en el presente estudio los productos pueden volver a contaminarse después de agregar sal.

6.3. Recuento de mohos y levaduras

6.3.1. Recuento de mohos-levaduras en leche

El Cuadro 10 presenta el promedio, la desviación estándar y el error estándar de las UFC/mL de mohos y levaduras presentes en muestras de leche (UFC/mL), en donde se observa que existe diferencia significativa entre

productores ($P < 0.05$). El productor E con 10,500 UFC/mL presentó la mayor contaminación y el productor F con 1,060 UFC/mL la menor contaminación. La presencia de hongos microscópicos en las muestras analizadas en el presente estudio resultan razonable, puesto que este tipo de microorganismos se caracterizan por trasladarse en el aire y a través del ambiente, además de atacar alimentos con alto contenido de humedad como es en este caso es la leche y el queso fresco (Alais, 2001; Dávila, 2006), aunque en alimentos líquidos con más del 80 % de humedad no se pueden desarrollar adecuadamente (Alais, 1985).

Cuadro 10. Valor estimado de la media y desviación estándar de mohos-levaduras, cuantificados en leche sembrada en agar papa y dextrosa

Productor	UFC/mL en leche
A	5250 ± 1430 ^{ab} *
B	5507 ± 2829 ^{ab} *
C	4348 ± 983 ^{ab} *
D	6865 ± 1000 ^{ab} *
E	10500 ± 520 ^a *
F	1060 ± 177 ^b *
G	6007 ± 2183 ^{ab} *
H	9487 ± 6419 ^a *
I	5113 ± 1288 ^{ab} *
J	8123 ± 778 ^{ab} *
K	7420 ± 1732 ^{ab} *
L	7525 ± 3627 ^{ab} *
M	4760 ± 1294 ^{ab} *
N	6382 ± 1828 ^{ab} *
Ñ	4012 ± 3092 ^{ab} *
EE	1416

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores $P < 0.05$.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

La presencia de mohos y levaduras en una materia es un indicativo de la corta vida útil que puede tener el alimento, si es el caso de una contaminación elevada, como resultó en este caso, además de que su presencia es causante de enfermedades, aunque poco graves comparadas con géneros encontrados en el grupo de los coliformes.

A pesar de que en el presente estudio no se realizó un análisis microbiológico cualitativo, se puede mencionar que uno de los hongos que es común encontrar en los productos lácteos es el género *Geotrichum*, el cual crece en forma seca o viscosa sobre la superficie de la leche agria, queso o crema, sin embargo es sensible a la sal la cual retarda su desarrollo. En algunos estudios se ha detectado la presencia de *Geotrichum candidum*, hongo que invade las cuajadas frescas y el cual crece adecuadamente a una temperatura cercana a los 27° C. El género *Penicillium*, es uno de los hongos más comunes en la mayoría de los alimentos, tiene un color verdoso cuando crece sobre las superficies de los quesos, en los cuales interviene en el proceso de maduración (del Castillo, 2007; Mezzeo *et al.*, 2009).

Otro tipo de hongos que podemos encontrar en la leche son las levaduras, principalmente la *Torula lactosa* y *Torula cremoris*, estas producen gas y poco alcohol y son la causa de que la leche presente espuma. *Sacharomyces fragilis* fermenta la lactosa con producción de alcohol al igual que la *Turolopsis sphaerica*. Los microorganismos mencionados anteriormente están relacionados con una disminución en la vida de anaquel de la leche y queso (Stanier y Duodoroff 1976; Demeter y Elbertzhagen, 1971; Gaviria, 1980; Herrera, 2015). Aunque se han presentado contaminación de mohos y

levaduras patógenas estas no son tan comunes, Godič y Venguštb, (2008), describieron a la micotoxicosis como una de las enfermedades causadas por intoxicaciones alimentarias crónicas, provocada por mohos productores de toxinas activas por vía oral. Muchos mohos producen sustancias protéicas conocidas como micotoxinas que afectan diferentes órganos (hígado, riñón, cerebro). Las micotoxinas pueden ingerirse por contaminación con mohos de alimentos de baja actividad de agua poner el valor $a_w = (0.95-0.60)$ (Willey, *et al.*, 2008) (queso, mermelada, alimentos curados, cereales) o por piensos, en el caso de animales con intoxicaciones crónicas pueden transmitir las toxinas a través de sus productos (huevos, leche).

Los conteos de mohos-levaduras entre productores se encontraron entre 5,000 a 7,000 UFC/mL, cifra que desafortunadamente no puede ser comparada con un parámetro estándar para leche cruda pues no se encuentra descrita en las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-243-SSA1-2014).

La Figura 13 muestra diferentes morfologías macroscópicas identificadas en cajas petri sembradas con muestras de leche en agar papa y dextrosa. Las características morfológicas demuestran la presencia tanto de mohos como de levaduras.

La presencia de mohos se asegura de acuerdo con la descripción que realiza Tortora (2007), el cual comenta que los mohos presentan elevación plana con borde filmentoso u ondulado, forma puntiforme o filamentosa, además de cromogénesis, blanca o verde como se presenta en este caso. Con esto y con

base en lo comentado por Gonzáles (2002) el tipo de moho encontrado en las muestras de leche al parecer resulta ser del género *penicillium* (verdes) y otros del género zigomiceto (blancos) según Reyes *et al.* (2011) de igual manera se podría tratar de *Saccharomyces lactis* de acuerdo con Bourgeois y Larpent (1989) estos microorganismos son inocuos.

La presencia de levadura se confirma ya que algunas colonias presentaron elevación plana, borde entero, forma circular, superficie lisa-brillante y cromogénesis crema, características propias de levaduras (Ruera, 2006). Basándonos en la morfología macroscópica que se presentó en las UFC identificadas en cada muestra de leche analizada y con base en lo descrito por Barrientos (2011) al parecer existe presencia de la levadura *Candida* en 90 % de las muestras, esta levadura, también se presentaron mohos verdes en algunos cultivos tratándose de *Penicillium digitatum*, de acuerdo con Gonzáles (2002).



Figura 13. Morfología macroscópica de las UFC de mohos y levaduras en leche, crecimiento de colonias en agar papa y dextrosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.

6.3.2. Recuento de mohos-levaduras en queso

Para el caso de las UFC/g identificadas en muestras de queso, no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre productores, indicando que la manipulación es parecida y que el producto es realizado de manera similar (Cuadro 11), siendo para este caso el productor K con 9,308 UFC/g el que presentó mayor contaminación y el productor G con 4,692 UFC, el de menor carga microbiana.

Cuadro 11. Valor estimado de la media y desviación estándar de mohos-levaduras, cuantificados en queso sembrado en agar papa dextrosa

Productor	UFC/g en queso
A	5073 ± 59 ^a *
B	5018 ± 1949 ^a *
C	4947 ± 1160 ^a *
D	SD
E	4825 ± 3688 ^a *
F	SD
G	4692 ± 760 ^a *
H	7622 ± 2512 ^a *
I	SD
J	6712 ± 398 ^a *
K	9308 ± 3076 ^a *
L	5115 ± 1266 ^a *
M	6233 ± 569 ^a *
N	8012 ± 2507 ^a *
Ñ	8882 ± 1136 ^a *
EE	1115

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.

Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta determinación para queso, en la Figura 14 se puede observar que las cargas de mohos y levaduras en el 100 % de las muestras exceden el límite permisible por la NOM-243-SSA1-2010, quien establece como límite máximo 500 UFC/g de mohos y levaduras para quesos frescos.

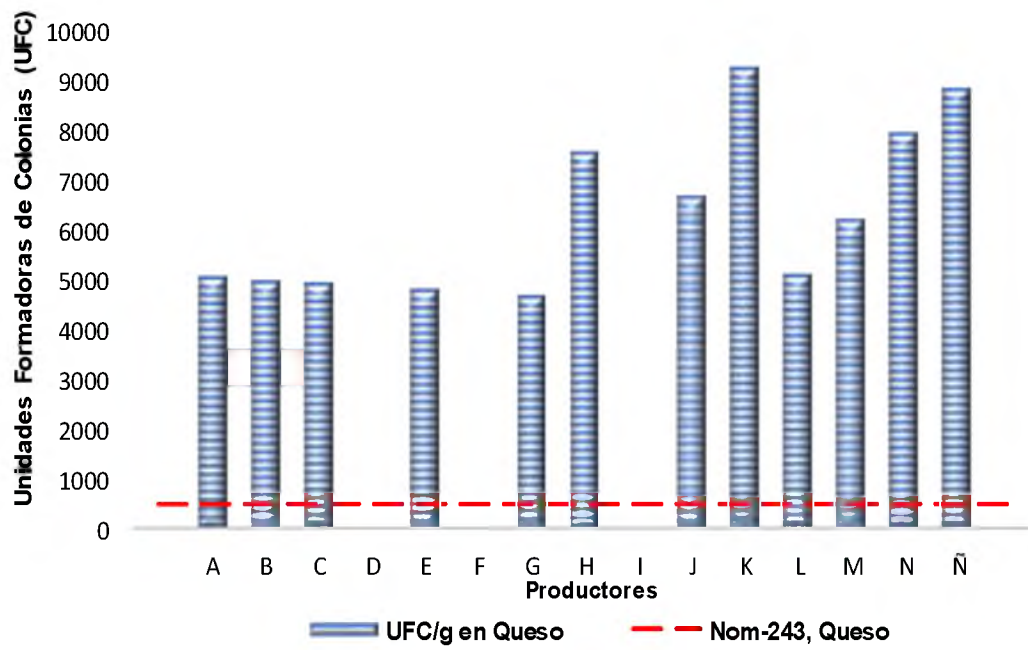


Figura 14. UFC de mohos-levaduras en queso, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas.

La morfología que presentan las colonias identificadas en las muestras de queso resultó similar a las encontradas en los cultivos de leche, las cuales se presentaron con formas puntiformes con borde liso e irregular, también se encontraron formas circulares con borde irregular y filamentosas. Todas estas colonias presentaron una elevación junto con diversas pigmentaciones entre ellas blancas y cremas, solo un 30% presentó mohos con pigmentación verde, además se observó una alta carga microbiana (Ver Figura 15). La descripción morfológica fue basada en la descripción de Pascual, (2000), las cuales coinciden con la forma de la levadura *Candida* descritas por Barrios (2006), los mohos blancos que crecieron coinciden con Zigomiceto *Mucor miehei* de acuerdo con Reyes *et al.* (2011).

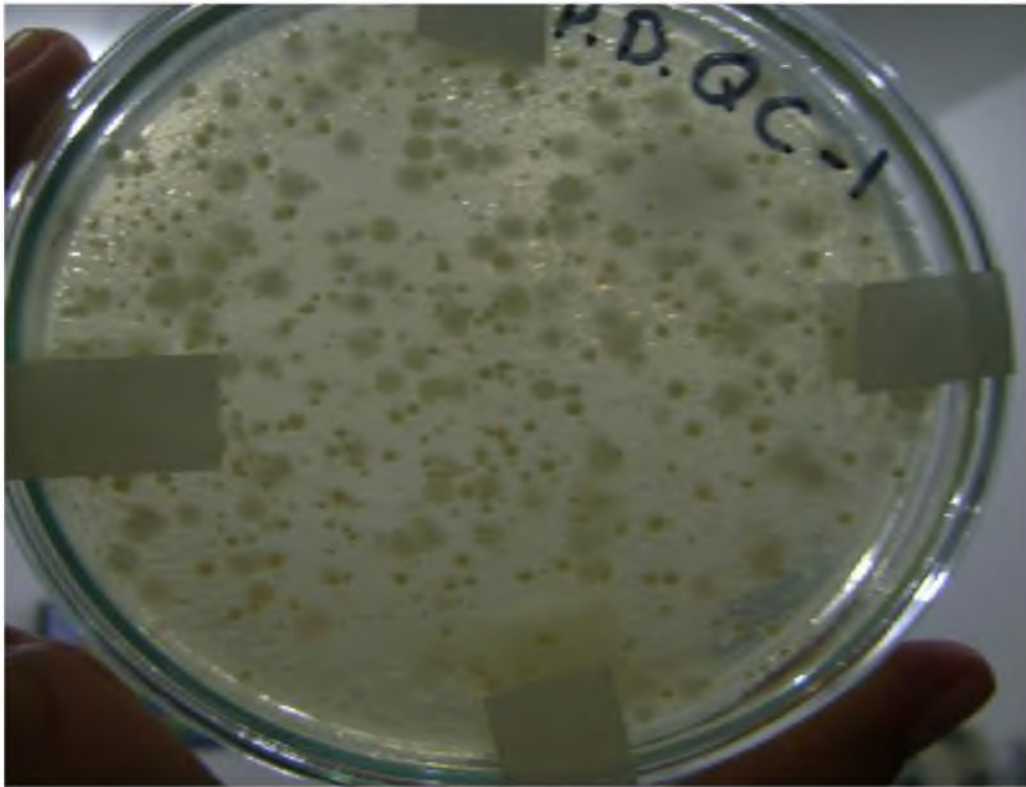


Figura 15. Morfología colonial de mohos y levaduras en queso, colonias en agar papa dextrosa, con la técnica de cultivo vaciado en placa.

La levadura *Candida* es la especie patógena fúngica más común. Forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal y urogenital de individuos sanos sin producir enfermedad. Sin embargo, alteraciones en el sistema inmunitario pueden llevar a una infección sistémica (Kurtzman, 2011; Browder, 2012)

6.3.3. Comparación de mohos-levaduras en leche y queso

Para el caso específico de mohos y levaduras, en el presente estudio se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre productos siendo el queso el menos contaminado. Lo anterior puede atribuirse a una posible reacción entre sustancias químicas utilizadas en el proceso de elaboración, pues se sabe que sustancias tales como el cloruro de sodio, disminuyen el crecimiento microbiano, además de la actividad acuosa en los quesos,

limitando el agua libre, por tanto, evitando que los microorganismos obtengan los nutrientes necesarios para llevar a cabo su crecimiento. Gandhi, y Shah, (2015), estudiaron el crecimiento microbiano con respecto a la cantidad de sal que se le añadió a los quesos, concluyendo que los quesos con una carga menor de sal o sin sal tenían un crecimiento mayor de microorganismos en comparación con los quesos con cargas normales.

Cuadro 12. Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de mohos y levaduras, cuantificados para leche y queso.

Productor	UFC en leche	UFC en queso
A	5250 ± 1430 ^a	5073 ± 59 ^b
B	5507 ± 2829 ^a	5018 ± 1949 ^b
C	4348 ± 983 ^a	4947 ± 1160 ^b
D	6865 ± 1000 ^a	SD
E	10500 ± 520 ^a	4825 ± 3688 ^b
F	1060 ± 177 ^a	SD
G	6007 ± 2183 ^a	4692 ± 760 ^b
H	9487 ± 6419 ^a	7622 ± 2512 ^b
I	5113 ± 1288 ^a	SD
J	8123 ± 778 ^a	6712 ± 398 ^b
K	7420 ± 1732 ^a	9308 ± 3076 ^b
L	7525 ± 3627 ^a	5115 ± 1266 ^b
M	4760 ± 1294 ^a	6233 ± 569 ^b
N	6382 ± 1828 ^a	8012 ± 2507 ^b
Ñ	4012 ± 3092 ^a	8882 ± 1136 ^b
EE	1416	1115

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.
 Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.
 SD: Sin determinar.
 EE: Error estándar.

Los valores obtenidos de la cuantificación de mohos y levaduras de todos los productores, exceden el límite máximo para quesos frescos, tanto en leche

como en queso según lo establecido en la NOM-243-SSA1-201 (véase Figura 16), esta referencia nos coloca en que en la recolección de leche no se está llevando una sanidad adecuada, pero que la elaboración de los quesos es más higiénica por lo menos para estos microorganismos. De acuerdo con los resultados, cinco de los doce productores están realizando alguna práctica que está bajando la carga microbiana de mohos y levaduras, en algunos casos a la mitad de la carga inicial del producto como en el caso del productor E, al parecer efecto que se ha conseguido de acuerdo con Gandhi, y Shah, (2015) por la adición de cloruro de sodio e hidróxido de calcio, los cuales retiene agua evitando que los nutrientes se trasladen con facilidad y disminuyendo la capacidad de que los microorganismos logren tomar estos nutrientes.

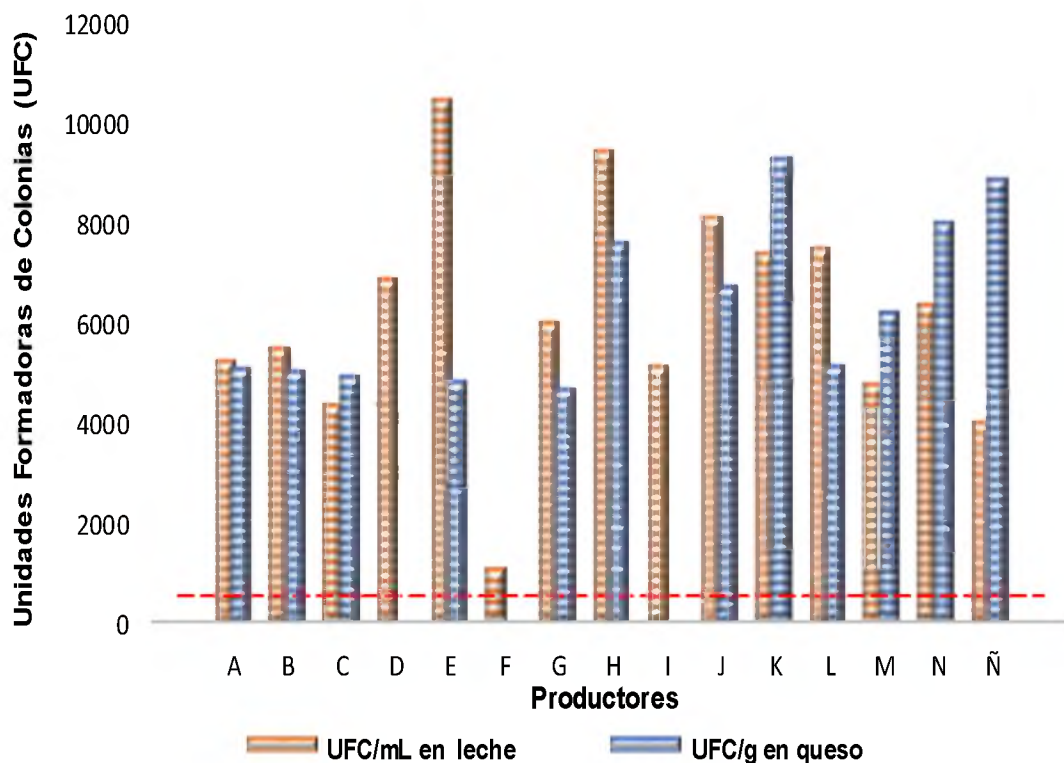


Figura 16. UFC de mohos y levaduras en leche y queso.

6.4. Recuento de *Staphylococcus aureus*

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos es de gran importancia debido a que este microorganismo produce una poderosa enterotoxina que al ingerirse causa graves intoxicaciones alimentarias (NOM-115-SSA1-1994).

Los análisis realizados en el presente estudio demuestran la presencia de *Staphylococcus aureus*, en las muestras analizadas, en todas las muestras no coinciden con la descrita por las normas mexicanas para *Staphylococcus aureus*. Sin embargo se deben realizar las pruebas bioquímicas confirmativas correspondientes, (prueba de la coagulasa y termonucleasa), de acuerdo con lo establecido en el Proy-Nom-210-SSA1-2013. Esto es de vital importancia debido a que la presencia de este tipo de microorganismos convierte el alimento en un riesgo de salud para el consumidor.

6.4.1. Recuento de *Staphylococcus aureus* en leche

En el Cuadro 13 se presenta el promedio y el error estándar de *Staphylococcus aureus* en leche. De acuerdo con los resultados obtenidos en UFC/mL, no se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las muestras de leche analizadas, sin embargo los valores numéricos mostraron diferencias en cargas desde las 1218 UFC/mL (productor F) hasta las 7333 UFC/mL (productor N).

La presencia de *Staphylococcus* en leche denota baja calidad sanitaria en la materia, así como nulos trabajos de sanidad en la manipulación de esta (González, *et al.* 2006). Situación que genera alerta al ser los *Staphylococcus*

un género patógeno de bacterias que ha ocasionado graves enfermedades tanto en animales como en humanos, infecciones estomacales, diarreas severas o agudas, fiebre, vómitos severos o agudos.

Cuadro 13. Valor estimado de la media y desviación de *Staphylococcus aureus*, cuantificados en leche sembrada en agar baird parker

Productor	UFC/mL en leche
A	2728 ± 2606 ^{a, VE *}
B	1698 ± 60 ^{a, VE *}
C	4375 ± 4179 ^{a, VE *}
E	6960 ± 2645 ^{a, VE *}
F	1218 ± 1000 ^{a, VE *}
G	3305 ± 191 ^{a, VE *}
H	5308 ± 216 ^{a, VE *}
I	10140 ± 6166 ^{a, VE *}
J	5685 ± 1478 ^{a, VE *}
K	2895 ± 332 ^{a, VE *}
L	5913 ± 1559 ^{a, VE *}
M	5923 ± 753 ^{a, VE *}
N	7333 ± 329 ^{a, VE *}
Ñ	1428 ± 1849 ^{a, VE *}
EE	1671

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

La NOM-243-SSA1-2010 indica que el valor máximo permitido de *Staphylococcus aureus* en leche es de 10 UFC/mL, cifra que se rebasa de manera significativa en cada muestra analizada en este estudio como se muestra en la Figura 17.

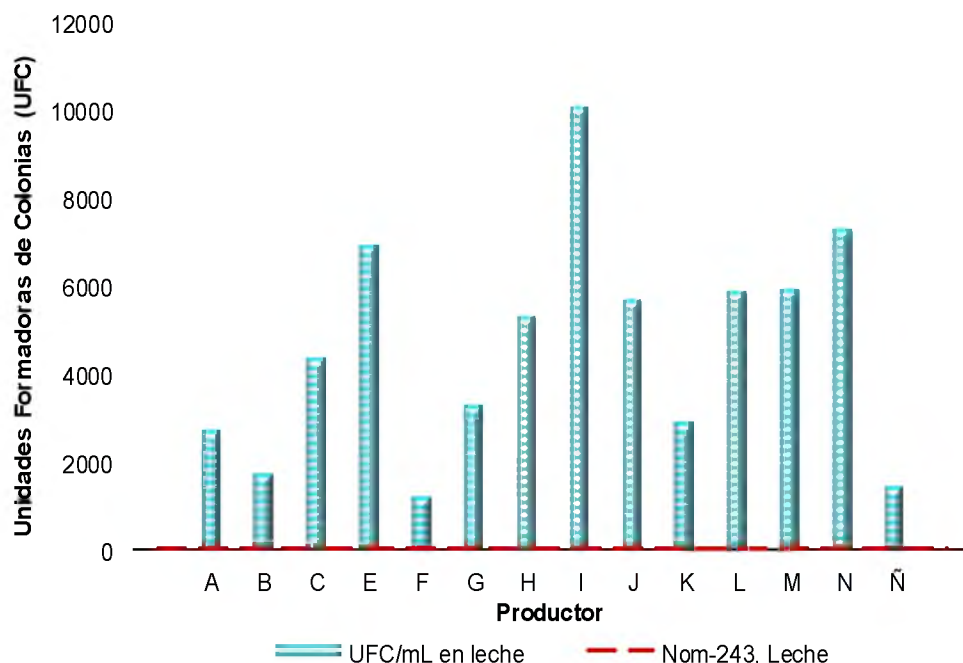


Figura 17. UFC de *Staphylococcus aureus* en muestras de leche analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas

6.4.2. Recuento de *Staphylococcus aureus* en queso

En el caso del queso, la NOM-243-SSA1-2010 indica que este debe tener como máximo 1000 UFC/g. Los quesos analizados en el presente trabajo presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre productores; el productor E el más contaminado con un crecimiento de 10,590 UFC/g y el productor M el menos contaminado con un crecimiento de 180 UFC/g, siendo este último el único productor que se encontró dentro del parámetro establecido por la norma. Moreno *et al.* (2007) reporta que existe mayor contaminación en los sistemas productivos cuando no se secan las ubres de las vacas (87,600 UFC/mL) que cuando se secan las ubres (21,481 UFC/mL). Por tanto, se sugiere el secado de ubres como una práctica efectiva para

controlar las cargas de *Staphylococcus aureus* y de esta manera reducir las infecciones intramamarias causadas por este agente.

Cuadro 14. Valor estimado de la media y desviación de *Staphylococcus aureus*, cuatificados en queso sembrado en agar baird parker

Productor	UFC/g en queso
A	2913 ± 534 ^{ab} *
B	10590 ± 2913 ^a *
C	9012 ± 5144 ^{ab} *
E	10355 ± 2539 ^{ab} *
F	SD
G	6670 ± 643 ^a *
H	5275 ± 269 ^{ab} *
I	SD
J	6538 ± 3058 ^{ab} *
K	5950 ± 5480 ^{ab} *
L	8153 ± 9355 ^{ab} *
M	180 ± 7 ^b
N	6710 ± 863 ^{ab} *
Ñ	1123 ± 1973 ^{ab} *
EE	1747

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores $P < 0.05$.

SD: Sin determinar.

EE: Error estándar.

*Exceden el límite de UFC establecido por la NOM-243-SSA1-1994.

La grafica de la Figura 18 presenta los límites permitidos por la norma y los valores estimados en el queso para *Staphylococcus*; todos los productores rebasan el límite establecido para queso, con excepción del productor M que se encontró dentro del intervalo establecido, el resto de productores supera por mucho la carga permitida por la norma.

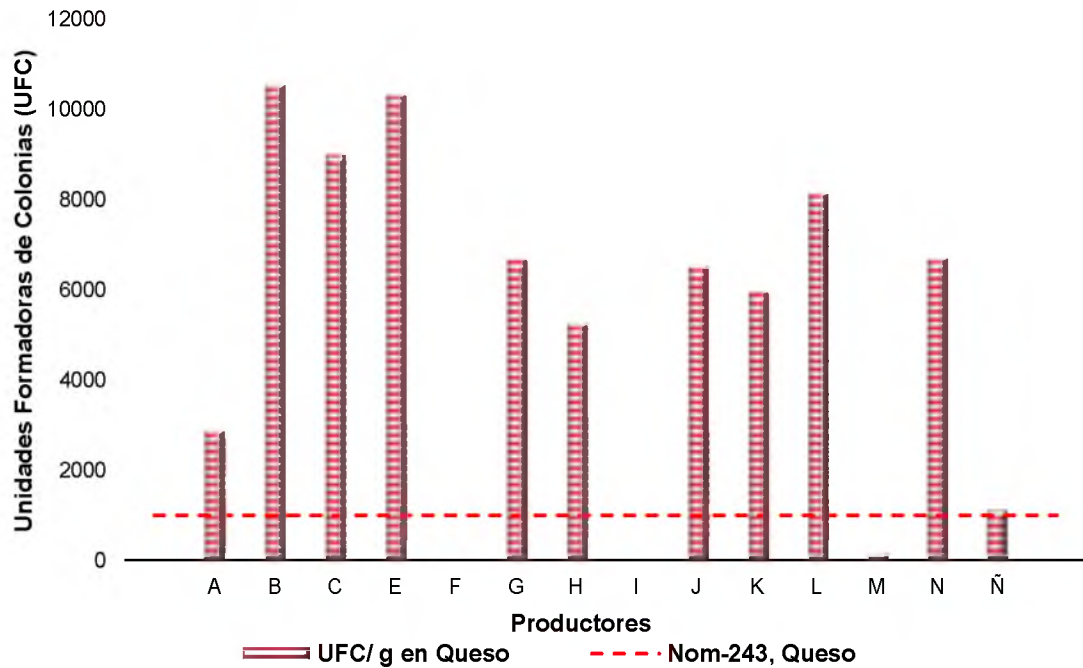


Figura 18. UFC de *Staphylococcus aureus* en muestras queso analizadas, comparadas con lo establecido en las normas mexicanas

Según los conteos registrados en el Cuadro 15 se observa que solo el productor M no rebasa el límite establecido por la norma mexicana para queso fresco (NOM-243-SSA1-2000), los demás productores se encuentran fuera del intervalo establecido para ambos productos. Siete de los doce productores analizados tienen cargas microbianas mayores en queso, en comparación con la leche. A pesar de las diferencias numéricas no existen diferencias significativas entre productos. Es importante señalar que en las normas mexicanas únicamente se permite 10 UFC/mL para el producto leche cruda y 1000 UFC/g para el queso fresco.

Cuadro 15. Comparación del valor estimado de la media y desviación estándar de *Staphylococcus aureus* en leche y queso

Productor	UFC/mL en leche	UFC/g en queso
A	2728 ± 2606 ^a	2913 ± 534 ^a
B	1698 ± 60 ^a	10590 ± 2913 ^a
C	4375 ± 4179 ^a	9012 ± 5144 ^a
E	6960 ± 2645 ^a	10355 ± 2539 ^a
F	1218 ± 1000 ^a	SD
G	3305 ± 191 ^a	6670 ± 643
H	5308 ± 216 ^a	5275 ± 269 ^a
I	10140 ± 6166 ^a	SD
J	5685 ± 1478 ^a	6538 ± 3058 ^a
K	2895 ± 332 ^a	5950 ± 5480 ^a
L	5913 ± 1559 ^a	8153 ± 9355 ^a
M	5923 ± 753 ^a	180 ± 7 ^a
N	7333 ± 329 ^a	6710 ± 863 ^a
Ñ	1428 ± 1849 ^a	1123 ± 1973 ^a
EE	1671	1747

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar.
 Valores con literales distintas en las filas, indican diferencias significativas entre productores P<0.05.
 V.E. Valor estimado
 SD: Sin determinar.
 EE: Error estándar.

Al igual que en los conteos anteriores realizados, las diferencias numéricas entre productores contrastan notablemente, no obstante, no se encontraron diferencias significativas entre productos. A simple vista se observa en la Figura 19 que el queso presenta mayor contaminación que la leche en la mayoría de los productores, y que tanto en la leche como en el queso la carga es elevada, sin embargo, como ya se mencionó anteriormente solo se encontraron diferencias significativas entre productores para el caso del queso.

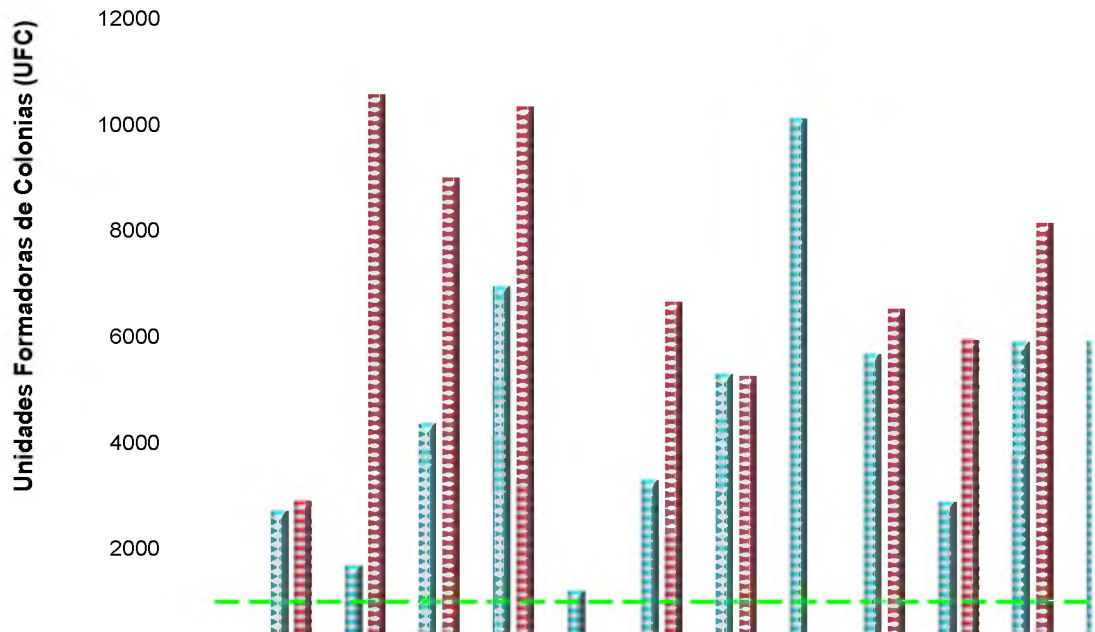


Figura 19. UFC de *Staphylococcus aureus* en leche y queso.

En concordancia con la descripción de Pascual (2000), la morfología que presentaron las UFC identificadas en las cajas petri inoculadas con muestras de leche y queso, resultaron ser circulares con borde liso y cromogénesis amarilla, siendo en algunos casos la cromogénesis blanca o cremosa. Sin embargo las morfologías identificadas en el presente estudio no coinciden con la descripción emitida en la NOM-243-SSA1-2000 para *Staphylococcus aureus*, las cuales resultaron ser colonias circulares con bordes lisos pero con una coloración negra tornasol.

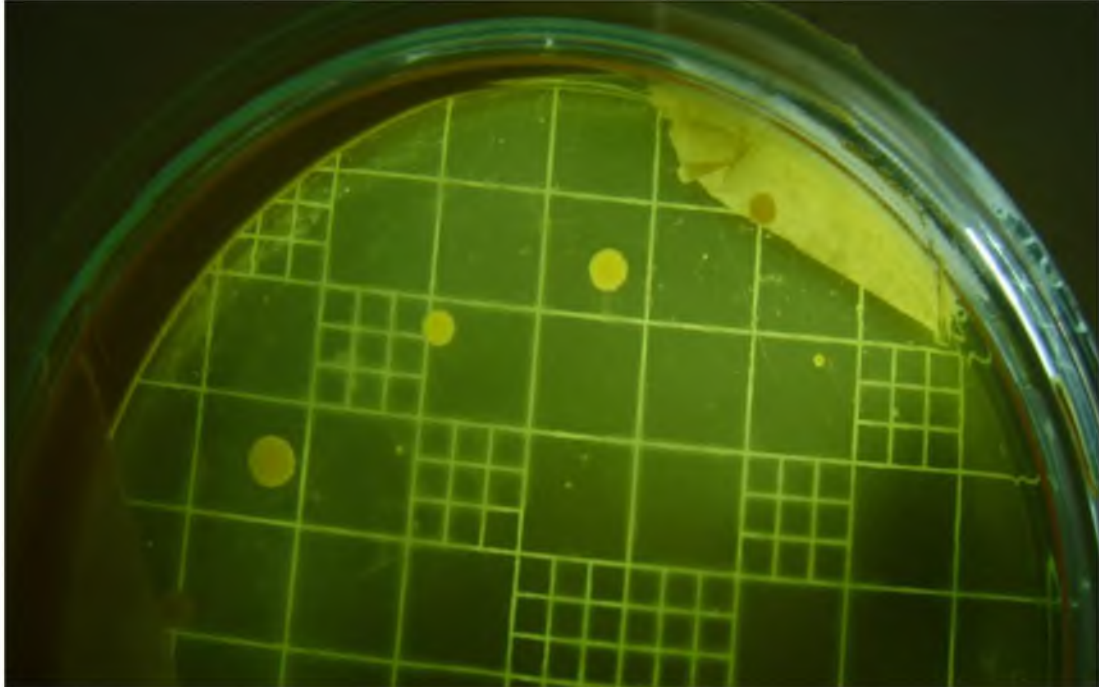


Figura 20. Morfología colonial de *Staphylococcus*, en agar baird parker, siembra por extensión.

6.5. Identificación de los puntos de venta con mayor contaminación

Los puntos de venta de las muestras analizadas en el presente estudio, se encuentran distribuidos en la zona centro de la ciudad de Loma Bonita (Figura 21) y la mayoría tiene sus unidades de producción en los alrededores del municipio. El transporte que utilizan para trasladarse del punto de producción al punto de venta varía entre productor, algunos utilizan triciclos (D y F), o bien carretones jalados con animales (Equinos) (L y H), otros que disponen de mayor recurso para la actividad utilizan motos o camionetas (A, B, C, E, G, J, K, M, N y Ñ).

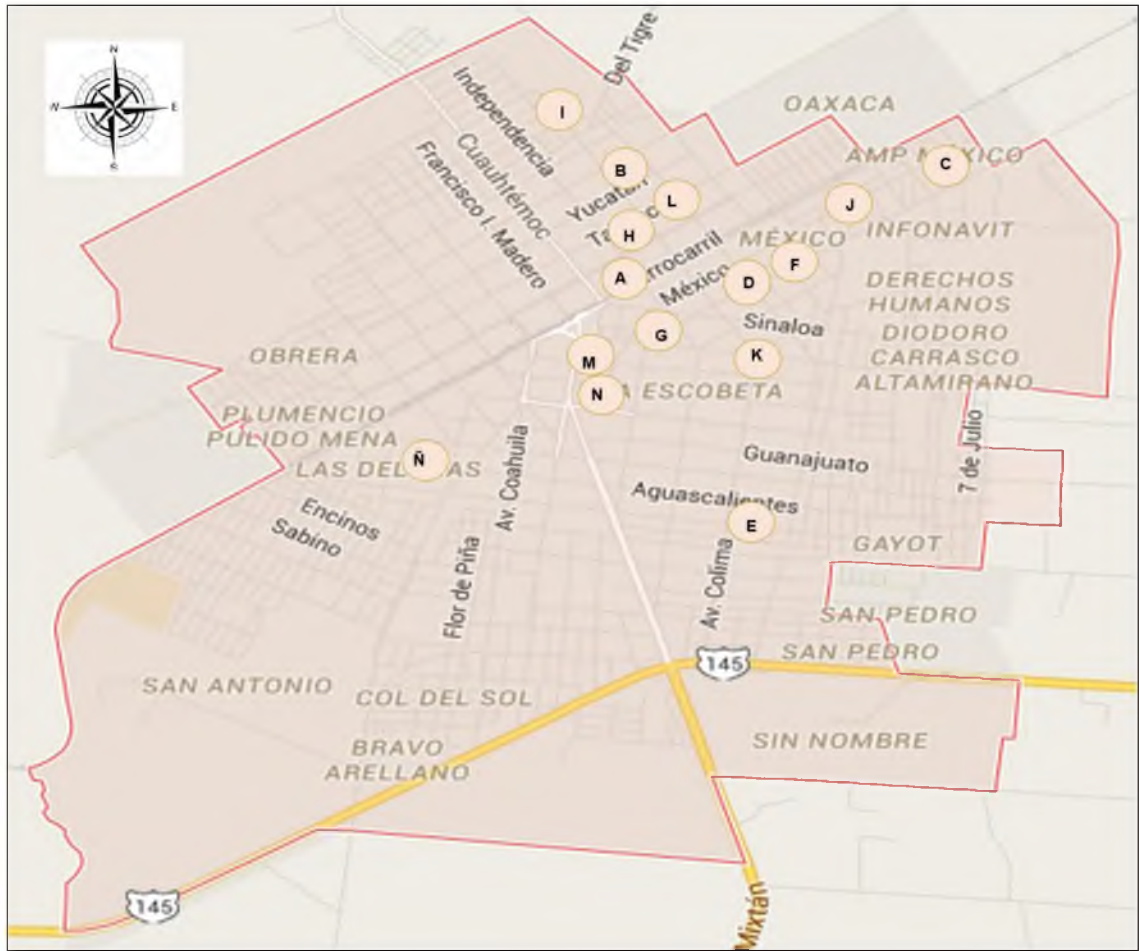


Figura 21. Localización de los puntos de venta

Como se observa en la Figura 22, el valor numérico asignado a cada punto de venta denota el grado de contaminación determinado en este estudio para las muestras de ese punto, asignando así el número 15 a la muestra con mayor contaminación y el número 1 al de menor contaminación en leche y queso para las determinaciones de mesófilos aerobios (Figura 22-A), coliformes totales (Figura 22-B), mohos y levaduras (Figura 22-C) y *Staphylococcus aureus* (Figura 22-D).



Figura 22-A. Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Mesófilos aerobios.

Círculo azul con un número adentro: indica leche.

Triángulo amarillo con un número adentro: indica queso.

El número en el interior del círculo y triángulo representan el grado de contaminación de forma ascendente, siendo el 1 el de menor carga y el 15 el de mayor.

*No exceden el límite establecido por la Norma NOM-243-SSA1-2010.



Figura 22-B. Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Coliformes totales.

Círculo azul con un número adentro: indica leche.

Triángulo amarillo con un número adentro: indica queso.

El número en el interior del círculo y triángulo representan el grado de contaminación de forma ascendente, siendo el 1 el de menor carga y el 15 el de mayor.

*No exceden el límite establecido por la Norma NOM-243-SSA1-2010.



Figura 22-C. Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para Mohos y levaduras.

Círculo azul con un número adentro: indica leche.

Triángulo amarillo con un número adentro: indica queso.

El número en el interior del círculo y triángulo representan el grado de contaminación de forma ascendente, siendo el 1 el de menor carga y el 15 el de mayor.

*No exceden el límite establecido por la Norma NOM-243-SSA1-2010.



Figura 22-D. Representación de la intensidad de contaminación de muestras de leche y queso para *Staphylococcus aureus*.

Círculo azul con un número adentro: indica leche.

Triángulo amarillo con un número adentro: indica queso.

El número en el interior del círculo y triángulo representan el grado de contaminación de forma ascendente, siendo el 1 el de menor carga y el 15 el de mayor.

*No exceden el límite establecido por la Norma NOM-243-SSA1-2010.

7. CONCLUSIONES

a) La leche resultó contaminada en las cuatro determinaciones realizadas en el presente estudio, resultando positivo en mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus*. Las cargas promedio obtenidas en cuanto al crecimiento microbiano en leche, (con excepción de las cargas obtenidas para mesófilos aerobios) excedieron el límite permisible por la NOM-243-SSA1-1994, siendo el grupo de coliformes totales el que presentó mayor crecimiento en las muestras de leche, seguido de *Staphylococcus aureus*, mesófilos aerobios y mohos-levaduras (en orden descendiente). En lo que respecta a los productores, fueron los designados con las letras F, G y Ñ los que sus muestras presentaron menor crecimiento y el E, I y K los de mayor crecimiento, en la mayoría de las determinaciones para leche.

b) Al igual que para la leche, las muestras de queso también resultaron positivas en cuanto a la presencia de mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus*, sin embargo y coincidiendo también con leche, las cargas promedio obtenidas en las muestras de queso (con excepción de las cargas obtenidas para mesófilos aerobios), excedieron el límite permisible por la NOM-243-SSA1-1994, resultando ser también los coliformes totales los de mayor crecimiento en las muestras de queso sembradas, seguido de los mesófilos aerobios, *Staphylococcus aureus* y mohos-levaduras (en orden descendiente). En lo que respecta a los productores, el designado con la letra Ñ fue el que sus muestras presentaron menor crecimiento en la mayoría de las determinaciones para queso y los

productores K, L, G, J y N, los de mayor carga en sus muestras. El productor M fue el único que no excedió el límite permisible por la NOM-243-SSA1-1994 en cuanto al crecimiento de *Staphylococcus aureus* en sus muestras de queso.

De acuerdo con la variabilidad en los resultados y tomando en cuenta que el 100% de los productores realizan ordeña matutina con horario de 6:00-9:00 a.m. y que el 93.3% de ellos trabajan con la misma raza productora de leche (Cebú/Suizo), se puede concluir que el sistema de producción no es el que está incidiendo de manera directa sobre la calidad microbiológica de la leche y que el sistema familiar o de traspatio no es sinónimo de contaminación microbiana o mala calidad, sino que, no se están aplicando las buenas prácticas de calidad en el proceso de ordeña, procesamiento y comercialización de la leche y queso que se distribuyen en la zona centro del Loma Bonita, Oaxaca, ocasionando con esto un riesgo sanitario para los consumidores de estos productos.

8. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda, identificar la morfología microscópica de las colonias obtenidas en el estudio y realizar pruebas bioquímicas que denoten las especies de microorganismos presentes y en consecuencia conocer la patogenicidad de la carga microbiana de la leche y el queso.

2. Para disminuir la carga microbiana tanto en leche como en queso, se recomienda instruir y proporcionar información a los productores en determinados temas que a continuación se mencionan:

a) Pasteurización, su importancia, ventajas de aplicación y metodología práctica. Manual de procesamiento lácteo (Zamorán, 2013)

b) Buenas prácticas de ordeño. Mejora continua de la calidad higiénica-sanitaria de la leche de vaca (SAGARPA, 2011).

c) Necesidades y requerimientos del lugar de procesamiento. Buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos lácteos (FAO, 2011).

d) Buenas prácticas de desinfección, aplicado a equipo y utensilios de procesamiento. NOM-120-SSA1-1994.

e) Buenas prácticas de procesamiento. Manual de procesamiento lácteo (INPYME, 2011).

f) Métodos de conservación para leche y productos lácteos. Ciencia de la leche (Alais, 1985).

9. LITERATURA CITADA

- Abreu S. Moreira P. Moreira C. Mota J. Moreira-Silva I. Santos P. Santos R. .
2014. Intake of milk, but not total dairy, yogurt, or cheese, is negatively associated with the clustering of cardiometabolic risk factors in adolescents. *Nutr Res.* 34: 48-57.
- Alais Ch. 2001. *Ciencia de la leche*. México: Compañía Editorial Continental. 230-231 p.
- Alais, C. 1985. *Ciencia de la leche*. 5ª Edición. Editorial Continental. México D. F. 873 p.
- Amin, B. N., Reyes, L. F., Camacho, C. F., Otero, A. O., Cuello P. M., Núñez, M. D., García, I.L.G. 2015. Obtención de un anticuerpo monoclonal murino que reconoce al polisacárido capsular Vi de *Salmonella Typhi*. *Vaccimonitor*, 24(2), 24(2):57-63 pp.
- Amiot, J. 1991. *Ciencia y Tecnología de la Leche*. Principios y aplicaciones. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 547 p.
- Amores, R. Calvo, A., Maestre R.J. Martínez, H. D. 2004. Probioticos. *Prous Sciencie*. S.A., Sociedad Española de quimioterapia. *Revista Española Quimioterap.*, 17:2, 131-139 pp.
- Anjan R. K., & Marth, E. H. 1995. Microflora of Cheddar cheese made with sodium chloride, potassium chloride, or mixtures of sodium and potassium chloride. *Journal of Food Protection®*, 58(1): 54-61 p.
- Arteaga F., J., A., 2008, *Investigación del mercado del consumo de leche y sus derivados en Oaxaca*. Fundación produce Oaxaca.
- Asociación Ganadera de Loma Bonita Oaxaca (AGLM), 2014, *Registros de*

producción de la institución.

- Avelino, A. F. M., Martínez, B. L., Paredes, M. L. F., Quispe, S. G. G., Pareja, L. J. C. 2010. Tecnología productiva en lácteos. 1ª Edición. Organización privada de desarrollo. Perú. 84 p.
- Baca, B. M. I. 2009. El laboratorio microbiológico en la industria productora de envases plásticos farmacéuticos y alimenticios. Tesis de licenciatura, Química farmacéutica bióloga. Cuatitlan Izcalli Estado de México. 153 p.
- Badui, D. S. 2012. La ciencia de los alimentos en la práctica. 1ª edición. Editorial Pearson educación. México. 328 p.
- Badui, D. S. 2013. Química de los alimentos. 5ª edición. Editorial Pearson. México. 744 p.
- Bartram J., 2003: Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. Serie de la OMS Emerging Issues in Water and Infectious Disease.
- Bermúdez-Neira, Silvestri-Sacide E., J.A. 2006. Análisis del Proceso de ordeño y la calidad higiénica de la leche utilizada en la fabricación del Queso Paipa en el Municipio de Paipa (Boyacá), Revista de Investigación. Vol. 6. Universidad la Salle. Bogotá, Colombia.
- Bitácora mensual del centro de salud. 2014. Registro diario de pacientes en consulta externa. SS010-Bis, Loma Bonita, Oaxaca.
- Bourgeois C. M., Larpent J. P. 1989. Microbiología alimentaria 2 fermentaciones alimentarias. Editorial acribia. 2da Edición. Zaragoza, España. 366 p.
- Brawde, A. 1991. Medical microbiology and infectious diseases international

- textbook of medicine. Vol. II. 3Th ed. USA: Saunders Co. 63 p.
- Browder, L. R. 2012. Fisiopatología. Editorial El Manual Moderno, 897 pp.
- Cabrera, G. D.A., Reyes, V. F., Maldonado, B. M. A. 2014. Vigilancia epidemiologica de la brucelosis humana en la jurisdicción sanitaria de Ecatepec. Archivos de investigacion. medigraphic. 6:1. 38-45 PP.
- Cámara Nacional de Industriales de la Leche (Canilec), 2014: Revisado 12 de diciembre 2014: http://www.canilec.org.mx/prod_leche.html
- Celis, M., Juárez, D. 2009. Microbiología de la leche. Seminario de procesos fundamentales fisico-químico y microbiológicos. Especialización y maestría en el medio ambiente. Laboratorio de química, Bahía, Blanca. 27 p.
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). 2015. Revisado el 24 de marzo del 2015:<http://www.cofepris.gob.mx/Paginas/Inicio.aspx>
- Consejo para el fomento de la calidad de la leche y sus derivados (COFOCALEC). 2015. Revisado el 24 de Marzo del 2015:<http://cofocalec.org.mx/>
- Coordinación General de Ganadería, SAGARPA, 2010, Situación actual y perspectiva de la producción de leche de bovino en México 2010, N o . 2 0 7, Claridades agropecuarias
- Dávila, J., Reyes, G., Corzo, O. 2006. Evaluacion microbiológica de las diferentes etapas del proceso de Elaboración de queso tipo Gouda en una industria venezolana. ALAN.56(1): 51-59 p.
- De los Reyes, G. G., Moliona, S. B., Coca, V. R. 2010. Calidad de la leche

- cruda. Primer foro sobre ganadería lechera de la zona alta de Veracruz. 10 p.
- Del Castillo, R. R. S., Mestres, L. J. 2004. Productos lácteos tecnología. Edición Ilustrada. Univ. Politec de catalunya. Catalunya, España. 228 p.
- Delgado, C. R., Maurtua T. D. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp, Rev Panam Salud Publica 14(3): 158.164 P.
- Della, G. A., Caffer, I. M., Panagópulo, M., Viñas R. M., Barrios, A. H., Viora, S. S., Alselmo, J. R. 2015. Brotes de Shigelosis en la ciudad de Luján, Argentina. Revista Argentina de Microbiología, Elsevier. 47:2. 112-117.
- Demeter, K., Elbertzhagen, H. 1971. Elementos de Microbiología lactológica. Sexta edición. Editorial Acribia Zaragoza. España.
- Digioia K. Lim C. Janicke D. Mathews A. Dairy Intake Is Associated with Adiposity in Overweight and Obese Children Living in Rural Areas. J Acad Nutr Diet 2012; 112: A16.
- Ellner, R., Schulz, R. 2000. Preguntas y respuestas sobre la microbiología de la leche y los productos lácteos. Edición ilustrada. Editorial Díaz Santos. Madrid, España 144 p.
- Estrella, F. G. A. 2013. Monitoreo de la Calidad e Inocuidad Durante el Almacenamiento de Queso Fresco Elaborado Artesanalmente en las Parroquias Rurales del Cantón Riobamba. 193 p.
- Ferriz, 2014. Revisado el 13 de diciembre 2014: <http://ferriz.com.mx/negocios/mexico-segundo-consumidor-de-leche-en->

la/

- Fleming, D. W., Cochi, S. L., MacDonald, K. L., Brondum, J., Hayes, P. S., Plikaytis, B. D., Holmes, M. B., Audurier, A., Broome, C. V., Reingold, A. L. 1985, Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N Engl J Med*; 312-404 pp.
- Food and agriculture organization of the united nations (FAO), 2004. Guía de buenas prácticas en explotaciones lecheras. Revisado el 23 de enero del 2015: www.fao.org/docrep/008/y5224s/y5224s05.htm
- Food and agriculture organization of the united nations (FAO). 2009. The state of food and agriculture. Roma, Italia; 2009:166.
- Food and agriculture organization of the united nations (FAO). 2013. Milk and dairy products in human, Rome, Technical Editors. Roma. 404 p.
- Food and agriculture organization of the united nations (FAO). 2007. Leche y Productos lacteos. Primera edicion. Codex alimentarius. roma. 275 p.
- Frazier, W. C. 2000. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 698 p.
- Frazier, W. C., Westhoff, D. C. 1993. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 681 p.
- Gandhi, A., y Shah, N. P. 2015. Effect of salt on cell viability and membrane integrity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum* as observed by flow cytometry. *Food microbiology*, 49, 197-202.
- García, G. M., Quintero, R. R., López, M. A. 1993. Biotecnología alimentaria. Edición reimpressa. Editorial limusa. México. 636 p.

- García, U. P. 2013. La alimentación de los mexicanos. Mercado y comercialización. México. 10 p
- Garrido, M. G. 2013. Enfermedades causadas por la ingesta de leche y derivados contaminados. Universidad de Venezuela, Facultad de Medicina: Escuela de nutrición y dietética. Venezuela. 7 p.
- Gaviria, B. C. 1980. Manual de procedimientos microbiológicos en leche y derivados lácteos. Merck. Colombia.
- Gil, A. 2010. Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Volumen 2. 2ª Edición Médica panamericana. Madrid. 182 p.
- Godič, T. K., Venguštb, A. 2008. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia, Elsevier, 19(6): 570-577 p.
- González, C. A. F., Yescas, C. Ortiz-Estrada, A. M., De la Rosa-Alcaraz, A. M., Hernandez-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B. 2016. Invited review: Artisanal Mexican cheeses. Journal of dairy science. 99(4) 1-13 p.
- González, V. M. 2002. Tecnología para la elaboración de queso blanco, amarillo y yogurt. Senacyt. Soná, Veraguas, República de Panamá. 16 p.
- H. Ayuntamiento constitucional de Loma Bonita, Oaxaca. 2010 Plan municipal de desarrollo. 2008-2010. 113 p.
- Heer, E. G. 2007. Microbiología de la leche. Facultad de ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral Esperanza. Santa Fe. Argentina, 19 p.
- Hernández, R. A., Peña, V. C., Carus, R., Fernández, S., Romero, B., Roma, M. 2011. Planes Regionales de Desarrollo de Oaxaca. Gobierno del estado de Oaxaca 2010-2016, Oaxaca, México. 129 pp.

- Hernández, R. I. E., Correa, S. M. M., Correa, J. L. M. 2014. Nutrición y salud. Editorial El Manual Moderno. 180 p.
- Herrera, C. G. J. 2015. Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad de los productos recibidos del PRONAA y otros proveedores en la municipalidad de Lurín.
- Herrera, C. G. J., Rodríguez N. J.L. 2012, Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad de los productos recibidos del pronaa y otroa proveedores en la municipalidad de lurin. Universidad nacional José Sánchez Carrión, facultad de ingeniería agraria, industrial alimentaria y ambiental. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Huacho, Peru. 42 PP.
- Hobbs, B. 1997. Higiene y Toxicología de los Alimentos, 3ª Edición, Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 110 p.
- Howe, R. A., Brown, N. M., Spencer, R. C., 1996. The new threats of Gram positive pathogens: re-emergence of things past. J Clin Pathol; 49:444-9.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2005. Marco geoestadístico municipal versión 3.1. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Loma Bonita, Oaxaca. 20 p.
- Instituto nicaraguense de apoyo de la pequeña empresa (INPYME) 2011. Manual de procesamiento lácteo. Proyecto de Asistencia Técnica para el Fortalecimiento Tecnológico de MIPYMES del sector lácteo en los departamentos de Boaco, Chontales y Matagalpa. 18 p.

- Isabel, G. S. 2011. Contaminantes biológicos. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Departamento de Seguridad y Salud Ocupacional. Buenos Aires, Argentina. 46 p.
- Jay, J. M., Loessner, J. M., Golden, A. D. 2005. Modern Food Microbiology. 6ª edición. Aspen Publication, Inc. Gaithersburg, Maryland. 790 p.
- Juárez, D. Mauricio, C. 2009. Procesos fundamentales fisicoquímicos y microbiológicos microbiología de la leche. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, 27 pp.
- Kanafani Z. A., Fowler V. G. 2006, Staphylococcus aureus infections: new challenges from an old pathogen. Enferm Infecc Microbiol Clin; 24:182-93.
- Kurtzman,P.C., Fell, J. W., Boekhout. T., 2011. The Yeasts: A Taxonomic Study. 5ta Edicion. Elsevier.1654 pp.
- LACTODATA, 2014, Información sobre el sector lechero Boletín, elaborado por, La estadística que se presenta es de referencia, no oficial, y proviene de varias fuentes, las principales: USDA/AMS, FAO, OMC, OCDE, EUROSTAT, MEX/INEGI, MEX/LICONSA, MEX/ BANXICO, MEX/SE, MEX/SIAP/SAGARPA).
- Latham,c. M., 2002, Nutricion humana en el mundo en desarrollo., De las naciones unidas para la agricultura y la alimentacion.Roma. Nueva York. Coleccion FAO:29., 100 p.
- León, P., Víctor, J. 2015. Elaboración y control de calidad de pan enriquecido con fibra de cutícula de tomate (solanum lycopersicum) y espinaca

(spinacia oleracea).

- López, T. L., Torres, C. 2006. Trabajo práctico. Estudio cuantitativo de bacterias. Universidad Nacional del Noreste. Facultad de agroindustrias. 4 p.
- Madigan M, Martinko JM. 2003. Biología de los microorganismos. Madrid: Prentice Hall. 980 p.
- Magariños, H. 2001. Producción Higiénica de la leche cruda, una guía para la pequeña y media empresa .1ª Edición. Producción y servicios incorporados S.A. Guatemala, 104 p.
- Martínez, L. R., Tepal, C. J. A., Hernández, A. L., Escobar, R. M. C., Amaro, G. R., Blanco, O. M. A. 2011. Mejoramiento de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca. Manual de capacitación. México. 63 p.
- Máttar, S., Visbal, J., & Bermúdez, A. 2000. Zoonosis: cerca o lejos de nosotros?. Revista MVZ Córdoba, 5(1), 5-9 pp.
- Menjivar, V., Carlos, J. (2011). Determinación de la calidad microbiológica de dos variedades de quesos, comercializados en la zona uno del área metropolitana de San Salvador (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).
- Mohamed, O. M. A., Omer, I. A., 2010. Effect of heat treatment, level of sodium chloride, calcium chloride on the chemical composition of white chesse. Research Journal of animal and veterinary sciences. 5(1): 69-72 p.
- Molina, L. J., Eslava. C. C. A. 2014. Patotipos de escherichia coli diarrogénica. Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de Mexico. 7 p.

- Molina Santillán, F. I. (2012). Determinación de la Calidad de la Leche Cruda (Acidez, Densidad, Grasa, Reductasa, Sólidos Totales), Aplicando un Programa de Capacitación en 4 Comunidades de la Parroquia Pintag, Cantón Quito.
- Morales-Pablo, R., Avalos de la Cruz, D. A., Leyva-Ruelas, G., Ybarra-Moncada, Ma. C. Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra producida en Miravalles, Puebla. *Revista mexicana de ingeniería química*. 11(1) 45-54 p.
- Moreno, R.I. E., García, A.G., Acedo, E.F. Díaz, H.M.E: 2007. Detección de *Listeria monocytogenes* en la cadena de producción y comercialización de queso fresco. Alfa Editores. En línea <http://www.alfa-editores.com-web2>.
- Moreno-González, M. E., Ruiz-Galindo E. 2007. *Staphylococcus epidermis* formador de biofilm en blefarconjuntivitis. *Revista Médica del hospital general de México*. 70(1): 24-29 p.
- Mota de la G. L. Fernandez E. 2012, Intoxicación estafilocócica por alimentos, revisado el 17 de enero 2015: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/65372-intoxicacion-estafilococica-alimentos>.
- Narváez, L. J., Plazas, M. R. 2015. Calidad sanitaria de la leche pasteurizada y consumida en Neiva. Cuidado con el consumo de leche mal pasteurizada. *Revista Entornos*, 1(9), 53-58 pp.
- Navarro, D., Sebald, S. E., Celis, R. S. 2006. Manual de producción de leche para pequeños y medianos productores. Instituto de investigación

agropecuarias-centro regional de investigación Remehue. Boletín INIA N° 148. Chile, 165 p.

Noa, P. M. 2000. Gestión de calidad higiénica y nutricional de la leche. Residuos y contaminantes químicos en la leche. En memorias. VII Congreso panamericano de la leche. Feria Internacional de la Producción y la Industria Láctica. La Habana, Cuba. 54 p.

Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012. Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación 26 p.

Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. 5 p.

Norma oficial mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 5 p.

Norma oficial mexicana nom-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 5 p.

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Norma oficial mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. 7 p.

Norma oficial mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *staphylococcus aureus* en alimentos. 11 p.

Norma oficial mexicana NOM-120-SSA1-1994, bienes y servicios. Prácticas

de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas.

Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO). 2011. Buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos lácteos. Edición, infoagro. 28 p

Panorama de la lechería en México (PLM), 2014, Cifras preliminares al primer trimestre, SIAP con información de las Delegaciones de la SAGARPA.

Pascual, A. M., Calderón, P. V. 2000. Microbiología Alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2ª edición. Editorial días de santos. Madrid, España. 464 p.

Pelczar, M., Reid, R. 1966. Microbiología. Hontañon. Editorial castilla. 2 edición. Madrid España. 664 p.

Perdomo, N., 2010. Evaluación de la Calidad Microbiológica de Leche y Queso Fresco "de prensa" Artesanal Elaborado en el Municipio de Jesús Carranza, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura de la Universidad Veracruzana. Veracruz, México 71 p.

Pinto, R. J. 2013. Yogures, leches fermentadas y pastas untables. INAE0209. 1ª edición. IC editorial. Málaga, España. 214 p.

Proyecto de norma mexicana PROY-NOM-F-700-COFOCALEC-2012. Sistema producto leche – alimento – lácteos– leche cruda de vaca – especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.

Ramón, D. 2003. Leche que no debes beber: el lado oscuro del alimento más sobrevalorado. Mándala. 278 p.

Rangel, A. M. F. 2010. Evaluación de *Enterococcus sp Vancomicia* resistentes

en mastitis bovina y su detección en queso pera. Tesis para obtener el grado de Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Pontificia universidad javeriana. Bogotá, Colombia. 54 p.

Reyes, A. M. I., Aguilar, G. C. N. Prado, B. L. A., Martinez. H. J.L. 2011. Residuos agroindustriales para producción de proteasas fúngicas. Ciencia cierta, 7(27). Revisada en línea en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC27/6.htm>
#referencias

Rossi, M. L., Paiva, A., Tornese, M., Trocoso C. Troncoso, A. 2008. Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. Universidad de Buenos Aires Argentina. Revista Chilena de infectología. 25(5): 328 -335 p.

Ruera, C. S., 2006. Métodos de análisis microbiológico. Normas ISO, UNE. Analiza Calidad. 36 p.

SAGARPA. 2005. Servicios de información Agroalimentaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentaria. Situación actual y perspectiva de la producción de la leche de bovino. Revisado el 14 de febrero del 2015 :[://www.sagarpa.com.mx/ganaderia/publicaciones/paginas/estudios_SAP.aspx?Cursos=20](http://www.sagarpa.com.mx/ganaderia/publicaciones/paginas/estudios_SAP.aspx?Cursos=20).

SAGARPA. 2006. La producción nacional. Revisado el 24 de enero del 2015: <http://w4.siap.gov.mx/sispro/portales/pecuarios/lechebovinossituacion/descripcion.pdf>.

SAGARPA. 2008. Servicios de información Agroalimentaria y pesquera.

Secretaría de Agricultura, ganadería , desarrollo rural, pesca y alimentación. Revisado el 11 de febrero del 2015:
www.siap.sagarpa.gov.mx.

Santillán, U. E., Méndez, R. M. A., Vélez, R. J. F. 2014. Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. Universidad de las Américas Puebla Temas Selectos de ingeniería de alimentos, 8(1):, 5-14 pp.

Saxer, S., S. M. Schwenninger, and C. Lacroix. 2013. Characterization of the microflora of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives. Food Sci. Technol. (Campinas.) 1(53):314–320.

Secretaría Agrícola Ganadera de Pesca (SAGARPA), 2005, Delegación del estado, Subdelegación de planeación y desarrollo Rural.

Secretario de Economía (S.E.), 2014, Análisis del sector lácteo en México. Dirección general de industrias básicas. 15 p.

Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015, SAGARPA. Revisado el 12 de diciembre, 2014;
<http://www.siap.gob.mx/>

Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (SENASICA). 2015. Revisado el 25 de marzo del 2015:
<http://www.senasica.gob.mx/?id=1177>

Shin H. Yoon YS. Lee Y. Kim C. Oh SW. 2013. Dairy Product Intake Is Inversely Associated with Metabolic Syndrome in Korean Adults: Anseong and Ansan Cohort of the Korean Genome and Epidemiology Study Endocrinology. J Korean Med Sci.; 1(28): 1482-8.

- Shopsin, B. Kreiswirth, B. N., 2001., Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infect Dis*; 7:323-6.
- Spreer, E. 1991. *Lactologia industrial* 2ª Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 625 p.
- Stanier, R., Duodoroff M. 1976. *El mundo de los microbios*. Tercera edición. Editorial Aguilar. Madrid España.
- Tanaka K. Miyake Y. Sasaki S. 2010. Intake of dairy products and the prevalence of dental caries in young children. *J Dentistry*. 38: 579-83.
- Torres-Llanez, M. J., Vallejo-Cordoba, B. Díaz-Cinco, M. E., Mazorra-Manzano, A. F., González- Cordova. 2006. Characterization of the natural microflora of artisanal mexican fresco chesse. *Elsevier*. 17(1): 683-690 p.
- Tortajada, J.F., Garcia, J. C., Berbel, T. O. Clar. G. S. 2001. Micotoxinas y cáncer pediátrico. Unidad de Oncología pedatrica. Departamento de pediatria. Hospitalinfatil uiversitario . La fe. Valencia. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital de Sagunt. Port de Sagunt. Valencia. 57(3): 279-280 pp.
- Tortora, j. G., Funke, R. B. Case, L. C. 2007. *Introduccion a la microbiologia*. 9a Edicion. Panamericana. 923 p.
- Vanderzant, C and Splittstoesser, 1992. *Compendium of Standard Methods for the Microbiological Examination of Food*. APHA (American Public Health Association) Inc. Washington, DC, USA.
- Vargas, T. 2006. *Calidad e inocuidad de la leche y productos lácteos*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Salud Pública. Asesora de

- la Fundación INLACA. Venezuela. 11 p.
- Velázquez, M. Meza E., 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. *Salud Pública Méx*; 47:381-7.
- Weaver C. Role of dairy beverages in the diet. *Physiol Behav*. 2010; 100: 63-6.
- Willey. M. J., Sherwood, M. L., Woolverton, J. C. 2008. *Microbiología de Prescott*. McGraw-Hill Interamericana de España S. L., 1124 p.
- Yuan W. Kakinami L. Gray-Donald K. Czernichow S. Lambert M. Paradis G. 2013. Influence of Dairy Product Consumption on Children's Blood Pressure: Results from the QUALITY Cohort. *J Academy Nutr Dietetics*.113: 936-41.
- Zamorán, M. D. J. 2013. *Manual de procesamiento lácteo*. Instituto nicaraguense de apoyo de la pequeña empresa (INPYME). 57 p.