

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

“Detección de Bacterias Patógenas Durante el Proceso de Elaboración de Queso Artesanal Producido a Partir de Leche Sin Pasteurizar Bajo Buenas Prácticas de Manufactura en la Región de Cobachi, Sonora.”

TESIS PROFESIONAL

Que para Obtener el Título de
QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Cristian Carolina Pedroza López

Hermsillo, Sonora A Enero del 2017

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de **Pedroza López Cristian Carolina**, le han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico Biólogo Clínico.

Q.B. Rosalva Pérez Morales
Presidente

M.C. Griselda Macrina Moreno Ibarra
Secretario

M.C. Lucía Guadalupe Castellón Campaña
Vocal

M.C. Reyna Isabel Sánchez Mariñez
Suplente

DEDICATORIA:

Este trabajo va dirigido a todas aquellas personas que creyeron en mí y en lo que puedo lograr.
Sé que no fue fácil, pero tampoco nadie dijo que era imposible.

“Si empiezas a trabajar en tus metas, tus metas trabajarán para ti. Si empiezas a trabajar en tu plan, tu plan trabajará para usted. Cualquier cosa buena que construyamos terminará construyéndonos a nosotros”

- Jim Rohn

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a **Dios**, ese ser supremo, porque él me permitió respirar, caminar, ver, hablar y lo más importante me permitió tener un día mas de vida; además de ponerme en el camino correcto, sabiéndome guiar por los buenos senderos de la vida, y lo más importante: por permitirme iniciar y terminar ciclos a lo largo de esta odisea y en esta ocasión por dar un punto final a uno de los mas importante para mí, mi carrera universitaria.

Agradezco también a **Mis Padres** por darme su amor, su comprensión, por hacer que las fechas especiales sean maravillosas, por esos abrazos de consuelo cuando estaba triste, por soportar esos malos genios, el estrés producido con tantos trabajos, exámenes, por animarme a seguir a delante y nunca darme por vencida. Agradezco el apoyo que me brindaron y por celebrar conmigo uno más de mis triunfos, como celebran hoy este día.

Agradezco a **Mis Hermanos**, por siempre recordar que tuvieron una hermana, que aunque hubo días en los cuales no nos miramos por la vida tan apresurada que lleve, siempre supieron darme su apoyo.

Agradezco por ser mi amiga, compañera **Guadalupe Rodríguez**, porque solo tú sabes todo lo que fue este año y todo lo que vivimos. Agradezco el hecho de que te hayas atrevido a emprender este desafío, el cual era algo nuevo para nosotras, pero te agradezco de todo corazón por estar ahí cuando te necesite, por apoyarme y ayudarme cuando algo pasaba. En pocas palabras gracias por todo.

A ver quien buscaba este agradecimiento y no lo encontraba, pues tu **Arely Valenzuela**, déjame decirte, aunque creo que ya lo sabes, que eres una de las personas más importante y que más quiero en mi vida y que has estado por siete años en vida de lo cual estoy muy agradecida; sin embargo, espero que permanezcas mucho más a mi lado. Te agradezco a ti por ser como eres, por los momentos geniales que hemos pasado, por ser más que mi confidente, ya que hasta un órgano has sido para mí y eso no lo cambio por nada. Gracias por ser la primera persona en leer esta historia y por las críticas hechas a ella.

Agradezco a mi profesora **Macrina Moreno** por darme su confianza, y por estar conmigo todo este año, dándonos su apoyo y brindándonos los mejores consejos, así como también por brindarme todo ese conocimiento, que gracias a ello fue posible que yo realizara este trabajo.

Agradezco de la misma forma a mi profesora **Lucia Castellón** que de la misma forma estuvo conmigo, me brindo su apoyo, su confianza y por estar conmigo durante este largo año de trabajo, también agradezco por todo el conocimiento que nos dio durante y fuera de clases.

Agradezco al **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD)** y **CONACYT** por brindarme un apoyo el cual me ayudo.

Agradezco a mi directora de tesis **QB. Rosalva Pérez** por todo el apoyo que me fue brindado por su parte, de la misma forma por siempre ver que tuviéramos lo necesario para poder trabajar.

Al **Laboratorio de Microbiología Polifásica y Bioactividades y LACMA** por permitirme utilizar sus instalaciones, sus equipos durante este largo año de trabajo.

Agradezco a la gente de Cobachi, Sonora, en especial al **Don Francisco y Doña Lili**, por abrirnos las puertas de su casa y permitirnos hospedar ahí. Gracias también por las atenciones que nos dieron, por los alimentos y por ser tan lindas personas. De igual forma a **Don José**, por ser una persona tan amable, por contarme sus historias y hacer más entendidos los muestreos.

Agradezco a todos **Mis Amigos**, por estar presente y darme su apoyo estos años. Sé que, aunque no estuvieran cerca yo podía contar con ellos, sin importar nada. El principal ejemplo de eres tu **Daniela Ballesteros**, que, aunque quizás no has estado conmigo por mucho tiempo, pero si el suficiente para convertirte en una de las personas más importantes para mí y de la cual he aprendido mucho. Te agradezco por estar ahí a un lado de mí, apoyándome en todo, por soportar que nunca tuviera para salir, por los divertidos momentos y las pláticas serias. En conclusión, gracias por todo y espero que estés leyendo esto en estos momentos y sepas que te yo a ti te quiero y espero que estés por mucho tiempo en mi lado.

Este trabajo se llevó a cabo con el financiamiento del proyecto CONACYT 18 8865 del Laboratorio de Innovación para la Producción Inocua y Sustentable de Alimentos en Comunidades Rurales.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
RESUMEN.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	16
General.....	16
Específicos.....	16
ANTECEDENTES.....	17
Cobachi, Sonora.....	17
La Leche.....	17
El Queso.....	18
Historia del Queso.....	19
Elaboración del Queso.....	19
Tipos de Queso.....	20
Queso Fresco.....	20
Queso Maduro.....	20
Queso Procesado.....	20
Queso Duro.....	21
Contaminación en Alimentos.....	21
Contaminación Directa.....	21
Contaminación Cruzada.....	22
Mastitis Bovina.....	23
Enfermedades Transmitidas por Alimentos.....	24
Principales Microorganismos Patógenos Transmitidos por Alimentos.....	25
<i>Listeria monocytogenes</i>	25
<i>Listeria monocytogenes</i> y el queso.....	26

<i>Salmonella</i> spp.....	26
<i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	27
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 y su patogénesis.....	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	28
<i>Brucella</i> sp.....	29
<i>Leptospira</i> sp	31
Buenas Prácticas de Manufactura.....	32
METODOLOGÍA.....	34
Planteamiento del Estudio.....	35
Toma de Muestras.....	35
Formas de Recolección de las Muestras.....	35
Áreas de Muestreo.....	35
Sala de Ordeño.....	35
Ubres de las vacas (ordeñadas).....	35
Leche directa de las vacas.....	36
Leche del depósito.....	36
Faringe.....	36
Narinas.....	36
Sala de Proceso.....	36
Leche de la tina de cuajado.....	36
Producto Precipitado (Cedazo).....	37
Queso.....	37
Sala de Almacenamiento de Queso.....	37
Queso almacenado.....	37
Técnicas de Análisis Microbiológico.....	37
Determinación de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	37
Determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	40
Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	42

Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
Determinación de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	48
Determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	49
Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	51
Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Verificación del Sistema Buenas Prácticas de Manufactura.....	55
CONCLUSIONES.....	57
RECOMENDACIONES.....	58
BIBLIOGRAFIA.....	59
ANEXO.....	69

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Incidencia de Brucelosis por grupos de edad en Estados Unidos Mexicanos 2014.....	30
2	Incidencia de Leptospirosis por grupos de edad en Estados Unidos Mexicanos 2014.....	32
3	Resultados de la determinación de <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	50
4	Resultados de la determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	52
5	Resultados de la determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	54
6	Resultados de la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	56

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Composición en Porcentaje de la Leche.....	18
2	Esquema de Contaminación Directa.....	22
3	Esquema de Contaminación Cruzada.....	23
4	Mapa de Localización de Cobachi en el Estado de Sonora.....	34
5	Sala de Ordeña.....	37
6	Sala de Procesamiento.....	38
7	Sala de Almacenamiento.....	39
8	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43890 (A) y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (B) en agar MacConkey Sorbitol.....	40
9	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43890 (A) y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (B) en agar EMB.....	41
10	Producción de fluorescencia en Caldo EC mug de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43890 (A) y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (B).....	41
11	Desarrollo <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 en los medios Sulfito Bismuto Agar (A), Hecktoen Enteric Agar (B), XLD (C).....	43
12	Desarrollo <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 en TSI (A), LIA (B) y	

	Urea (C).....	43
13	Serología de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 (A) Positiva y (B) Negativa.....	44
14	Desarrollo <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 17644 en (A) Agar LMP y (B) agar OXFORD.....	45
15	Desarrollo en caldo púrpura para carbohidratos de <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 17644.....	46
16	Prueba de CAMP de <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 17644.....	46
17	Control positivo. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en agar sangre.....	47
19	Control negativo. <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 en agar sangre.....	48
19	Control positivo. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en agar Baird-Parker.....	48

RESUMEN

En el estado de Sonora, desde tiempos antiguos, una de las principales actividades que el hombre ha venido realizando es la ordeña. La mayor parte de la leche obtenida es utilizada para la elaboración de productos lácteos, principalmente queso fresco, conocido como un producto artesanal, ya que la leche utilizada para su elaboración no ha pasado algún proceso térmico (pasteurización), además tienen una esmerada elaboración, usando las técnicas que fueron enseñadas por sus antepasados. Una de las principales ventajas de este producto es que brinda al consumidor un producto que conserva todas aquellas propiedades originales de la leche como son: vitaminas, proteínas, carbohidratos, así como también el sabor característico de ésta. Sin embargo, al no pasteurizar la leche trae como desventaja la posible presencia de microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Brucella* sp, *Leptospira* sp y el microorganismo emergente *Escherichia coli* O157:H7, entre otros, que frecuentemente están relacionados con Enfermedades de Transmisión Alimenticia (ETAs).

En base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue llevar a cabo la detección de bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp y *Escherichia coli* O157:H7, así como también la detección de *Staphylococcus aureus* en productores, como un posible agente de contaminación cruzada, durante el proceso de elaboración de queso artesanal en un rancho ubicado en la región de Cobachi, Sonora y, el cual cuenta con un Sistema de Buenas Prácticas de Manufactura. Los muestreos se llevaron a cabo en los meses de agosto, noviembre y marzo. Se recolectaron muestras desde la ordeña (leche directa de la vaca), pasando por la cuajada, hasta la obtención del producto final (queso), así como el queso que se tenía almacenado. Los métodos de detección microbiológicos se realizaron de acuerdo a Normas Oficiales Mexicanas.

El análisis microbiológico realizado para la detección de bacterias patógenas mostró un resultado negativo en cada uno de los análisis realizados; por otro lado, en uno de los tres muestreos, se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus* en los productores involucrados en el proceso de ordeña y elaboración del producto, lo cual indica que ellos son una posible fuente de contaminación cruzada. En base a estos resultados obtenidos, se logró verificar la efectividad que tiene este Sistema de BPM implementado en la quesera de esta región, en base a los resultados de los microorganismos aquí analizados

INTRODUCCIÓN

Los productos de origen animal juegan un rol importante ya que presentan un suficiente balance nutricional para los seres humanos, tal es el caso de la leche y los productos derivados. Dicho producto es descrito como complemento alimenticio, debido a su contenido en proteínas, azúcar, grasa, vitaminas y minerales (Tasci, 2011).

La leche es un producto, que se caracteriza por ser muy sensible a la degradación producida por agentes microbiológicos, los cuales afectan su calidad y el aprovechamiento nutricional. Así mismo, las enfermedades que afectan al ganado pueden influir directamente en su calidad e inocuidad. Por lo tanto, representa un peligro potencial para la salud pública si no se aplican prácticas de higiene durante cada una de las diferentes etapas: ordeño, transporte, procesamiento y manufactura (Agricultura, 2011).

Uno de los productos de importancia, es el queso regional o queso fresco, como comúnmente se le conoce, es uno de los productos que por su esmerada elaboración está teniendo un mayor índice de venta entre los productos lácteos. Se caracteriza por ser un alimento sólido, el cuál puede ser desde una textura cremosa hasta una dura. Este producto, es obtenido por la coagulación y separación de la leche (Villegas y Cervantes, 2011).

No todos los quesos artesanales, son producidos a partir de leche sin pasteurizar, ya que existen algunos quesos producidos con leche pasteurizada; los primeros son considerados frecuentemente como un vehículo de enfermedades transmitidos por alimentos pertenecientes a lácteos (Vasavada, 1988; Ryser, 2001). La producción de quesos artesanales, elaborados con leche sin pasteurizar, fabricados en pequeñas instalaciones de granjas lecheras, presenta un alto riesgo de tener microorganismos patógenos. Además debe considerarse que la seguridad, la calidad y la capacidad de tener una vida útil mayor será directamente proporcional a los bajos recuentos bacterianos y al conteo de células somáticas presentes en dicho producto (D'Amico y Donnelly, 2010).

Algunos estudios previos, han demostrado la presencia de patógenos transmitidos principalmente por la leche, entre los que se incluyen: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, la cual es productora de toxina Shiga, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp., en los cuáles su presencia varía considerablemente. La prevalencia de patógenos transmitidos por la leche está siendo influenciada por numerosos factores tales como: el número de animales en la granja, las prácticas de gestión de explotaciones, la variación del muestreo y los tipos de muestras evaluadas (Yarasca y Heydelida, 2015).

Una de las formas de evitar la contaminación por bacterias patógenas en los alimentos, es poner mayor atención en la higiene personal y en las normas de manipulación sanitaria, así como la limpieza y desinfección del área de trabajo; ya que estos son los factores clave para la obtención de productos lácteos de calidad. Además, de que estas acciones previenen que se contamine el producto al reducir o eliminar los riesgos, garantizando de esa manera que sean seguros y que no representan una amenaza para la salud de las personas que los consumen (OMS, 2004).

Por otra parte, los ejidatarios de Cobachi (Municipio de la Colorada), tienen como una de sus principales actividades económicas la ordeña, la cual realizan todo el año y de la cual obtienen la mayor parte del ingreso para el sostén diario de su familia, así como los gastos productivos de la ordeña y del mantenimiento de sus tierras de riego para el pastoreo. El ganado no está especializado en producción de leche, la mayor parte es cruza de criollo con alguna raza europea productora de carne, sin embargo, tienen un alto grado de conversión leche-queso. Esta práctica productiva evidencia la necesidad de que los rancheros cuenten con una alternativa para hacer de la quesera artesanal, un sistema de producción bien establecido (Hernández y col., 2010).

Por lo tanto, con este estudio llevado a cabo en el municipio de Cobachi, Sonora se propuso desarrollar un modelo del sistema de BPM que permita realizar la detección oportuna de los posibles puntos de contaminación microbiológica en la elaboración de queso artesanal, mediante el análisis desde la fase pre-analítica (sala de ordeño), analítica (sala de proceso) y finalmente la fase post-analítica (almacenamiento) con la finalidad de demostrar que es un producto seguro, esto en base a la NOM-243-SSA1-2010. De la misma forma, lanzar al mercado un producto, el cual presente una etiqueta que avale los estándares de preparación y que permitan al producto entrar en el mercado formal.

OBJETIVOS

General:

Detectar bacterias patógenas durante el proceso de elaboración de queso artesanal producido bajo buenas prácticas de manufactura en la región de Cobachi, Sonora.

Específicos:

Detectar bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157:H7 de la materia prima utilizada en la elaboración del queso artesanal, procesamiento, así como producto terminado.

Detectar la presencia de *Staphylococcus aureus* en los productores, como un posible agente de contaminación cruzada.

Verificar la efectividad mediante los resultados de los análisis microbiológicos de los puntos de riesgo de contaminación microbiológica dentro del Sistema de Buenas Prácticas de Manufactura.

ANTECEDENTES

Cobachi, Sonora

Cobachi es un ejido perteneciente al municipio de La Colorada, Sonora, ubicada en la zona centro suroeste del Estado. La Colorada posee una superficie de 4 701.51 kilómetros cuadrados. La agricultura, es una actividad importante que realizan los productores para el autoconsumo en la región y los excedentes se destinan a la ciudad de Hermosillo. Los principales cultivos son: maíz, frijol, chile verde, pepino, calabacita, sorgo forrajero y alfalfa como complemento a la actividad ganadera. La ganadería comprende al ganado bovino, caprino, equino, mular, asnales y colmenas. Además, el municipio cuenta con una superficie importante de praderas artificiales.

El ejido Cobachi cuenta con 93 ejidatarios que ordeñan todo el año y de esta actividad obtienen la mayor parte del ingreso para el sostén diario de su familia, así como los gastos productivos de la ordeña y del mantenimiento de sus tierras de riego para el pastoreo. El ganado no está especializado en leche, la mayor parte es cruce de criollo con alguna raza europea productora de carne, sin embargo, tienen un alto grado de conversión leche-queso.

Una vaca de ordeña produce en promedio entre 5 y 6 litros de leche diarios en temporada de lluvias, con esta cantidad obtienen poco menos de un kilo de queso (980g. en promedio). Esta práctica productiva es una de las principales formas en que se manifiesta la subordinación de la producción quesera a la cría de becerro y evidencia la necesidad de que los rancheros cuenten con una alternativa para hacer de la quesería artesanal, estructurada como un Sistema Agroalimentario Local de la industria láctea (SIAL-lácteo) (Hernández y col., 2010).

La leche

La leche es un producto de origen natural, considerado como uno de los alimentos de gran valor nutricional, por lo que no puede ser fácilmente desplazada ni reemplazada por otros productos en la dieta. La leche de vaca, está formada por un 87% de agua y el 13% restante se divide entre grasa, proteínas, lactosa, minerales y otros componentes minoritarios como pueden ser enzimas, urea y sustancias nitrogenada (**Figura 1**) (Aranceta y Serra, 2004). Es importante citar que la especie del animal lechero, su raza, edad y dieta, junto con el estado de lactancia, el número de pariciones, el sistema agrícola, el entorno físico y la estación del año, influyen en el color, sabor y composición de la leche (FAO, 2016).

■ Agua ■ Lípidos ■ Proteínas ■ Carbohidratos ■ Sales

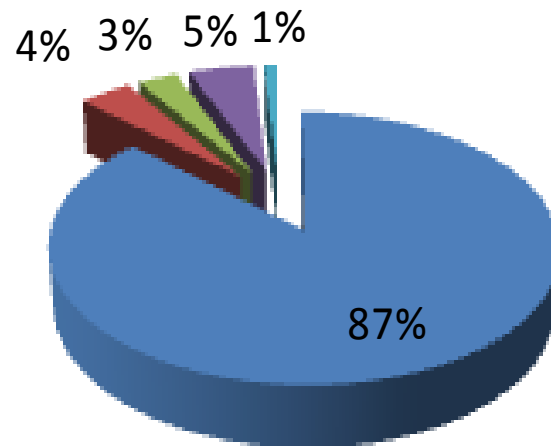


Figura 1. Composición química de la leche de vaca (Aranceta y Serra, 2004).

El Queso

El queso, es la denominación genérica que hace referencia al alimento que es el resultado de la coagulación de la leche de varios mamíferos (por ejemplo la vaca, cabra, etc.) y de la subsiguiente deshidratación del gel por medio de una serie de pasos, como lo son el cortado, la agitación del suero y/o cuajada, entre otros y, para finalizar el prensado. El elaborar un queso involucra un proceso de concentración de algunos componentes de la leche, principalmente caseína y grasa butírica (Villegas y Cervantes, 2011).

Uno de los principales productos que se pueden obtener a partir de la leche cruda, y considerada también como una de las formas más antiguas conocidas por el hombre para conservación de las propiedades de la leche durante un tiempo prolongado, es la producción del queso, debido a que en esta forma este alimento puede conservar algunas de las principales fuentes de proteínas, de la misma forma se lleva a cabo la conservación de electrolitos como: sodio (Na^+), potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}) (Rodríguez y Simón, 2008).

Historia del Queso

El queso es uno de los alimentos más antiguos que se conoce. Existen testimonios de su existencia ya en el año 100 a. de C.; sin embargo, existe también una leyenda que cuenta que fue descubierto por un mercader árabe quien, mientras realizaba un largo viaje a través del desierto, puso leche en una bolsa hecha con el estómago de un cordero y cuando fue a consumir la leche, vio que se encontraba coagulada y fermentada. Sin embargo, se ha señalado que el queso ya se consumía en la prehistoria, aunque esto no es fácilmente comprobable. En la biblia existen numerosas citas sobre este derivado de la leche (Vázquez y col., 2005).

Elaboración de Queso

La elaboración de un queso, comienza con la extracción de la leche en sus lugares de origen. Una vez que se cuenta con la leche, el primer paso a realizar será la homogeneización. La homogeneización tiene como objetivo, eliminar la mayor cantidad de impurezas sólidas presentes en la leche, consiste en hacer pasar la leche a presión por pequeñas boquillas muy finas con la finalidad de dividir lo más pequeño posible los glóbulos de grasa que contiene la leche entera y que de esta forma se logren quedar bien integrados todos los elementos que contiene la leche, siendo esto lo que brinda el color blanco característico. Sin embargo, como se trata de la elaboración de un queso artesanal no se realiza el proceso de pasteurización, ya que este proceso eliminaría a todas aquellas bacterias perjudiciales para el hombre pero también todas aquellas propias de la leche que tienen un efecto benéfico en el consumidor (Peñaranda, 2003).

Por lo tanto, para que un producto como éste, el cual no ha sido pasteurizado, se pueda comercializar debe cumplir con ciertos criterios microbiológicos que establecen las normas:

- Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Quesos: Frescos, Maduros y Procesados. Especificaciones Sanitarias.

Tipos de Quesos

Los quesos pueden elaborarse con leche entera, parcialmente descremada, semidescremada, descremada, crema o doble crema y su clasificación es la siguiente:

Queso fresco. Se denomina de esta forma ya que este tipo de queso no requiere curación, es decir, este tipo de queso no requiere algún periodo de maduración para su consumo. Es obtenido predominantemente por coagulación ácida y se caracteriza por su consistencia blanda y su alto contenido de agua (Gil, 2010).

El queso fresco es, sin lugar a duda, el mayor producto con una alta fabricación en México; además, de que es la forma más sencilla en la que la leche se puede comercializar rápidamente. Es producido en todo el territorio nacional, en una gran variedad de climas y regiones diferentes (Valencia, 2001).

Queso maduro. Constituye la categoría más abundante. El proceso de fabricación, requiere mantenerse durante cierto tiempo a una cierta temperatura y en condiciones tales que se produzcan los cambios físicos y químicos característicos de él (Guggisberg y col., 2015).

Este tipo de producto, es considerado como uno de los más exquisitos y con mayor riqueza hablando olfativamente; además, este queso es capaz de desarrollar una textura específica la cual puede ser dura u homogénea, cremosa, etc. Realizando una comparación entre los quesos maduros y los quesos frescos, se puede mencionar que el primero tiene un menor contenido de agua, lo que le permite al producto mayor concentración de nutrientes como proteínas y grasas (Alpina, 2016).

Queso procesado. Resultado de la mezcla de quesos madurados fundidos, a los que se les pueden agregar ingredientes y especias; dentro de esta clasificación están los quesos fundidos y para untar, como el queso amarillo y la mayoría de los que se venden en rebanadas cuadradas (PROFECO, 2000).

Los quesos procesados es el resultado final de una serie de fases, las cuales van de la trituración a la adición de agentes emulsionantes. Este producto, se ve caracterizado por contener una mayor cantidad de conservantes, incluyendo sal, la cual le permitirá tener un periodo mayor de vida; así mismo, este producto mantiene las características que al momento de pasar por un proceso de fundición contiene las propiedades organolépticas y de textura (Kimberly, 2016).

Queso duro. Cuando se utiliza la palabra “duro” significa, o puede comprender, que el producto ha sido sometido a la aplicación de una presión extrema para que de esta forma logre quedar compacto (Cocina, 2012).

Este tipo de queso, se caracterizan por requerir periodos de maduración mayores a nueve meses; por tal motivo, es elaborado en la mayoría de las ocasiones, como grandes ruedas; ya que esto le permitirá tener una maduración lenta pero constante; además, su consistencia será directamente proporcional a la edad del producto (Kongo y Malcata, 2016).

El producto anteriormente mencionado, presenta una serie de características particulares como es presentar un contenido de materia en grasa inferior o igual al 40%. Son destinados para consumo directo o para ralla, siendo el queso tipo parmesano un ejemplo claro de esto (Battro, 2010).

Contaminación en Alimentos

En la actualidad, el tema de la contaminación alimenticia, ha jugado un papel de gran importancia, ya que se ha demostrado que la incidencia de productos contaminados ha ido en aumento. La contaminación puede ser por: un origen microbiológico; es decir, que se encuentren inoculados por algún microorganismo patógeno ó un origen químico, presencia de pesticidas, minerales, etc. (Nerín y col., 2016).

Sin embargo, sin importar el origen de la contaminación (microbiológica o química), ésta se puede englobar en dos tipos, las cuales son:

Contaminación Directa

La contaminación directa, ocurre cuando un alimento contaminado entra en "contacto directo" con uno que no lo está (**Figura 2**). Por ejemplo, si se mezclan alimentos que no fueron bien higienizados junto a otros que no están contaminados, como puede ocurrir al mezclar un tomate contaminado con el resto de los alimentos que componen una ensalada. También, existe contaminación cruzada directa, cuando se ubican incorrectamente los productos en el refrigerador, de manera que aquellos listos para consumir toman contacto con los crudos (Terán, 2013).

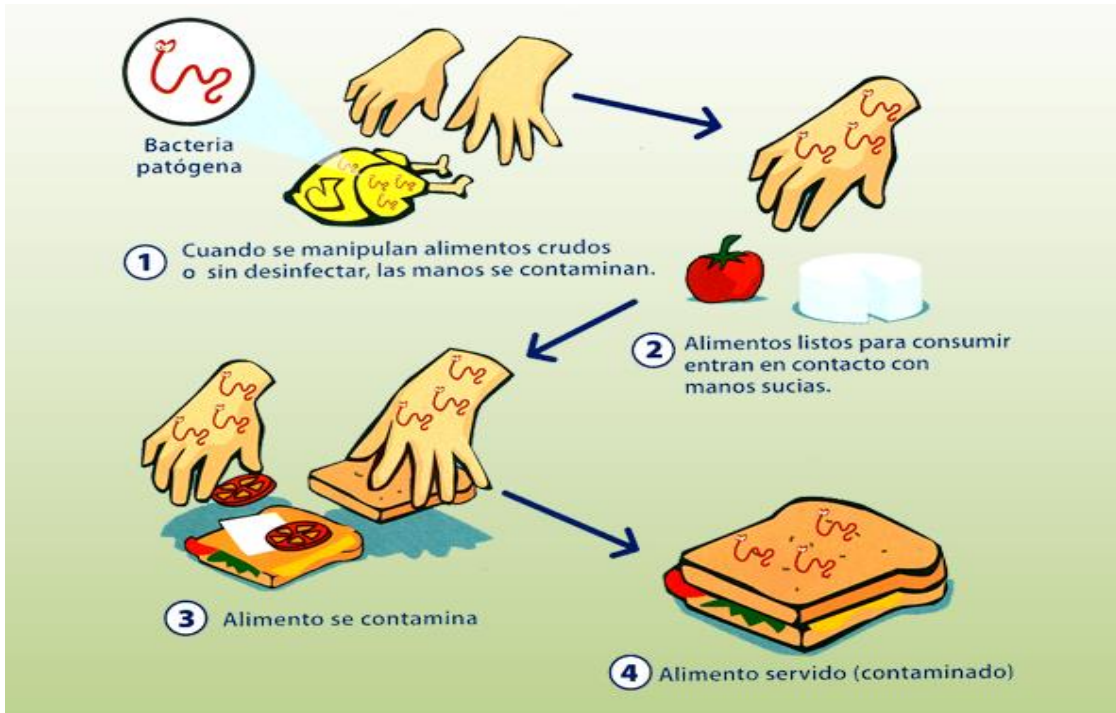


Figura 2. Esquema de Contaminación Directa.

[\(http://adolforivadeneira8.blogspot.mx/\)](http://adolforivadeneira8.blogspot.mx/)

Contaminación Cruzada.

Se caracteriza porque el agente contaminante se transfiere de un alimento a otro, mediante algún elemento (**Figura 3**), por ejemplo, las manos, utensilios, tablas, equipos de cocina, etcétera. Es un claro ejemplo el manejo de un cuchillo que se utilizó para desgrasar carne cruda y luego fue utilizado para fraccionar una tarta cocida (García, 2015).

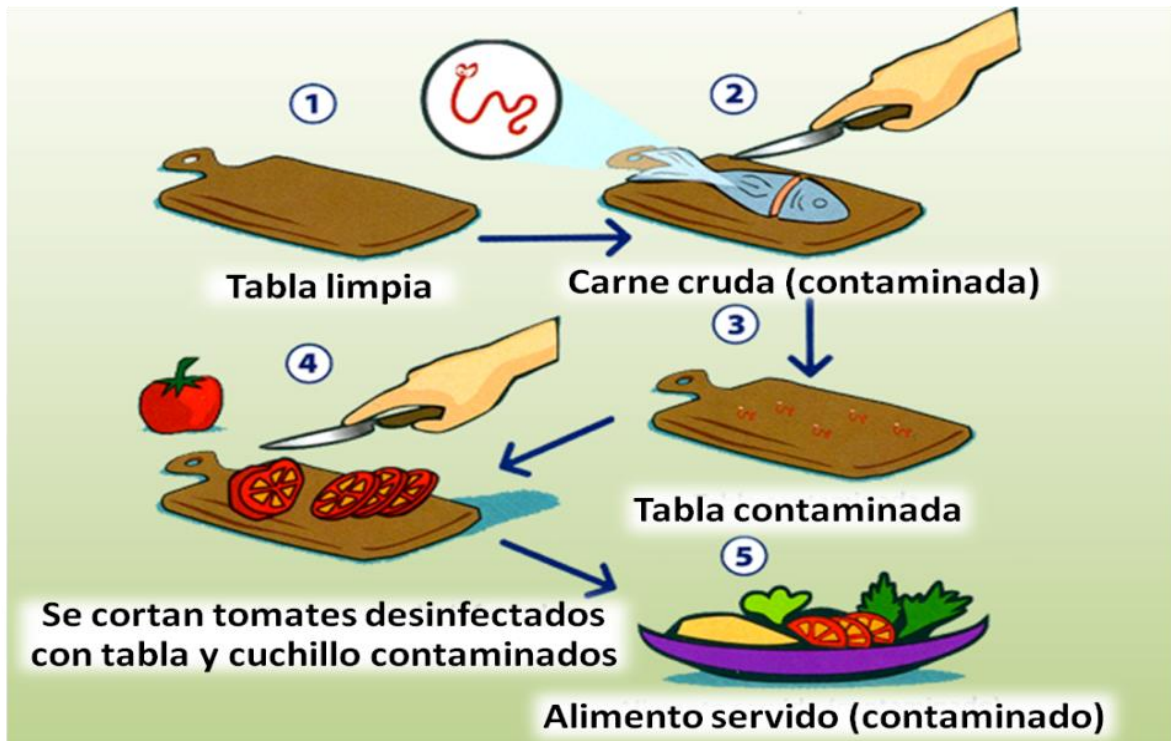


Figura 3. Esquema de Contaminación Cruzada.
<http://www.artilugiosdecocina.com/prevenir-la-contaminacion-cruzada-con-nuestros-utensilios/contaminacion-cruzada-esquema/>

De acuerdo con estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), revelan que aproximadamente el 25% de los brotes de enfermedades transmitidos por los alimentos están íntimamente ligados con casos de contaminación cruzada, la cual involucra prácticas de higiene deficientes, equipos contaminados o contaminación a través de los productores que manipulan directamente los alimentos (Munther y col., 2016). Las personas infectadas pueden liberar aerosoles, los cuales probablemente contengan virus o bacterias y son expuestas a los productos (Habchi y col., 2016).

Mastitis Bovina

Como se ha mencionado desde un inicio, la leche, y los productos derivados de ésta, han sido considerados como uno de los principales alimentos para niños y jóvenes; ya sea, por su contenido en proteínas, grasas, vitaminas o minerales (Martínez y col., 2014). La distribución local de leche tiene como base el sector cooperativo y campesino, desde la producción hasta la

entrega en el punto de venta. Sin embargo; la calidad higiénica, así como la inocuidad de la misma se ve disminuida cuando se presentan patologías importantes como la mastitis (Martínez y col., 2015).

La mastitis, es una enfermedad que frecuentemente afecta al ganado. Esta patología, se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria y de los tejidos secretores, la cual ocasiona una reducción de la producción del volumen de leche, teniendo como consecuencia la alteración de la composición y sabor, además de presentar una elevada carga bacteriana. Uno de los principales microorganismos patógenos involucrados en dicha enfermedad es *Staphylococcus aureus* (Peña Rodríguez, 2014). A pesar de los métodos modernos para el control del padecimiento, hoy en día sigue siendo un grave problema en la industria ganadera; ya que, la presencia de esto, ocasiona una serie de eventos desafortunados como: pérdida económica en la producción lechera, sufrimiento del animal además de los efectos adversos en la calidad de la leche y de los productos derivados de ella (Ruiz y col., 2011).

Enfermedades Transmitidas por Alimentos

Las enfermedades de transmisión alimentaria, son consideradas en la actualidad como uno de los principales problemas de salud pública tanto en México como a nivel mundial (Alerte y col., 2012). Las enfermedades gastrointestinales son responsables de un alto nivel de morbilidad y mortalidad, afectando principalmente a la población pobre, niños, mujeres embarazadas y ancianos; de la misma forma, se generan grandes pérdidas económicas y grandes costos de salud (Arreola y Graciela, 2013).

Se estima, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que la incidencia anual de diarrea en el mundo es de aproximadamente 1,500 millones de casos, teniendo una mortalidad anual de 3 millones en niños menores de 5 años (Alerte y col., 2012), siendo la contaminación (cruzada o directa) en los alimentos una de las principales causas de las enfermedades gastrointestinales como se mencionó anteriormente; otros de los factores partícipes es la falta de higiene, la mala cocción y la exposición a productos físicos así como químicos juegan un papel importante, sin dejar de mencionar la presencia de microorganismos patógenos.

Principales Microorganismos Patógenos Transmitidos por Alimentos

Existe un creciente interés relacionado con las malas prácticas sanitarias en la preparación de alimentos y su relación con la producción de brotes alimentarios, debido a que los microorganismos patógenos pueden pasar de un alimento a otro por contacto directo o bien a través de quienes los manipulan, de las superficies de contacto o del aire (Rodríguez y col., 2009).

Uno de los principales alimentos considerados transmisores de microorganismos patógenos es la leche cruda o bronca; así como también, los productos derivados de esta. Dichos alimentos, son considerados por su valor nutricional, un excelente medio para el desarrollo y preservación de una gran variedad de microorganismos pertenecientes a diversas especies bacterianas. El hecho de que el microorganismo tenga la capacidad de reproducirse, dependerá directamente del número, producto del metabolismo y la temperatura (Wolter, 2004).

Los análisis microbiológicos de la leche cruda y el queso, ha revelado diferentes niveles de calidad y seguridad y, han habido reportes de resultados positivos en la detección de algún patógeno y, puede existir el caso en que la carga bacteriana en el producto sea mínima y no pueda ser detectado por los métodos convencionales utilizados (Brooks y col., 2012).

A continuación, se describen algunas de las especies bacterianas y de interés clínico comúnmente encontradas en la leche o en sus derivados.

Listeria monocytogenes:

La importancia de la leche y productos lácteos crudos como vehículo para la transmisión de diversas enfermedades, especialmente en los países donde normas de higiene no se hacen cumplir estrictamente, ha sido bien documentado (Chiang y col., 2012). Lo anterior representa dos categorías como son: no procesamiento y procesamiento de alimentos específicos con respecto a la evaluación del riesgo de listeriosis (Chatelard y col., 2015).

La listeriosis humana, es una de las más importantes y peligrosas enfermedades, de tipo esporádica, transmitida por alimentos asociada al consumo de leche contaminada, queso fresco, carne mal cocinada y verduras crudas sin lavar. La listeriosis, es causada por el bacilo Gram positivo *Listeria monocytogenes*, principalmente. *Listeria* sp., es considerado como una bacteria saprófita ambiental, sin embargo tiene la capacidad de convertirse en un patógeno intracelular facultativo (Rahimi y col., 2010).

Los grupos de personas con un mayor índice de susceptibilidad, serán aquellas personas que tengan un sistema inmune comprometido por alguna enfermedad subyacente (cáncer, SIDA, diabetes, hepatitis crónica, algún desorden metabólico), mujeres embarazadas, recién nacidos, ancianos mayores de 65 años y otros individuos inmunocomprometidos (Ruckerl y col., 2014).

Listeria monocytogenes y el queso. Como se ha mencionado *L. monocytogenes*, es un contaminante frecuente en los ambientes de granja lechera, especialmente bovina. La leche cruda puede estar contaminada con *L. monocytogenes*, proveniente de equipos impuros durante el ordeño, durante el almacenamiento en tanques a granel o en transporte a la planta de procesamiento de queso, donde las medidas de control de higiene no son suficientes (Lucke y col., 2014).

La incidencia de *L. monocytogenes* en leche cruda varía entre 0,4 a 16%. Distintos factores que pueden explicar esta variabilidad, incluyen: las diferentes situaciones geográficas, estación de muestreo, métodos de detección, el tamaño y la acción de gestión agrícola. Investigaciones anteriores han demostrado que las fuentes de contaminación en el queso provienen de la leche cruda, leche pasteurizada o leche que inadecuadamente fue manejada después de la pasteurización y se contaminó con los microorganismos presentes en un inicio (Lomónaco y col., 2009).

La contaminación por *L. monocytogenes*, ocurre en varias etapas de producción del queso y es originada a partir de múltiples fuentes, incluyendo salmuera, drenajes, suelos, materiales de envasado, tina de queso, estantes, tela de queso, cuchillo de corte de la cuajada, cepillos y refrigeradores (Melo y col., 2015).

Salmonella spp.

Salmonella es un género de la familia *Enterobacteriaceae*, la cual se caracteriza por ser una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa, por lo general, son bacterias móviles gracias a la presencia de flagelos peritricos, aunque pueden existir especies inmóviles (Sánchez, 2009).

Salmonella spp., es un patógeno conocido, ya que ha sido implicado en un gran número de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. En 2012, en el continente Europeo, fueron confirmados 91 034 casos y en Estados Unidos 1 millón de casos. En promedio, cada año hay 19 000 hospitalizaciones y 380 muertes (Domenech y col., 2015).

El principal serotipo de *Salmonella* spp., en ocasionar los brotes alimenticios es Typhimurium, ésta puede persistir en el tracto gastrointestinal y excretarse en las heces (Lam y Monack, 2014).

La mayoría de las infecciones por *Salmonella* spp, resulta en una enfermedad gastrointestinal autolimitante, caracterizada porque, aproximadamente, el 70% de los pacientes presenta diarrea aguda, fiebre y calambres abdominales (Chaves y col., 2015).

Los quesos elaborados con leche cruda pueden ser menos seguros. En Europa, *Salmonella* spp ha sido implicado en varios brotes de origen alimentario; sin embargo, del 49% de los brotes alimenticios, solo 1,8% fueron ocasionadas por *Salmonella* spp; de este 1,8% , el 19% de los casos implican a la leche y productos lácteos (Serraino y col., 2012)

***Escherichia coli* O157:H7**

Escherichia coli (*E. coli*) O157:H7, es conocida como un microorganismo emergente, que surgió como un importante patógeno transmitido por los alimentos desde el año de 1982, y es desde ese momento, en el que los brotes en restaurantes de comida rápida, alimentos no pasteurizados, han presentado un aumento (Tu y col., 2011). Este microorganismo, es uno de los varios serotipos existentes, los cuales son capaces de producir la toxina Shiga, teniéndose la teoría de que este microorganismo tuvo la capacidad de evolucionar a través de la adquisición horizontal de los genes de la toxina Shiga y otros factores de virulencia (Bari e Inatsu, 2014).

De acuerdo al mecanismo de patogenicidad y características del cuadro clínico, *E. coli* O157:H7 es causante de diarrea, se divide en seis grupos: enterotoxigénica, enteroinvasiva, enteroagregativa, enteropatógena, de adherencia difusa, y enterohemorrágica (EHEC), esta última también conocida como productora de verotoxina (Lluque y col., 2010).

La *E. coli* O157:H7, es un patógeno que puede ser encontrado regularmente en las heces de ganado sano y se transmite a los seres humanos a través de alimentos contaminados, agua, y el contacto directo con personas o animales infectados; es además asociado a casos esporádicos y brotes con la presencia de diarrea con sangre, la cual puede progresar y complicarse gravemente, ocasionando lo que se conoce como síndrome urémico hemolítico, afectando principalmente a jóvenes y ancianos (Fratamico y DebRoy, 2010).

Los brotes asociados con *E. coli* O157: H7, incluyen alimentos de origen bovino como es la carne molida, ya que el ganado vacuno, juega un papel de gran importancia, debido a la presencia de toxinas Shiga provenientes de *E. coli* O157:H7 (Varela y col., 2007), igualmente, el

queso producido a partir de leche cruda y también productos como jugo de manzana y agua potable (Zilelidou y col., 2015).

La leche cruda y los productos derivados de esta, pueden ser una fuente importante de bacterias potencialmente dañinas para la salud humana. El tema de los peligros para la salud pública asociados con el consumo de leche cruda y productos provenientes, al igual que los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos contaminantes, han sido reportados en el mundo; sin embargo, sigue teniendo una comercialización muy grande a nivel internacional. (Reitsma y Henning, 1996).

***Escherichia coli O157:H7* y su patogénesis.** La serie de hechos ocurridos a partir del momento en que ésta adentra en el organismo humano y por la cual establece la infección y establece la enfermedad no se encuentra explicada detalladamente, por lo que es difícil comprender tal mecanismo.

En la actualidad, se conoce que este microorganismo es capaz de ocasionar la enfermedad en el hombre, cuando se llegue a consumir una carga bacteriana mínima de 100 microorganismos (ya sea en mililitros o gramos), con dicha cantidad la bacteria tiene la capacidad de sobrevivir a las condiciones ácidas del estómago y colonizar el intestino (Mohawk y col., 2010). Como se comentó al inicio del tema, el principal factor de virulencia de O157:H7, es la producción de la toxina Shiga, la cual está íntimamente relacionado con el desarrollo de Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) (Melton y col., 2011). Una vez que se encuentre íntimamente adherida a la mucosa intestinal, se considera que requiere la expresión de la proteína de membrana externa bacteriana y otros factores secretados a través del sistema de secreción de tipo III (SSTT), el cual junto con la intimina, proteína presente en la membrana bacteriana, le permite la adhesión al enterocito y la destrucción de las microvellosidades adjuntas, lo cual se asocia a la presencia de diarrea (Croxen y col., 2013; Pennington, 2010). Lo anterior se conoce como la formación de un pedestal y se logra una modificación en intestino, dándose una mala absorción de nutrientes (Zilelidou y col., 2015).

Staphylococcus aureus

Desde que los seres humanos comenzaron a domesticar animales lactantes, la leche y productos lácteos fermentados han sido una parte fundamental de nuestra dieta. Tanto la cabra como el ganado, fueron los primeros animales productores domesticados; así mismo, el

reciente interés por parte de la comunidad y de los productores por obtener un producto el cual conserve la características particulares como sabor y textura de la leche cruda, han llevado al descuido de la calidad, por lo que la presencia de microorganismos como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ha ido en incremento (Kousta y col., 2010).

S. aureus, son bacterias Gram positivas con forma de coco y se agrupan en forma de racimos. Es considerada como la tercera causa más importante de enfermedad en el mundo, esto entre las enfermedades transmitidas por los alimentos (Duquenne y col., 2016) .

Las intoxicaciones por *S. aureus*, son ocasionadas por la ingestión de alimentos que contienen una o más enterotoxinas preformadas por parte de *S. aureus*. Los síntomas presentan un inicio rápido, los cuales incluyen la presencia de vómitos, náuseas y diarreas (Kousta y col., 2010).

S. aureus es frecuentemente encontrado en las membranas de las mucosas de la nariz tanto de animales como de seres humanos, así como también, en los pezones de los animales que son destinados a la ordeña (Mork y col., 2009). La presencia de *S. aureus*, en leche cruda y a granel, es reportada por varios investigadores, pero el destino de las bacterias durante el proceso de fermentación de la producción de queso de leche cruda no ha sido aclarada (Jakobsen y col., 2011).

***Brucella* sp.**

Brucella sp es un cocobacilo Gram negativo, que miden alrededor de 0,6 a 1,5 micras por 0,5-0,7 micras. Es no productor de esporas y carece de cápsula o flagelos y, por lo tanto, es considerado inmóvil (Baron, 1996). La brucelosis, es la enfermedad de tipo zoonótica más frecuente, ya que su incidencia varía entre 1.3 y 70.0 casos por cada 100 000 habitantes; estas diferencias son dependientes de las características de cada nación; sin embargo, se calcula que cada año se infectan 500 000 personas en todo el mundo (Méndez y col., 2015).

Brucella sp, es un microorganismo presente en los animales, principalmente en los bovinos, siendo *Brucella abortus* la causante del mayor grado de infección (Ali y col., 2013). Otro punto importante a mencionar es que la incidencia de *Brucella* sp en leche es alta; por lo que el consumo de la misma, y los productos derivados de los animales, es la fuente principal de infección en los seres humanos (Shafei y col., 2012).

En estudios realizados, en distintas granjas bovinas, se ha demostrado que la incidencia de *Brucella* sp en leche bronca fue de 5% y aunque su prevalencia es mínima, se deben de

implementar medidas preventivas estrictas, las cuales ayuden a evitar la contaminación de la leche, o bien del producto en alguna fase del proceso (Gogoi y col. 2015).

Con base a estadísticas realizadas hasta el año 2014, por el departamento de epidemiología de la Secretaría de Salud del gobierno de México, revela (**Tabla 1**) que la incidencia de *Brucella* sp en la república mexicana es de 2.12%, del cual el estado Zacatecas presenta el mayor porcentaje con un 10.68% de casos, mientras que Yucatán no presenta (0%). El estado de Sonora, conocido por ser uno de los principales productores en ganadería tiene una incidencia de 3.49%.

Tabla 1. Incidencia de Brucelosis por grupos de edad en Estados Unidos Mexicanos 2014

Estado	Grupos de edad										Incidencia*	
	<1	1-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-44	45-49	50-59	60-64		65 y +
Aguascalientes	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.54	0.00	1.93	0.00	2.83	0.47
Baja California	0.00	0.00	0.00	0.64	0.31	1.61	0.73	2.31	2.01	0.00	4.00	0.99
Baja California Sur	0.00	1.82	0.00	0.00	0.00	1.51	1.23	2.31	3.26	0.00	0.00	1.08
Campeche	0.00	0.00	0.00	0.00	3.63	0.00	3.98	3.98	2.66	3.86	3.74	2.35
Coahuila	0.00	3.74	2.94	4.38	3.69	7.51	7.10	9.69	6.13	8.83	4.79	5.78
Colima	0.00	0.00	0.00	3.18	1.58	0.00	0.91	2.39	1.55	13.46	0.00	1.41
Chiapas	0.00	0.23	0.53	1.22	1.25	1.82	3.28	2.43	4.39	7.09	2.21	2.14
Chihuahua	0.00	0.73	0.56	0.58	0.60	1.93	2.58	3.93	0.61	3.68	2.14	1.69
Distrito Federal	0.00	0.00	0.16	0.00	0.14	0.28	0.57	0.50	0.71	0.27	0.64	0.41
Durango	0.00	0.76	4.13	5.19	4.66	3.19	6.64	4.16	6.87	1.95	2.50	4.64
Guanajuato	0.00	0.44	2.46	2.76	3.30	3.60	3.39	3.53	4.97	6.18	5.15	3.28
Guerrero	0.00	0.00	0.00	0.00	0.27	0.00	0.54	0.00	0.73	0.98	0.40	0.28
Hidalgo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.62	0.40	0.00	0.00	0.14
Jalisco	0.00	0.00	0.27	0.41	0.55	1.43	1.37	2.29	1.81	1.24	1.32	1.06
México	0.00	0.00	0.13	0.20	0.60	1.17	0.61	0.69	0.73	0.00	0.53	0.51
Michoacán	0.00	2.00	4.08	6.80	6.12	6.49	7.87	8.72	7.13	3.60	6.70	6.27
Morelos	0.00	0.00	0.00	0.00	1.16	4.74	3.09	3.59	1.70	0.00	0.00	1.79
Nayarit	0.00	0.00	1.71	0.00	0.92	0.00	2.56	3.05	0.99	10.67	1.15	1.67
Nuevo León	0.00	0.57	1.12	1.81	2.54	1.91	1.91	1.25	1.93	2.54	3.04	1.82
Oaxaca	0.00	0.00	0.25	0.00	0.25	1.40	0.57	0.98	0.31	0.00	0.32	0.43
Puebla	0.80	1.63	4.57	5.01	3.29	4.45	5.82	5.91	7.31	9.69	4.94	4.97
Querétaro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.55	1.82	0.89	0.62	0.00	0.00	0.76
Quintana Roo	0.00	0.00	0.00	0.00	1.46	2.74	2.85	3.45	0.90	3.08	0.00	1.70
San Luis Potosí	0.00	0.00	0.75	0.74	2.24	2.46	2.66	3.36	3.04	1.22	1.48	1.91
Sinaloa	0.00	2.84	5.59	7.64	6.53	10.13	10.60	10.39	11.97	7.70	10.90	8.77
Sonora	0.00	0.00	0.37	0.74	2.68	2.41	5.24	5.20	8.30	2.18	3.76	3.49
Tabasco	0.00	0.00	0.00	0.89	3.14	2.79	2.09	3.75	2.31	3.04	2.26	1.91
Tamaulipas	0.00	0.41	0.62	3.49	3.55	4.73	5.31	3.67	2.82	4.64	1.29	3.45
Tlaxcala	0.00	0.00	4.80	1.60	4.11	3.26	3.52	5.81	5.92	2.95	2.60	3.57
Veracruz	0.71	0.00	0.00	0.14	0.67	0.86	0.67	0.84	0.80	0.36	0.48	0.53
Yucatán	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Zacatecas	0.00	3.32	7.81	8.46	3.32	12.30	12.55	11.72	19.53	28.68	9.23	10.68
TOTAL GLOBAL	0.09	0.49	1.17	1.59	1.75	2.43	2.66	2.83	2.89	2.83	2.26	2.12

http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2014/incidencia/enfermedad_grupo_edad_entidad_federativa/029.pdf

***Leptospira* sp.**

Dentro de los microorganismos que a pesar de que su prevalencia no es tan alta en México, su presencia en la contaminación de alimentos es importante, están las espiroquetas pertenecientes al género *Leptospira*. (Benavides y col., 2012); el género *Leptospira*, se divide en dos especies: *Leptospira interrogans* y *Leptospira biflexa*. Siendo la primer especie la de mayor importancia, debido a su patogenicidad, mientras que la segunda, es saprófita (Szwako y col., 2015). *Leptospira interrogans* es el grupo de mayor importancia y dicho grupo se encuentra dividido en más de 20 serogrupos, dentro de los cuales se incluyen 227 variedades, las cuales son capaces de producir una infección (Zárate y col., 2014).

La leptospirosis, es una enfermedad de distribución mundial y se encuentra ampliamente distribuida en reservorios animales, entre los que se encuentran los bovinos. Los animales infectados pueden distribuir las leptospiras a su entorno mediante la orina, las descargas vaginales, después de labor de parto y también de la leche, siendo estos los principales agentes contaminantes (Olazarán y col., 2013). La leptospirosis, se caracteriza por ser de curso agudo con aparición repentina de fiebre, hematuria (sangre en orina) e inclusive llegar hasta la muerte del animal (Gontafalla y Pirela, 2015).

En la actualidad, en los sistemas de producción ganadera, el tema de leptospirosis tiene una gran relevancia sobre el impacto que esta tiene sobre la producción y productividad, los cuales pueden estar seriamente afectados, ya sea por los problemas de infertilidad, abortos, bajas en la producción láctea y mortalidad en el ganado (Crespo y col., 2013).

Si bien la presencia de Leptospirosis no es tan frecuente como la de brucelosis, en la república mexicana presenta el 0.23% de casos (**Tabla 2**), siendo Tabasco con el 6.06% el estado con mayor número de casos reportados de personas entre la edad de 50 a 59 años, mientras que el estado de Sonora presenta 0.10% de casos que oscilan entre 25 a 44 años, esto con base a estudios realizados hasta el año 2014 por el departamento de epidemiología de la Secretaría de Salud del gobierno de México.

Tabla 2. Incidencia de Leptospirosis por grupos de edad en Estados Unidos Mexicanos 2014

Estado	Grupos de edad										Incidencia*	
	<1	1-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-44	45-49	50-59	60-64		65 y +
Aguascalientes	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Baja California	0.00	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06
Baja California Sur	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Campeche	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.99	0.00	3.86	0.00	0.22
Coahuila	0.00	0.00	0.37	0.00	0.00	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07
Colima	0.00	0.00	1.56	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14
Chiapas	0.00	0.68	0.18	0.35	0.72	0.61	0.49	0.00	0.27	0.00	0.37	0.42
Chihuahua	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Distrito Federal	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Durango	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Guanajuato	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Guerrero	0.00	0.35	0.00	0.00	0.53	0.30	0.32	0.58	0.00	0.00	1.59	0.34
Hidalgo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.38	1.21	0.25	0.62	0.80	1.13	1.01	0.42
Jalisco	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
México	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Michoacán	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Morelos	0.00	0.00	0.58	0.00	0.00	2.96	1.64	1.80	0.57	0.00	0.00	0.95
Nayarit	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Nuevo León	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Oaxaca	0.00	0.00	0.00	0.25	0.25	0.00	0.09	0.00	0.31	0.00	0.00	0.10
Puebla	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.57	0.00	0.02
Querétaro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Quintana Roo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
San Luis Potosí	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sinaloa	0.00	0.00	0.37	0.36	0.36	0.39	0.58	0.58	1.86	0.00	0.47	0.51
Sonora	0.00	0.00	0.00	0.00	0.38	0.00	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10
Tabasco	0.00	1.67	4.90	4.88	8.06	7.91	5.73	5.24	9.55	9.13	6.79	6.06
Tamaulipas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tlaxcala	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Veracruz	0.00	0.18	0.00	0.14	0.27	0.43	0.53	0.42	0.40	0.73	0.63	0.38
Yucatán	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.32	0.86	0.00	0.00	0.00	0.14
Zacatecas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TOTAL GLOBAL	0.00	0.09	0.14	0.15	0.27	0.32	0.24	0.23	0.30	0.30	0.26	0.23

http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2014/incidencia/enfermedad_grupo_edad_entidad_federativa/102.pdf.

Buenas Prácticas de Manufactura

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son un conjunto de directrices, los cuales establecen los principios básicos y las prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de los alimentos para el consumo humano. Las Buenas Prácticas de Manufactura, nos garantizan un entorno laboral limpio y seguro que, al mismo tiempo, evite la contaminación del alimento en las distintas etapas de su producción, industrialización y comercialización (Salgado y Teresa, 2007).

Las BPM son una herramienta básica para obtener productos seguros para el consumo humano, ya que se basan en la higiene y la forma de manipulación de los alimentos por parte de las personas; son útiles para el diseño y el funcionamiento de los establecimientos, así como para el desarrollo de procesos de elaboración de productos lácteos (Oliva, G.y Oliva, J., 2014).

Sin embargo, en muchas ocasiones, las Buenas Prácticas de Manufactura no son llevadas a cabo correctamente por lo que, en la mayoría de los casos los productos suelen presentar contaminación (FAO, 2011). Los alimentos se pueden contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluido los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo. En estos últimos, las deficiencias en su manipulación por parte de aquellas personas responsables de su preparación determinan importantes problemas de salud pública, particularmente en los países en vías de desarrollo (Boucher y col., 2009).

Por lo tanto, cuando las Buenas Prácticas de Manufactura no cumplen con las medidas de higiene requeridas en la preparación y distribución de los alimentos, es cuando llegan a afectar a la Salud Pública. La higiene de las superficies, equipos y utensilios, son unos de los principales pilares donde se asientan las Buenas Prácticas de Manufactura y se considera que entre el 6 y 15% de los alimentos elaborados poseen algún tipo de contaminación, cifra que podría dispararse de manera súbita, más en un mercado de producción a escala macro como lo hacen las industrias alimenticias en la actualidad, la respuesta a estos grados de contaminación son varias, pero una de ellas se basa en la comprobación de que existen microorganismos capaces de resistir los tratamientos habituales de limpieza (Arzu y col., 2000).

METODOLOGÍA

Este trabajo de tesis forma parte de un Proyecto del Laboratorio de Innovación para la Producción Inocua y Sustentable de Alimentos en Comunidades Rurales del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), llevado a cabo en la Quesera ubicada en el Yunque en la Región de Cobachi, Sonora (**Figura N°4**).



Figura 4. Mapa de Localización de Cobachi en el Estado de Sonora.

<http://www.tageo.com/index-e-mx-v-26-d-m2332999.htm>

Planteamiento del Estudio

Para dar inicio a este trabajo, primero se seleccionaron las áreas a evaluar como son sala de ordeño, sala de proceso y sala de almacenamiento. Una vez hecho eso, se procedió a seleccionar los sitios de análisis en cada área.

Los puntos a analizar fueron: personal involucrado en la elaboración del producto, queso, leche y su procedencia (pezones de la vaca en ordeña). Después, se realizó el análisis experimental que involucró desde la toma de muestra hasta su análisis microbiológico.

Se realizaron un total de tres muestreos y un análisis preliminar, teniendo como inicio el mes de agosto del 2015 y finalizando en marzo del 2016. Se realizó el análisis microbiológico por triplicado y se manejaron cepas controles positivos y negativos para cada uno de los análisis realizados. Cabe mencionar que el análisis se realizó mediante presencia o ausencia del microorganismo.

Toma de Muestra

Formas de Recolección de las Muestras

Al personal involucrado durante la toma de muestras, se le realizó una limpieza de manos con agua y jabón, finalizando con etanol al 70 %. Se usaron botas, guantes estériles, cofia, cubreboca y bata.

Las muestras analizadas se tomaron en base a la 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 y a su vez, dependieron del grupo de estudio. Por lo tanto, la recolección se dividió de la siguiente manera.

Áreas de Muestreo

Sala de ordeño

Ubres de vacas (ordeñadas). La obtención de la muestra se llevó a cabo limpiando con un hisopo estéril las ubres de las vacas (destinada a ordeña) y de la cual se obtuvo la muestra de leche. Al finalizar la limpieza con el hisopo, este fue colocado en el medio de transporte

Cary-Blair, manteniéndolo en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C hasta llegar al laboratorio.

Leche de directa de la vaca. Se tomaron muestras de leche de las vacas que en ese momento se encontraban destinadas para su ordeño y elaboración del queso. Para minimizar la contaminación de la leche, se descartaron los primeros chorros de leche, con el objetivo de eliminar la microbiota normal del canal y el orificio del pezón. El pezón fue desinfectado con hipoclorito de sodio al 0,1% (NaClO 0,1%), y se prosiguió a secar cada pezón con una toalla de papel individual. Una vez realizada la correcta limpieza del pezón de la vaca, se realizó la recolección de la leche. Se recuperó aproximadamente 150 mL de leche en total por vaca (40 mL aproximadamente por pezón) en bolsas estériles Whirl-Pak Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.

Leche del depósito. Directo del depósito de la leche, una vez terminada la ordeña, se tomaron aproximadamente 150 mL de leche con un recipiente estéril. La leche se depositó en bolsas estériles Whirl-Pak Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.

Faringe. La obtención de la muestra de exudado faríngeo, se realizó introduciendo un hisopo estéril en el fondo de la garganta de la persona, tocando únicamente la faringe y las amígdalas, evitándose tocar la lengua, una vez que se tomó la muestra, se colocó en medio de transporte Cary-Blair manteniéndose en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C para su transporte al laboratorio (González y col., 2004).

Narinas. La obtención de la muestra nasofaríngea, se llevó a cabo introduciendo un hisopo estéril en las fosas nasales (izquierda y derecha) y con un movimiento rotatorio se tomó la muestra y, se colocó en medio de transporte Cary-Blair manteniéndose en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C para su transporte al laboratorio (González y col., 2004). Se colocaron en un medio de transporte manteniéndolo en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C hasta llegar al laboratorio (González y col., 2004).



Figura 5. Sala de Ordeño.

Sala de Proceso

Leche de la tina de cuajado. Una vez introducida la leche de la Sala de Ordeña a la Sala de Proceso, se tomaron directo de la tina de cuajado aproximadamente 150 mL de leche con un recipiente estéril. La leche se depositó en bolsas estériles Whirl-Pak Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.

Producto precipitado (cedazo). Una vez transcurrido el tiempo de cuajado, se tomaron directo de la tina de cuajado aproximadamente 150 ml de cuajo con un recipiente estéril, se depositó en bolsas Whirl-Pak estériles Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.

Queso. La toma de muestra del queso recién elaborado, se llevó a cabo con ayuda de un cuchillo estéril y se procedió a tomar una muestra representativa, la cual fue introducida en una bolsa estéril Whirl-Pak Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.

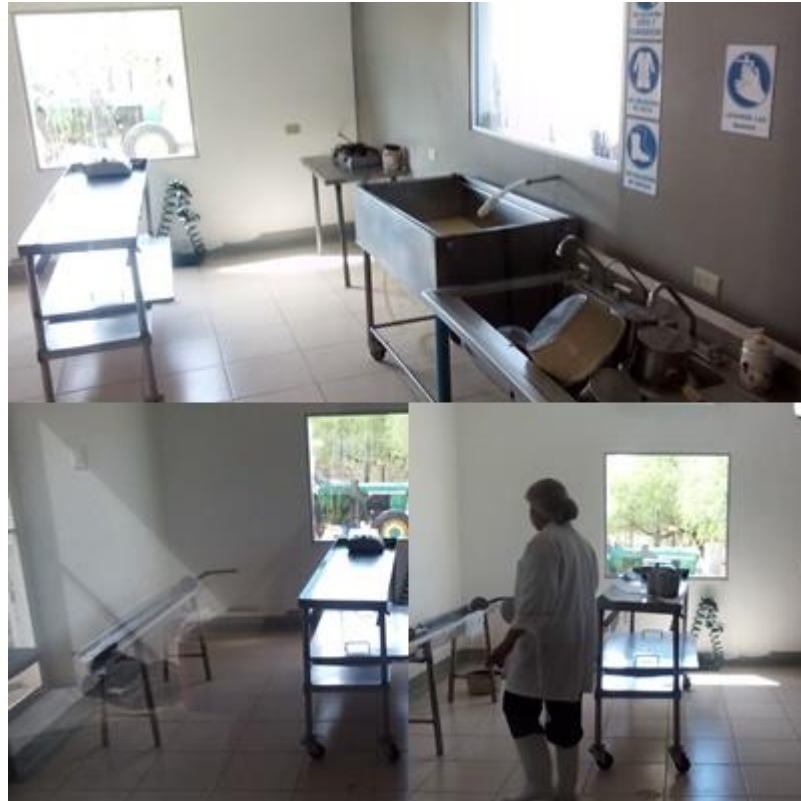


Figura 6. Sala de Preparación.

Sala de almacenamiento de quesos

Queso almacenado. La toma de muestra del queso recién elaborado, se llevó a cabo con ayuda de un cuchillo estéril y se procedió a tomar una muestra representativa, la cual fue introducida en una bolsa estéril Whirl-Pak Nasco y mantenida en refrigeración, a una temperatura aproximadamente de 10°C durante su transporte al laboratorio.



Figura 7. Sala de Almacenamiento.

Técnicas de Análisis Microbiológico

Determinación *Escherichia coli* O157:H7

La metodología para la identificación de *Escherichia coli* O157:H7 se realizó en base a lo expuesto en la FDA-BAM, 2011. Se tomaron 25 mL de la muestra y se colocaron en 225 mL de caldo EC modificado, añadiendo 225 μ L de antibiótico Novobiocina al 2%; se debió de homogeneizar homogenizó y se incubó a 37 °C por un periodo de 24 y 48 horas. Después de las 24 horas transcurridas, la muestra se sembró por la técnica de estría cruzada en un medio Agar MacConkey Sorbitol y se incubaron por 24 horas a 37 °C.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se observaron las placas y las colonias Sorbitol negativa, se identificaron mediante pruebas bioquímicas como: utilización de citrato, fermentación de carbohidratos en Agar Tres Azúcares y Hierro (TSI), movilidad, producción de indol y la utilización de la ornitina (Medio MIO), producción de la enzima β -D-glucuronidasa, la cual actúa sobre el sustrato 4-metilumbelifenil- β -glucoronido (MUG), transformándolo en 4-

metilumbeliferona, la cual es un compuesto fluorescente y que deberá de ser observado bajo luz ultra violeta (UV).

Las cepas presuntivas de *E. coli* O157:H7, que presentaron las características de los controles positivos de *E. coli* O157:H7 ATCC 43890, se sembraron e incubaron en Agar EMB, con la finalidad de comprobar el brillo metálico característico que *E. coli* genérica desarrolla.

En las figuras 8 a la 10 se muestran los controles utilizados durante el proceso de análisis microbiológico en el laboratorio.



Figura 8. Control positivo *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43890 (A) y control negativo *Escherichia coli* ATCC 25922 (B) en agar MacConkey Sorbitol.



Figura 9. Control positivo *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43890 (A) y control negativo *Escherichia coli* ATCC 25922 (B) en agar EMB.

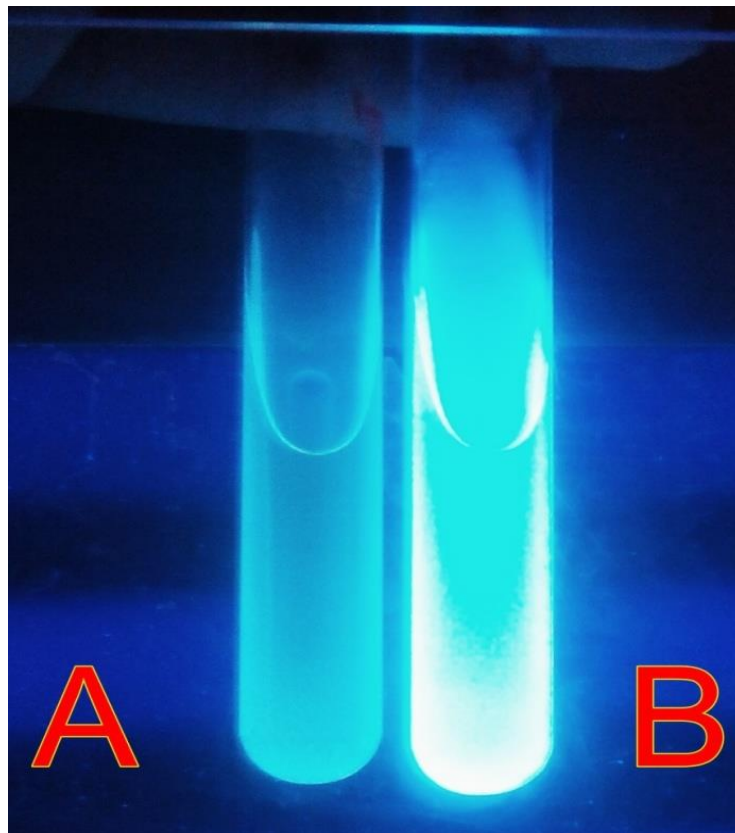


Figura 10. Producción de fluorescencia en Caldo EC mug del control positivo *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43890 (A) y control negativo *Escherichia coli* ATCC 25922 (B).

Determinación de *Salmonella* spp.

La determinación de la presencia de *Salmonella* spp. en las muestras, se basó en la Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de *Salmonella* en Alimentos. El cual se realizó de la siguiente forma, primero se realizó un preenriquecimiento, de manera aséptica, se tomaron 25 g de la muestra y se añadió en un recipiente el cual contenía 225 mL de Agua Peptonada Tamponada (APW, como se marca en la norma, para productos lácteos) y se incubó por un periodo de 24 horas. Después del tiempo de incubación, se agitó y se tomaron 2 mL, añadiendo 1 mL a un tubo que contenga previamente Caldo Tetracionato, adicionado con 100 µL de Verde Brillante al 0,1% mas 200 µL de Solución Yodo-Yoduro; y el mililitro restante se añadió a Caldo Selenito Cistina, se incubó por 24 horas a 37 °C. Como se establece en esta norma, los tubos de Caldo Tetracionato y Caldo Selenito Cistina, se pasaron a inocular en los medios selectivos: Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), Agar Entérico Hecktoen (EH) y el Agar Sulfito de Bismuto (SB).

Se prosigió con la incubación por 24 horas a 37 °C, una vez cumplidas las 24 horas, se observaron las colonias típicas de *Salmonella* spp., las cuales son descritas por la norma y se continuó con la identificación bioquímica, utilizando los medios: Agar Hierro Lisina (LIA), Agar Tres Azúcares y Hierro (TSI) y la prueba de la Ureasa.

En caso de haber obtenido un resultado positivo en el tubo con la prueba bioquímica Agar TSI, se realizó la confirmación mediante la serología por aglutinación, utilizando el antisuero polivalente A de *Salmonella* O en colonias provenientes de un agar Tripticasa Soya (TSA) incubadas por 24 horas.

En las figuras de la 11 a la 13, se muestran los controles utilizados durante el proceso de análisis microbiológico en el laboratorio.

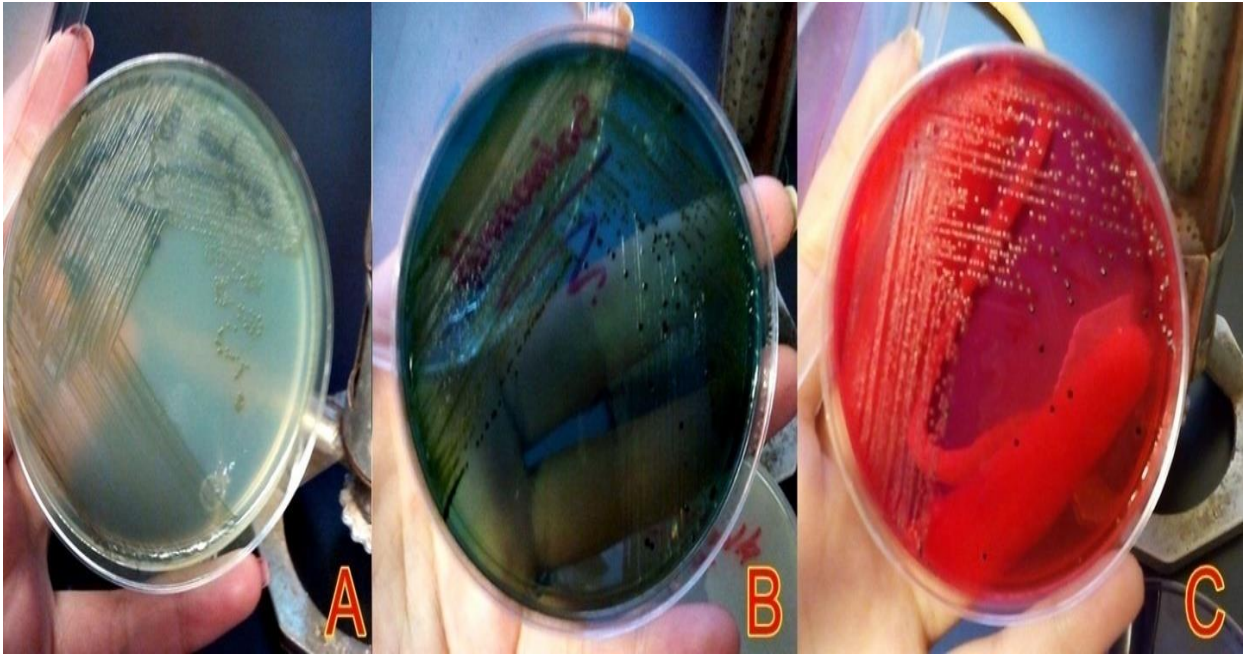


Figura 11. Desarrollo del control positivo *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en los medios Sulfito Bismuto Agar (A), Hecktoen Enteric Agar (B), XLD (C).



Figura 12. Desarrollo de control positivo *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en TSI (A), LIA (B) v Urea (C).

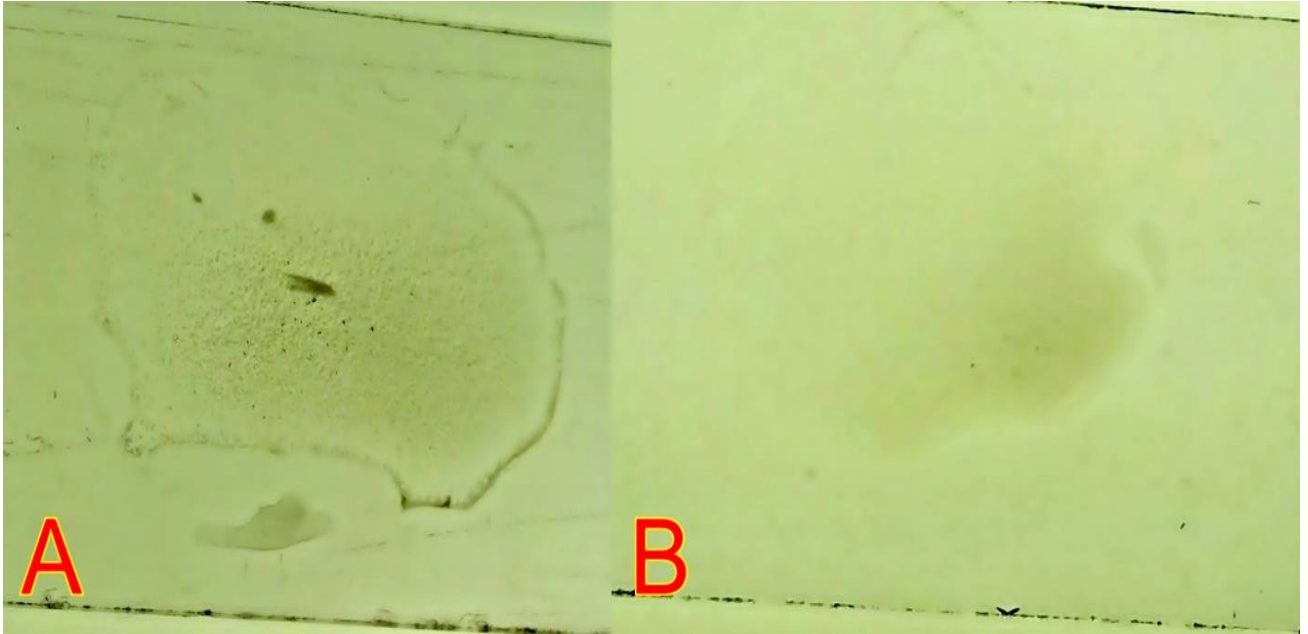


Figura 13. Serología positiva del control positivo de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ATCC (A) y muestra negativa (B)

Determinación de *Listeria monocytogenes*.

La determinación de la presencia de *Listeria monocytogenes* en las muestras, se basó en la Norma Oficial Mexicana, NOM-143-SSA1-1995, Bienes y Servicios. Método de Prueba Microbiológico para Alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.

Para dar inicio a este análisis, primeramente, se realizó un procedimiento de enriquecimiento, el cual consistió en tomar una muestra representativa del alimento, colocando aproximadamente 25 mL o 25 g. dependiendo del caso, en un recipiente, el cual contenía 225 mL de medio de enriquecimiento (EB), se homogeneizó e incubó por 48 horas a 30 °C.

Después del tiempo transcurrido de incubación, se realizó el aislamiento, para esto se sembró por duplicado en los medios LMP (Lithium Chloride Phenylethanol Moxalactam, por sus siglas en inglés) y OXA (*Listeria* Selective Agar Oxford Formulation, por sus siglas en inglés) y se incubó el medio LMP a 30 °C por 48 horas y las de medio OXA a 37 °C por el mismo periodo.

Pasado el tiempo incubación, se observaron las colonias de cada placa; las placas del medio LPM se observaron a simple vista con luz blanca; y las del medio OXA se examinaron las características coloniales presentes a simple vista.

Una vez que se identificaron por lo menos cinco colonias con características sospechosas en cada uno de los medios, se inocularon en el Agar Soya Trypticaseína con 0,6% de Extracto de Levadura (Medio ASTEL) y se incubó a 37°C por 24 horas.

Se realizó una tinción Gram, con la finalidad de verificar la presencia de bacilos Gram positivos, se pasó a realizar pruebas complementarias como son prueba de movilidad, prueba de catalasa, pruebas de hemólisis, prueba de CAMP; así como también, pruebas bioquímicas como reducción de nitratos, inoculación en medio SIM para observar la movilidad y finalmente la utilización de carbohidratos. Todo esto con el objetivo de confirmar la presencia de *L. monocytogenes*.

En las figuras de la 14 a la 16 se muestran los resultados de los controles utilizados para la detección de dicho microorganismo.

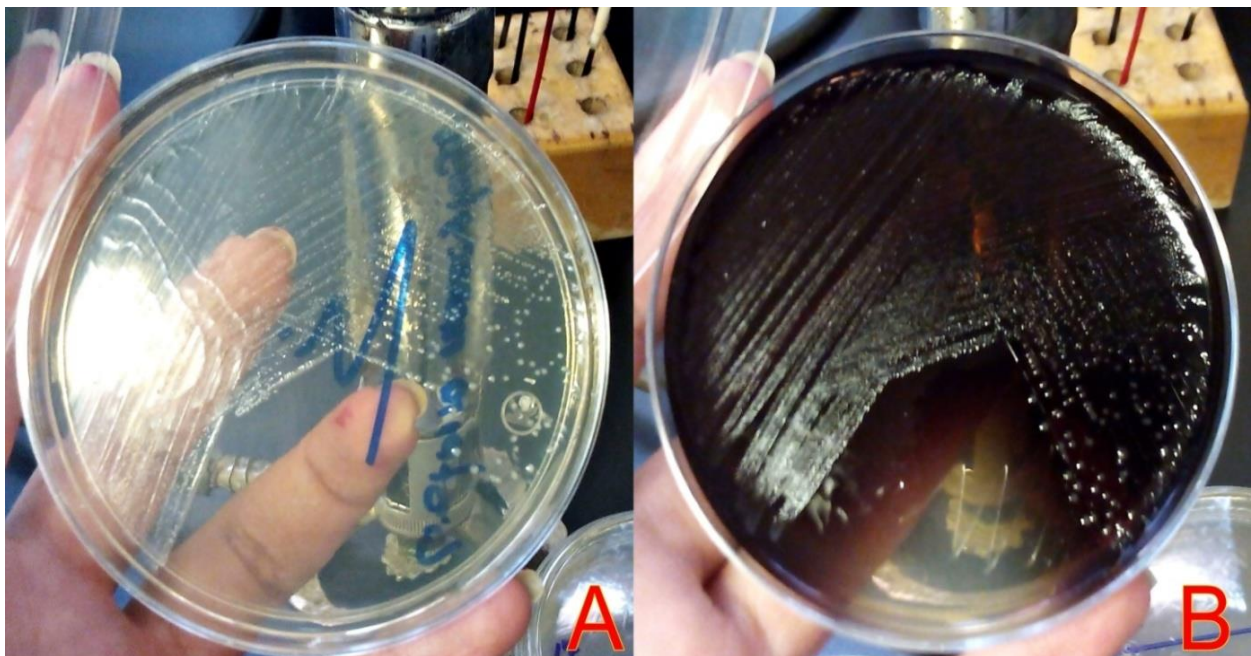


Figura 14. Desarrollo del control positivo *Listeria monocytogenes* ATCC 17644 en (A) Agar LMP v (B) agar OXFORD.

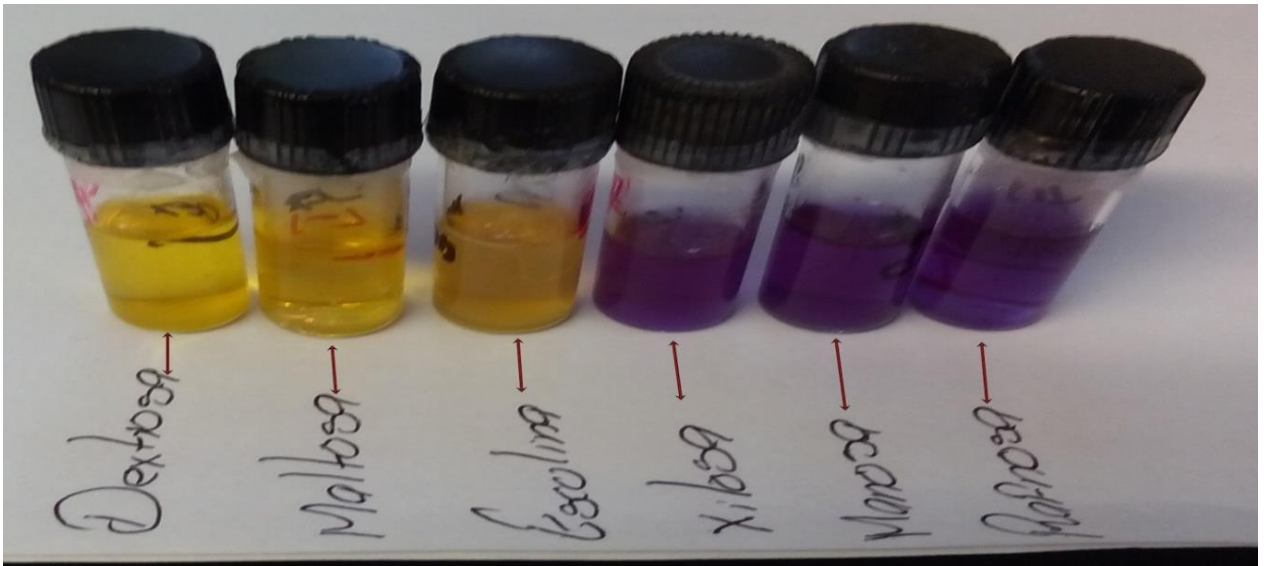


Figura 15. Desarrollo en caldo púrpura para carbohidratos del control positivo *Listeria monocytogenes* ATCC 17644.

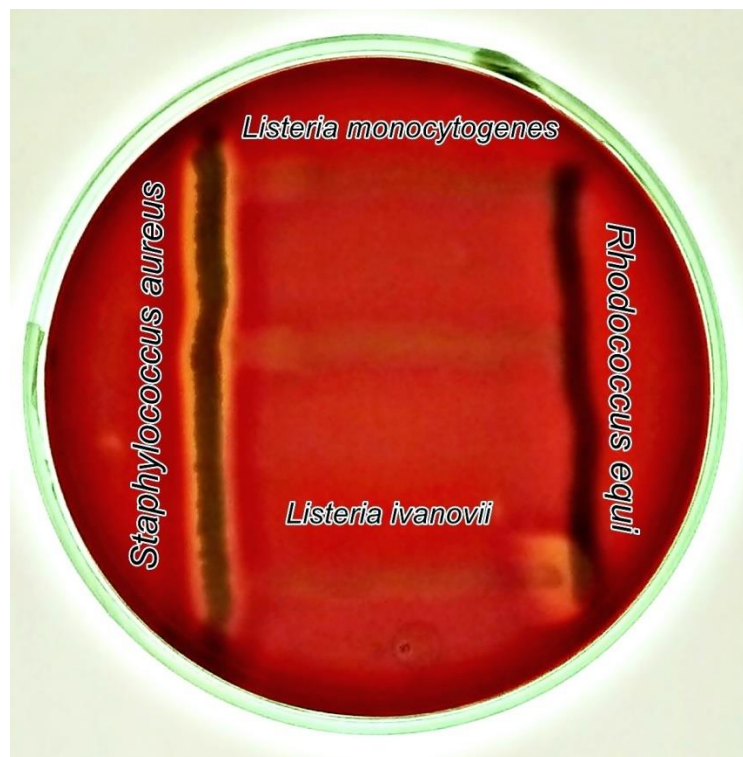


Figura 16. Prueba de CAMP de control positivo de *Listeria monocytogenes* ATCC 17644.

Determinación de *Staphylococcus aureus*

La metodología para la identificación de *Staphylococcus aureus* fue en base al artículo *Staphylococcus aureus*: patogenicidad e identificación de Zendejas y Col., 2014. Se inocularon en una placa con Agar Sangre y en un agar Baird Parker las muestras tanto faríngeas como nasofaríngeas, así como también muestras de hisopados de las ubres de las vacas a las cuales se le tomó muestra, posteriormente se pasó a realizar el estriado masivo con el hisopo y se incubó a 37°C por 24 horas.

Se observó el crecimiento de las colonias, y se observaron sus características mediante la presencia de hemólisis (alfa o beta) esto en Agar Sangre, mientras que en el Agar Baird Parker se observaron el desarrollo de colonias características, las cuales son negras con halos alrededor de la colonia. Se realizó también la tinción Gram. En caso de sospecha de la presencia de *Staphylococcus aureus* (beta hemolítica) en algunas de las muestras analizadas, se llevó a cabo la prueba de catalasa y coagulasa.

En las figuras de la 17 a la 19 se muestran los resultados de los controles utilizados para la detección de dicho microorganismo



Figura 17. Control positivo. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar sangre.

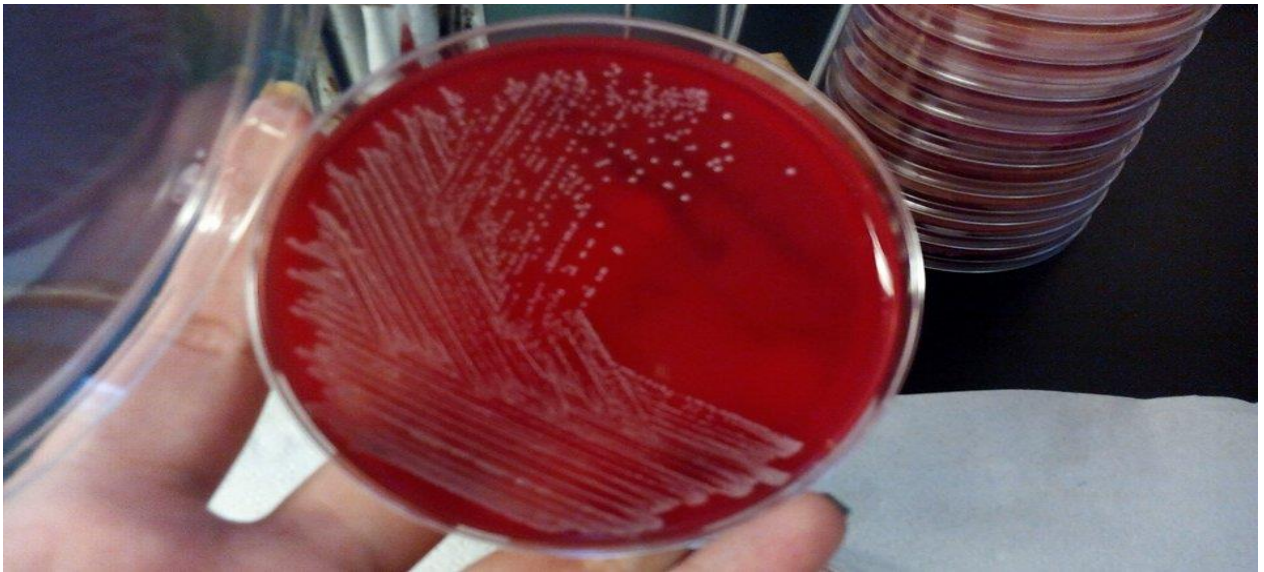


Figura 18. Control negativo. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 en agar sangre.

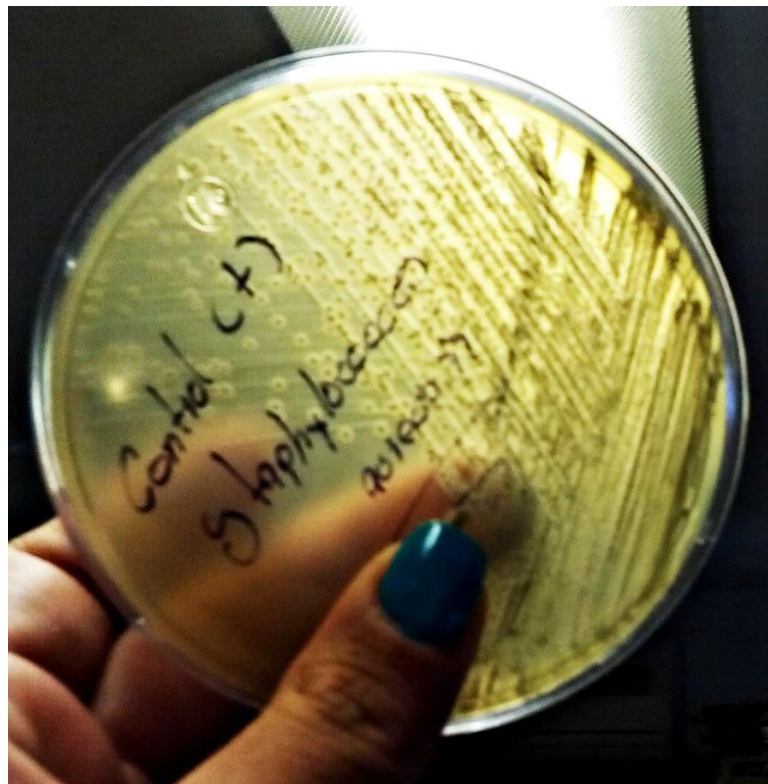


Figura 19. Control positivo. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar Baird-Parker.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Desde tiempos antiguos, en el Estado de Sonora, una de las principales actividades que el hombre ha venido realizando es la ordeña. Normalmente esta actividad ha sido realizada en áreas en las cuales no se cuentan con medidas básicas de higiene. Los lugares en los que normalmente se realiza esta actividad son debajo de árboles y con la presencia de otras especies de animales, de lo anterior se puede destacar que este proceso es realizado en la intemperie, en donde la posibilidad de contaminación de la leche es mayor.

La leche obtenida en estas condiciones es procesada para obtener productos, principalmente el queso, cabe mencionar que en muchas ocasiones este producto es elaborado a partir de la leche sin pasteurizar. Entre las principales ventajas que se encuentran al no pasteurizar la leche son: la leche conserva su composición original, al preservar todos aquellos nutrientes como vitaminas, proteínas, carbohidratos, grasas, así como su sabor original, y entre las desventajas más importantes están: no eliminar la presencia de aquellos microorganismos no deseados (patógenos), debido a que la leche no pasa por algún proceso térmico (pasteurización).

Es por lo anterior, que este producto (queso) en específico, se ha considerado como un vehículo en la transmisión de enfermedades, como se ha mencionado en repetidas ocasiones. Existe una gran diversidad de microorganismos presentes en el queso, los cuales van desde microorganismos que no son capaces de producir un daño significativo, hasta los que ocasionan un gran daño que pueden llevar a la muerte al ser humano como su principal consumidor. Estos microorganismos patógenos entre los cuales se encuentran *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp y la bacteria emergente conocida como *E. coli* O157:H7, son la base de distintos estudios en los cuales se ha llevado a cabo su detección en este producto, en base a distintos métodos.

En el rancho El Yunque, ubicado en la región de Cobachi, Sonora, se llevó a cabo el presente estudio para la búsqueda de patógenos en queso como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, en donde el análisis de las muestras obtenidas se llevó en base a Normas Oficiales Mexicanas. Se realizaron en total tres tomas de muestras durante los meses de agosto, noviembre y marzo, en cada uno se obtuvieron siete muestras referentes a cada una de las etapas del proceso producción; es decir, la recolección de la leche desde la fase de ordeña hasta el almacenamiento del producto final (queso). Cada una de las muestras fue analizada por duplicado. Por otro lado, se analizaron tres muestras como control positivo, a las cuales a cada uno se les inoculó las tres cepas de referencia: *Salmonella*

typhimurium ATCC 14028, *E. coli* O157:H7 ATCC 43890 y *L. monocytogenes* ATCC 17644. Así mismo, se analizaron tres muestras (por duplicado) de queso comercial elaborado con leche pasteurizada como control negativo.

En cada uno de los análisis realizados, se obtuvo un resultado negativo, contrario a lo que se expone en cada una de las referencias consultadas. A continuación, se detallan cada uno de los análisis.

Determinación *Escherichia coli* O157:H7

Como se mencionó en el párrafo anterior, en este trabajo se obtuvo un resultado negativo para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 en cada una de las muestras obtenidas de las áreas involucradas en la producción, las cuales abarcan la leche directa de la vaca pasando por la cuajada y hasta la obtención del producto terminado (queso), resultado que se muestra reflejado en la Tabla N°3.

Tabla N° 3. Resultados de la Determinación de *Escherichia coli* O157:H7.

Muestras:	Muestreos:		
	1ro. Agosto	2do. Noviembre	3ro. Marzo
Leche directa de la vaca	A	A	A
Leche de deposito	A	A	A
Leche de mangueras	A	A	A
Leche de tina de cuajado	A	A	A
Producto precipitado (Cedazo)	A	A	A
Queso del día	A	A	A
Queso almacenado	A	A	A

*A= Ausencia

Cabe mencionar que el producto seleccionado para este estudio fue elaborado a partir de leche sin pasteurizar, es decir, no pasó por algún proceso térmico. En estudios realizados por Cagri y col. en 2011, mencionan que encontraron una incidencia de un 0% a un 10% de dicho microorganismo en quesos procesados; sin embargo, en otro estudio realizado por los mismos investigadores, la presencia de este patógeno estaba en 1% y 4% en muestras de leche cruda y queso, respectivamente. Así mismo, cabe mencionar que los quesos analizados por dichos investigadores fueron elaborados con leche pasteurizada, a diferencia del queso que se analizó en este trabajo, en el cual como ya se mencionó la leche utilizada era directa de la ubre de la vaca. En los estudios mencionados anteriormente hechos por otros autores, en los cuales la leche pasó por un proceso de pasteurización, demuestran que esto no garantiza que el queso se encuentre libre de patógenos.

Se conoce que unos de los factores que favorecen el desarrollo de microorganismos es la temperatura, especialmente la temperatura de verano, ya que es en ésta donde los microorganismos tienen la capacidad de desarrollarse más rápido. Por lo que este estudio realizado demostró que la temperatura no jugó un papel de importancia en la obtención del resultado negativo, ya que los tres muestreos realizados fueron hechos en distintas estaciones del año.

Estudio realizado por Öksüz y col. en 2004, en leche cruda en el cual, de un total de 100 muestras, solo en una se obtuvo el aislamiento de dicho microorganismo. Estos datos son alarmantes ya que dosis pequeñas de 100 microorganismos, bastan para causar un daño significativo al colonizar el intestino, y lograr producir la toxina Shiga, llevando a cabo la formación de un pedestal y la modificación en intestino y dándose como resultado una mala absorción de nutrientes

Esta bacteria puede sobrevivir durante más de 50 días, además de que el ganado lechero es considerado como portador asintomático. Debido a lo anterior, en los ranchos no se puede llevar una detección oportuna del microorganismo, por lo que el riesgo de transmisión es mayor.

Determinación de *Salmonella* spp.

La salmonelosis juega un papel muy importante dentro de las enfermedades de transmisión alimentaria. *Salmonella* spp., tiene la capacidad de encontrarse en una amplia gama de alimentos, los cuales incluyen alimentos de origen marino, bovino y vegetales; así como los

productos derivados de estos. Siendo la leche uno de sus principales reservorios, se realizó una serie de análisis microbiológicos en leche cruda y queso elaborado a partir de ésta.

No se detectó la presencia de *Salmonella* spp en cada una de las muestras obtenidas de las áreas involucradas en la elaboración del queso, las cuales abarcan la leche directa de la vaca pasando por la cuajada y hasta la obtención del producto terminado (queso), como se muestra en la Tabla N°4.

Tabla N° 4. Resultados de la Determinación de *Salmonella* spp.

Muestras:	Muestreos:		
	1ro. Agosto	2do. Noviembre	3ro. Marzo
Leche directa de la vaca	A	A	A
Leche de deposito	A	A	A
Leche de mangueras	A	A	A
Leche de tina de cuajado	A	A	A
Producto precipitado (Cedazo)	A	A	A
Queso del día	A	A	A
Queso almacenado	A	A	A

* A= Ausencia

Como se mencionó anteriormente, la leche utilizada no paso por algún proceso térmico. Estudios realizados en la ciudad de México por Alcázar y col. en 2010, en quesos frescos, elaborados con leche pasteurizada, encontraron una presencia muy baja en este tipo de productos; sin embargo, otros estudios realizados por Kamana y col., en 2016, reportan la presencia de *Salmonella* spp en personas que consumieron leche comercial pasteurizada y queso, procedente de distintas regiones de Ruanda, encontrando una incidencia al año de 8.4% en leche y 1.7% en quesos.

La obtención de un resultado negativo en el estudio realizado por Alcázar y col., se puede deber a un factor importante como lo es la utilización de leche pasteurizada para la elaboración del queso y, por consiguiente, la posible eliminación de los microorganismos presentes en la misma, siendo esta la principal diferencia entre la comparación del presente estudio y del realizado por Alcázar y col.

En otro estudio en el cual se presenta una situación diferente es el realizado por Kamana y col., en el cual la leche pasó por un proceso térmico, sin embargo se evidenció la presencia de *Salmonella* spp la cual fue adjudicada debido a la falta de higiene en la manipulación de estos productos, y fue por esta razón que dentro de la industria se llevó a cabo la mejora de la calidad, mediante entrenamientos de prácticas de higiene, así como la instalación de equipos de procesamiento pasteurizadores, latas de acero inoxidable, tanques de enfriamiento, etc.

Determinación de *Listeria monocytogenes*

Listeria spp, es un patógeno distribuido en una amplia gama de alimentos, principalmente de origen lácteo. Ha tenido un papel de gran relevancia durante la transmisión de enfermedades de origen alimenticio; sin embargo, cabe mencionar que su aislamiento por técnicas convencionales es laborioso y se requiere de varios días en el laboratorio.

En el presente trabajo, se llevó a cabo la detección de este microorganismo patógeno en leche cruda, cuajado, producto terminado (el queso) y así como el producto final previamente almacenado, las cuales presentan una serie de propiedades que favorecen su desarrollo.

La serie de estudios realizados en las muestras tomadas en los meses de agosto, noviembre y marzo, arrojaron un total de resultados negativos en el aislamiento *Listeria monocytogenes* como se muestra evidenciada en la Tabla N° 5.

Tabla N° 5. Resultados de la Determinación de *Listeria monocytogenes*.

Muestras:	Muestreos:		
	1ro. Agosto	2do. Noviembre	3ro. Marzo
Leche directa de la vaca	A	A	A
Leche de deposito	A	A	A
Leche de mangueras	A	A	A
Leche de tina de cuajado	A	A	A
Producto precipitado (Cedazo)	A	A	A
Queso del día	A	A	A
Queso almacenado	A	A	A

*A= Ausencia

En estudios realizados por Schöbitz y col. en 2011 en la ciudad de México, presentan una incidencia de *Listeria monocytogenes* de un 22% en quesos industrializados, mientras que en países europeos presentaba una incidencia variada entre 0% y 6,0 muestran que si bien la incidencia es menor, aun así es un dato alarmante, ya que con esto se demuestra que este microorganismo tiene la capacidad de sobrevivir a los procesos de pasteurización, en comparación con el presente estudio, en el cual se utilizó leche sin pasteurizar. Un punto importante que se puede mencionar son los escenarios de producción, ya que en el estudio realizado por Schöbitz y col., mencionan que dicho estudio fue realizado en una industria, mientras que el actual se realizó en una quesera artesanal. Lo anterior demuestra la capacidad de *Listeria monocytogenes* de sobrevivir a los procesos térmicos y como la falta de inocuidad puede afectar la calidad microbiológica de los productos. En una segunda investigación, realizada en leche cruda por Melo y col. en 2015, mencionan que la incidencia de dicho microorganismo varía de 0,4 a 16%, ellos explican que la magnitud de esta variabilidad puede deberse a los sitios geográficos, el tiempo en que se realizó el muestro o bien al manejo inadecuado de la materia prima.

En otro estudio, realizado por R uckerl y col. en 2014, en una instalaci3n productora de alimentos lácteos se detect3 la presencia de *Listeria monocytogenes* en un 15.8% del total de muestras tomadas en el entorno de procesamiento de alimentos. Cabe mencionar que ellos utilizaron técnicas moleculares para su detecci3n, en donde la sensibilidad y precisi3n de detecci3n es mayor.

Detecci3n de *Staphylococcus aureus*:

Recientemente este microorganismo ha tenido una mayor relevancia dentro de las enfermedades transmitidas por alimentos, debido a eso se incluy3 su detecci3n en el presente estudio.

Staphylococcus aureus tiene la capacidad de encontrarse en lugares específicos del ser humano, como suelen ser la nariz y faringe. Sin embargo, la presencia de dicho microorganismo en alimentos no es común o frecuente. Es por lo anterior, que algún alimento contaminado por *Staphylococcus aureus*, se relaciona al ser humano como una posible causa de contaminaci3n cruzada.

En este análisis realizado a los productores de la quesera, se obtuvo al final un resultado positivo en el tercer muestreo (marzo), en la presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras de narinas tomadas, tanto en la persona encargada de la ordeña como en la que se encarga de la elaboraci3n del producto (queso) como se muestra en la tabla N 6.

Tabla N° 6. Resultados de la Detección de *Staphylococcus aureus*.

Muestras:	Muestreos:		
	1ro. Agosto	2do. Noviembre	3ro. Marzo
Narinas de ordeñador	A	A	P
Faringe de ordeñador	A	A	A
Narinas de elaborador	A	A	P
Faringe de elaborador	A	A	A
Ubre de vaca ordeñada (1)	A	A	A
Ubre de vaca ordeñada (2)	A	A	A
Ubre de vaca ordeñada (3)	A	A	A
Ubre de vaca ordeñada (4)	A	A	A

* A= Ausencia *P= Presencia

En estudios realizados por Ferrer y col. en 2013, sobre detección de *Staphylococcus aureus* en fosas nasales se encontró una incidencia de 15%, siendo esta una cifra no muy alta pero significativa para personas que elaboran alimentos.

Sin embargo, en estudios realizados por Jakobsen y col., en 2011 en quesos elaborados en la industria, demostraron que la presencia *Staphylococcus aureus* tanto en leche cruda como en queso se encuentra elevada, para queso fue de 76.7%, mientras que en la leche fue de 47.2%, observándose que, la concentración aumentó después de la conversión de la materia prima (leche) al producto (queso).

Un claro ejemplo es el estudio realizado por Rodríguez, 2016 (Datos no publicados), el cual se realizó en la misma quesera y a la par de este trabajo, en el cual se encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* en el producto terminado (queso); sin embargo, no se encontró en la leche directa de la vaca, por lo que podemos deducir que el producto sufrió una contaminación cruzada, ya que también se encontró presente en la leche del depósito, la

cuajada, así como el queso, los cuales posiblemente tuvieron contacto directo con las dos personas positivas para *Staphylococcus aureus* involucradas en la producción.

No obstante, Jakobsen y col. mencionan la alta incidencia de *Staphylococcus aureus* en queso; sin embargo, no aclaran la fuente de contaminación. Desde otro punto de vista, en estudios realizados por Daza y col. en 2014, donde el objeto de estudio fueron los trabajadores de una industria quesera, demostraron que la presencia de *Staphylococcus aureus* antes de lavarse las manos era de aproximadamente 200 UFC/mL y 20 UFC/mL posterior al lavado. En base a lo anterior, se deduce que el ser humano es una posible fuente de contaminación, ya que en este estudio se demostró que *Staphylococcus aureus* se encontró presente en cada una de las muestras en las cuales los empleados positivos para *Staphylococcus aureus* tuvieron contacto directo con las mismas. Por lo que concluye que, en este proceso, la presencia de *Staphylococcus aureus* es debido a la falta de higiene por parte de los trabajadores.

Verificación del Sistema de Buenas Prácticas de Manufactura

Las condiciones higiénicas de trabajo con las que se contaba anteriormente en la quesera, no cumplían con los mínimos requisitos de inocuidad, por lo mismo la presencia de focos alarmantes de peligros microbiológicos era constante, es decir, no contaban con un sistema que rigieran las condiciones mínimas de inocuidad para trabajar, ya que, por tradición, sus costumbres y formas de elaborar el queso van pasando de generación en generación sin hacer grandes cambios.

Por otro lado, este sistema al brindar a los productores un conjunto de reglas básicas de higiene, asegura la calidad microbiológica a su producto, y de esta forma brindan al ser humano como principal consumidor, la garantía que están consumiendo un producto inocuo.

Debido a lo anterior y a la eminente necesidad de detectar y eliminar la mayoría de los riesgos microbiológicos en la elaboración de su producto, pero sin cambiar la calidad nutricional de los mismos, se implementó un sistema de BPM en el cual, al no pasteurizar la leche les ayude a conservar las características propias de su producto, sin tener la necesidad de realizar grandes cambios, los cuales modificarían completamente su sabor, olor y color, etc.

Siendo esto último el principal motivo por el cual se llevó a cabo la detección de los principales microorganismos patógenos con el fin de comprobar la efectividad del Sistema de Buenas Prácticas de Manufactura implementado en la región de Cobachi, Sonora.

Al final de cada uno de los nuestros muestreos realizados en los meses de agosto, noviembre y marzo, se obtuvo una serie de resultados negativos como ya se mencionó con anterioridad. Gracias a esto se verificó la eficiencia del sistema de BPM.

Este sistema integrado, evitó la presencia de microorganismos no deseados, hablando estrictamente de los patógenos aquí analizados, ya que, en el estudio realizado por Rodríguez, 2016 (Datos no publicados) en la misma quesera a la par de este trabajo, se obtuvieron valores elevados de microorganismos indicadores de contaminación. Este fenómeno evidencia que la presencia de microorganismos patógenos no siempre es dependiente de los indicadores de contaminación, como a la presencia de mesófilos aerobios, coliformes fecales, totales, etc. Sin embargo, esto puede ser un foco alarmante, ya que puede ser un indicativo de que están existiendo posibles descuidos por parte de los productores y si los cuales se siguen presentando en un futuro la aparición de patógenos es posible.

CONCLUSIONES

No se detectaron bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157:H7 en ninguna de los tres muestreos realizados de la materia prima utilizada en la elaboración del queso artesanal, procesamiento, así como producto terminado y producto almacenado.

Se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus* en una de las tres tomas de muestras en ambos productores (ordeñador y elaborador de queso), lo cual indica una posible fuente de contaminación cruzada al producto. Como lo demuestra el resultado positivo en queso, leche de depósito y cuajada en análisis realizados por Rodríguez, 2016 (Datos No Publicados).

Se verificó la efectividad del Sistema de Buenas Prácticas de Manufactura mediante los resultados de los análisis microbiológicos de los puntos de riesgo de contaminación microbiológica en la quesera artesanal del rancho el Yunque ubicado en Cobachi, Sonora.

RECOMENDACIONES:

- Se recomienda la aplicación de un sistema de buenas prácticas de manufactura entre los productores de la región, ya que este trabajo puede servir de ejemplo de una serie de beneficios tanto al consumidor como a los mismos productores.
- Se deberán hacer evaluaciones microbiológicas periódicamente a los productos elaborados en la quesera artesanal aquí evaluada, para confirmar que el producto siga libre de patógenos, así como a los productores para descartar posibles contaminaciones cruzadas.
- Se deberá de capacitar a una tercera persona, para que en caso de que algunos de los productores se encuentre incapacitado para trabajar.

BIBLIOGRAFÍA

Agricultura, O. d. I. N. U. p. I. A. y. I. (2011). Buenas Prácticas de Manufactura en la Elaboración de Productos Lácteos. Pags.28.

Alcázar M., Alonso M., Núñez E., Rubio L. (2006). Detección de *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos y semimadurados que se expenden en vía pública en la ciudad de México. *Veterinaria Mexico*.

Alerte, V., Cortés, S., Díaz, J., Vollaire, J., Espinoza, M., Eugenia, M., Torres, M. (2012). Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). *Revista chilena de infectología*, 29(1): 26-31.

Ali, S., Ali, Q., Abatih, E. N., Ullah, N., Muhammad, A., Khan, I., y Akhter, S. (2013). Sero-prevalence of *Brucella abortus* among dairy cattle and buffaloes in Pothohar Plateau, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(4), 1041-1046.

Alpina. (2016). Quesos Maduros. *Quesos Maduros | Alpina Colombia | Recetas, Nutrición y Derivados Lácteos*. Retrieved from <http://www.alpina.com.co/quesos/maduros/> (Fecha de Acceso: 14 de Abril del 2016).

Aranceta B. y Serra M.. (2004). *Leche, lácteos y salud*. Madrid: Médica Panamericana. Pag. 31

Arzu, O., Peiretti, H., Rolla, R., y Roibon, W. (2000). Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del nordeste argentino. *UNNE*, 17, 6-10.

Bari M., Inatsu Y. (2014). *Escherichia coli* 0157 | *E. coli* O157:H7 A2 - Batt, Carl A. In M. L. Tortorello (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (pp. 735-739). Oxford: Academic Press.

Baron, S. (1996). *Medical microbiology*. Galveston, Tex.: University of Texas Medical Branch at Galveston. Fourth edition. Chapter 28.

Battro, P. (2010). *Quesos aresanales*. Buenos Aires: Editorial Albatros. Pag. 29.

Benavides, B., Jiménez, E. y Riascos, D. (2012). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de brucelosis y leptospirosis en los operarios de la planta de beneficio de Past, Nariño. *Rev Univ. Salud*, 15(1): 42-49.

Bergan, J., Lingelem, A., Simm, R., Skotland, T., y Sandvig, K. (2012). Shiga toxins. *Toxicon*, 60(6), 1085-1107.

Boucher, F., Salas C., & Requier-Desjardins, D. (2009). Agroindustria rural y liberalización comercial agrícola.

Brooks, J., Martinez, B., Stratton, J., Bianchini, A., Krokstrom, R., y Hutkins, R. (2012). Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology*, 31(2), 154-158. doi:10.1016/j.fm.2012.03.013

Cagri M., Yaldirak, G., Bodur, T., Simsek, M., Bozkir, H., y Eren, N. . (2011). Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in two Kasar Cheese processing environments. *Food Control*, 22(5): 762-766. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.011>

Cecilia, H., Arreola, M., y Graciela, C. (2013). *Campylobacter jejuni*: ¿ una bacteria olvidada? Situación en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 33(2), 77.

Chatelard C., Pelissier F., Hulin, S., y Montel, M. (2015). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw milk Cantal type cheeses during cheese making, ripening and storage in different packaging conditions. *Food Control*, 54: 53-65. doi:10.1016/j.foodcont.2015.01.007

Chaves B., Echeverry, A., Miller, M., y Brashears, M. (2015). Prevalence of molecular markers for Salmonella and Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) in whole-muscle beef cuts sold at retail markets in Costa Rica. *Food Control*, 50(0): 497-501. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.024>

Chiang, Y., Tsen, H., Chen, H., Chang, Y., Lin, C., Chen, C., y Pai, W. (2012). Multiplex PCR and a chromogenic DNA microarray for the detection of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp. and *Pseudomonas fluorescens* in milk and meat samples. *Journal of Microbiological Methods*, 88(1): 110-116. doi:10.1016/j.mimet.2011.10.021

Cocina, P. d. (2012). Los quesos duros. Retrieved from <http://www.cocina33.com/noticia/los-quesos-duros> (Fecha de Acceso: 15 de Abril del 2016).

Crespo, E., García, A., Rivero, J., y Gómez, Á. (2013). Seroprevalencia de leptospirosis en cabras de la parroquia Faría, municipio Miranda, estado Zulia-Venezuela. *Revista Científica*, 23(4): 287-292.

Croxen, M., Law, R., Scholz, R., Keeney, K., Wlodarska, M., y Finlay, B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, 26(4): 822-880.

Da Silva, G., y Mendonça, N. (2012). Association between antimicrobial resistance and virulence in Escherichia coli. *Virulence*, 3(1): 18-28.

D'Amico, D., y Donnelly, C. (2010). Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. *Journal of Dairy Science*, 93(1): 134-147. doi:10.3168/jds.2009-2426

Domenech, E., Jimenez, A., Amoros, J., Ferrus, M., y Escriche, I. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. *Food Control*, 47: 120-125. doi:10.1016/j.foodcont.2014.06.043

Duquenne, M., Derzelle, S., Fleurot, I., Aigle, M., Darrigo, C., Hennekinne, J., Delacroix, A. (2016). Milk maturation temperature and time are key technological parameters to limit staphylococcal enterotoxin production during uncooked semi-hard cheese manufacture. *Food Control*, 59(0): 118-127. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.003>

Fratamico, P., y DebRoy, C. (2010). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Food Using Real-Time Multiplex PCR Assays Targeting the stx 1, stx 2, wzy O157, and the fliC h7 or eae Genes. *Food Analytical Methods*, 3(4): 330-337. doi:10.1007/s12161-010-9140-x

García, B. (2015). Perfil de riesgo de *Listeria monocytogenes* en alimentos derivados cárnicos (Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos españoles). Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia.

Gil Martínez, A. (2010). *Preelaboración y conservación de alimentos*. Tres Cantos, Madrid: Akal. Pag.90.

Gogoi, S., Saikia, G., Mehtaz, S., y Das, M. (2015). Isolation of bacteria from market milk samples of three different districts of Assam. *Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases*, 36(1): 39-42.

Gontafalla, F., y Pirela, S. R. (2015). Caracterización de la leptospirosis bovina en Venezuela. Revisión breve sobre la enfermedad. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(2): 1-22.

Guggisberg, D., Schuetz, P., Winkler, H., Amrein, R., Jakob, E., Frohlich, M., Wechsler, D. (2015). Mechanism and control of the eye formation in cheese. *International Dairy Journal*, 47: 118-127. doi:10.1016/j.idairyj.2015.03.001

Habchi, C., Ghali, K., Ghaddar, N., Chakroun, W., y Alotaibi, S. (2016). Ceiling personalized ventilation combined with desk fans for reduced direct and indirect cross-contamination and efficient use of office space. *Energy Conversion and Management*, 111: 158-173. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2015.12.067>

Jakobsen, R., Heggebø, R., Sunde, E., y Skjervheim, M. (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiology*, 28(3): 492-496. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2010.10.017>

Kamana, O., Jacxsens, L., Kimonyo, A., y Uyttendaele, M. (2016). Exposure Assessment to *Salmonella* by Consumption of Informally Marketed Milk and Gouda Cheese in Musanze Town, Rwanda. *Procedia Food Science*, 6, 323-325.

Karmali, M. A., Gannon, V., & Sargeant, J. M. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary microbiology*, 140(3): 360-370.

Kimberly, T. (2016). El queso procesado frente al queso natural. Retrieved from http://www.ehowenespanol.com/queso-procesado-frente-queso-natural-info_184329/ (Fecha de Acceso: 15 de Abril del 2016).

Kongo, J., y Malcata, F. (2016). Cheese: Types of Cheeses – Hard A2 - Caballero, Benjamin. In P. M. Finglas & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 763-767). Oxford: Academic Press.

Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., y Drosinos, E. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21(6): 805-815. doi:10.1016/j.foodcont.2009.11.015

Lam, L., y Monack, D. (2014). Intraspecies Competition for Niches in the Distal Gut Dictate Transmission during Persistent *Salmonella* Infection. *PLoS Pathogens*, 10(12): 1-21. doi:10.1371/journal.ppat.1004527

Lluque, A., Mercado, E., Riveros, M., Alvarado, L., Carlos, E., Colichón, A., Ochoa, T. (2010). Comparación entre el diagnóstico serológico y el diagnóstico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC). *Revista de Gastroenterología del Perú*, 30(2): 121-125.

Lucke, F., y Zangerl, P. (2014). Food safety challenges associated with traditional foods in German-speaking regions. *Food Control*, 43: 217-230. doi:10.1016/j.foodcont.2014.03.014

Martínez, D., Cruz, A., y Moreno, G. (2014). Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. *Conexión Agropecuaria JDC*, 3(1): 53-73.

Martínez, A., Villoch, A., Ribot Enriquez, A., Montes de Oca, N., Riverón, Y., y Ponce, P. (2015). Calidad e inocuidad en la leche cruda de una cadena de producción de una provincia occidental de Cuba. *Revista de Salud Animal*, 37(2): 79-85.

Melo, J., Andrew, P. W., y Faleiro, M. (2015). *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. *Food Research International*, 67: 75-90. doi:10.1016/j.foodres.2014.10.031

Melton, A., Mohawk, K., Teel, L., y O'Brien, A. (2011). Pathogenesis of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* *Ricin and Shiga Toxins* (pp. 67-103): Springer.

Mohawk, K., Melton, A., Zangari, T., Carroll, E., & O'Brien, A. (2010). Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 strain 86-24 following oral infection of BALB/c mice with an intact commensal flora. *Microbial Pathogenesis*, 48(3-4): 131-142. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2010.01.003>

Munther, D., Sun, X., Xiao, Y., Tang, S., Shimozako, H., Wu, J., Fazil, A. (2016). Modeling cross-contamination during poultry processing: Dynamics in the chiller tank. *Food Control*, 59: 271-281. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.007>

Méndez, M., Rodríguez R., y Sánchez-Zamorano, L. (2015). Brucelosis, una zoonosis presente en la población: estudio de series de tiempo en México. *salud pública de méxico*, 57(6): 519-527.

Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J., y Ochoa, T. (2011). Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 28(4): 648-656.

Nerín, C., Aznar, M., y Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48: 63-68. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.004>

Olazarán J., Rosete F., y Fragoso I., (2013). Situación de la leptospirosis bovina en ranchos del área de influencia del Sitio Experimental Las Margaritas del INIFAP.

Organización Mundial de la S., y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la A. (2004). *Caracterización de peligros de patógenos en los alimentos y el agua : directrices*. Roma: FAO : OMS.

Pennington, H. (2010). *Escherichia coli* O157. *The Lancet*, 376(9750): 1428-1435.

Peña R. (2014). Caracterización fenotípica y genotípica de *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina en Cuba. *Revista de Salud Animal*, 36(3): 208-208.

Peñaranda, A. H. (2003). *MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL*.

PROFECO. (2000). Quesos. Revista del Consumidor, México.

Rahimi, E., Ameri, M., y Momtaz, H. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*, 21(11): 1448-1452. doi:10.1016/j.foodcont.2010.03.014

Reitsma, C., y Henning, D. R. (1996). Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 during the manufacture and curing of cheddar cheese. *Journal of Food Protection*, 59(5): 460-464.

Rodríguez, C., Caldas, L., y Ogeerally, P. (2009). Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29: 98-102.

Rodríguez, V. y Simón Magro, E. (2008). *Bases de la alimentación humana*. 1ra. Edición. Editoria Netiblo. España.

Ruckerl, I., Muhterem, M., Muri-Klinger, S., Wagner, K., Wagner, M., y Stessl, B. (2014). *L. monocytogenes* in a cheese processing facility: Learning from contamination scenarios over three years of sampling. *International Journal of Food Microbiology*, 189: 98-105. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.001

Ruiz, A., Ponce, P., Gomes, G., Mota, R., Elizabeth, S., Lucena, E., y Benone, S. (2011). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Revista de Salud Animal*, 33(1): 57-64.

Salgado, C., y Teresa, M. (2007). Importancia de las buenas prácticas de manufactura en cafeterías y restaurantes. *Revista Vector*, 33-40.

Serraino, A., Finazzi, G., Marchetti, G., Daminelli, P., Riu, R., Giacometti, F., Rosmini, R. (2012). Behaviour of *Salmonella Typhimurium* during production and storage of

artisan water buffalo mozzarella cheese. *Italian Journal of Animal Science*; Vol 11, No 3 (2012).

Shafei, B., Ahmadi, M., y Dastmalchi, S. H. (2012). Diagnosis of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in the milk of cattle and sheep in Kordestan province by polymerase chain reaction.

Szwako, A., Acuña, L., Rolón, C., Glatzle, F., Lemkemeyer, C., Unger, N., y Wiebe, J. (2015). Bovine leptospirosis seroprevalence in central chaco, boquerón department, Paraguay. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 5(1): 26-30.

Sánchez, J. (2009). *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino : fundamentos de seguridad alimentaria*. [Madrid]: Díaz de Santos.

Tasci, F. (2011). Microbiological and chemical properties of raw milk consumed in Burdur. *Journal of Animal and Veterinary advances*, 10(5): 635-641.

Terán P. (2013). Elaboración de un Manual de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) e Implementación del Programa de 5 S para la Planta de Alimentos Balanceados El Carmelo, Chambo.

Tu, S., Reed, S., Gehring, A., y He, Y. (2011). Simultaneous Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium: The Use of Magnetic Beads Conjugated with Multiple Capture Antibodies. *Food Analytical Methods*, 4(3): 357-364. doi:10.1007/s12161-010-9175-z

Valencia Montes, Ó. (2001). *Manual para la elaboración de productos lácteos*. México: Universidad de Colima.

Varela, J., Cabrera, E., Cardona, M., Ibarra, L., Rangel, H., Castillo, A., Ramírez, A. (2007). Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico.

International Journal of Food Microbiology, 113(2): 237-241.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.028>

Villegas de Gante, A., y Cervantes (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 19(38): 145-164.

Villegas de Gante, A., y Cervantes E. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos (pp. 146-164.). *Estudios Sociales*.

Vázquez M., Cos B., López N., y Alcaraz C. (2005). *Alimentación y nutrición : manual teórico-práctico*. Madrid: Díaz de Santos.

Wolter, W. (2004). *Mastitis bovina prevención, diagnóstico y tratamiento*. Guadalajara: Univ.

Yarasca, R., y Heydelida, R. (2015). Factores de contaminación de la leche en el proceso de ordeño. <http://190.116.38.24:8090/xmlui/handle/123456789/330>

Zilelidou, E., Tsourou, V., Poimenidou, S., Loukou, A., y Skandamis, P. (2015). Modeling transfer of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during preparation of fresh-cut salads: Impact of cutting and shredding practices. *Food Microbiology*, 45, Part B(0): 254-265. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.019>

Zárate M., Rosete F., Ríos U., y Barradas P. (2014). Prevención de la leptospirosis en ranchos de la zona centro de Veracruz.

ANEXO

Carta del Comité de Bioética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.

CIAD

SEP-CONACYT-UNAM-IPN-GOBIERNO DE SONORA-GOBIERNO DE SINALOA-GOBIERNO DE CHIHUAHUA-SAGARPA
COMITE DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

COMITÉ DE ÉTICA

CE/008/2016

Hermosillo, Sonora. Octubre 05, 2016

Dra. María del Carmen Hernández Moreno
Profesora-Investigadora Titular
Coordinación de Desarrollo Regional
CIAD
Presente

Estimado Dr. María del Carmen Hernández:

Me permito comunicarle que el Comité de Ética de nuestro centro ha revisado cuidadosamente la propuesta de investigación "Laboratorio de innovación rural para la producción inocua y sustentable de alimentos" y del cual usted es el responsable técnico. Con base a lo estipulado por los documentos y guías nacionales e internacionales de bioética nuestro comité ha recomendado lo siguiente:

1. El proyecto presenta adecuadamente sus antecedentes, descripción, los protocolos y metodología de investigación, así como los beneficios individuales y colectivos y protección de tanto para la participación de personas como de animales (vacas) a los cuales simplemente se tomarán muestras de leche mediante la técnica rutinaria de ordeña y que no incluyen otras técnicas invasivas que representen algún riesgo de maltrato o sufrimiento del animal.
2. El proyecto expone claramente sus objetivos, procedimientos y confidencialidad de los datos personales de los participantes en su forma de consentimiento dirigida al participante del estudio.

Por lo anterior, el Comité de Ética de CIAD otorga la aprobación correspondiente al presente estudio, para el cual se le desea el mejor de los éxitos.

Sin más, en representación de los miembros de nuestro comité, le deseo el mayor de los éxitos

Atentamente

Dr. Luis Quihui Cota

Presidente del Comité de Ética en Investigación de CIAD

C.c.p. Archivo

