

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Detección de Microorganismos Indicadores de
Contaminación Durante el Proceso de Elaboración de Queso
Artesanal a partir de Leche sin Pasteurizar, Producido Bajo
Buenas Prácticas de Manufactura en la Región de Cobachi,
Sonora.**

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el título de
QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

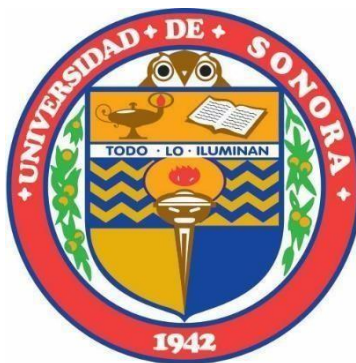
Presenta:

GUADALUPE RODRÍGUEZ LARES

Hermosillo, Sonora, México

Enero de 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 Guadalupe Rodríguez Lares, 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. Reyna Isabel Sánchez Mariñez
Vocal

M.C. Lucía Guadalupe Castillón Campaña
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, le agradezco a **Dios** por darme la bendición de tener una familia que me ha apoyado durante el transcurso de mi vida y en las decisiones más importantes que he tenido que tomar.

A mis padres, **María Elena y Manuel Antonio**, por todo su amor y por darme la oportunidad de recibir educación, una carrera y apoyarme en los momentos más difíciles. Por estar presente y soportarme en momentos en que me encontraba de mal humor debido al estrés y la presión producido por la escuela. Los quiero mucho.

A mis hermanos mayores, **Alejandro y Arturo**, por estar presentes, ayudarme cuando se los pedía y cuidar de su hermana menor.

A **Carolina Pedroza**, por ser mi amiga y compañera en el transcurso de este trabajo. Por pensar en mi al inicio del proyecto y ayudarme cada día que pasábamos dentro del laboratorio. Te deseo éxito y felicidad en tu vida.

A **Marcos Leon**, por estar conmigo a cada momento y cuando más te necesito, por soportar mis berrinches y cambios de humor. Gracias por tu comprensión y cariño.

A mi directora de tesis, **Rosalva Pérez**, por darnos la oportunidad de colaborar en este proyecto durante poco más de un año. Así como al **Laboratorio de Microbiología Molecular y LACMA**, por brindarnos el material y los equipos necesarios.

A las maestras, **Griselda Moreno y Lucía Castellón**, por escucharnos y orientarnos en cada paso de nuestros estudios. Por inspirarme en el área de la Microbiología y permitirme trabajar en el cepario lo que me permitió desarrollar un poco más mis conocimientos.

A **Michelle Palafox y Edgar Zamorano**, por brindarnos su ayuda durante este proyecto, y estar con nosotros en las noches y días que pasábamos dentro del laboratorio.

A los **productores** de la quesera donde se llevó a cabo esta investigación, Don Francisco, Don José y Doña Lili por abrirnos las puertas de su hogar, y permitirnos convivir con ustedes. Por

enseñarnos nuevas cosas y ampliar nuestros conocimientos en base al trabajo que realizan día con día en su rancho.

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 bajo la dirección de la Dra. María del Carmen Hernández Moreno.

DEDICATORIA

A mis padres, gracias a ellos he llegado hasta donde me encuentro.

A mi nana vicky †, que me ha cuidado desde allá arriba.

Nunca dejes de intentar, solo por miedo a equivocarte.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE TABLAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	13
OBJETIVOS	15
General.....	15
Particulares.....	15
ANTECEDENTES	16
Región de Cobachi, Sonora.....	16
Definición de Queso.....	17
Tipos de Quesos.....	18
Queso fresco.....	19
Queso maduro.....	19
Queso procesado.....	20
Elaboración de Quesos.....	20
Queso Artesanal.....	21
Causas de Contaminación en la Elaboración de Queso Artesanal.....	22
Mastitis Bovina.....	23
Contaminación Cruzada.....	24
Microorganismos Indicadores de Contaminación en Alimentos.....	25
Mesófilos Aerobios.....	26
Coliformes Totales.....	26
Coliformes fecales (<i>Escherichia coli</i>).....	27
Mohos y Levaduras.....	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	28
Control de Calidad en los Alimentos.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS	32
Planteamiento del Estudio.....	32
Toma de Muestras.....	33
Sala de Ordeña.....	33
Pezones de la vaca.....	33

Lavado de manos de los ordeñadores.....	33
Superficies de materiales y equipos.....	34
Leche directa de la ubre de la vaca.....	35
Leche del depósito.....	35
Agua utilizada para la limpieza de pezones.....	35
Ambiente de la sala de ordeña.....	35
Sala de Proceso.....	35
Lavados de manos de los procesadores.....	35
Superficies de materiales y equipos.....	35
Leche de la tina de cuajado.....	36
Cuajado después de desuerado (cedazo).....	36
Queso del día.....	36
Agua de la llave.....	36
Agua con filtro bacteriológico.....	37
Ambiente en la sala de proceso.....	37
Sala de Almacenamiento de Quesos.....	37
Queso almacenado (24 horas).....	37
Superficies internas del refrigerador.....	37
Ambiente en la sala de almacenamiento de quesos.....	37
Cuarto de Lavado de Materiales.....	37
Superficies de mesas.....	37
Escobetillas.....	37
Mantas de limpieza y secado de pezones.....	38
Agua utilizada en la limpieza de materiales.....	38
Ambiente en el cuarto de lavado de materiales.....	38
Técnicas Utilizadas.....	38
Preparación de las Muestras.....	38
Determinación y Recuento de Mesófilos Aerobios.....	39
Determinación y Recuento de Coliformes Totales, Fecales y <i>Escherichia coli</i>	39
Determinación y Recuento de Mohos y Levaduras.....	40
Determinación y Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	42
Mesófilos Aerobios.....	42

Coliformes Totales.....	49
Coliformes Fecales y <i>Escherichia coli</i>	55
Mohos.....	59
Levaduras.....	64
<i>Staphylococcus aureus</i>	68
CONCLUSIONES	71
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS	73
ANEXOS	81
Carta de Ética.....	82
Recuentos Obtenidos de los Análisis Realizados.....	83
Mesófilos Aerobios.....	83
Coliformes Totales.....	86
Coliformes Fecales (<i>Escherichia coli</i>).....	88
Mohos y Levaduras.....	90
<i>Staphylococcus aureus</i>	95

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1.	Porcentaje de nutrientes de leche y queso	18
2.	Clasificación de quesos	19
3.	Fechas de los muestreos	32

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1.	Ubicación del ejido de Cobachi	17
2.	Preferencia de consumo de productos lácteos en cuanto su origen	22
3.	Sistemas de control de calidad en los alimentos	30
4.	Toma de muestra del lavado de manos del ordeñador	34
5.	Toma de muestra de las superficies de materiales y equipos dentro de la sala de ordeña	34
6.	Toma de muestra de las superficies de materiales y equipos dentro de la sala de proceso	36
7.	Resultados del análisis de mesófilos aerobios en los materiales del cuarto de lavado	43
8.	Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de ordeña	45
9.	Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de proceso	47
10.	Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de almacenamiento de quesos	48
11.	Resultados del análisis de coliformes totales en los materiales del cuarto de lavado	50
12.	Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de ordeña	52
13.	Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de proceso	54
14.	Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de almacenamiento de quesos	55
15.	Muestras que presentaron desarrollo de coliformes fecales (<i>Escherichia coli</i>)	57
16.	Muestras de alimentos que presentaron desarrollo de coliformes fecales (<i>Escherichia coli</i>)	58
17.	Resultados del análisis de mohos en los materiales del cuarto de lavado	59
18.	Resultados del análisis de mohos en la sala de ordeña	61
19.	Resultados del análisis de mohos en la sala de proceso	62
20.	Resultados del análisis de mohos en la sala de almacenamiento de quesos	63
21.	Resultados del análisis de levaduras en los materiales del cuarto de lavado	64

22.	Resultados del análisis de levaduras en la sala de ordeña	65
23.	Resultados del análisis de levaduras en la sala de proceso	66
24.	Resultados del análisis de levaduras en la sala de almacenamiento de quesos	67
25.	Resultados del análisis de <i>Staphylococcus aureus</i>	70

RESUMEN

El queso fresco es un alimento que se consume frecuentemente como parte de la dieta de los sonorenses, aporta una gran cantidad de nutrientes, proteínas y minerales, y su sabor, textura y olor son únicos. Este alimento elaborado a partir de leche cruda y mediante procedimientos tradicionales, no estandarizados, es sumamente susceptible a la contaminación por microorganismos. Los recuentos altos de estos, son indicativos de que los procesos de control de calidad empleados durante el procesamiento del producto, presentan una o varias fallas higiénico-sanitarias. En la presente investigación, se evaluó la calidad microbiológica del personal, equipo, material, materia prima y producto, relacionado a la elaboración de queso fresco en la Región de Cobachi, Sonora. Se utilizaron procedimientos descritos en Normas Oficiales Mexicanas para el análisis de mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales (*Escherichia coli*), mohos y levaduras, y *Staphylococcus aureus*. Se encontraron recuentos de microorganismos indicadores de contaminación que sobrepasaron el límite permitido establecido en cada Norma Oficial Mexicana para las distintas muestras analizadas, indicando que el sistema implementado presenta fallas de acuerdo a la calidad microbiológica aceptado por los estándares legales. El sistema de calidad implementado en la quesera no es suficiente para mantener recuentos de microorganismos indicadores de contaminación por debajo del límite permitido establecido. Al presentarse contaminación al principio del proceso, ésta será arrastrada por todo el sistema hacia el producto final, incumpliendo con las especificaciones sanitarias de la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha enfocado más atención a la calidad y seguridad en la producción de los alimentos. Lo anterior se debe a que las incidencias de enfermedades transmitidas por los mismos han ido en aumento, presentando brotes a gran escala y encontrando en ciertos productos niveles inaceptables de sustancias químicas y nuevos agentes patógenos. Como consecuencia, se ha perdido mucha confianza por parte de los consumidores y se han creado una percepción errónea sobre el tema (Motarjemi y Lelieveld, 2014).

Los microorganismos indicadores son utilizados para evaluar la calidad microbiológica de los alimentos, relacionándose con la vida útil de éste y la presencia de posibles patógenos, valorando de esta manera las condiciones de higiene en las que son elaborados. Este grupo de microorganismos frente a factores ambientales tienen un comportamiento, concentración y reacción similar a los patógenos, pero son más rápido, fáciles y económicos de identificar. Los principales microorganismos indicadores de contaminación en alimentos son: mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales (*Escherichia coli*), mohos y levaduras, y *Staphylococcus aureus*. En general, si el contenido microbiológico aumenta, la calidad del producto se reduce, esto no aplica en productos fermentados. Existen casos en los que el número de microorganismos presentes tiene poco efecto o no tiene relación con la vida útil del producto, el deterioro o amenaza a la salud pública. Otros factores a considerar incluyen en tipo de producto, los tipos de microorganismos presentes y las condiciones de almacenamiento (Banwart, 2012; Jay, 2012).

Las prácticas de producción agropecuaria para la nutrición del hombre son de suma importancia, de estas se destacan los sistemas de producción bovina debido a que tienen gran importancia económica, teniendo como productos principales carne y leche. La leche es un producto sumamente susceptible a adquirir sabores y olores extraños, debido a que es rico en nutrientes y minerales los cuales pueden ser aprovechados por microorganismos para su reproducción y diseminación. De esta manera, este producto puede alojar y transmitir una gran variedad de microorganismos que pueden ser patógenos para los humanos. La presencia de patógenos en los alimentos puede deberse a una contaminación cruzada, la cual se presenta cuando los microorganismos del entorno donde son producidos los alimentos entran en contacto con éste, o a la excreción a través de la ubre infectada. Es por ello la necesidad de obtener leche que cumpla con las condiciones de higiene adecuadas para el consumo y la elaboración de productos lácteos, como el queso, lo cual ha llevado a que exista una gran preocupación por el control microbiológico. El queso es un alimento muy importante que mantiene los principios nutritivos de la leche. Desde el punto de vista lácteo, el queso es el nombre común para describir

al alimento resultante de la coagulación de la leche y posteriormente la deshidratación del gel o cuajo por medio de distintas operaciones. No obstante, más que un simple alimento, este producto también es un bien cultural de importancia económica que puede contribuir al desarrollo de algunas regiones (Anderson y col., 2011; Panadero, 2010; Villegas y Cervantes, 2011).

Las prácticas de manufactura son muy importantes; la higiene personal y las normas de manipulación sanitaria, así como la limpieza y desinfección de las áreas de trabajo reducen o eliminan los riesgos para prevenir la contaminación del producto (FAO, 2011).

OBJETIVOS

General

Determinar la presencia de microorganismos de interés sanitario durante el proceso de elaboración de queso fresco (artesanal) bajo un sistema de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) implementado en una planta procesadora de la región de Cobachi, Sonora.

Particulares

1. Realizar cuentas de microorganismos: mesófilos aerobios, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, así como coliformes totales y coliformes fecales (*Escherichia coli*).
2. Realizar recuentos de microorganismos de interés sanitario al personal involucrado en la elaboración de queso fresco.
3. Realizar recuentos de microorganismos de interés sanitario al material y equipo utilizado durante la elaboración de queso fresco.
4. Realizar recuentos de microorganismos de interés sanitario en la leche utilizada en el proceso, así como en el queso elaborado.
5. Identificar los puntos de mayor riesgo de contaminación.

ANTECEDENTES

Región de Cobachi, Sonora

La localidad de Cobachi se encuentra en el Municipio de La Colorada, Sonora, ubicado en la zona centro suroeste del Estado (Figura 1), y cuenta con un total de 266 habitantes, aproximadamente (Microrregiones.gob.mx, 2016). En esta región el nivel socioeconómico entre sus habitantes es muy similar, las familias sobreviven a través de prácticas agropecuarias con conocimientos que han sido transmitidos de generación a generación, además de otras actividades que se desarrollan dentro y fuera de la comunidad. Los principales cultivos que se cosechan son: maíz, frijol, chile verde, pepino, calabacita, sorgo forrajero y alfalfa como complemento a la actividad ganadera (Andablo y Hernández, 2011).

La ganadería es la principal actividad en la región, los productores trabajan en ranchos junto a otros integrantes de la familia. La ordeña y producción de queso regional, se destaca como la principal forma de sustento económico. Cobachi cuenta con 93 productores que ordeñan durante todo el año, de esta manera obtienen la mayor parte de los ingresos para los gastos productivos de la ordeña y el mantenimiento de sus tierras de riego para el pastoreo. La principal característica en la elaboración del queso es la utilización de leche sin pasteurizar, además de esto, el proceso de elaboración no se encuentra estandarizado, de esta manera el producto obtenido entre los diferentes productores suelen presentar distintas características. Por lo general, los varones se dedican al cuidado del ganado y la ordeña, mientras que las mujeres son las encargadas de la elaboración del queso. Los productores almacenan los quesos y son trasladados a la ciudad de Hermosillo de una a dos veces por semana, donde se distribuyen en tiendas o abarrotes locales, o bien, en casas o tiendas que pertenecen a la propia familia (Andablo y col., 2015).

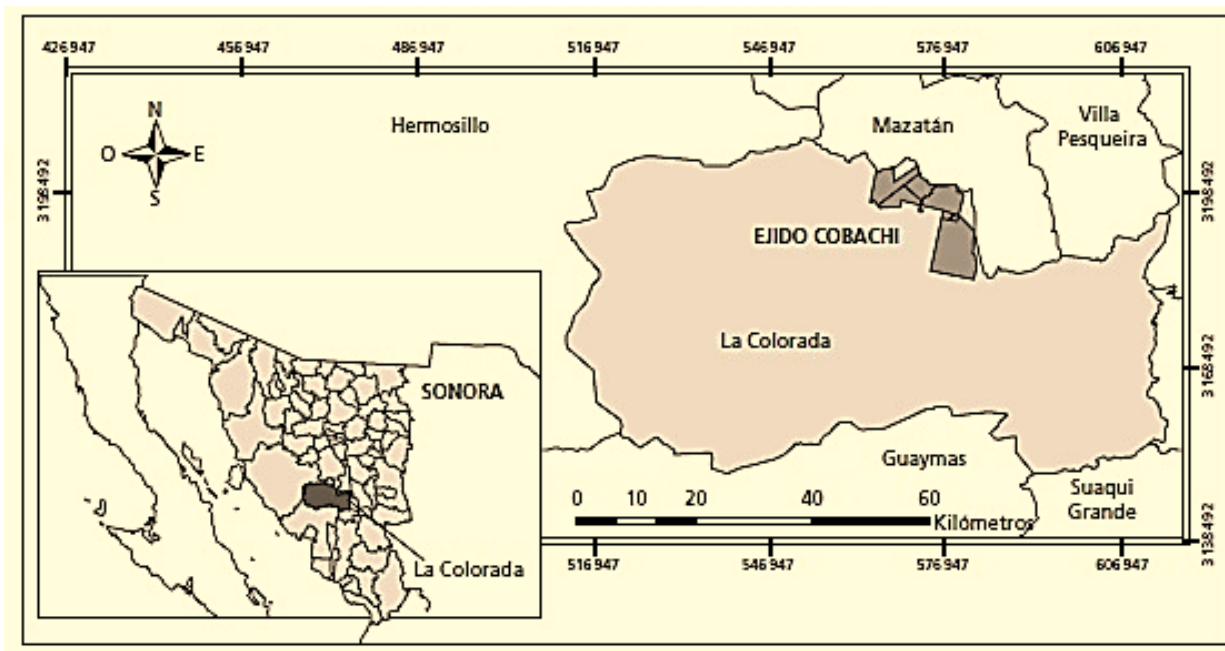


Figura 1. Ubicación del ejido Cobachi. (Andablo y col., 2015).

Definición de Queso

Desde el punto de vista lácteo, el queso es el nombre utilizado para describir al producto resultante de la coagulación de la leche de diversos mamíferos y posteriormente deshidratación del cuajo, dándole forma con moldes y prensado (Villegas y Cervantes, 2011). El origen del queso es desconocido, pero se presume que se dio a conocer en el Medio Oriente hace 10,000 años. Con el paso del tiempo, se han desarrollado diversas técnicas para la fabricación del queso, creando una gama variable del producto con el fin de preservar los nutrientes importantes que pueden ser desaprovechados al descomponerse la leche. Este producto forma parte importante de la dieta en diversas partes del mundo, debido a su alto contenido nutricional; en comparación con la leche, los nutrientes del queso se encuentran de manera más concentrada, ya que el proceso de elaboración implica la eliminación del suero de la leche (parte acuosa) después de que sucede la coagulación, y de esta manera se conservan los nutrientes esenciales (Tabla 1) (Kongo y Malcata, 2016a; Kongo y Malcata, 2016c). De igual forma, su popularidad e incorporación a la dieta se atribuye a su textura e intenso sabor. En el queso producido con leche cruda, estas características sensoriales son otorgadas por la microbiota natural de la leche. Un pequeño grupo de estos microorganismos, impide el crecimiento de patógenos transmitidos por los alimentos durante su fabricación. Al llevarse a cabo el proceso de pasteurización, con el calor

se inactivan ciertas enzimas tales como proteasas o lipasas, y se destruye parte de la microbiota natural disminuyendo así estas características sensoriales (Yoon y col., 2016).

Tabla 1. Porcentaje de nutrientes de leche y queso

Sustancia	Leche	Queso
Agua	87,5 %	45%
Materia Grasa	3,8 %	2,8 %
Proteínas	3,4 %	2,3 %
Azúcar	4,5 %	-
Minerales	0,8 %	4 %

(García y Ochoa, 2010)

El queso es un producto lácteo altamente versátil que puede ser usado en una gran variedad de platos culinarios, productos alimenticios formulados, y comidas ya preparadas, brindando estructura, textura, sabor y nutrición (Guinee, 2016). Constituye una fuente importante de nutrientes esenciales y compuestos que promueven la salud humana, estas características dependerán del tipo de leche con que sea elaborado, y las condiciones de fabricación. De esta manera, las propiedades nutricionales serán únicas y distintas para cada tipo de queso (Jerónimo y Malcata, 2016). El queso es elaborado con el fin de obtener un producto apetitoso que contenga la mayor parte de la grasa y la proteína de la leche en forma concentrada, que se pueda conservar por períodos largos de tiempo como: días, semanas, meses y años (García y Ochoa, 2010). Cuando es elaborado a partir de leche cruda, que no ha sido calentada a más de 40°C ni sometida a algún tipo de tratamiento, estos productos desarrollan un sabor más diversificado e intenso que los quesos que se producen con leche pasteurizada (Batchmann y col., 2011).

Tipos de Quesos

La gran diversidad de quesos es consecuencia de las distintas técnicas que se utilizan para su fabricación. Con el paso del tiempo, estas técnicas se han modificado en base en su mecanización. Los quesos se clasifican teniendo en cuenta varios aspectos (Tabla 2) (García y Ochoa, 2010). La clasificación que se utiliza comúnmente, es en base a su textura, como 'fresco',

'semiduro' o 'maduro', o simplemente en función de su origen y método de procesamiento, como 'procesado' o 'tradicional' (Kongo y Malacata, 2016b).

Tabla 2. Clasificación de quesos

<i>Según la leche empleada en su elaboración</i>	Vaca Oveja Cabra	Camella Búfala Yegua
<i>Por su contenido en grasa</i>	Ricos en grasa 60% Grasos 45%	Semigrasos 25% Magros 10%
<i>Por la técnica empleada en su elaboración</i>	Crudos: Blandos, Compactos Curados: Prensados, Cocidos, Salados, Fermentados, Al aceite, Fundidos	
<i>Teniendo en cuenta la consistencia del queso</i>	De pasta blanda De pasta firme	De pasta dura De pasta extra dura
<i>De acuerdo a la conservación</i>	Frescos Maduros Extra maduros	

(García y Ochoa, 2010)

Queso fresco. Este tipo de quesos se caracterizan por contener el más alto grado de humedad, en comparación a otros tipos de quesos, además no presentan forma propia, adquiriendo la forma del recipiente en el cual se encuentran contenidos. Son quesos suaves y poco ácidos con un período de maduración corto, por lo que deben ser refrigerados (Ramírez y Vélez, 2012). Después de su fabricación, está listo para el consumo y no es sometido a ningún cambio físico o químico adicional. El proceso de elaboración de queso fresco deberá llevarse a cabo en condiciones higiénico-sanitarias adecuadas y con buenas prácticas de manufactura, que permitan reducir al mínimo la contaminación microbiana perjudicial (Plaza, 2015).

Queso maduro. Son quesos que han sufrido un proceso de maduración o de transformación de sus componentes por acción de los cultivos lácticos que los hacen más

apetitosos, nutritivos y de larga duración (García y Ochoa, 2010). Durante su maduración, los quesos son volteados frecuentemente para evitar que se deformen, y la corteza tome forma uniforme (Siciliano, 2010). En general, requieren períodos de maduración de más de 9 meses, por lo que se hacen como grandes ruedas de queso para permitir una maduración constante pero lenta. Debido a lo anterior, presenta muy bajo contenido de agua desarrollando fuerte aroma e intenso sabor, obtienen una textura muy desmenuzable y seca, haciéndolos apropiados para rallar (Kongo y Malcata, 2016b).

Queso procesado. Es un producto que se caracteriza por ser elaborado con mezclas de quesos naturales, adicionando ingredientes como aceites vegetales, mantequillas varias, sustancias emulsivas, conservantes artificiales y condimentos (Valdemar, 2014). Son sometidos a procesos térmicos de 70°C durante 30 segundos, u otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que le permite prolongar su vida de anaquel (Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994).

Elaboración de Quesos

La producción de queso es un proceso basado en la coagulación enzimática de la leche, seguido por la separación de proteínas, eliminación de hidratos de carbono y una fermentación bacteriana extendida (Bachmann y col., 2009). La leche que se utiliza no debe tener bacterias perjudiciales, sustancias inhibidoras ni impurezas: debe poseer olor y sabor fresco, para evitar contaminaciones, transmisión de enfermedades y demasiada acidificación. Este producto es un alimento excepcional, debido a que utiliza una gran variedad de métodos tradicionales conocidos para la conservación de alimentos, lo que lo convierte en un producto confiable, si se elabora de manera responsable (García y Ochoa, 2010).

La realización del queso implica la deshidratación, la leche de vaca puede contener alrededor del 90% de agua y el queso menos de la mitad. La acidificación, es otro método que colabora en la conservación del queso. De manera natural, la leche presenta un nivel de acidificación que oscila entre 14 a 16 Dornic (manera de medir la acidificación, se escribe °D), y un queso tendrá como mínimo 45 y algunos hasta 130. Los microorganismos que puedan encontrarse alrededor para contribuir al deterioro del producto y de la salud humana, no podrán tolerar estos niveles de acidez. Para que se lleven a cabo los dos métodos anteriores, se agrega una solución de agente coagulante a la leche ordeñada, y una vez transcurrido el tiempo de

acción, se corta la cuajada y se le agrega el salado. Posteriormente se moldea en recipientes circulares y es prensado para llevarlos a refrigeración. El suero es eliminado (Battro, 2010).

Queso Artesanal

Para poder hablar de un producto artesanal, primeramente, se debe definir el término “artesanal” y sus diferencias con el método industrial. La importancia que resalta en el tema, es que lo “artesanal” abarca la producción de alimentos a predominio mayoritariamente manual, esto no excluye el uso de maquinaria, pero lo minimiza. Se basa en la práctica profesional de técnicas aprendidas a lo largo del tiempo que son dejadas de generación en generación (González, 2012). Sin embargo, la calidad artesanal no es uniforme. Su mismo origen no lo permite: la manera de realizar el producto de cada artesano, afecta la homogeneidad de la producción en general. Debido a lo anterior, es que este tipo de productos no pueden ser incorporados al mercado formal, puesto que se debe de dar garantía al consumidor de la seguridad del alimento a través de la incorporación de normas y procedimientos de calidad. A pesar de que la mayoría de los productos de origen artesanal son alimentos de bajo riesgo, existen otros que caen dentro de lo que se conoce como “alimentos potencialmente peligrosos”, como es el caso de alimentos de origen animal cuyas características nutrimentales los hace propensos al crecimiento de microorganismos patógenos (Lancibidad, 2012).

Desde la antigüedad, el hombre ha realizado diversas técnicas para la conservación de la leche, siendo la elaboración de queso uno de los métodos más conocido para obtener dicho resultado (Yoon y col., 2016). El queso fresco artesanal se elabora a partir de leche cruda o pasteurizada, con fermentación espontánea y corta maduración, utilizando metodologías muy rudimentarias, no estandarizadas (Reséndiz y col., 2012). En los últimos años, ha existido un aumento en la demanda de productos artesanales, especialmente en quesos de diferentes períodos de maduración y origen de materia prima (Figura 2). Debido a lo anterior, se debe considerar ofrecer al consumidor un producto seguro y de calidad desde el punto de vista de salud pública. Los productos de origen artesanal no se han considerado en la legislación vigente ni poseen denominación de origen protegida. Lo anterior implica que las autoridades sanitarias están obligadas a retirar el producto del comercio, ocasionando importantes pérdidas económicas para los productores de las pequeñas empresas, debido a que la manufactura quesera está ligada como actividad complementaria a la ganadería. La realidad es que esta actividad se mantiene activa por vías informales (Vasek y col., 2004).

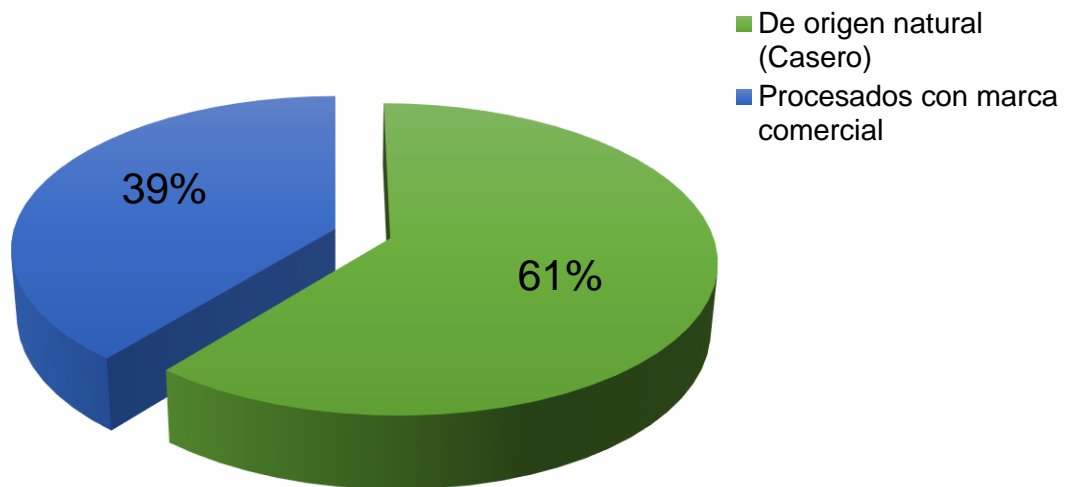


Figura 2. Preferencia de consumo de productos lácteos en cuanto a su origen (Rodríguez y col., 2013).

Causas de Contaminación en la Elaboración de Quesos Artesanales

Las enfermedades transmitidas por alimentos son causadas, principalmente, por la ingestión de microorganismos viables (infección) o toxinas que producen intoxicación, en cantidades suficientes para desarrollar una patología. Representan un alto grado de morbilidad y mortalidad, y pueden tener diversos orígenes, como química, parasitarias y microbiológicas. Esta última se destaca por presentar mayor riesgo para la salud pública debido a la gravedad de los síntomas clínicos, y la gran cantidad de alimentos y microorganismos que pueden estar involucrados (Campos y col., 2009). En la actualidad la contaminación de los alimentos, ya sea de origen microbiológico o químico, causa gran preocupación entre los consumidores (Nerín y col., 2016).

En Estados Unidos, se registraron 65 brotes de origen alimentario relacionados con los productos lácteos durante 1993 – 2006. De esos brotes, 27 (42%) fueron relacionados a queso producido con leche cruda, y 38 (58%) se relacionaron a queso producido con leche pasteurizada. El queso artesanal se ha etiquetado como un producto de riesgo, se han reportado brotes mundiales de enfermedades transmitidas por alimentos atribuidas a su consumo, por lo que los consumidores se han creado la percepción de que es más riesgoso que consumir queso producido con leche pasteurizada. Sin embargo, estudios han demostrado que la tasa de

incidencia de enfermedades transmitidas por queso pasteurizado es mayor a las transmitidas por queso producido con leche cruda (Yoon, 2016).

La leche y los productos derivados de la leche son alimentos con alto contenido nutricional debido a que están presentes minerales, vitaminas, hidratos de carbono, grasas, proteínas y agua. En condiciones normales, la leche cruda contiene microorganismos que no llegan a producir daño alguno en el ser humano, la presencia de microorganismos patógenos en ella se asocia principalmente a la contaminación por medio de la ubre infectada o fuentes ambientales (trabajadores, heces, polvo, envases o equipo contaminado) durante el proceso de elaboración (Sadiq y col., 2016). La contaminación puede presentarse principalmente por bacterias, levaduras y mohos, provocando intoxicación o infecciones en los consumidores, es por ello que las BPM y el control microbiológico juegan un papel importante en la industria láctica (Anderson y col., 2011).

En los casos en que el queso ha sido incriminado en brotes de intoxicación por alimentos, varios factores han estado involucrados incluyendo el incorrecto almacenamiento de la leche (sin refrigeración durante varios días antes de su fabricación), residuos de antibióticos en la leche, falta de higiene en los equipos, contaminación ambiental grave, el desprendimiento de microorganismos por parte del personal durante la producción, entre otros factores (Cogan y Vitale, 2016).

Mastitis Bovina

La mastitis es una enfermedad que afecta la salud de las vacas, como consecuencia la producción y calidad de leche se ven gravemente disminuidas (Srednik y col., 2015). Dicha patología genera grandes pérdidas económicas para los productores de leche, debido a que aumentan los costos de tratamiento, llegando en ocasiones al sacrificio prematuro del ganado infectado (Duarte y col., 2015). La mastitis se caracteriza por presentar inflamación de la ubre, haciendo que la mayoría de los agricultores se centren en los cambios exteriores y en la consistencia de la leche producida. Sin embargo, esta enfermedad puede ocurrir de manera subclínica, es decir, que no se presenten cambios exteriores en la ubre que indiquen la presencia de una anomalía (Blowey y Edmondson, 2010). La presencia de mastitis puede deberse a diversos factores que van desde la zona geográfica, el clima, periodos de sequía, fuga de leche, los regímenes de la alimentación, entre otros (Olivares, 2015).

Generalmente, las bacterias son las principales causantes de mastitis, aunque últimamente se ha reportado un aumento de los casos de etiología micológica (Spanamberg y col., 2008). La mayoría de los casos de origen bacteriano, están asociados a *Staphylococcus*

coagulasa negativos (SCN), ocasionando la infección intramamaria y la condición subclínica los días posteriores al parto; aunque *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo) y otros patógenos también pueden ocasionar mastitis, es menor el número de casos reportados por estos microorganismos. La infección causada por SCN en la lactancia temprana, por lo general, no produce un impacto negativo en la productividad posterior (De Vlieghe y col., 2012). Por otro lado, en la infección producida por *Staphylococcus aureus*, los episodios comienzan de manera subclínica y evolucionan a la cronicidad, permaneciendo a lo largo de la vida del animal. Al llegar a la etapa crónica, la eficacia de los antibióticos es baja y no existe una terapia efectiva para eliminar en su totalidad la infección. Entre otros factores, se considera que el poco éxito a los tratamientos es debido a que *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad de permanecer dentro de las glándulas mamarias del hospedero, evadiendo la respuesta inmune y sobreviviendo por un periodo prolongado sin causar inflamación clínica (Pereyra y col., 2014).

Otro grupo de bacterias, comúnmente aislados en casos de mastitis, son los denominados coliformes. Entre este grupo de patógenos se encuentran los géneros de *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, entre otros (Oliver y col., 2011). *Escherichia coli* es un microorganismo oportunista ambiental que, en la mayoría de los casos, suele causar infecciones intramamarias transitorias en las vacas, pero se han observado infecciones intramamarias persistentes (Fairbrother y col., 2015).

Contaminación Cruzada

Se estima que las enfermedades transmitidas por los alimentos causan 76 millones de casos, 350,000 hospitalizaciones y 5,000 muertes cada año en Estados Unidos (Ravishankar y col., 2010). Es por ello que la contaminación de los alimentos sigue siendo cada día una grave amenaza a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 25% de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, es asociado a la contaminación cruzada, la cual se presenta debido a las prácticas deficientes de higiene, equipos contaminados, inadecuada manipulación, procesamiento y transporte de los alimentos, entre otros factores (Munther y col., 2016).

Se define “contaminación cruzada” como un término general que hace referencia a la transferencia, directa o indirectamente, de microorganismos de un producto, ambiente o personal contaminado a un producto no contaminado (Carrasco y col., 2012). La infección cruzada puede tener lugar a través de dos vías diferentes: el contacto directo del trabajador con el producto, y mediante el contacto con las superficies contaminadas. Los patógenos como bacterias y virus,

son capaces de sobrevivir en superficies por largos períodos de tiempo, lo que resulta en una mayor probabilidad de que la contaminación se presente (Habchi y col., 2016). La manipulación inadecuada es responsable de la mayoría de los casos de enfermedades transmitidas por alimentos, incluyendo el uso inadecuado de temperatura durante la preparación y conservación de alimentos. Cuando los manipuladores no practican una adecuada higiene personal o la preparación de alimentos correcta, pueden convertirse en vehículos de microorganismos, a través de sus manos, los cortes o llagas, boca, piel y cabello, entre otros (Campos y col., 2009). En la industria dedicada a la producción de alimentos, este tipo de contaminación puede generar grandes pérdidas económicas que van desde una disminución de la disponibilidad de materia prima hasta un problema importante de salud pública (Fu y col., 2016).

Microorganismos Indicadores de Contaminación en Alimentos

Los grupos indicadores microbiológicos, como las bacterias heterotróficas aerobias, los coliformes, enterobacterias y hongos, son microorganismos de gran ayuda en la evaluación de la salud ambiental (Mulec y Oarga, 2014). Este grupo de microorganismos tienen un comportamiento, concentración y reacción frente a factores ambientales similar a los patógenos, pero son más rápido, fáciles y económicos de identificar. Una vez demostrada su presencia, se puede inferir que los patógenos se encuentran presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes o sistemas de desinfección es similar a la del indicador (Pulido y col., 2005).

Cuando se evalúa la calidad microbiológica de un producto, los indicadores microbiológicos deben cumplir con ciertas características: deben estar presentes y detectables en todos los alimentos que por su calidad (o falta de ella) deben ser evaluados; su crecimiento y el número de microorganismos presentes deben tener una correlación negativa directa con la calidad del producto; deben ser fácilmente detectados y enumerados, y ser claramente distinguibles de otros organismos; deben ser fácilmente enumerados en un corto período de tiempo; su crecimiento no debe verse afectado negativamente por otro componente del alimento (Jay, 2012).

La calidad microbiológica es un punto esencial para indicar la estabilidad de los productos alimenticios y la higiene que se llevó a cabo durante su elaboración (Sangadkit y col., 2012). Estos microorganismos actúan como índice de prácticas sanitarias y revelan los defectos de producción que lleva consigo un peligro potencial para la salud. Actualmente en la industria alimentaria, se determina a ciertos microorganismos como marcadores de contaminación, siendo

los principales: Mesófilos Aerobios, Coliformes Totales y Fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Mohos y Levaduras (Guidi y col., 2015).

Mesófilos Aerobios

También denominados “viables totales”, este grupo indicador microbiológico incluye microorganismos que crecen en presencia de oxígeno y cuya temperatura de crecimiento está entre 15 – 45°C, con óptimo de 35°C (Menéndez, 2013). En el recuento de estos microorganismos, se estima la microbiota total, sin especificar las especies bacterianas. Con excepción de los productos elaborados mediante la fermentación, este recuento nos brinda una noción sobre el nivel de salubridad de los alimentos (Guidi y col., 2015). Casi todos los microorganismos patógenos para los humanos son mesófilos, como es de esperar, pues la temperatura corporal humana es, casi constante, de 37°C. La determinación de este grupo indicador es una de las técnicas microbiológicas más simples y mayormente utilizadas. Esta determinación nos brinda información acerca de la calidad microbiológica del producto, sin embargo, un recuento bajo de mesófilos aerobios no implica o asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa la presencia de microbiota patógena (Diez, 2014; Rodríguez, 2013). Es considerado el parámetro principal para evaluar la calidad e higiene de la leche cruda y los productos derivados de la misma, de esta manera se puede conocer las condiciones de manipulación, producción, almacenamiento y transporte de la materia prima (Freitas y col., 2009).

Coliformes Totales

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana debido a que son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal del hombre, así como de los animales de sangre caliente, encontrándose en grandes cantidades y se pueden detectar de manera rápida y sencilla. Algunos microorganismos que conforman este grupo son *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Edwardsiella*, y *Citrobacter*, viviendo como saprófitos independientes o como bacterias intestinales (Pulido y col., 2005). Todos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, fermentan lactosa y producen gas a 37°C dentro de 48 h. Sin embargo, el subgrupo de coliformes fecales es capaz de fermentar a lactosa y producir gas a 44,5°C en 24 h. Estos coliformes contienen un alto número de *Escherichia coli*, aunque su proporción exacta es desconocida (Campos y col., 2009). Los coliformes son bacterias en forma

de bacilos, Gram negativos, no formadores de esporas y se pueden encontrar en heces, medios acuáticos, en suelo y vegetación, son agentes causales de mastitis, ya que se encuentran distribuidos ampliamente en el entorno de las granjas. Cuando un recuento de bacterias se encuentra en el intervalo permitido, los coliformes pueden ser eliminados fácilmente a través del proceso de pasteurización. No obstante, en algunas circunstancias (como el consumo de leche o productos derivados sin pasteurizar), la presencia de coliformes en la leche puede terminar en enfermedades gastrointestinales severas para el humano (Pantoja y col., 2011).

Coliformes fecales. La detección de coliformes fecales, especialmente *Escherichia coli*, ha sido aprobado a nivel mundial por la industria alimenticia para determinar la calidad microbiológica de los alimentos. Aunque la mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inocuas y están presentes en el intestino jugando un rol de protección contra otras bacterias, existen cepas dañinas como la *Escherichia coli* O157:H7 la cual se encuentra en el ganado y se transmite por alimentos que han sido contaminados con heces de vaca, provocando en humanos diarrea aguda y sanguinolenta con dolor abdominal, y síndrome urémico hemolítico. Otro tipo de cepas infecciosas que se han descrito son la *Escherichia coli* enteroagregativa (CEEA), *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC), las cuales también causan graves riesgos para la salud. La detección de estos microorganismos en los productos, sugiere que la contaminación proviene directa o indirectamente de origen fecal de humanos y/o animales de sangre caliente. Las concentraciones elevadas de coliformes fecales y *Escherichia coli* compromete las malas prácticas de manipulación y producción durante el proceso de elaboración de los alimentos (Sangadkit y col., 2012; Saxena y col., 2015). Para que un microorganismo indicador de contaminación fecal sea considerado como tal debe reunir algunas características, como son: ser un constituyente normal de la microbiota intestinal de individuos sanos; estar presente, de forma exclusiva, en las heces de animales homeotérmicos; estar presente cuando los microorganismos patógenos no lo están; presentarse en número elevado, facilitando su aislamiento e identificación; debe ser incapaz de reproducirse fuera de los animales homeotérmicos; su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas, su resistencia a los factores ambientales debe ser igual o superior al de los patógenos de origen fecal; debe ser fácil de aislar y cuantificar; no debe ser patógeno (Pulido y col., 2005).

Mohos y Levaduras

Un amplio espectro de hongos (mohos y levaduras) se encuentran a menudo en diversos productos alimenticios en los que pueden provocar graves daños y causar pérdidas económicas considerables (Tournas y col., 2011). Por lo tanto, el recuento total viable de mohos y levaduras ha sido uno de los criterios importantes, no solo para el control de la higiene, sino también para la prevención del deterioro de los alimentos (Teramura y col., 2015).

Los mohos son hongos filamentosos multicelulares que se caracterizan por crecer en superficies formando colonias aterciopeladas o algodonosas, a veces con pigmentos. Se encuentran distribuidos ampliamente en el medio ambiente, incluso formando parte de la microbiota normal de algunos alimentos, como microbiota transitoria en los seres humanos y como indicadores de contaminantes en equipos mal sanitizados. Por otro lado, las levaduras no son filamentosas, y están constituidas por una sola célula cuya morfología puede variar entre especies y se pueden encontrar en suelos, frutas, verduras y otros alimentos (León y col., 2015).

Tanto los mohos como las levaduras, a través de diversas vías pueden llegar a contaminar los alimentos durante su elaboración, al tener una materia prima rica en nutrientes la proliferación de estos microorganismos se facilita siendo los responsables de la aparición de manchas coloreadas, texturas desagradables, olores y sabores indeseables causando pérdidas económicas, problemas de calidad y de salud (Carrero y López, 2012). Aproximadamente, el 20% de los alimentos en el mundo se desperdicia por el deterioro y la intoxicación causada por hongos, patógenos y bacterias transmitidas por los alimentos. *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* y *Penicillium glaucum* son hongos comunes que causan deterioro de los alimentos a través de la secreción de lipasas y proteasas (Rodríguez, 2013). Este grupo indicador de contaminación es importante para la seguridad alimentaria mundial, debido a que algunos de ellos producen micotoxinas que son tóxicas para los seres humanos y animales domesticados. La detección temprana de estos microorganismos indeseables en la materia prima o alimentos pre-elaborados, seguido de acciones correctoras para evitar los riesgos asociados con la acumulación de micotoxinas de deterioro de alimentos, es primordial para reducir los costos de deterioro y la retirada de productos, así como evitar problemas de salud pública (Rodríguez y col., 2015).

Staphylococcus aureus

Las intoxicaciones o infecciones transmitidas por los alimentos son atribuidas a las toxinas o bacterias presentes en los alimentos, respectivamente. *Staphylococcus aureus* es un

microorganismo presente en la microbiota normal de los seres humanos, ubicándose en la cavidad nasal y en la superficie de la piel, también puede encontrarse en las membranas mucosas. La falta de BPM durante el procesamiento de los alimentos, puede llevar a la contaminación del producto, esto se da comúnmente a través del contacto de los trabajadores infectados o portadores de este microorganismo con los alimentos (Tango y col., 2015).

Al presentarse condiciones favorables, *Staphylococcus aureus* es capaz de producir toxinas, las cuales causan daños entéricos. Actualmente, se le han identificado 20 tipos de enterotoxinas (EEs), sin embargo, las más implicadas en intoxicaciones alimentarias son: la enterotixina A (EEA), enterotoxina B (EEB), enterotoxina C (EEC), enterotoxina D (EDD) y enterotoxina E (EEE) (Valero y col., 2012). La leche sin pasteurizar puede llegar a contaminarse con la enterotoxina de *Staphylococcus aureus*. Varios de estos microorganismos muestran resistencia antimicrobiana, lo cual pone en mayor riesgo a los consumidores (Rola y col., 2014). Una vez que se ha consumido alimento contaminado con la toxina estafilocócica, los síntomas aparecen en pocas horas causando náuseas, vómitos, calambres abdominales y diarrea (Duquenne y col., 2016).

Staphylococcus spp, también, es uno de los principales agentes causales de mastitis en todo el mundo, no obstante existe diferencia en patogenicidad entre las especies de *Staphylococcus* coagulasa positivo y coagulasa negativo, siendo estos últimos los de menor patogenicidad (Srednik y col., 2015). *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo) es el organismo más frecuentemente aislado en casos de mastitis bovina, las características patogénicas que posee ha llevado a que los métodos tradicionales de prevención y curación no sean efectivos ocasionando infecciones crónicas, que en la mayoría de los casos deja daños permanentes al tejido mamario (Camussone y Calvino, 2013).

Control de Calidad en los Alimentos

La capacitación en un sistema de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) y, el Análisis de Peligros y la Identificación de Puntos Críticos de Control (APPCC), han demostrado ser métodos eficientes para la mejora de la calidad en los productos de la industria alimentaria, mejorando no sólo los aspectos de la seguridad alimentaria, que son importantes en cualquier proceso alimentario, sino además de aspectos generales de calidad. En los últimos años, los sistemas de gestión enfocados hacia la calidad y seguridad del producto han ido tomando cada vez más importancia, es por ello que el

sistema de BPM se ha convertido en una necesidad que ha pasado a ser obligatoria en muchos países (Román, 2007).

El sistema APPCC, es un instrumento con un enfoque preventivo y sistemático para asegurar la inocuidad de los alimentos desde la producción primaria hasta llegar al consumidor. Permite identificar peligros específicos y medidas para su control con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos (Castellanos y col., 2004). Para que pueda ser implementado, es necesario tener conocimiento de las bases fundamentales que complementan el sistema, estos son los POES y las BPM (Figura 3). Los POES se definen como un conjunto de normas que establecen las tareas de saneamiento necesarias para la conservación de la higiene en el proceso productivo de alimentos. Esto incluye la definición de los procedimientos de sanidad y la asignación de responsables. El sistema contempla la ejecución de las tareas antes, durante y después del proceso de elaboración, y se divide en dos procesos diferentes que interactúan entre sí: la limpieza y la desinfección (Pilatti, 2007).

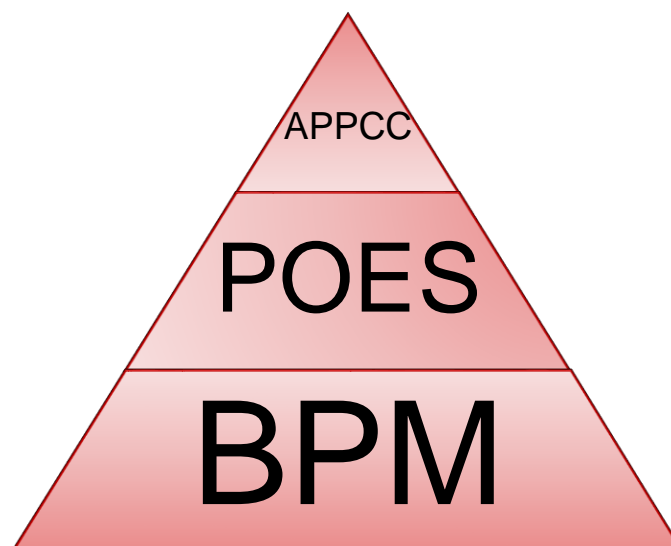


Figura 3. Sistemas de control de calidad en los alimentos

De acuerdo con la OMS, las BPM “constituyen las condiciones operacionales mínimas para la elaboración de alimentos inocuos, formando parte de la garantía de la calidad que asegura que los productos son elaborados y controlados de acuerdo a los estándares de calidad adecuados a su uso y como lo requiere la autorización de comercialización”. Su aplicación va dirigida a productores y otras partes implicadas en el procesamiento de los productos. Las BPM

están destinadas a reducir riesgos durante el proceso de producción, como la contaminación cruzada (Brhlikova y col., 2015). Para lograr lo anterior, se utilizan medidas generales en donde se incluyen: la higiene en la producción primaria, el diseño higiénico de equipos e instalaciones, el control de las operaciones, el mantenimiento y las prácticas de saneamiento, la higiene personal, el transporte, la información sobre el producto y la formación y sensibilización del consumidor (Costas y col., 2012).

Las industrias alimenticias de todo el mundo deben ajustarse a los estándares microbiológicos asociados con la seguridad y la calidad de sus productos. Lo anterior implica que el alimento brinde confianza al consumidor y no ponga en riesgo su salud. Los límites establecidos con respecto a la presencia de microorganismos en los alimentos, son cada día más estrictos (Pothakos y col., 2012). A su vez, los consumidores cada vez se preocupan más por cuestiones de calidad relacionadas al contenido nutricional, microbiológico, y al aspecto físico y químico en los alimentos frescos. Sin embargo, en la mayoría vienen implícitos conservadores para aumentar la vida útil de los productos, pero no revierten el deterioro de los alimentos. Los productos de origen artesanal no contienen conservadores, esto hace que sea necesaria la adopción de BPM en todas las etapas del procesamiento con el fin de garantizar la calidad higiénica de los alimentos (Monteiro y col., 2013). Debido a que los manipuladores de alimentos, mantienen contacto directo con la materia prima durante el proceso de elaboración del producto, transporte, almacenamiento y distribución, deben mantener un grado alto de aseo personal, utilizar vestimenta y calzado adecuado, y usar cubreboca para evitar la contaminación. No se debe permitir que laboren si se encuentran enfermos, además deben cubrirse de manera adecuada cortadas o heridas. Por último, la empresa debe garantizar y documentar que sus empleados reciban la capacitación adecuada relacionada a la higiene en los alimentos (Moreno y Alarcón, 2010).

Se ha demostrado que la naturaleza microbiológica de la leche junto con los procedimientos utilizados durante la ordeña y el proceso de elaboración puede llegar a afectar la calidad del queso. Por lo que la aplicación de medidas para asegurar la calidad en la fabricación del queso, así como las condiciones de higiene, son obligatorias para obtener un producto seguro y de calidad. La implementación de BPM durante la ordeña y la elaboración del queso, pueden llegar a evitar o reducir la contaminación del producto (Costas y col., 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de tesis es parte de un Proyecto de Investigación sobre innovación rural del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). Se seleccionó la región de Cobachi, Sonora por cumplir con las siguientes características a favor para la elaboración del proyecto: principalmente, es una zona con un nivel socioeconómico muy similar entre sus habitantes; es un área declarada libre de Brucelosis y Tuberculosis bovina por el Laboratorio Estatal de Salud Pública; y por último, los productores de esta región se ofrecieron voluntariamente como partícipes en la elaboración del proyecto.

Planteamiento del Estudio

Se realizaron tres muestreos en diferentes períodos (Tabla 3). En cada muestreo el proceso se dividió en cuatro áreas de estudio, las cuales fueron: sala de ordeño, sala de proceso, sala de almacenamiento de quesos y cuarto de lavado de materiales de ordeña. Posteriormente, se tomaron los puntos importantes a analizar: lavado de manos del personal involucrado en la ordeña, superficies que estén en contacto con la leche y queso, leche recién ordeñada, queso recién elaborado, agua de lavado y ambiente en el área donde se desarrolla el proceso.

Tabla 3. Fechas de los muestreos.

Muestreo	Fecha	Temporada
<i>Primer Muestreo</i>	Agosto del 2015	Verano
<i>Segundo Muestreo</i>	Noviembre del 2015	Invierno
<i>Tercer Muestreo</i>	Marzo del 2016	Primavera

Como referencia del sistema de la quesera, se utilizaron registros de quesos analizados (controles positivos) antes de implementar el sistema de BPM. Se procesó por triplicado muestras de quesos de marcas comerciales, como controles negativos. Las muestras a analizar, dependieron del grupo de estudio. Por lo tanto, la recolección se dividió de la siguiente manera:

Toma de Muestras

Primeramente, el personal responsable de la toma de muestra en cada una de las etapas, lavaron sus manos con agua y jabón. Posteriormente se aplicó etanol al 70%; esto se realizó antes y después de cada toma de muestra. Para la toma, manejo y transporte de muestra de leches y quesos, para su análisis microbiológico se siguió las indicaciones descritas en la norma oficial mexicana NOM-109-SSA1-1994.

Para la toma de muestra de superficies se utilizó el método de la esponja, el cual consiste en frotar con una esponja estéril, previamente humedecida en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo. Para ello se utilizaron esponjas estériles whirl-pak (NASCO) retirando la esponja de su envoltura cuidadosamente con un guante estéril, se humedeció una parte en una solución de buffer de fosfatos al 1%, se frotó vigorosamente el área a muestrear y se colocó la esponja en su envoltura junto con el resto de la solución de buffer. Para la toma de muestra del lavado de manos de los trabajadores, se utilizó el método del enjuague, el cual consiste en realizar un enjuague o inmersión en una solución diluyente. Para ello, se utilizaron bolsas plásticas whirl-pak estériles (NASCO) y buffer de fosfatos estéril al 1%. Las muestras se colocaron en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuyó uniformemente en la base y en los laterales, de tal manera que se aseguró que la temperatura del contenedor no fuese mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio (Parrilla y Saldade, 1990).

Sala de Ordeña

Pezones de la vaca. Se tomó una muestra frotando los pezones con una esponja estéril humedecida con buffer de fosfatos estéril, y posteriormente se introdujo en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) que contenía 100 mL del mismo buffer como volumen final. Se tomó una muestra inmediatamente después de la limpieza de los pezones por parte del ordeñador, pero previo a la ordeña.

Lavado de manos de los ordeñadores. Los ordeñadores introdujeron las manos en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) con 100 mL de buffer de fosfatos estéril y se tallaron tanto éstas, como las uñas dentro del buffer (Figura 4). Se tomó una muestra inmediatamente después del lavado de manos del ordeñador, pero previo a la ordeña, y se tomó otra muestra después de terminada esta.



Figura 4. Toma de muestra del lavado de manos del ordeñador.

Superficie de materiales y equipo. Así mismo, se tomaron muestras de igual forma de los siguientes materiales y equipo utilizados en la sala de ordeña (Figura 5):

- a. Partes individuales internas de las pezoneras (campanas de las pezoneras de la máquina de ordeña).
- b. Mangueras de paso de la leche recién ordeñada al depósito (mangueras de las pezoneras)
- c. Depósito de la leche durante la ordeña
- d. Mangueras de paso de la leche del depósito a la sala de proceso
- e. Tubo localizado en la pared de entrada de la leche a la sala de proceso.

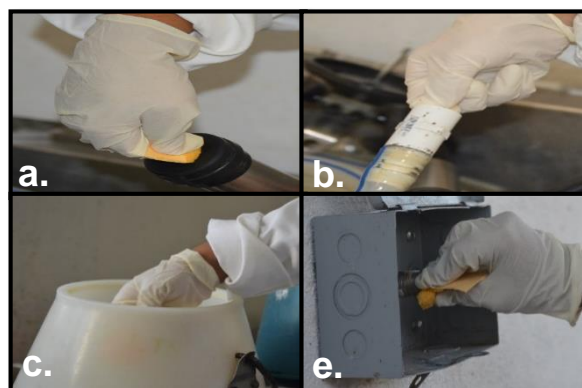


Figura 5. Toma de muestra de las superficies de materiales y equipo dentro de la sala de ordeña.

Leche directa de la ubre de la vaca. Se tomó muestra de leche de las vacas que en ese momento estaban destinadas para su ordeño para la elaboración del queso. Primeramente, se lavó con agua corriente los pezones, y se desinfectaron con suficiente agua clorada (200ppm). Posteriormente, se prosiguió a secar cada pezón con una toalla de papel individual, se descartaron los primeros chorros de leche, con el objetivo de eliminar la microbiota normal del canal y el orificio del pezón para minimizar la contaminación de la leche. Una vez realizada la correcta limpieza del pezón de la vaca, se procedió a realizar la recolección de la leche, la cual se llevó a cabo al momento del inicio de la ordeña, se recolectaron aproximadamente 100 mL de leche en total por vaca (25 mL aprox. por pezón) en bolsas estériles Whirl-Pak Nasco.

Leche del depósito. Directo del depósito de la leche, una vez terminada la ordeña, se tomaron aproximadamente 100 mL de leche con un recipiente estéril. La leche se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Agua utilizada para la limpieza de pezón. Directo del depósito de la sala de ordeña, se tomaron aproximadamente 100 mL de agua de lavado de las ubres con un recipiente estéril. El agua se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Ambiente de la sala de ordeña. En la sala de ordeña fueron expuestas durante 15 minutos y en distintos lugares, placas de agar PDA (Potato Dextrosa Agar) y PCA (Plate Count Agar) para cuenta total de hongos y levaduras, y mesófilos aerobios, respectivamente.

Sala de Proceso

Lavado de manos del personal de la sala de proceso. El personal, en forma individual, introdujo las manos en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) con 100 mL de buffer de fosfatos estéril y se tallaron tanto éstas, como las uñas dentro del buffer. Se tomó una muestra para cada individuo inmediatamente después del lavado de manos por parte del procesador, pero previo al proceso, y se tomó otra muestra después de terminado éste.

Superficie de materiales y equipos. Así mismo, se tomaron muestras de igual forma cómo se menciona anteriormente, representando aproximadamente 100 cm² de los siguientes materiales y equipo utilizados en la sala de proceso (Figura 6):

- a. Dos mesas y prensas

- b. Tina de cuajado, agitador de la leche y liras
- c. Tarja de lavado, fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado
- d. Mantas de envoltura de queso y moldes

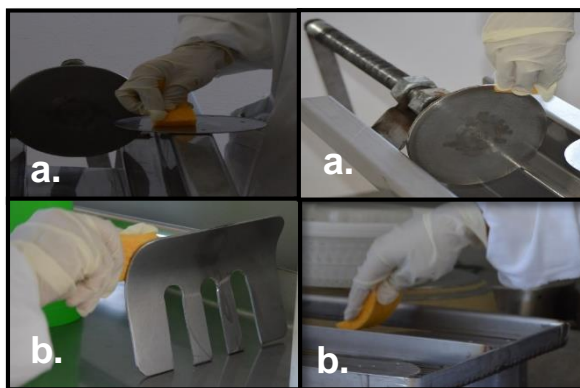


Figura 6. Toma de muestra de las superficies de materiales y equipo dentro de la sala de proceso.

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 100 ml de leche con un recipiente estéril. La leche se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Cuajado después de desuerado (Cedazo). Una vez transcurrido el tiempo de cuajado, se tomaron directo de la tina de cuajado aproximadamente 100 ml de cuajo con un recipiente estéril y se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Queso del día. Se utilizó un cuchillo estéril para tomar una muestra representativa (aprox. 100 g) del queso recién elaborado, éste último se introdujo en una bolsa estéril Whirl-Pak (NASCO).

Agua de la llave. Se tomaron aproximadamente 100 mL de agua procedente de la llave que se encuentra dentro de la sala de proceso. El agua se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Agua con filtro bacteriológico. Se tomaron aproximadamente 100 mL de agua procedente de la llave que presenta filtro bacteriológico que se encuentra dentro de la sala de proceso. El agua se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Ambiente de la sala de proceso. Dentro de la sala de proceso, fueron expuestas durante 15 minutos y en distintos lugares, placas de agar PDA (Potato Dextrosa Agar) y PCA (Plate Count Agar) para cuenta total de hongos y levaduras, y mesófilos aerobios, respectivamente.

Sala de Almacenamiento de Quesos

Queso almacenado (24 horas). Se utilizó un cuchillo estéril para tomar una muestra representativa del queso almacenado, éste último se introdujo en una bolsa estéril Whirl-Pak (NASCO).

Superficies internas del refrigerador. Se tomó una muestra de aprox. 100 cm² frotando las superficies interiores del refrigerador donde almacenan los quesos elaborados, con una esponja estéril y posteriormente se introdujo en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) que contenía 100 mL de buffer de fosfatos estéril.

Ambiente de la Sala de Almacenamiento. Dentro de la sala de almacenamiento de quesos, fueron expuestas durante 15 minutos y en distintos lugares, placas de agar PDA (Potato Dextrosa Agar) y PCA (Plate Count Agar) para cuenta total de hongos y levaduras, y mesófilos aerobios, respectivamente.

Cuarto de Lavado de Materiales

Superficie de mesas. Se tomó una muestra de aprox. 100 cm² frotando las superficies de las mesas, con una esponja estéril y posteriormente se introdujo en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) que contenía 100 mL de buffer de fosfatos estéril.

Escobetillas. Se tomó una muestra frotando las escobetillas utilizadas para la limpieza del material utilizado en la ordeña, con una esponja estéril y posteriormente se introdujo en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) que contenía 100 mL de buffer de fosfatos estéril.

Mantas de limpieza de pezones. Se tomó una de las mantas utilizadas para la limpieza de los pezones de la vaca y se depositó en una bolsa whirl-pak estéril (NASCO) que contenía 100 mL de buffer de fosfatos estéril.

Agua para la limpieza de materiales. Dentro del cuarto de lavado de materiales utilizados para la ordeña, se tomó directamente de la llave, aproximadamente 100 mL de agua de lavado con un recipiente estéril. El agua se depositó en bolsas whirl-pak estériles (NASCO).

Ambiente del cuarto de lavado de materiales. Dentro del cuarto de lavado de materiales, fueron expuestas durante 15 minutos, placas de agar PDA (Potato Dextrosa Agar) y PCA (Plate Count Agar) para cuenta total de hongos y levaduras, y mesófilos aerobios, respectivamente.

Técnicas Utilizadas

Para realizar los análisis microbiológicos, se utilizaron técnicas descritas en Normas Oficiales Mexicanas.

Preparación de las Muestras.

Para llevar a cabo el recuento de mohos y levaduras, y mesófilos, se realizó una dilución primaria y diluciones seriadas de la muestra siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico; para ello, se pesó 10,0 g de queso en un recipiente estéril de tamaño adecuado, posteriormente se añadieron 90,0 mL de agua peptonada al 0,1%. Se homogeneizó adecuadamente hasta obtener una suspensión completa. Se dejó que las partículas grandes se sedimentaran, y se tomó la cantidad deseada (alícuota), tomando ésta de las capas superiores de la suspensión.

Para realizar una dilución primaria a partir de la leche y muestras líquidas, se agitó la muestra manualmente en un arco de 30 cm con 25 movimientos de arriba abajo, efectuados en un tiempo de 7 segundos. En condiciones asépticas, se tomó 10.0 mL de la muestra y se diluyeron con 90,0 mL de agua peptonada al 0,1% evitándose el contacto entre la pipeta y el diluyente.

Determinación y Recuento de Mesófilos Aerobios.

A partir de la dilución primaria, se realizaron 10 diluciones siguiendo el procedimiento de la técnica vertido en placa descrita en la norma NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa; la cual consiste en tomar 1,0 mL de la dilución correspondiente y se deposita por duplicado en cada caja Petri, mediante pipeta estéril. Se agregaron de 18,0 a 20,0 mL del medio agar Plate Count, previamente fundido y mantenido a 45°C a cada placa con muestra. Se homogeneizó y mezcló mediante seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en sentido contrario y seis de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr la completa incorporación del inóculo en el medio; se cuidó de que el medio no mojara la cubierta de las cajas. Se dejó solidificar. No se excedió a más de 20 min el tiempo que transcurrió en incorporar la muestra al diluyente y la agregación del medio de cultivo a las cajas Petri.

Se incubaron las cajas en posición invertida a 35°C por 48 h. Se consideraron “representativas” las cajas que contenían un número de colonias dentro del rango de sensibilidad entre 25 y 250 UFC. Una vez hecho el conteo de las cajas seleccionadas y obteniendo los promedios correspondientes, se aplicó el factor de dilución.

Determinación y Recuento de Coliformes Totales y Fecales (*Escherichia coli*).

Para realizar la determinación y recuento de coliformes totales en la muestra el procedimiento utilizado se tomó de la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del Número Más Probable. De acuerdo a ésta se tomó 1,0 mL de cada dilución de la misma muestra y se depositó en cada uno de los tubos de las series de 3 respectivamente con 10,0 mL de caldo Luril Sulfato Triptosa con campanas de Durham. Se dejó incubar a 35°C y se examinaron después de 48 h.

Para tener un resultado confirmatorio, de cada tubo que mostró formación de gas, se tomó una asada y se inoculó en un número igual de tubos con caldo Lactosa Billis Verde Brillante 2% con campana de Durham y se incubaron a 35°C por 48 h. Así mismo, de los mismos tubos con producción de gas, se tomó una asada y se sembraron en Caldo EC, y se incubaron a 44,5°C por 48 h.

De los tubos con formación de gas en Caldo EC, se tomó una asada y se sembró en agar EMB, se incubaron a 35°C por 24 h. Después de transcurrido el tiempo, se le realizaron pruebas bioquímicas (IMViC, TSI, MIO) a las placas con crecimiento de colonias sospechosas para

Escherichia coli y se incubaron a 35°C por 24 h para interpretar los resultados. Se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 25992 y *Enterobacter aerogenes* como control positivo y negativo, respectivamente, de coliformes fecales.

Para expresar los resultados de coliformes totales y fecales, se tomó la serie de tubos de la prueba confirmatoria que dieron formación de gas después del período de incubación requerido y se buscó el Número Más Probable (NMP) en los cuadros correspondientes.

Determinación y Recuento de Mohos y Levaduras.

Siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos; a partir de la solución madre y las diluciones seriadas, se colocó por duplicado en cajas Petri 1,0 mL de la muestra, utilizando para tal propósito una pipeta estéril. Seguido de esto, se vertió de 15,0 a 20,0 mL de agar Papa Dextrosa Acidificado, fundido y mantenido a 45°C en un baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que es vertido el medio de cultivo, no se excedió de 20 min.

Se mezcló cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Se dejó que la mezcla se solidificara dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se incubaron a 25°C y se contaron las colonias de cada placa después de 5 días. Se seleccionaron aquellas placas que contenían entre 10 y 150 colonias.

Determinación y Recuento de *Staphylococcus aureus*.

La determinación de *Staphylococcus aureus* se realizó siguiendo el procedimiento que indica la Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Determinación de *Staphylococcus aureus* en Alimentos. A partir de la dilución primaria y las diluciones seriadas, se utilizaron pipetas estériles de 1,0 mL para cada dilución y se depositó 0,1 mL sobre la superficie de las placas de agar Baird-Parker. Con varillas estériles de vidrio en ángulo recto se distribuyó el inóculo sobre la superficie del agar, utilizando una varilla para cada dilución. Se mantuvieron las placas en su posición hasta que el inóculo se absorbió por el agar. Se incubaron las placas de manera invertida a 35°C por 48 h. Se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 colonias típicas de *Staphylococcus aureus*; las colonias típicas se observaron de color negro, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de uno a dos mm y mostraron una zona opaca

y un halo claro alrededor de la colonia. Se tomaron colonias para la confirmación de *Staphylococcus aureus* dependiendo del número de colonias típicas obtenidas: para menos de 50 colonias típicas, se tomaron tres colonias por probar; entre 51 a 100 colonias típicas, se tomaron cinco colonias por probar; de 101 a 150 o más colonias típicas se tomaron siete colonias por probar.

Las colonias seleccionadas se sembraron cada una en tubos de 0,5 mL de caldo de Infusión Cerebro – Corazón y se incubaron a 35°C durante 24 h para la realización de la prueba de la coagulasa. Se inocularon en la misma forma cepas conocidas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 como testigos positivo y negativo, respectivamente, a la coagulasa. Después de la incubación se tomó con una pipeta de 1,0 mL, 0,3 mL de cada cultivo y se le agregaron 0,3 mL de plasma de conejo diluido volumen a volumen con solución salina estéril. Se dejó incubar en baño de agua de 35 a 37°C durante 6h y se observó en intervalos de 1 h. Se consideró positiva la prueba a *Staphylococcus aureus* si había formación del coágulo. No se realizó la prueba de Termonucleasa.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se analizaron un total de 28 muestras por cada muestreo realizado, además del conteo de mesófilos aerobios y, mohos y levaduras en el ambiente en las cuatro áreas de estudio. Se llevó a cabo una comparación cualitativa/cuantitativa de los resultados en los tres muestreos, con respecto a las normas pertinentes, para observar cuáles son los puntos que sobrepasan el límite máximo permitido establecido en cada norma. Cabe mencionar que para algunas muestras no hay normas oficiales mexicanas que establezcan un límite máximo permitido, por lo tanto, los resultados obtenidos de estos análisis se presentaron y se discutieron con ayuda de información tomada de la bibliografía consultada. La presencia de microorganismos indicadores de contaminación en cualquier punto del proceso nos ayuda a llevar a cabo una rastreabilidad desde el inicio del sistema hasta la obtención del producto final.

Mesófilos Aerobios

En los resultados obtenidos dentro del cuarto de lavado de materiales (Figura 7), las superficies inertes mostraron altos recuentos de mesófilos aerobios en los tres muestreos según el límite permitido de < 400 UFC/cm² descrito en la NOM-093-SSA1-1994, a excepción de la superficie de mesas, y mantas de limpieza y secado de pezón en el segundo muestreo durante el invierno, donde los resultados obtenidos se encontraron por debajo del límite. El agua utilizada en esta área también mostró altos recuentos de bacterias mesófilas, sin embargo no se encontró un límite permitido para comparación. El agua utilizada para el lavado de materiales proviene de un depósito y, si asumimos que no se encuentra debidamente clorada, los utensilios lavados con esta agua tienen riesgo de contaminarse. Para el recuento de mesófilos aerobios en el ambiente del cuarto de lavado de materiales, no se cuenta con una norma oficial mexicana que permita comparar niveles altos o bajos de los resultados obtenidos. Sin embargo, tomando el promedio de los tres muestreos realizados se obtuvo un recuento < 100 UFC/sala, con lo que asumimos no se presentan recuentos significativos que indiquen contaminación en comparación con los resultados obtenidos en el ambiente de la sala de ordeña, puesto que en esta fue imposible realizar la cuenta.

Posteriormente en la sala de ordeña (Figura 8), los recuentos de bacterias presentes en los equipos analizados sobrepasaron el límite permitido, incluso en superficies vivas, como las manos de los ordeñadores. Sin embargo, en el pezón de la vaca se encontraron niveles aceptables en los tres muestreos, lo mismo pasó durante la primavera en el tercer muestreo del

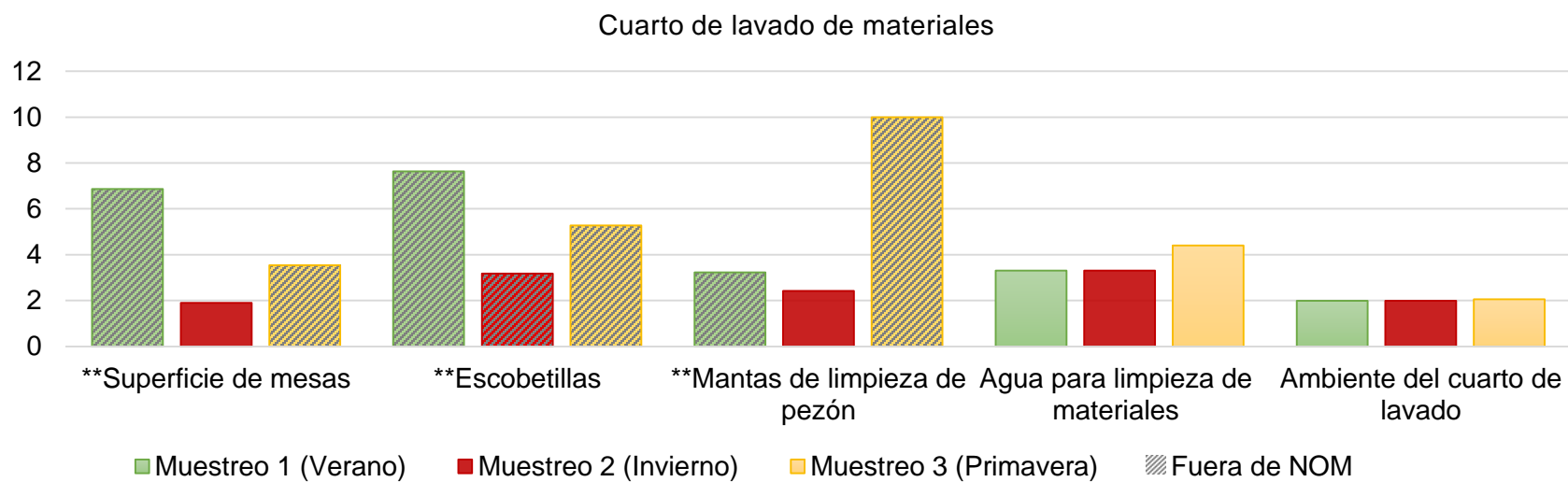


Figura 7. Resultados del análisis de mesófilos aerobios en los materiales del cuarto de lavado.

** SUPERFICIES INERTES: Límite Máximo (L.M.). < 400 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

depósito y las mangueras que pasan la leche de la ordeña al depósito, debido a que los recuentos de mesófilos aerobios se encontraron por debajo del límite permitido, indicando que fueron sanitizadas correctamente. El hecho de que el recuento de las muestras del pezón de la vaca se encuentre por debajo del límite permitido, puede deberse a que el agua que utilizan para la limpieza de éste, antes de iniciar la ordeña, se encuentre con una concentración óptima de cloro (2 mg/L) (Martínez y col., 2011), teniendo efecto benéfico al eliminar gran parte de carga bacteriana. Por otro lado, el agua utilizada para el lavado del equipo de ordeña, es tomada de una llave proveniente de un depósito, si asumimos que el agua no está debidamente clorada, sumándole las deficiencias higiénicas que se presentan y/o que el método de limpieza no llegue al lugar adecuado en los equipos, les da a los microorganismos, la oportunidad su reproducción y diseminación. La contaminación encontrada en las muestras de superficies mencionadas anteriormente, se ve reflejada en el recuento de algunas de las muestras de leches analizadas (Figura 8). Sin embargo, en las muestras de la leche directa del pezón de la vaca, los niveles de mesófilos aerobios se encontraron por debajo del límite permitido según el Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011), el cual marca que un recuento mayor a 400,000 UFC/mL en la leche utilizada, refleja deficiente higiene y desinfección del material y los equipos utilizados por parte del personal involucrado durante la ordeña, así como se muestra en el primer y tercer muestreo de la leche del depósito, puesto que los recuentos de mesófilos aerobios sobrepasaron este límite permitido, mientras que en el segundo muestreo se mantuvo el recuento por debajo del mismo.

El agua utilizada en la sala de ordeña mantuvo niveles menores de < 10 UFC/mL, a pesar que no se puede comparar con un límite permitido descrito en una norma oficial mexicana, se puede asumir que mantiene la concentración óptima de cloro (2 mg/L) (Martínez y col., 2011), lo cual coincide con los bajos recuentos de mesófilos aerobios en el pezón de la vaca. No obstante, en el recuento del ambiente de la sala de ordeña se presentaron recuentos elevados que sobrepasaron 100 UFC/sala de bacterias mesófilas. Sin embargo, no es posible comparar los resultados en base a un límite permitido por carecer de una norma oficial mexicana que señale este parámetro. Este resultado no se considera significativo, puesto que era de esperarse por el contacto exterior que mantiene la sala de ordeña. Sin embargo, estos datos nos sirven para saber de dónde puede provenir la contaminación de los equipos y materiales utilizados en la ordeña. Cabe resaltar que la presencia de bacterias contaminantes, puede ser el resultado de otras vías de contaminación como lo menciona García y col., (2010) en un Manual de Buenas Prácticas Pecuarias donde señala que durante la ordeña no deben estar presentes animales de otras especies, los cuales pudieran aumentar la carga microbiológica en el ambiente.

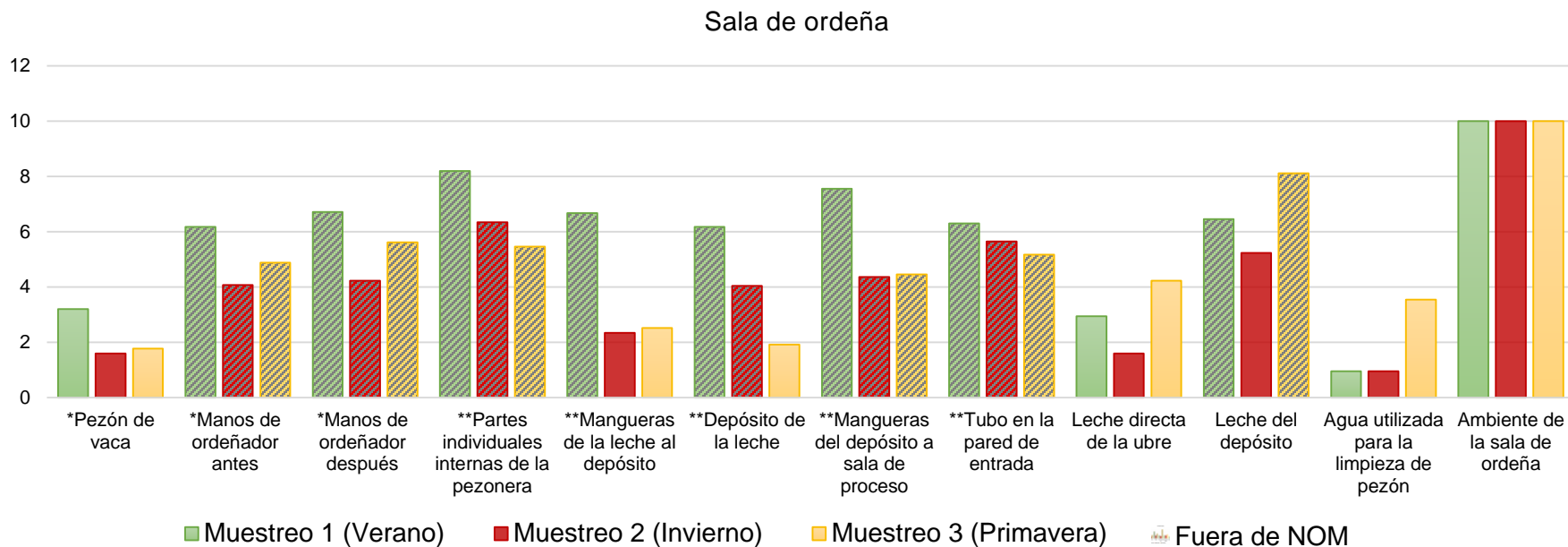


Figura 8. Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de ordeña.

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 3,000 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 400 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

LECHE: L.M. < 400,000 UFC/mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

Dentro de la sala de proceso se encontró que algunos recuentos comenzaron a verse disminuidos a partir del segundo muestreo en invierno (Figura 9). No obstante, todos los equipos analizados son de suma importancia, debido a que mantienen contacto directo con la leche y el producto en elaboración, por lo que debe procurarse reducir los niveles de microorganismos lo más posible en cualquier época del año. En esta área, se puede destacar que los tres muestreos de las manos del procesador después de la elaboración de queso, sobrepasaron el límite permitido aumentando con esto la carga bacteriana del producto, puesto que éste ya trae consigo acumuladas todas las bacterias que se encontraban en el equipo de ordeña que no fue sanitizado correctamente. Las mantas de envoltura de queso y moldes utilizados, sobrepasaron los límites permitidos en los tres muestreos, lo que indica que estas herramientas utilizadas para el prensado del queso, no están siendo desinfectadas correctamente. Mora (2003), realizó el mismo análisis de bacterias mesófilas en moldes y tina de pre-prensado antes de la elaboración de queso tipo Gouda, encontrando diferencias significativas entre los distintos muestreos con recuentos elevados. Por los resultados obtenidos, en el presente estudio, es claro que no se cumple con las buenas prácticas de limpieza.

La leche de la tina de cuajado también mostró recuentos elevados (Figura 9) por lo cual se asume que la contaminación provenía del equipo de la sala de ordeña mal sanitizado, de acuerdo al Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” que establece un límite permitido de mesófilos aerobios de 400,000 UFC/mL. Los niveles de mesófilos aerobios presentes en el queso elaborado en los tres muestreos se mostraron altos, evidenciando las deficiencias higiénicas que se presentaron durante el sistema de BPM. De la misma forma, los controles de quesos positivos mostraron recuentos altos de mesófilos aerobios junto con los controles negativos. Al no contar con una norma oficial mexicana para los recuentos totales en quesos, es posible compararlos con el límite permitido para la leche (Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca”) debido a que ésta no pasa por algún tipo de proceso químico o térmico en la elaboración del queso que modifique su calidad microbiológica.

En la sala de proceso se encuentran dos tipos de tomas de agua, ambas provienen de un depósito que se asume no cuenta con una concentración óptima de cloro (2 mg/L) (Martínez y col., 2011): el agua directa de la llave, presentó cuentas altas de mesófilos aerobios similar a las muestras de agua utilizada en el cuarto de lavado de materiales; y la segunda llave que cuenta con un filtro bacteriológico (recomendada para el lavado de los materiales utilizados dentro de la sala de proceso, como moldes, lira, agitador, etc.), mantuvo recuentos bajos en dos de tres muestreos.

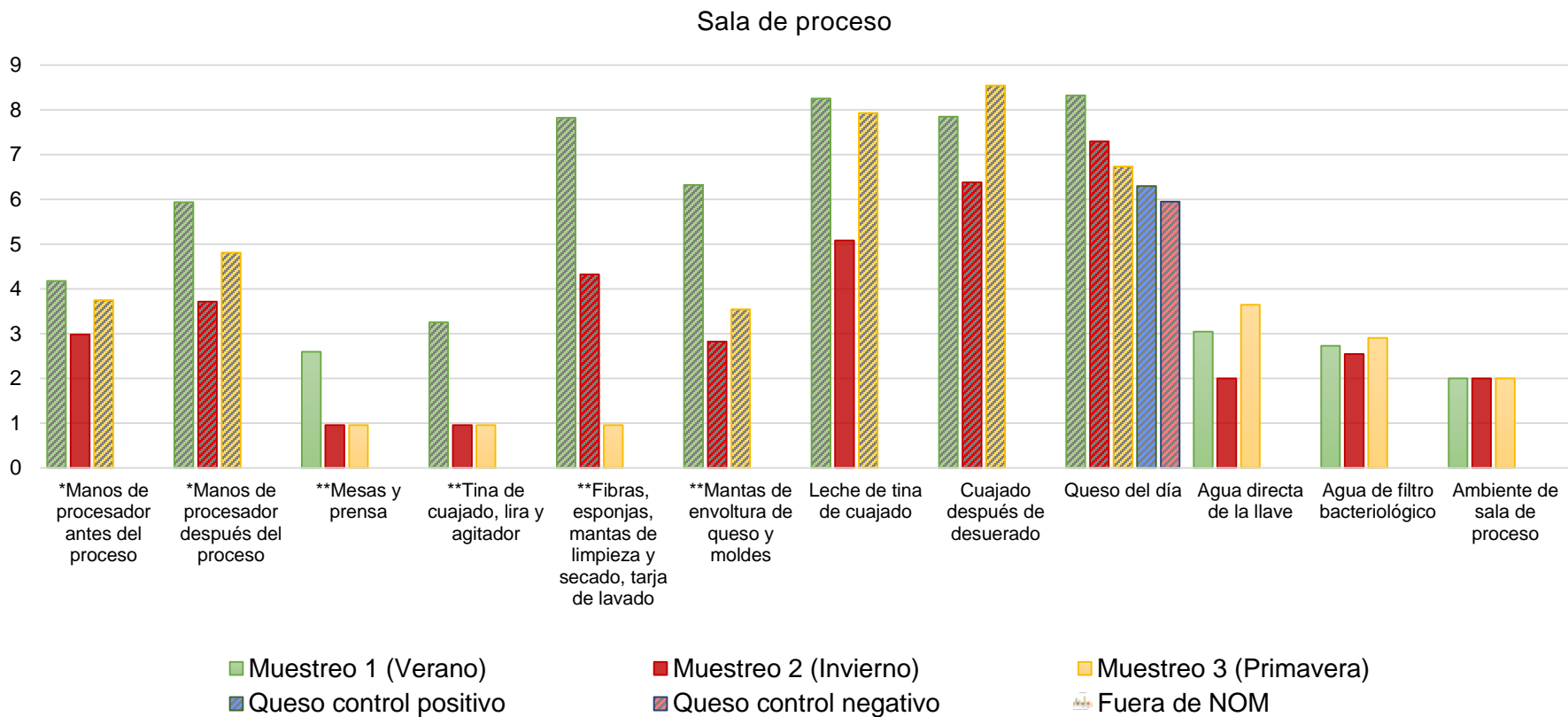


Figura 9. Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de proceso.

LECHE y QUESO: L.M. < 400,000 UFC/mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiéno-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 3,000 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 400 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

Dentro de la sala de almacenamiento (Figura 10) en las superficies internas del refrigerador utilizado para guardar el queso solo se presentaron niveles elevados durante el primer muestreo en verano. En los siguientes dos muestreos, estos niveles no sobrepasaron el límite permitido lo que indica que se realizó una limpieza adecuada del refrigerador. El queso almacenado de 24 horas, mostró recuentos elevados en los tres muestreos, si se asume que el sistema presentó contaminación en algún punto del proceso durante la elaboración de estos, sumándole el tiempo de almacenamiento con el que cuentan, es posible la reproducción de microorganismos en el producto aumentando las cargas bacterianas. Por otro lado, si bien no se cuenta con un límite permitido para la evaluación del ambiente dentro de la sala de almacenamiento, los recuentos obtenidos no se observaron por encima de 100 UFC/sala al igual que dentro de la sala de proceso.

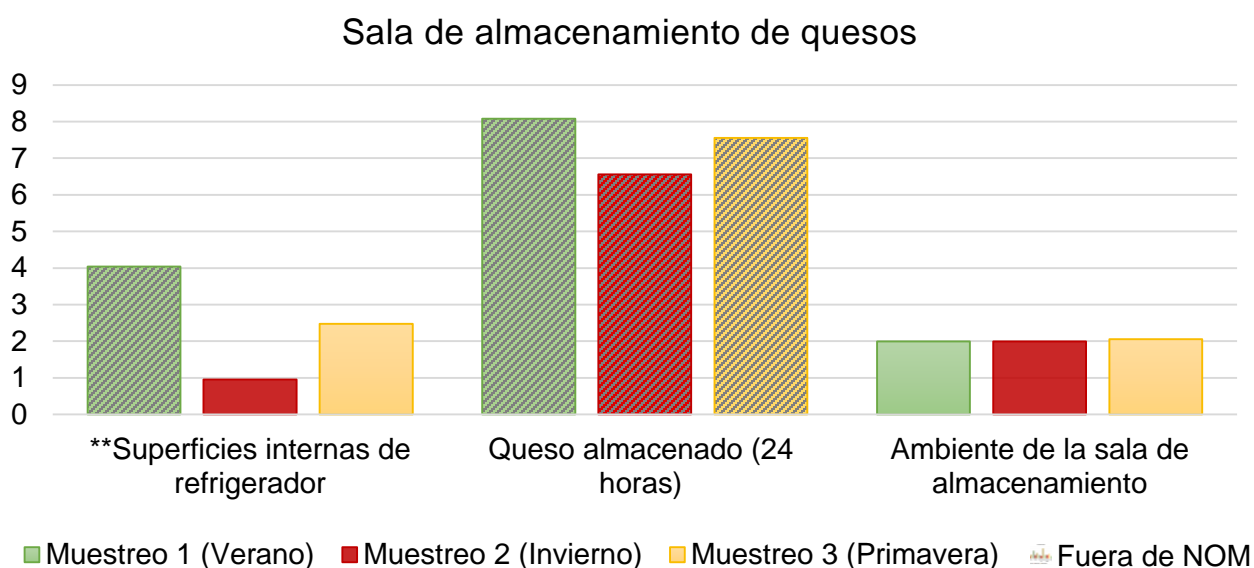


Figura 10. Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de almacenamiento de quesos.

LECHE y QUESO: L.M. < 400,000 UFC/mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 400 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

Coliformes Totales

En el primer muestreo durante el verano, dentro del área de cuarto de lavado de materiales utilizados para la ordeña, los niveles de coliformes totales se encontraron fuera del límite permitido para todas las superficies inertes (Figura 11) por lo que, a partir de ese punto, los equipos necesarios para el área de ordeña ya se encontraban contaminados. En los siguientes muestreos, en invierno y primavera, los niveles encontrados en esta área no sobrepasaron el límite permitido, a excepción de la manta para la limpieza y secado de pezón del tercer muestreo. El lavado de las mantas utilizadas para la limpieza y secado de pezón, son de suma importancia, ya que a pesar de que en el proceso de limpieza suponemos que se utiliza directamente agua con la concentración óptima de cloro (0,20 mg/L), si las mantas no fueron sanitizadas correctamente la contaminación del pezón se dará a través de éstas.

La contaminación en esta área de estudio, puede deberse a que las herramientas que se utilizan para limpiar el equipo de ordeña, como las escobetillas, no son sanitizadas correctamente posterior a su utilización, facilitando la reproducción de los microorganismos. Además, si asumimos que el agua utilizada no esté debidamente clorada, aumenta la posibilidad de que se encuentren bacterias en las herramientas utilizadas. Por otro lado, como menciona Ledezma (2003), el personal debe cumplir estrictamente con las especificaciones sanitarias necesarias para evitar que el producto o las herramientas utilizadas sean contaminados, partiendo desde la higiene personal, la vestimenta adecuada y el uso de protección necesaria, así como la limpieza y desinfección de las instalaciones y el equipo utilizado durante el proceso.

Durante el primer muestreo de agua utilizada para el lavado de material, no se detectó la presencia de coliformes totales, sin embargo, en los siguientes dos muestreos sobrepasaron el límite establecido según el Manual de Capacitación “Mejora Continua en la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011), el cual destaca que el límite permitido de coliformes totales presentes en el agua destinada al uso de la ordeña debe ser 2 NMP/100mL de lo contrario existe un alto riesgo de afectación en calidad de la leche.

Una vez limpio el equipo de ordeña se lleva a la sala de ordeña. En la Figura 12 se muestran los puntos analizados en esta área y cuáles sobrepasaron el límite permitido de acuerdo al tipo de muestra. La NOM-093-SSA1-1994, establece que los límites máximos permitidos en coliformes totales, para superficies vivas es $< 10 \text{ UFC/cm}^2$ y de $< 200 \text{ UFC/cm}^2$ para superficies inertes. Como se observa en la Figura 12, durante el primer muestreo, el equipo de ordeña sobrepasó los límites permitidos al igual que las herramientas de limpieza que se analizaron en el cuarto de lavado de materiales para el ordeño, por lo que se puede inferir que la contaminación

Cuarto de lavado de materiales

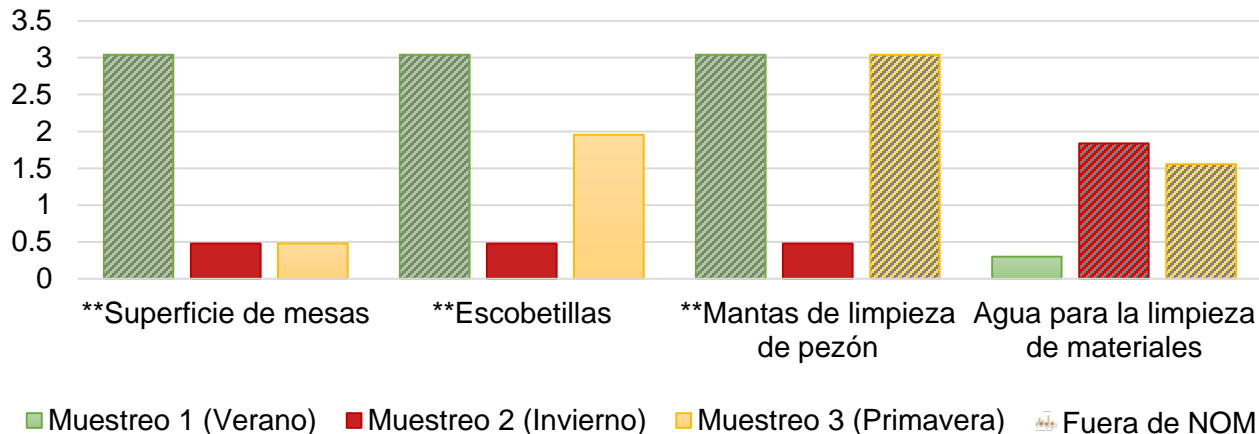


Figura 11. Resultados del análisis de coliformes totales en los materiales del cuarto de lavado. AGUA: L.M. < 2 NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua en la Calidad Higiéno-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 200 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

fue arrastrada durante todo el proceso hacia el producto elaborado. De igual forma, el recuento de coliformes totales en las manos del ordeñador, así como el de pezón de la vaca, se encontraron fuera de los límites permitidos. A pesar de que el personal realice el proceso adecuado de higiene personal, la limpieza y desinfección del área del pezón y ubre, si los elementos utilizados no están bien descontaminados, se aumentará la contaminación de estas áreas en el transcurso del proceso. En la segunda toma de muestra, el inicio de la contaminación se observó desde las manos del ordeñador, seguido de las partes internas de la pezonera, las mangueras que conectan el depósito de leche a la sala de proceso y el tubo localizado en la pared de la entrada a la sala de proceso (Figura 12). Cabe mencionar que al final del ordeño, las manos del trabajador no se encontraban con una carga bacteriana por encima del límite permitido, probablemente porque durante el proceso se utiliza constantemente agua clorada para la limpieza del pezón. En el tercer muestreo, el lavado de manos del ordeñador fue inadecuado encontrando niveles superiores al límite permitido antes y después del proceso. Lo mismo pasó con el pezón, debido a la utilización de mantas que no fueron lavadas correctamente, esto último se confirma en el análisis de la manta de limpieza y secado de pezón del cuarto de lavado de materiales de

ordeño debido a que se presentó recuentos que sobrepasaron el límite permitido. Las partes internas de la pezonera, así como las mangueras utilizadas desde el depósito de leche hacia la sala de proceso, continuaron sobrepasando el límite permitido, está claro que en este punto, el sistema de BPM está presentando una falla, al no limpiar y desinfectar adecuadamente estos equipos que juegan un papel importante durante el proceso de elaboración del queso, puesto que mantienen contacto directo con la leche utilizada, la cual también se ve afectada.

En el primer y segundo muestreo, la leche directa (tomada desde el pezón) mostró niveles por encima del límite permitido los cuales concuerdan con los niveles inaceptables que se encontraron en las mantas de limpieza y secado. En la leche que se encuentra en el depósito, se encontraron niveles por encima de los límites permitidos en todos los muestreos debido a que el equipo de ordeña que tuvo contacto con la leche, ya se encontraba contaminado en distintos puntos. En otro estudio realizado por Vasek y col., (2004), en quesos artesanales, mostró elevados recuentos de coliformes totales en la leche que se utilizaba para la elaboración del queso, al igual que el estudio presente esos resultados se relacionan a serias fallas sanitarias durante la recolección de la leche. Martínez y col., (2011), señalan que el límite permitido de coliformes totales en el agua utilizada en la ordeña, no debe sobrepasar 2 NPM/100mL. De acuerdo a lo anterior, como se muestra en la Tabla 10, los recuentos obtenidos del agua utilizada para la limpieza del pezón de vaca se mantuvieron por debajo de este límite, por lo cual asumimos que se está llevando una cloración adecuada de la misma.

En la sala de proceso (Figura 13), durante el primero muestreo las superficies inertes analizadas mostraron niveles superiores al límite permitido, con excepción de las mesas y prensas. En cambio, durante el invierno en el segundo muestreo, solo una de las superficies inertes (la muestra que incluye: fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado) sobrepasó el límite permitido. Estos instrumentos son importantes debido a que se utilizan para la limpieza de los moldes y otras herramientas que mantienen contacto con el producto durante su elaboración. Por último, en el tercer muestreo en primavera, los puntos que sobrepasaron el límite permitido de carga bacteriana fueron las manos del procesador, así como las mantas de envoltura de queso y/o los moldes que se utilizaron en el prensado. En un estudio realizado por Díaz y Díaz (2014), en donde se evaluó la calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura del queso, se encontró niveles elevados de coliformes en la tina y en moldes que mantenían contacto directo con la leche. Las queserías visitadas fueron evaluadas en base a la NOM-121-SSA1-1994, sin embargo, la infraestructura carecía de higiene y los utensilios para la elaboración del queso eran limpiados con agua directamente de la llave, a diferencia de esta investigación donde los productores se encuentran capacitados y con procedimientos de limpieza

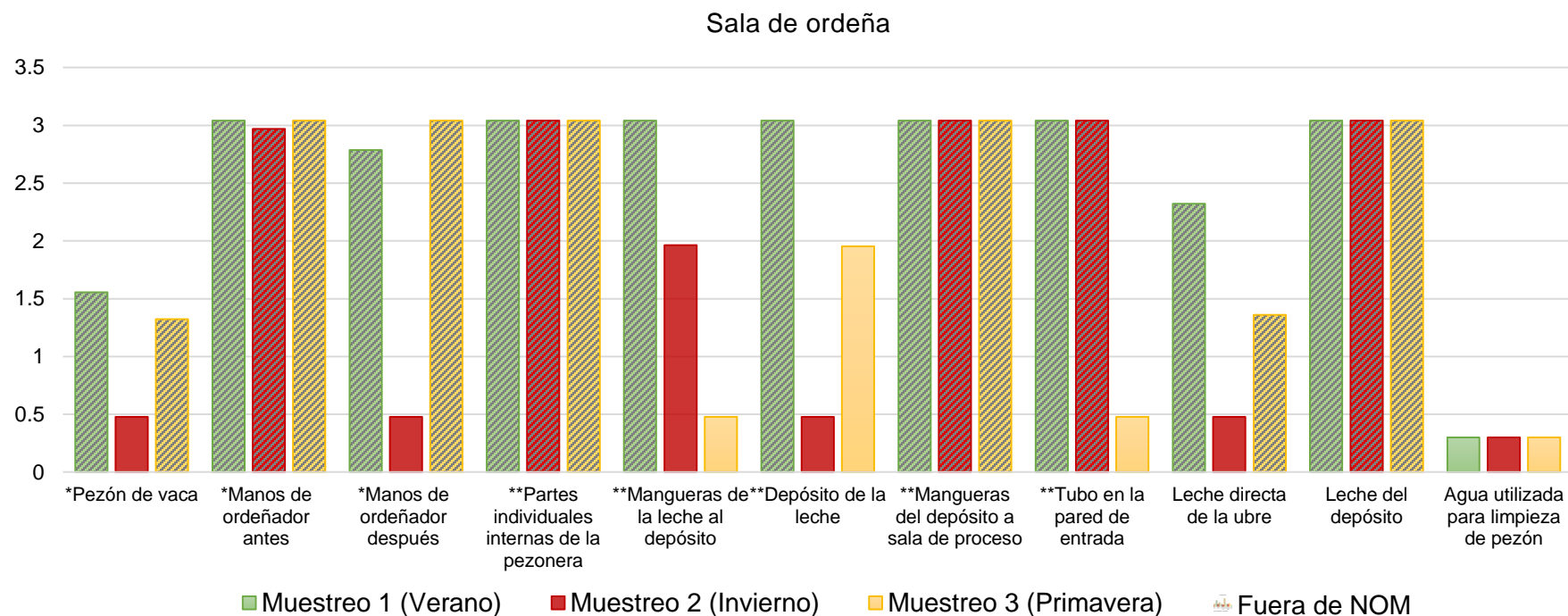


Figura 12. Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de ordeña.

AGUA: L.M. < 2 NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua en la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 10 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 200 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

LECHE: L.M. ≤10 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

e higiene señalados, utilizando agua clorada para la limpieza del equipo. Mora (2003), realizó un estudio de parámetros microbiológicos que afectan la calidad del queso tipo Gouda, en donde evaluó la calidad microbiológica de moldes y tina de pre-prensado antes de tener contacto con la leche pasteurizada que se utiliza para la elaboración de este producto, entre sus resultados observó una gran variación en los conteos de coliformes totales, estas diferencias pueden deberse a que la limpieza de los equipos no fue la misma entre las distintas tomas de muestras. Al igual que en el presente estudio, los recuentos se mostraron por encima del límite permitido, no obstante, en esta investigación se utiliza leche sin pasteurizar en la elaboración del queso, lo que aumenta la posibilidad de contaminación y riesgo a la salud pública.

La leche, el cuajado y el queso del día (Figura 13), sobrepasaron los niveles permitidos de coliformes totales (Leche en planta: ≤ 10 UFC/g o mL; Quesos Frescos: ≤ 100 UFC/g o mL) debido a la contaminación de los equipos en los distintos puntos de elaboración antes del procesamiento. Como era de esperarse, los registros de los análisis en quesos tomados como controles positivos, se encontraron niveles elevados de coliformes totales puesto que fueron evaluados antes de implementarse el sistema de BPM. Sin embargo, las muestras tomadas como controles negativos, también sobrepasaron del límite establecido. En otro estudio realizado por Duran y col., (2010), al igual que en esta investigación, se encontraron niveles elevados de coliformes totales en quesos artesanales producidos con leche de cabra en el estado de Lara, Venezuela lo que indica que estos no eran aptos para el consumo humano debido a su baja calidad microbiológica. En el análisis de quesos artesanales elaborados a partir de leche cruda de vaca en Tuzupán, México, realizado por Reséndiz y col., (2012), también encontraron niveles elevados en el conteo de coliformes totales como se presenta en esta investigación, por lo que los productos elaborados representan un riesgo para la salud pública de la región al presentar deficiencias higiénicas en su elaboración.

En la Figura 13 se pueden observar los resultados de coliformes totales presentes en los dos tipos de agua que se utilizan dentro de la sala de proceso. En el segundo muestreo el agua sin filtro que proveniente directamente de la llave, sobrepasó el límite permitido de 2 NPM/100mL descrito en el Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca”. Por otro lado, el agua tomada de la llave con filtro bacteriológico no mostró presencia de coliformes totales en los tres muestreos realizados, siendo ésta la indicada para realizar la limpieza de los utensilios necesario dentro de la sala de proceso. Por lo anterior y de acuerdo a los resultados obtenidos de las muestras de superficies analizadas, se puede asumir que no se está utilizando el agua adecuada (que proviene del agua del filtro) para la limpieza de los utensilios dentro de la sala de proceso.

Sala de proceso

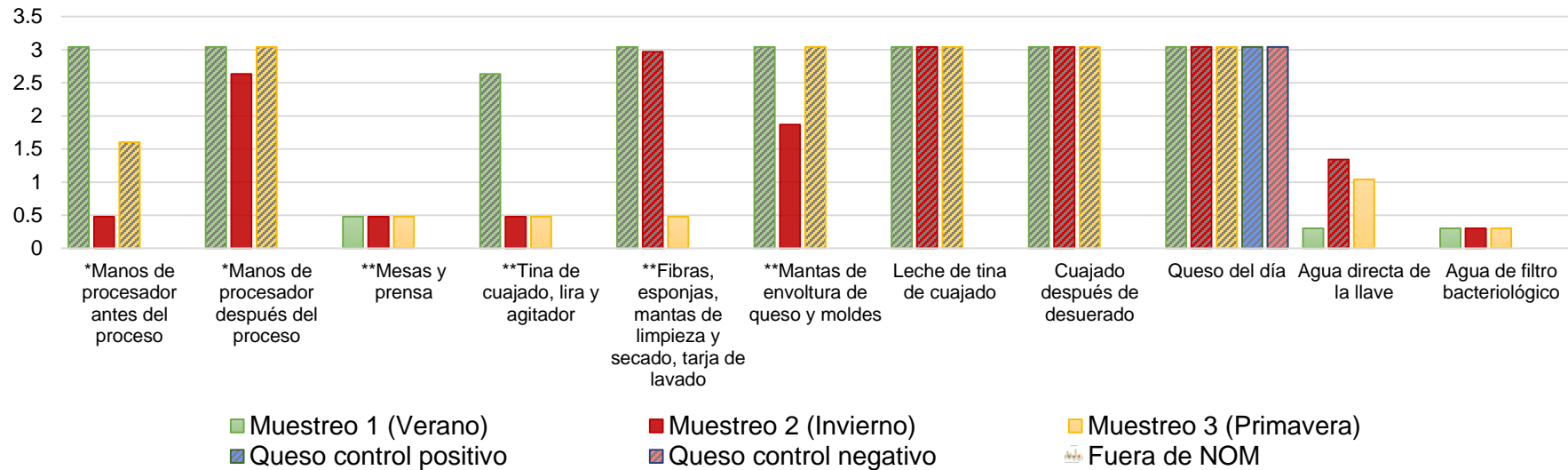


Figura 13. Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de proceso.

AGUA: L.M. < 2 NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua en la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 10 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 200 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

LECHE: L.M. ≤10 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤100 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

La Figura 14 muestra los resultados del análisis de los quesos con un tiempo de almacenamiento de 24 horas. Solo durante el primer muestreo, las superficies internas del refrigerador en donde se almacena el queso, presentó un nivel inaceptable de coliformes totales. Durante los siguientes dos muestreos, la carga microbiana se observó disminuida. Sin embargo, el queso que se encontraba almacenado, rebasó el límite permitido en los tres muestreos, lo que hace deducir que este ya estaba contaminado desde su término de elaboración y la carga microbiana aumentó debido al gran contenido de nutrientes, que son aprovechados por los microorganismos.

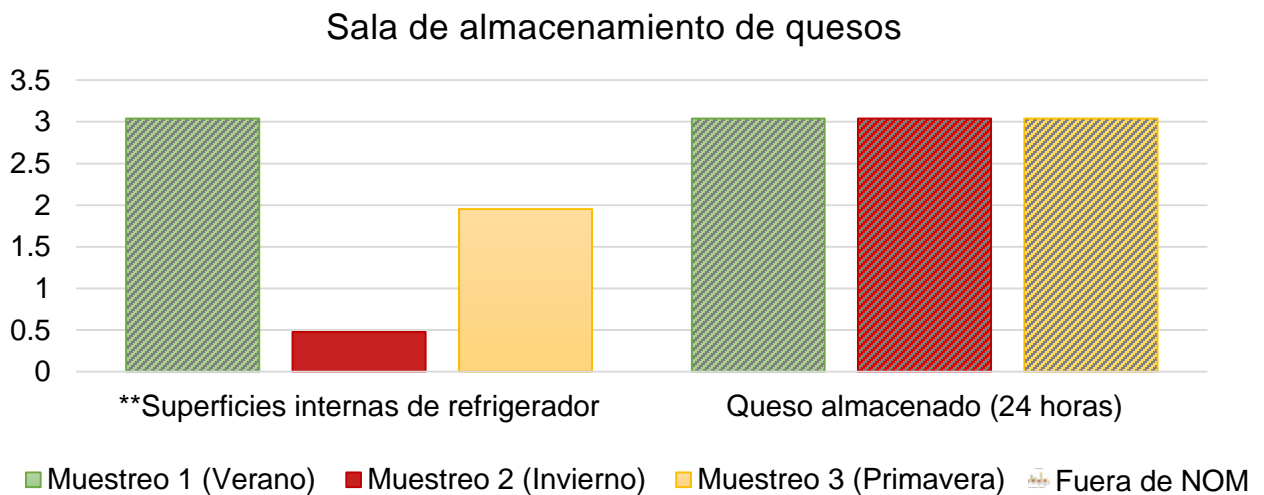


Figura 14. Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de almacenamiento de quesos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 200 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

QUESOS FRESCOS: L.M. \leq 100 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Coliformes Fecales y *Escherichia coli*

De las 28 muestras analizadas, 19 (67,8%) arrojaron resultados positivos para la presencia de coliformes fecales y *Escherichia coli* indistintamente (Figura 15). Durante la descripción de los

resultados se utiliza el término de “coliformes fecales” y “*Escherichia coli*” indistintamente debido a que ambos se encontraron en la misma concentración en las muestras de acuerdo a la norma utilizada. Los resultados obtenidos no se pudieron comparar en base a una norma oficial mexicana, puesto que no se encontraron límites de coliformes fecales para las muestras presentadas. Sin embargo, los resultados fueron similares el conteo de coliformes totales presentando recuentos que sobrepasaron el límite permitido de superficies vivas e inertes de acuerdo a la norma NOM-093-SSA1-1994. Los datos obtenidos son alarmantes debido a que *Escherichia coli* es la bacteria que se encuentra en mayor concentración al hablar de este grupo de microorganismos y su identificación en el proceso, indica que durante la elaboración del producto se está presentando contaminación de origen fecal (Molleda, 2016). Estos resultados confirman que no se está realizando la limpieza adecuada de los materiales utilizados en la elaboración de queso fresco, tomando en cuenta el ambiente donde se realiza, es muy fácil que la contaminación fecal se presente a través de las heces del ganado. Las manos de los trabajadores también juegan un papel importante, y al no realizarse el lavado adecuado antes de realizar el proceso, se da pie a la diseminación bacteriana. En el estudio realizado por Mora (2003), se encontró también la presencia de *Escherichia coli* en los muestreos realizados a las manos de los 10 trabajadores involucrados.

Cabe resaltar que, en los primeros dos muestreos de aguas utilizadas durante todo el proceso de elaboración del queso, no se detectó la presencia de coliformes fecales, sin embargo durante el tercer muestreo en primavera, el agua utilizada para el lavado de material de ordeña si sobrepasó el límite permitido descrito en el Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca”, el cual señala que no se debe encontrar coliformes fecales (no detectable NMP/100mL) en el agua utilizada en el proceso de ordeña. Por lo que la presencia de estos, representa una vía de contaminación para el equipo de ordeña que se encuentre en contacto con el agua, arrastrando la contaminación a la leche obtenida y finalmente al producto terminado.

En la Figura 16, se puede observar que en los tres muestreos realizados el producto (queso terminado) fue positivo al análisis, sobrepasando el límite permitido para queso descrito en la NOM-121-SSA1-1994. En los controles positivos, se encontraron altos niveles de coliformes fecales como era de esperarse puesto que estas muestras se tomaron en la quesera antes de que se implementara el sistema de BPM. Mientras que, en los controles negativos, a pesar de que se obtuvieron niveles que sobrepasaron el límite de coliformes totales, no se observó desarrollo de coliformes fecales. Cabe mencionar, que en el presente estudio no se observó la presencia de coliformes fecales en la leche directa de la vaca analizada, sin embargo, la leche

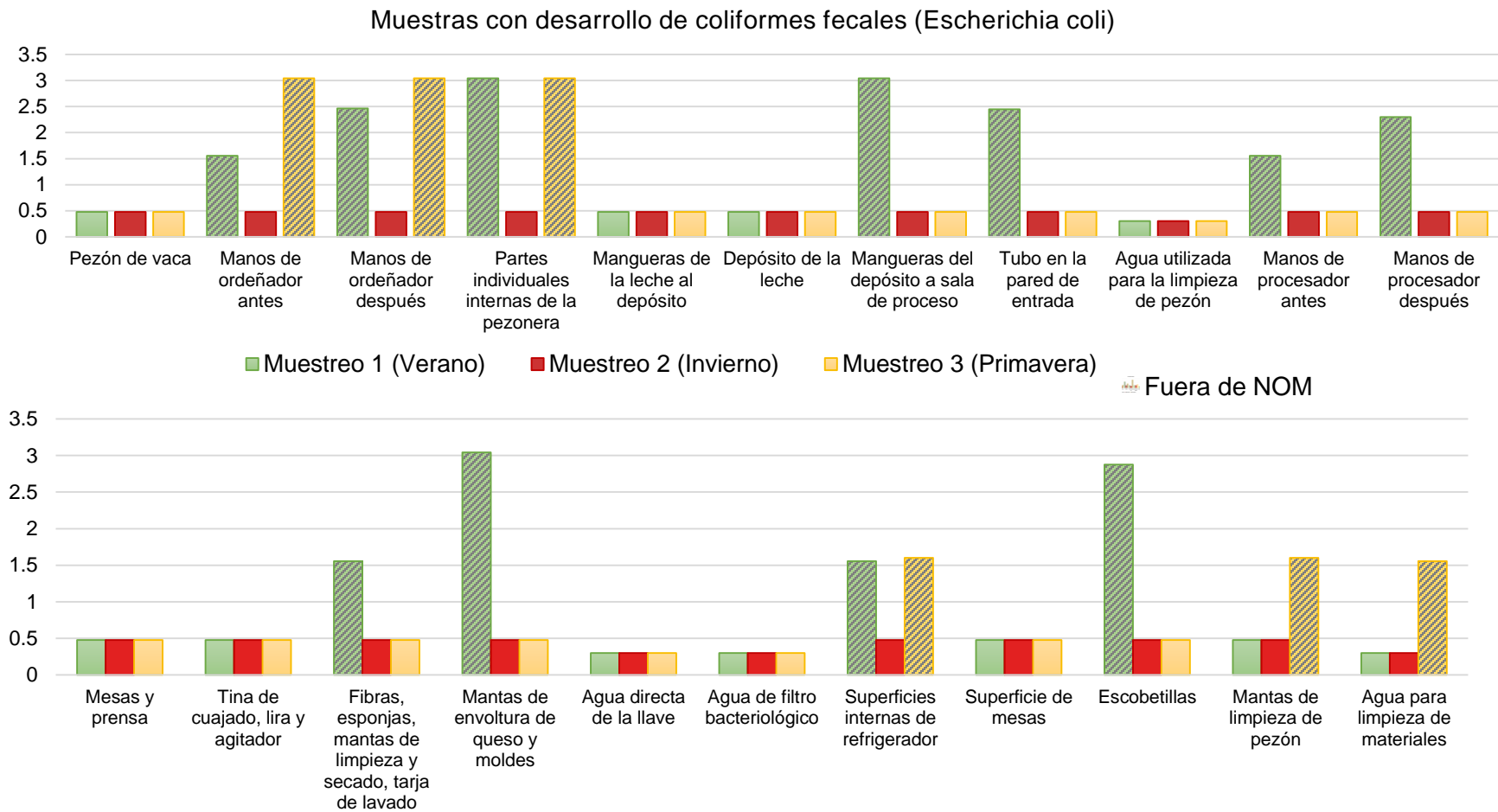


Figura 15. Muestras que presentaron desarrollo de coliformes fecales (*Escherichia coli*).

Cuentas altas en base al límite permitido de Coliformes Totales descrito en la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

AGUA: L.M. no detectable NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca”, (2011).

del depósito y la leche de la tina de cuajado se observaron recuentos elevados que afectaron la calidad del queso. En un estudio realizado por Vasek y col., (2004), encontró altos niveles de coliformes fecales en leche utilizada para la elaboración de queso artesanal, en donde en el 90% de las muestras obtenidas se detectó *Escherichia coli*, en el mismo estudio, el análisis del queso reveló altas incidencias de coliformes fecales encontrándose *Escherichia coli* en un 80% de las muestras, los valores obtenidos en esa investigación, revelan deficiencias higiénico-sanitarias en la preparación de los quesos, lo cual implica riesgos para la salud de los consumidores. Reséndiz y col., (2012), y Duran y col., (2010), también encontraron la presencia de *Escherichia coli* en quesos frescos elaborados a partir de leche cruda. Molleda (2016), detectó en un 47% *Escherichia coli* del total de enterobacterias que se presentaron en el análisis de queso fresco. Los resultados de todos estos estudios indican que la presencia de *Escherichia coli* en este tipo de alimentos frescos, presentan altas incidencias de contaminación.

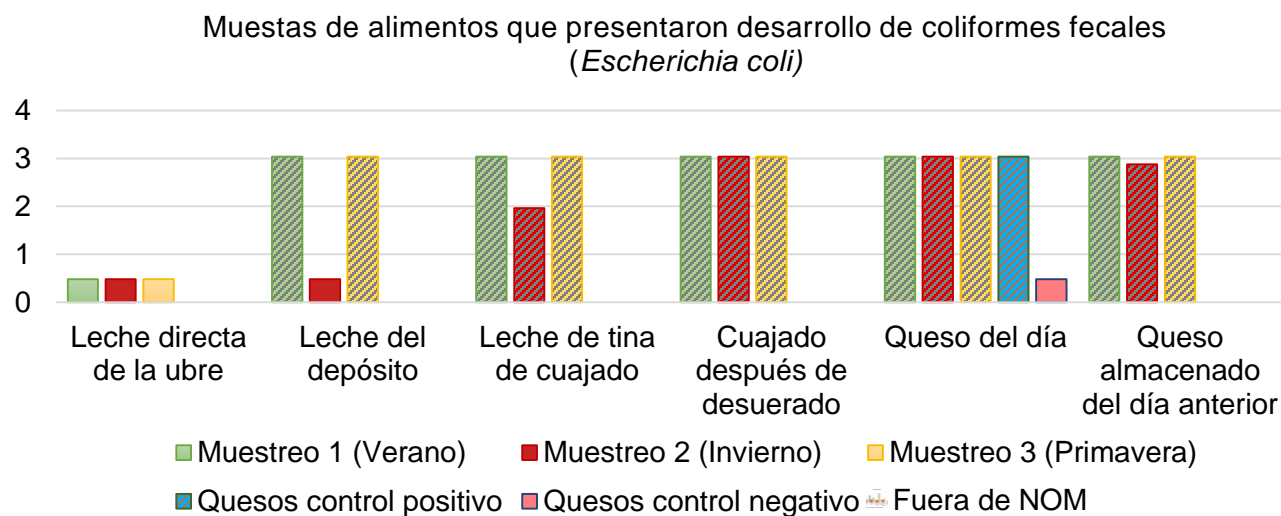


Figura 16. Muestras de alimentos que presentaron desarrollo de coliformes fecales (*Escherichia coli*).

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 100 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Mohos

Para evaluar los recuentos de mohos, solo se encontraron normas que describen el límite máximo permitido en quesos: NOM-243-SSA1-2010 y NOM-121-SSA1-1994. Aunque no se cuentan con normas para comparar los recuentos bacterianos en base a un límite, se presentan los resultados de acuerdo a las áreas de estudio, como una forma de saber de dónde proviene la contaminación de los mismos en caso de encontrarse en el producto terminado. Dentro del cuarto de lavado de materiales (Figura 17), se encontró la presencia de mohos en superficies como son las escobetillas y mantas de limpieza y, secado de pezón, esto puede deberse a que después de ser lavado el material no es secado adecuadamente provocando humedad y un ambiente óptimo para el desarrollo de hongos. El ambiente dentro de esta área también presentó desarrollo de mohos, esto se puede deber a que es un ambiente totalmente cerrado, sin ventilación y no se cuenta con un control estricto de entrada y salida del personal, lo cual juega un papel importante al realizarse ahí la limpieza del equipo de ordeña utilizado.

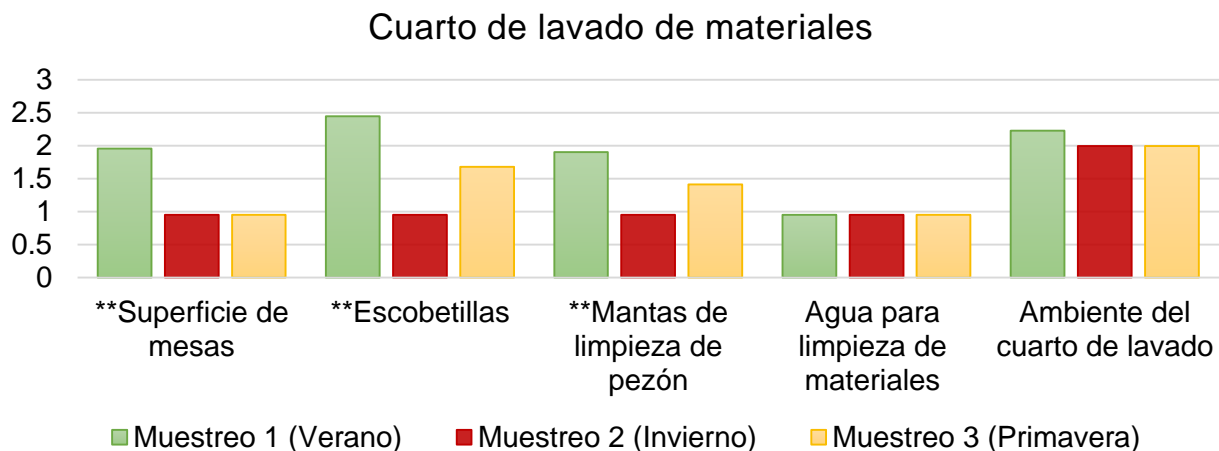


Figura 17. Resultados del análisis de mohos en los materiales del cuarto de lavado.

** SUPERFICIES INERTES

En la sala de ordeña (Figura 18), se encontraron mayores recuentos en las manos del ordeñador después de terminada la ordeña en comparación con los recuentos de las mismas antes de iniciar la ordeña debido a la manipulación de los equipos y materiales contaminados por parte del ordeñador durante el proceso. Algunas superficies inertes también mostraron la

presencia de mohos, como fueron: las partes internas de la pezonera, puesto que al realizarse la limpieza de estas, puede permanecer humedad causando contaminación; y el tubo localizado en la pared de entrada a la sala de proceso, debido a que se encuentra en contacto con el exterior (en la sala de ordeña).

De la misma forma, en la sala de ordeña la presencia significativa de mohos en el ambiente se deben a que ésta es un área abierta cerca del corral del ganado, donde están presentes los mohos y contaminantes microbiológicos ambientales. Por el contrario, la sala de proceso y la sala de almacenamiento de quesos se mantuvieron con recuentos bajos durante los tres muestreos realizados en comparación con los obtenidos en la sala de ordeña y en el cuarto de lavado de materiales. Estos resultados se pueden comparar con el estudio realizado por León y col., (2015), donde las placas utilizadas para el control de ambiente, no mostraron crecimiento de hongos, demostrando que la contaminación que se pudo presentar en su queso provenía directamente del equipo mal sanitizado y no del ambiente donde se llevó la elaboración del mismo.

La leche directa tomada del pezón de la vaca, analizada en los tres muestreos no presentó desarrollo de mohos, sin embargo, los análisis de la leche del depósito y la leche de la tina de cuajado (Figura 19) sí mostraron crecimiento debido a las superficies contaminadas (partes internas de la pezonera, tubo localizado en la pared de entrada a la sala de proceso, escobetillas utilizadas para el lavado de materiales de ordeña y mantas de limpieza y secado) que mantuvieron contacto directo con la materia prima (la leche). En un estudio realizado por Carrero y López, (2012), también encontró la presencia de mohos en la leche utilizada para la elaboración de quesos artesanales, la identificación de estos mostró que se trataban de especies reportadas como agentes deteriorantes.

Por otro lado, la presencia de mohos en los quesos resultó favorable al presentar niveles por debajo del límite permitido. Sin embargo, en el tercer muestreo se encontraron niveles elevados en el queso elaborado, este resultado representa el acúmulo de estos microorganismos que se presentó a través del proceso de elaboración. Los datos registrados de los quesos controles positivos, también mostraron recuentos de mohos por debajo del límite permitido, al igual que en los quesos controles negativos.

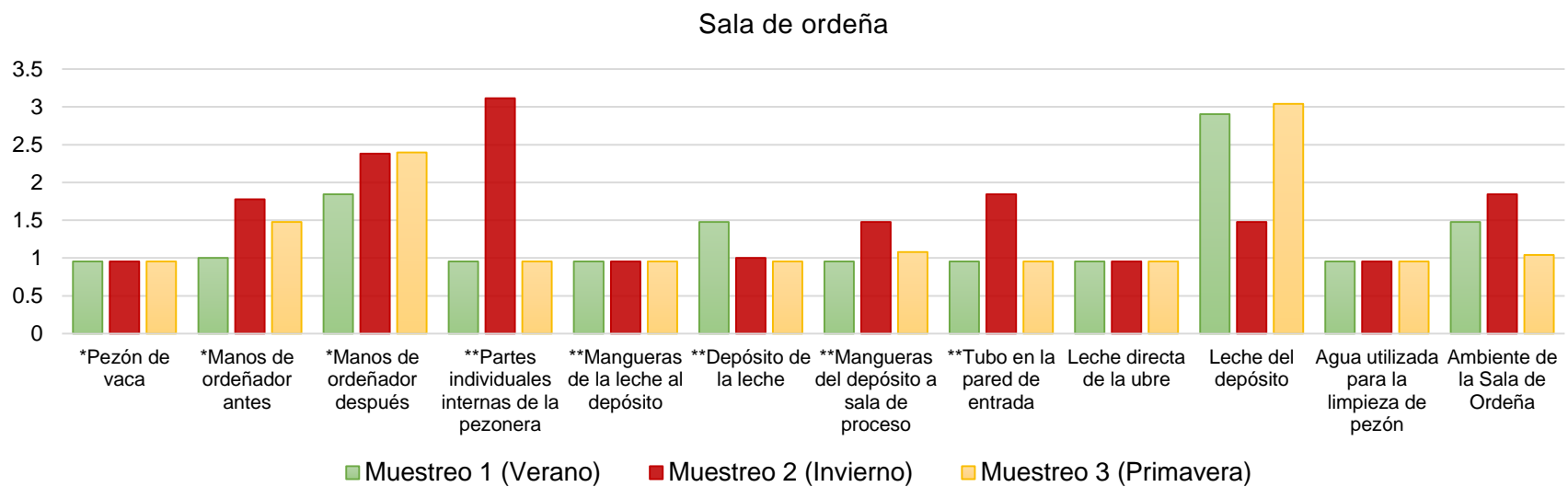


Figura 18. Resultados del análisis de mohos en la sala de ordeña.

* SUPERFICIES VIVAS.

** SUPERFICIES INTERTES.

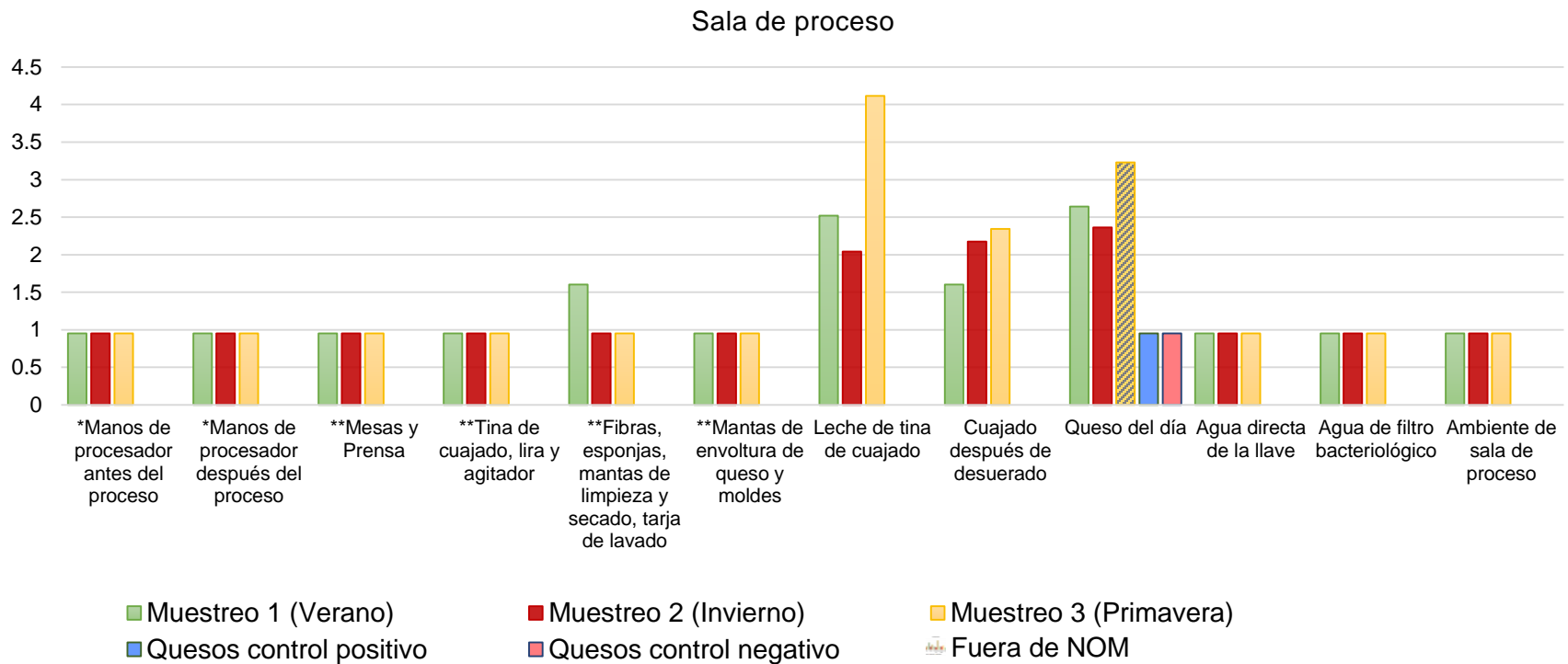


Figura 19. Resultados del análisis de mohos en la sala de proceso.

* SUPERFICIES VIVAS.

** SUPERFICIES INTERTES.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

En la sala de almacenamiento (Figura 20), los recuentos de las superficies internas del refrigerador también se mantuvieron disminuidos por lo que esta área no se considera una vía de contaminación por mohos. De la misma forma, el queso almacenado (24 horas) mantuvo recuentos de mohos por debajo del límite permitido. A pesar de que los niveles de mohos se encuentren disminuidos, pueden estar presentes géneros capaces de producir micotoxinas, como en el estudio realizado por Cabrera y col., (2001), en quesos de corriente de Argentina donde se encontró *Penicillium citrinum* y *Aspergillus fumigatus*, entre otros. Sin embargo, con el bajo recuento de mohos y el queso como un sustrato no óptimo para la síntesis de micotoxinas, se concluyó que el riesgo micotológico de los quesos era poco significativo. De la misma manera, León y col., (2015), y Carrero y Lopez, (2012), reportaron niveles dentro del límite permitido de mohos en quesos elaborados a partir de leche cruda, y dentro de los identificados se reportaron géneros de hongos filamentosos provenientes del ambiente y que pueden actuar como agentes contaminantes del producto, produciendo mal olor y sabor.

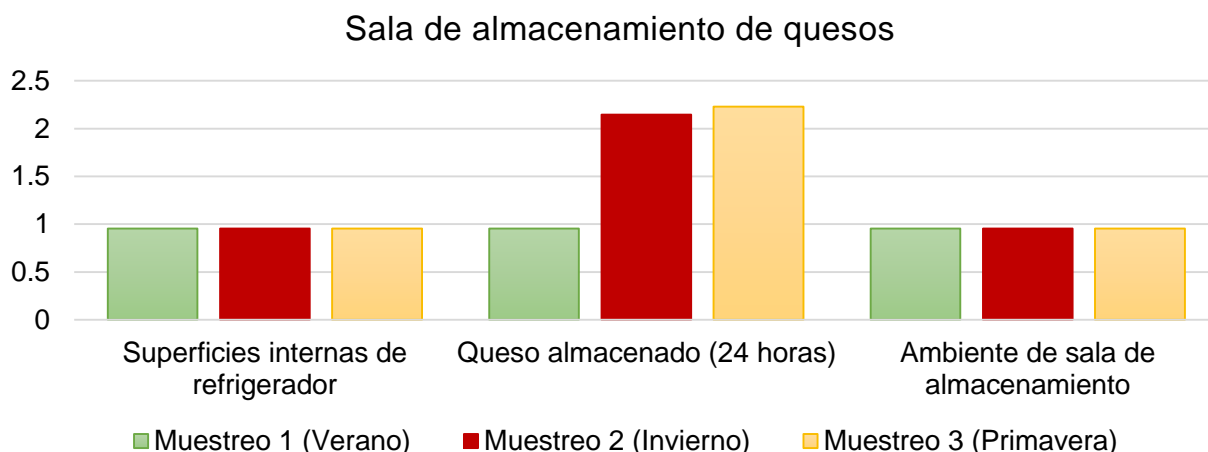


Figura 20. Resultados del análisis de mohos en la sala de almacenamiento de quesos.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Levaduras

Al igual que en el análisis de mohos, se utilizaron dos normas para comparar los recuentos de levaduras en el queso. Para el resto de las muestras analizadas, no se encontraron normas oficiales mexicanas que describieran un número máximo permitido. Sin embargo, se presentan los resultados obtenidos de acuerdo a las áreas de estudio analizadas. El desarrollo de levaduras en las superficies analizadas mostró recuentos mayores en comparación con mohos. Al igual que en los resultados de mohos, en el cuarto de lavado de materiales (Figura 21) y en la sala de ordeña (Figura 22), se mostró mayor desarrollo de levaduras puesto que estas áreas están en mayor contacto con el exterior, a diferencia de la sala de proceso y la sala de almacenamiento de quesos que presenta poco desarrollo gracias al control estricto del ambiente. De acuerdo al estudio realizado por León y col., (2015), la presencia de levaduras también afecta la calidad de los quesos mediante la producción de fructificaciones, sabores levaduriformes indeseables, y una textura desagradable. Se obtuvieron recuentos menores en la temporada de invierno, ya que las bajas temperaturas impiden el crecimiento óptimo de los microorganismos. Los hongos pueden ser considerados como mesófilos ya que tienen una temperatura óptima de crecimiento entre 22 – 30°C (García, 2004).

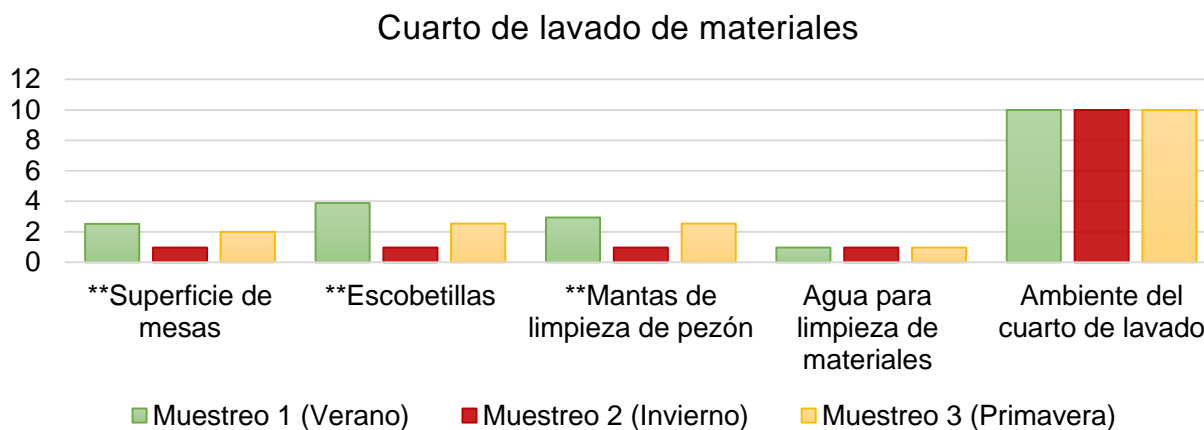


Figura 21. Resultados del análisis de levaduras en los materiales del cuarto de lavado.

** SUPERFICIES INTERTES

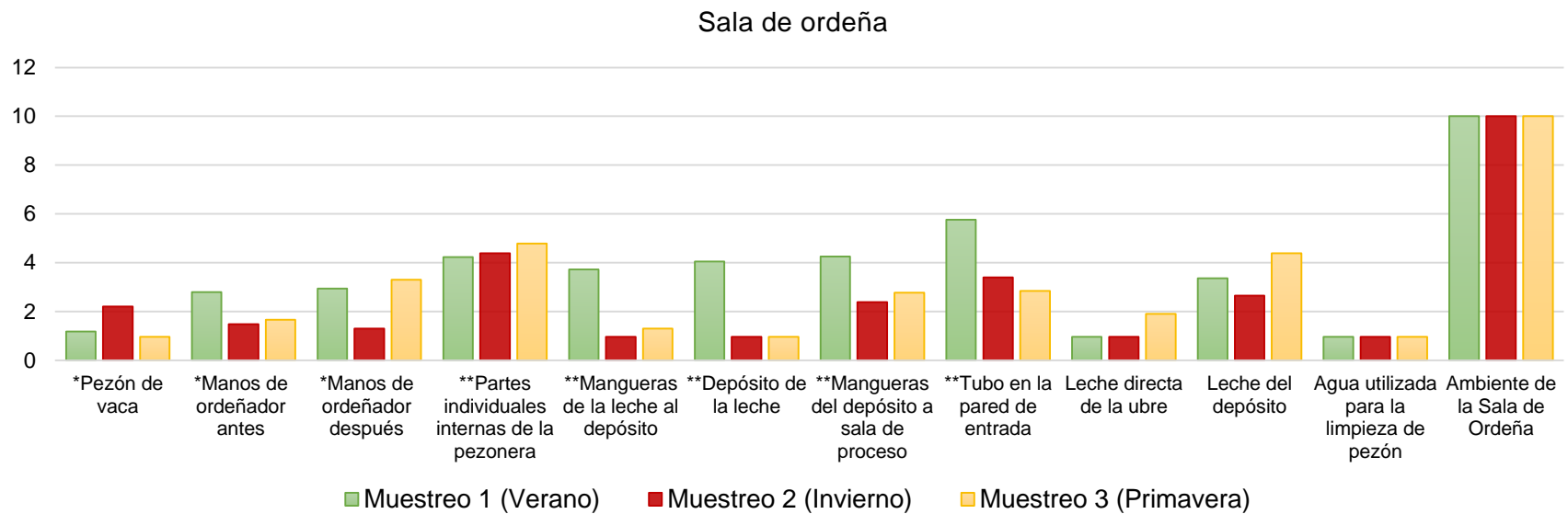


Figura 22. Resultados del análisis de levaduras en la sala de ordeña.

* SUPERFICIES VIVAS.

** SUPERFICIES INTERTES.

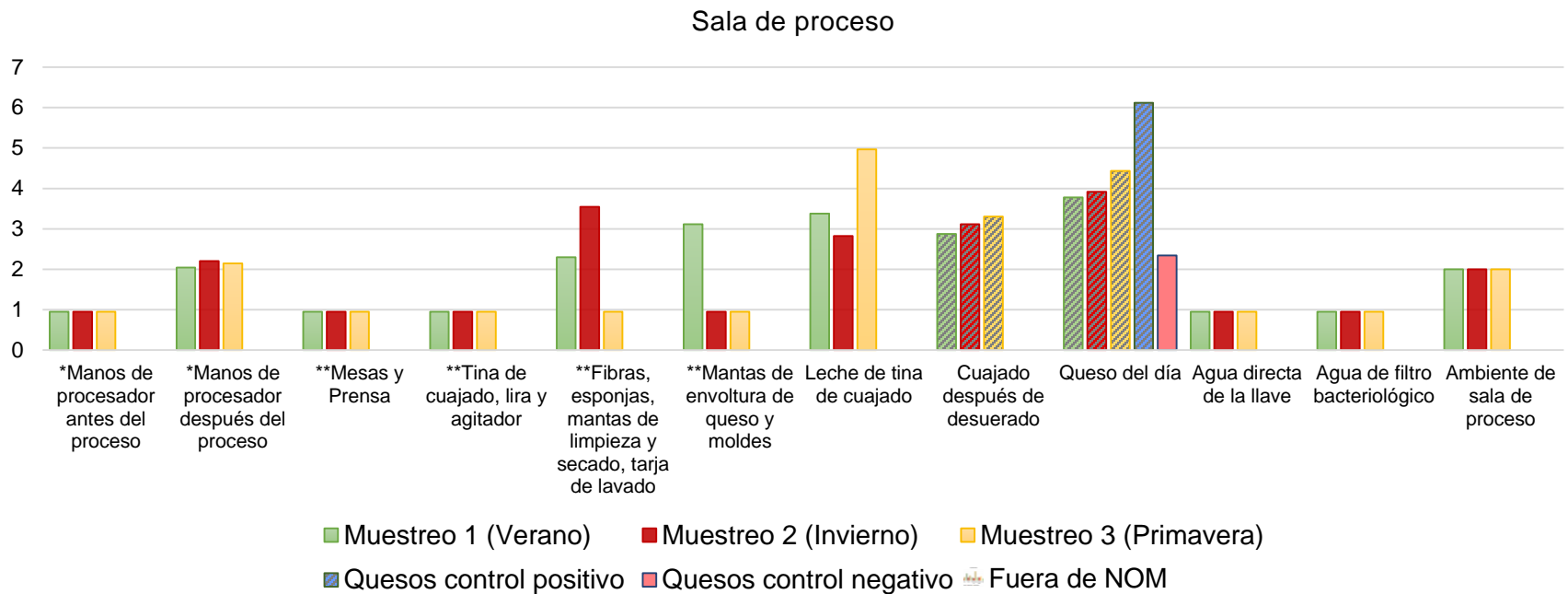


Figura 23. Resultados del análisis de levaduras en la sala de proceso.

* SUPERFICIES VIVAS

** SUPERFICIES INERTES

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

En la leche directa, analizada durante los tres muestreos, no se observó desarrollo de levaduras, contrario a la leche del depósito (Figura 22) y la leche de la tina de cuajado donde sí se encontró, esto a pesar de que no se puede comparar en base a un límite permitido establecido en una norma oficial mexicana. Debido a lo anterior, el análisis de levaduras en el cuajado y queso (Figura 23) mostró recuentos que sobrepasaron el límite permitido de acuerdo a las normas: NOM-243-SSA1-2010 y NOM-121-SSA1-1994, ambos preceptos señalan que el límite máximo permitido de hongos que se pueden encontrar en quesos frescos es de ≤ 500 UFC/g. En los datos registrados del análisis de los quesos controles positivos, los niveles de levaduras también se encontraron por encima del límite permitido establecido en las normas. A diferencia de los quesos controles negativos, los cuales mantuvieron los recuentos de levaduras por debajo del límite permitido. En comparación con los recuentos obtenidos de mohos, los niveles de levaduras se encontraron en mayor cantidad, estos resultados son comparables con los obtenidos por León y col., (2015), en un estudio realizado en quesos artesanales. Según lo observado, los productos lácteos representan un entorno específico para el crecimiento y selección de diferentes especies de levaduras, presentándose en grandes cantidades si el producto refleja una buena adaptación a un sustrato rico en proteínas, lípidos, azúcares y ácidos orgánicos.

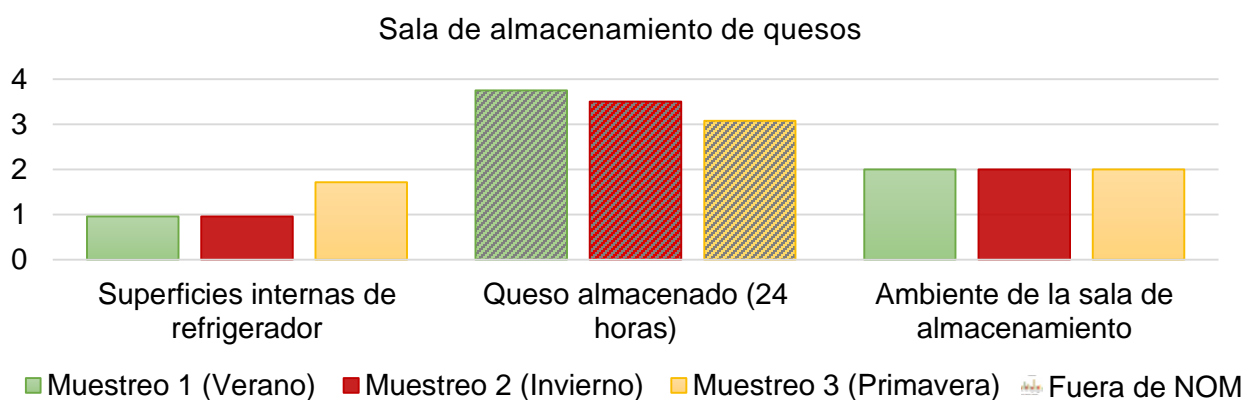


Figura 24. Resultados del análisis de levaduras en la sala de almacenamiento de quesos. QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Los resultados de los muestreos a las superficies internas del refrigerador dentro de la sala de almacenamiento (Figura 24), mostraron recuentos que no representan riesgo de contaminación al producto, lo que indica que se está realizando la limpieza adecuada para mantener en condiciones higiénicas el queso elaborado. Sin embargo, los recuentos del queso almacenado reflejaron recuentos que sobrepasaron el límite permitido. Al descartar el refrigerador de almacenamiento como posible causa de contaminación, tenemos que durante el proceso de elaboración del queso se ha presentado fallas sanitarias originándose contaminación del mismo.

Staphylococcus aureus

En la Figura 25 se presentan las muestras analizadas en las que se encontró la presencia de *Staphylococcus aureus*. Para evaluar las superficies vivas no se cuenta con una norma oficial mexicana que establezca un límite máximo permitido, sin embargo, no se encontró la presencia de *S. aureus* en el pezón de la vaca, pero si en las manos del personal involucrado, lo que indica que estas pueden ser una fuente de contaminación indirecta durante la elaboración del producto.

La leche directa analizada en los muestreos, revela que el recuento de *S. aureus* de la materia prima se encuentra dentro del límite permitido, cabe resaltar que en ningún muestreo se detectó la presencia de este microorganismo en el pezón de la vaca, por lo que se puede establecer que el ganado utilizado para la obtención de leche se encuentra saludable, y libre de riesgo de padecer alguna patología causada por este microorganismo como puede ser la mastitis. En cambio, en un estudio realizado por Vasek y col., (2004), se encontró la presencia de *S. aureus* en un 45% del total de las muestras de leche analizadas, sugiriendo que la leche obtenida provenía de animales no controlados sanitariamente. Por otro lado, la leche que se encontraba en el depósito, de la presente investigación, mostró recuentos que sobrepasaron el límite permitido durante el primer y tercer muestreo, estos resultados pueden deberse a que se presentó contaminación cruzada por parte de las manos del ordeñador en donde también se detectó la presencia de *S. aureus*. Al igual que en un estudio realizado por Mora, (2003), donde se encontró que el mayor porcentaje de muestras con presencia de esta bacteria se encontró en las manos de los manipuladores, con un 90% de positividad a *S. aureus*. A diferencia de lo anterior, durante el segundo muestreo no se encontraron colonias sospechosas manteniéndose bajos los recuentos en la leche del depósito, leche de la tina de cuajado, cuajo y queso del día.

Durante el verano, en el primer muestreo (Figura 25), no se encontraron colonias sospechosas en la leche de la tina de cuajo, el cuajado y el queso del día, sin embargo, esto no quiere decir que el microorganismo no haya estado presente, debido a que en la leche del

depósito analizada en esta primera muestra si se encontró presencia de *S. aureus*. Este resultado pudo deberse a que el microorganismo no se desarrolló adecuadamente en el medio y no se pudo detectar a simple vista las características de las colonias sospechosas. Lo mismo pudo ocurrir en el tercer muestreo de la leche de la tina de cuajado, puesto que se encontraron niveles superiores al límite permitido en la leche del depósito, así como en el queso del día. En los quesos control positivos, los recuentos sobrepasaron del límite permitido establecido en la norma. Debemos recordar que estos registros se tomaron de la quesera antes de implementarse el sistema de BPM. Por otro lado, en los controles negativos los recuentos se mantuvieron por debajo del límite permitido.

No obstante, los recuentos en los quesos almacenados se presentaron niveles que sobrepasaron el límite permitido en los tres muestreos. De igual forma, Valero y col., (2012) en un estudio realizado en fincas del estado Zulia, Venezuela, encontró la presencia de *S. aureus* en leche cruda y queso artesanal con recuentos elevados, sin embargo, en ese estudio también se encontró el microorganismo en la piel de los pezones de las vacas, siendo el reservorio principal y la causa de mastitis subclínica, confirmando que en las fincas no se realizaba un diagnóstico rutinario para esta patología a pesar de que existe una norma para leche cruda que recomienda esta práctica y la resolución sobre leche y sus derivados, donde se establece que el ganado destinado a la producción de leche deberá estar libre de mastitis. A diferencia del presente estudio, el pezón de vaca analizado no presentó presencia alguna de *S. aureus* por lo que la contaminación en los quesos puede deberse al contacto directo que mantiene el personal involucrado durante el proceso de elaboración, como lo menciona Cedillos y Guerra, (2012), en donde en sus estudios la leche obtenida se encontró dentro del límite permitido, pero el recuento en el producto sobrepasaba del límite permitido detectando posibles deficiencias dentro del sistema de BPM como son: falta de higiene en la elaboración, manipulación en el proceso de fabricación, la ordeña, la falta de refrigeración de la leche durante el transporte, entre otros factores. En el mismo estudio, se encontraron niveles de *S. aureus* por encima del límite permitido del análisis realizado a las manos de los trabajadores.

Muestras analizadas para *Staphylococcus aureus*

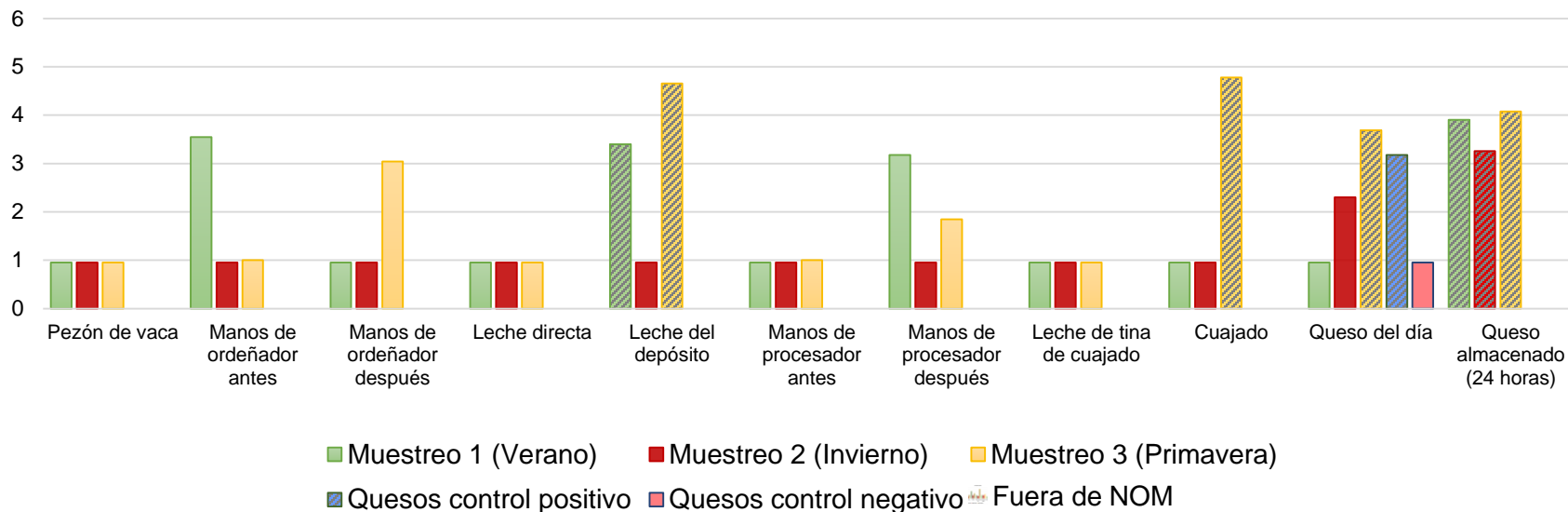


Figura 25. Resultados del análisis de *Staphylococcus aureus*.

LECHE: L.M. ≤ 10 UFC/ mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 1000 UFC/g o mL. . NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 1000 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

CONCLUSIONES

La determinación de microorganismos de interés sanitario como: mesófilos aerobios, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, así como coliformes totales y coliformes fecales (*Escherichia coli*) en el personal, material y equipo utilizado durante la elaboración de queso fresco, y leche involucrada en la elaboración del queso, así como el producto final sobrepasaron el límite permitido establecido en las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes.

Los altos recuentos de microorganismos de interés sanitario, obtenidos en el presente trabajo son consecuencia de las prácticas de higiene mal implementadas durante la elaboración del producto. La presencia de estos microorganismos en manos del personal involucrado, así como en el equipo de ordeña antes de ser utilizado se determinan como puntos de mayor riesgo de contaminación, ya que al no ser eliminados, la contaminación presente es arrastrada al producto final que es el queso.

RECOMENDACIONES

Que los productores se apeguen estrictamente al sistema de BPM implementado, siguiendo las normativas presentadas durante las capacitaciones con el objetivo de tener mayor control sanitario al momento de la elaboración del queso fresco artesanal. De la misma forma, que todo el personal involucrado, tenga conocimiento de todos los procedimientos que deben de seguirse en cada una de las áreas involucradas en la elaboración de queso artesanal.

REFERENCIAS

- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2011. Buenas Prácticas de Manufactura en la Elaboración de Productos Lácteos (pp. 28).
- Andablo A, Hernández MC, Catalán CG. 2015. Gobernanza e integración de familias rurales a cadenas pecuarias: el caso del ejido Cobachi, Sonora. *Economía: teoría y práctica*, 105-135.
- Andablo A, Hernández MC. 2011. Elementos para la constitución de un SIAL lácteo en Sonora: la quesería artesanal en el ejido Cobachi. De la leche al queso. Queserías rurales en América Latina, México, IICA/CIRAD/Miguel Ángel Porrúa, 237-268.
- Anderson M, Hinds P, Hurditt S, Miller P, McGrowder D, Lindo R. 2011. The microbial content of unexpired pasteurized milk from selected supermarkets in a developing country. *Asian Pac J Trop Biomed*. 1(3), 205-211.
- Bachmann H, Kruijswijk Z, Molenaar D, Kleerebezem M, van Hylckama ET. 2009. A high-throughput cheese manufacturing model for effective cheese starter culture screening. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5868-5882.
- Bachmann HP, Fröhlich MT, Jakob E, Roth E, Wechsler D, Beuvier E, Buchin S. 2011. Cheese | Raw Milk Cheeses A2 - Fuquay, John W *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (pp. 652-660). San Diego: Academic Press.
- Banwart G. 2012. *Basic food microbiology*: Springer Science & Business Media.
- Battro P. 2010. *Quesos Artesanales*: Editorial Albatros.
- Blowey RW, Edmondson P. 2010. *Mastitis Control in Dairy Herds*: CABI.
- Bhrlikova P, Harper I, Subedi M, Bhattarai S, Rawal N, Pollock AM. 2015. Aid conditionalities, international Good Manufacturing Practice standards and local production rights: a case study of local production in Nepal. *Globalization & Health*. 11(1), 1-10. doi:10.1186/s12992-015-0110-3.
- Cabrera RB, Basílico JC, Fusco AJ. 2001. *Hongos en Quesos Artesanales de Corrientes (Argentina)*.
- Campos KC, Cardonha MS, Pinheiro BG, Ferreira NR, Azevedo RM, Stamford LM. 2009. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. *Food Control*, 20(9), 807-810.
- Camussone CM, Calvinho LF. 2013. Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* asociados con infecciones mamarias en bovinos: relevancia y rol como agentes inmunógenos. *Revista Argentina de Microbiología*. 45(2), 119-130.

- Carrasco E, Morales RA, García GR. 2012. Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review. *Food Research International*. 45(2), 545-556.
- Carrero MB, López MA. 2012. Aislamiento e identificación preliminar de hongos contaminantes en queso paipa del municipio de Paipa, Boyacá. *Vitae*. 19(1), S114-S116.
- Castellanos LC, Villamil LC, Romero JR. 2004. Incorporación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la legislación alimentaria. *Rev. salud pública*. 6(3), 289-301.
- Cedillos AR, Guerra RJ. 2012. Determinación de la multirresistencia microbiana del *Staphylococcus aureus*, aislado a partir de diferentes fuentes que intervienen en la elaboración del queso fresco artesanal proveniente de dos queserías.
- Cogan TM, Vitale M. 2016. Cheese: Public Health Aspects Reference Module in Food Science: Elsevier.
- Costa DM, Sant'Ana AS, Cruz AG, Faria JF, Fernandes OC, Bona E. 2012. On the implementation of good manufacturing practices in a small processing unity of mozzarella cheese in Brazil. *Food Control*. 24(1-2), 199-205.
- De Vliegher S, Fox LK, Piepers S, McDougall S, Barkema HW. 2012. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science*. 95(3), 1025-1040.
- Díaz TH, Díaz NH. 2014. Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. *Horizonte sanitario*. 12(2), 58-62.
- Diez GF. 2014. TOTAL VIABLE COUNTS | Specific Techniques. In C. A. B. L. Tortorello (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (pp. 630-635). Oxford: Academic Press.
- Duarte CM, Freitas PP, Bexiga R. 2015. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 27(6), 665-672.
- Duquenne M, Derzelle S, Fleurot I, Aigle M, Darrigo C, Hennekinne J, Delacroix BA. 2016. Milk maturation temperature and time are key technological parameters to limit staphylococcal enterotoxin production during uncooked semi-hard cheese manufacture. *Food Control*. 59, 118-127.
- Duran L, Sánchez C, Palmero J, Chaparro L, Garcia T, Sánchez E. 2010. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 28(4), 467-475.

- Fairbrother JH, Dufour S, Fairbrother JM, Francoz D, Nadeau É, Messier S. 2015. Characterization of persistent and transient *Escherichia coli* isolates recovered from clinical mastitis episodes in dairy cows. *Veterinary Microbiology*. 176(1–2), 126-133.
- Freitas R, Nero LA, Carvalho AF. 2009. Technical note: Enumeration of mesophilic aerobes in milk: Evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates. *Journal of Dairy Science*. 92(7), 3069-3073.
- Fu L, Valentino HR, Wang Y. 2016. Chapter 3 - Bacterial Contamination in Food Production A2 - Barros-Velázquez, Jorge Antimicrobial Food Packaging (pp. 35-43). San Diego: Academic Press.
- García CV. 2004. Introducción a la Microbiología. Segunda Edición. EUNED. Costa Rica.
- García DM, Escamilla HP, Arroyo KM, Reyes AB, Mendoza M, Hernández G, Núñez EJ. 2010. Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Unidades de Producción de Leche Bovina. In SAGARPA (Ed.).
- García GO, Ochoa M. 2010. Generalidades del Queso. In C. A. d. I. Sabana (Ed.), *Procesamiento de Quesos Blancos*. Bogotá, D.E.
- Gonzalez M. 2012. Elaboracion artesanal de vino de frutas. [S.l.]: Lulu Com.
- Guidi FA, León MW, Fernández RN, Gottret MJ. 2015. Implementación del método alternativo petrifilm para determinar coliformes y bacterias aerobias mesófilas en la industria de lácteos "Pairumani" y el laboratorio "Lidiveco" de SENASAG. *Journal Boliviano de Ciencias*, 11, 58.
- Guinee T P. 2016. Cheese: Cheese as a Food Ingredient Reference Module in *Food Science*: Elsevier.
- Habchi C, Ghali K, Ghaddar N, Chakroun W, 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.
- Jay JM. 2012. *Modern food microbiology*: Springer Science & Business Media.
- Jerónimo E, Malcata FX. 2016. Cheese: Composition and Health Effects *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 741-747). Oxford: Academic Press.
- Kongo JM, Malcata FX. 2016a. Cheese: Processing and Sensory Properties A2 - Caballero, Benjamin. In P. M. Finglas & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 748-754). Oxford: Academic Press.
- Kongo JM, Malcata FX. 2016b. 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.

- Kongo JM, Malcata FX. 2016c. Cheese: Types of Cheeses – Soft. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 768-773). Oxford: Academic Press.
- Lancibidad G. 2012. IICA: Produccion Artesanal de Alimentos: IICA.
- Ledezma C. 2003. Bases para la implementación del sistema de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la planta de Lácteos de Zamorano.
- León Y, Delmonte M, Fernández P, Silva R, Salcedo A. 2015. Mohos y levaduras en queso artesanal semiduro expandido en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Ciencia*. 22(4).
- Martínez LR, Tepal CJ, Hernández AL, Escobar RM, Amaro GR, Blanco OM. 2011. Mejora continua de la calidad higiénica sanitaria de la leche de vaca. In A. y. P. C. d. I. D. e. m. a. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (Ed.), *Manual de capacitación*. (Vol. 3). Cuajimalpa D. F. México.
- Menéndez LA. 2013. Validación y cálculo de incertidumbre para la determinación de microorganismos indicadores, mediante microbiología clásica y NMP automatizado, en matrices cárnicas.
- Molleda RM. 2016. Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada”.
- Monteiro MLG, Mársico ET, Mano SB, Teixeira CE, Canto AS, Carvalho VH, Conte CA. 2013. Influence of good manufacturing practices on the shelf life of refrigerated fillets of tilapia (*Oreochromis niloticus*) packed in modified atmosphere and gamma-irradiated. *Food Science & Nutrition*. 1(4), 298-306.
- Mora LL. 2003. Estudio de parámetros Microbiológicos que afectan la calidad del Queso tipo Gouda.
- Moreno, Alarcón. 2010. Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 21(5), 749-755.
- Motarjemi Y, Lelieveld H. 2014. Chapter 1 - Fundamentals in Management of Food Safety in the Industrial Setting: Challenges and Outlook of the 21st Century. In Y. M. Lelieveld (Ed.), *Food Safety Management* (pp. 1-20). San Diego: Academic Press.
- Mulec J, Oarga Á. 2014. Ecological evaluation of air and water habitats in the Great Cavern of Santo Tomás, Cuba. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85(3), 910-917.
- Munther D, Sun X, Xiao Y, Tang S, Shimosako H, Wu J, Fazil A. 2016. Modeling cross-contamination during poultry processing: Dynamics in the chiller tank. *Food Control*. 59, 271-281.

- Nerín C, Aznar M, Carrizo D. 2016. Food contamination during food process. Trends in Food Science & Technology, 48, 63-68.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>
- 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. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>
- 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. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa1/ssa1109p.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del Numero Más Probable. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/112ssa14.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la Determinación de *Staphylococcus aureus* en Alimentos. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/115ssa14.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: Frescos, Maduros y Procesados. Especificaciones Sanitarias. Retrieved from <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/121ssa14.html>
- Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, Formúla Láctea, Producto Lácteo Combinado y Derivados Lácteos. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias. Métodos de Prueba. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010
- Olivares J, Kholif AE, Rojas S, Elghandour M, Salem ZM, Bastida AZ, DiLorenzo N. 2015. Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of Mexico. Tropical Animal Health and Production. 47(8), 1497-1504.

- Oliver SP, Pighetti GM, Almeida RA. 2011. Mastitis Pathogens | Environmental Pathogens A2 - Fuquay, John W Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition) (pp. 415-421). San Diego: Academic Press.
- Panadero AN. 2010. Importancia de los sistemas silvopastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical. *Revista de Medicina Veterinaria*. (19), 113-122.
- Pantoja JC, Reinemann Dj Fau RP, Ruegg PL. 2011. Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. (1525-3198 (Electronic)).
- Parrilla MC, Saldate O. 1990. Procedimientos para el examen microbiológico de superficies y utensilios. México, DF: Secretaria de salud. Dirección General de Epidemiología, Laboratorio Nacional de Salud Pública.
- Pereyra EAL., Dallard BE, Calvino LF. 2014. Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por *Staphylococcus aureus* en bovinos. *Revista Argentina de Microbiología*. 46(4), 363-375.
- Pilatti H. 2007. Higiene e inocuidad de los alimentos: procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES). Buenos Aires–Argentina.
- Plaza LA. 2015. Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella*.
- Pothakos V, Samapundo S, Devlieghere F. 2012. Total mesophilic counts underestimate in many cases the contamination levels of psychrotrophic lactic acid bacteria (LAB) in chilled-stored food products at the end of their shelf-life. *Food Microbiology*. 32(2), 437-443.
- Pulido M, de Navia SL, Torres SM, Prieto AC. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4).
- Ramírez C, Velez J. 2012. Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6-2.
- Ravishankar S, Zhu L., Jaroni D. 2010. Assessing the cross contamination and transfer rates of *Salmonella enterica* from chicken to lettuce under different food-handling scenarios. *Food Microbiology*. 27(6), 791-794.
- Reséndiz MR, Hernández JS, Ramírez HR, Pérez AR. 2012. El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzupán, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*, 2, 253-255.
- Rodríguez A, Rodríguez M, Andrade MJ, Córdoba JJ. 2015. Detection of filamentous fungi in foods. *Current Opinion in Food Science*. 5, 36-42.

- Rodríguez AE. 2013. Evaluación del uso de flameado de ubres en la población de mesófilos aerobios, *E. coli*, Coliformes y Mastitis Subclínica en leche cruda de bovino.
- Rodríguez SC, Ortega KG, Medina SN, Ruíz AQ, García MR, Bañuelos EV. 2013. Estudio De Mercado De Productos Lácteos En El Municipio De Santiago Ixcuintla, Nayarit. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 17(32), 205-219.
- Rola JG, Korpysa DW, Czubkowska A, Osek J. 2014. Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk. LID - S0022-0302(15)00330-6 [pii] LID - 10.3168/jds.2014-9064 [doi]. (1525-3198 (Electronic)).
- Román M. 2007. Buenas Prácticas de Manufactura. Planes de higiene y sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control para la pequeña y mediana empresa quesera.
- Sadiq F A, Li Y, Liu T, Flint S, Zhang G, He G. 2016. A RAPD based study revealing a previously unreported wide range of mesophilic and thermophilic spore formers associated with milk powders in China. *International Journal of Food Microbiology*, 217, 200-208.
- Sangadkit W, Rattanabumrung O, Supanivatin P, Thipayarat A. 2012. Practical coliforms and *Escherichia coli* detection and enumeration for industrial food samples using low-cost digital microscopy. *Procedia Engineering*. 32(0), 126-133.
- Saxena T, Kaushik P, Krishna MM. 2015. Prevalence of *E. coli* O157:H7 in water sources: an overview on associated diseases, outbreaks and detection methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 82(3), 249-264.
- Siciliano M. 2010. Estudio de la vida útil de queso crema utilizando microbiología predictiva. Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Spanamberg A, Augusto W Jr E, Brayer PI, Argenta J, Cavallini SM, Valente P, Ferreiro L. 2008. Etiología de la mastitis bovina producida por levaduras en el sur de Brasil. *Revista Iberoamericana de Micología*. 25(3), 154-156.
- Srednik ME, Grieben MA, Bentancor A, Gentilini ER. 2015. Molecular identification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis and detection of beta-lactam resistance. *J Infect Dev Ctries*. 9(9), 1022-1027.
- Tango CN, Hong SS, Wang J, Oh DH. 2015. Assessment of Enterotoxin Production and Cross-Contamination of *Staphylococcus aureus* between Food Processing Materials and Ready-To-Eat Cooked Fish Paste. *J Food Sci*.

- Teramura H, Ushiyama M, Ogihara H. 2015. Evaluation of a novel dry sheet culture method (Sanita-kunR) for rapid enumeration of yeasts and molds in foods. *Journal of Microbiological Methods*. 109, 16-19.
- Tournas VH, Calo JR, Memon S. 2011. Comparison of the SimPlate yeast and mould color indicator to the BAM method for quantification of fungi in naturally-contaminated foods. *Food Control*. 22(5), 775-777.
- Valdemar MA. 2014. Tipos de quesos que se consumen en el centro del país.
- Valero LK, Rivera SJ, Valbuena E, Boscán L., Valeris R, Castro G, Briñez W. 2012. Caracterización bioquímica y producción de enterotoxinas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche cruda y queso fresco artesanal en fincas del estado Zulia. *Revista Científica*. 22(4), 303-314.
- Vasek O, Cabrera R, Coronel GJ, De Giori GS, Fusco JV. 2004. Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). *Facena*, 20, 13-22.
- Villegas A, Cervantes F. 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*. 19(38), 145-164.
- Yoon Y, Lee S, Choi KH. 2016. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control*, 63, 201-215.

ANEXOS



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



Recuentos Obtenidos de los Análisis Realizados

Mesófilos Aerobios

- Límites máximos permitidos para mesófilos aerobios

^{1 y 2} No se cuentan con Norma Oficial Mexicana para evaluar estos parámetros

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 3,000 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 400 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

LECHE y QUESO: L.M. < 400,000 UFC/mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

Resultados del análisis de mesófilos aerobios en los materiales del cuarto de lavado.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
**Superficie de mesas	74x10 ⁵	80	35x10 ²
**Escobetillas	43x10 ⁶	15X10 ²	19x10 ⁴
**Mantas de limpieza de pezón	17x10 ²	26X10 ¹	INCONTABLE
¹ Agua para limpieza de materiales	20x10 ²	20X10 ²	25x10 ³
² Ambiente del cuarto de lavado	< 100	< 100	113

Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de ordeña.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)</i>	16x10 ²	40	60
<i>*Manos de ordeñador antes</i>	15x10 ⁵	12X10 ³	76x10 ³
<i>*Manos de ordeñador después</i>	52x10 ⁵	17X10 ³	42x10 ⁴
<i>**Partes individuales internas de la pezonera</i>	16x10 ⁷	22X10 ⁵	29x10 ⁴
<i>**Mangueras de la leche al depósito</i>	47x10 ⁵	22X10 ¹	33x10 ¹
<i>**Depósito de la leche</i>	15x10 ⁵	11x10 ³	83
<i>**Mangueras del depósito a sala de proceso</i>	36x10 ⁶	23X10 ³	29x10 ³
<i>**Tubo en la pared de entrada</i>	20x10 ⁵	45X10 ⁴	15x10 ⁴
<i>Leche directa de la ubre</i>	89x10 ¹	40	17x10 ³
<i>Leche del depósito</i>	29x10 ⁵	17X10 ⁴	13x10 ⁷
¹ <i>Agua utilizada para la limpieza de pezón</i>	< 10	< 10	35x10 ²
² <i>Ambiente de la sala de ordeña</i>	INCON.	INCON.	INCON.

Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de proceso.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Manos de procesador antes del proceso</i>	15x10 ³	96X10 ¹	56x10 ²
<i>*Manos de procesador después del proceso</i>	86x10 ⁴	52X10 ²	65x10 ³
<i>**Mesas y prensa</i>	39x10 ¹	< 10	< 10
<i>**Tina de cuajado, lira y agitador</i>	18x10 ²	< 10	< 10
<i>**Fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado</i>	67x10 ⁶	21X10 ³	< 10
<i>**Mantas de envoltura de queso y moldes</i>	21x10 ⁵	66X10 ¹	35x10 ²
<i>Leche de tina de cuajado</i>	18x10 ⁷	12X10 ⁴	86x10 ⁶
<i>Cuajado después de desuerado</i>	71x10 ⁶	24X10 ⁵	35x10 ⁷
<i>Queso del día</i>	21x10 ⁷	20X10 ⁶	54x10 ⁵
¹ <i>Agua directa de la llave</i>	11x10 ²	10X10 ¹	44x10 ²
¹ <i>Agua de filtro bacteriológico</i>	53x10 ¹	35X10 ¹	80x10 ¹
² <i>Ambiente de sala de proceso</i>	< 100	< 100	< 100

Resultado del análisis de mesófilos aerobios en quesos control.

Quesos	Promedio
<i>Quesos controles positivos</i>	20x10 ⁵
<i>Quesos controles negativos</i>	89x10 ⁴

Resultados del análisis de mesófilos aerobios en la sala de almacenamiento de quesos.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>**Superficies internas de refrigerador</i>	11x10 ³	< 10	30x10 ¹
<i>Queso almacenado (24 horas)</i>	12x10 ⁷	36X10 ⁵	36x10 ⁶
² <i>Ambiente de la sala de almacenamiento</i>	< 100	< 100	< 100

Coliformes Totales

- Límites máximos permitidos para coliformes totales

AGUA: L.M. < 2 NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua en la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca” (2011).

* SUPERFICIES VIVAS: L.M. < 10 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

** SUPERFICIES INTERTES: L.M. < 200 UFC/cm² de superficie. NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

LECHE: L.M. ≤10 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤100 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Resultados del análisis de coliformes totales en los materiales del cuarto de lavado.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
**Superficie de mesas	>1,100	< 3	< 3
**Escobetillas	>1,100	< 3	90
**Mantas de limpieza de pezón	>1,100	< 3	>1,100
Agua para la limpieza de materiales	< 2	6,9	3,6

Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de ordeña.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)</i>	36	< 3	21
<i>*Manos de ordeñador antes</i>	>1,100	930	>1,100
<i>*Manos de ordeñador después</i>	610	< 3	>1,100
<i>**Partes individuales internas de la pezonera</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>**Mangueras de la leche al depósito</i>	>1,100	92	< 3
<i>**Depósito de la leche</i>	>1,100	< 3	90
<i>**Mangueras del depósito a sala de proceso</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>**Tubo en la pared de entrada</i>	>1,100	>1,100	< 3
<i>Leche directa de la ubre</i>	210	< 3	23
<i>Leche del depósito</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>Agua utilizada para limpieza de pezón</i>	< 2	< 2	< 2

Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de proceso.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Manos de procesador antes del proceso</i>	>1,100	< 3	40
<i>*Manos de procesador después del proceso</i>	>1,100	430	>1,100
<i>**Mesas y prensa</i>	< 3	< 3	< 3
<i>**Tina de cuajado, lira y agitador</i>	430	< 3	< 3
<i>**Fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado</i>	>1,100	930	< 3
<i>**Mantas de envoltura de queso y moldes</i>	>1,100	74	>1,100
<i>Leche de tina de cuajado</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>Cuajado después de desuerado</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>Queso del día</i>	>1,100	>1,100	>1,100
<i>Agua directa de la llave</i>	< 2	2,2	< 2
<i>Agua de filtro bacteriológico</i>	< 2	< 2	< 2

Resultado del análisis de coliformes totales en quesos control.

Quesos	Promedio
Quesos controles positivos	>1,100
Quesos controles negativos	>1,100

Resultados del análisis de coliformes totales en la sala de almacenamiento de quesos.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
**Superficies internas de refrigerador	>1,100	< 3	90
Queso almacenado (24 horas)	>1,100	>1,100	>1,100

Coliformes Fecales (*Escherichia coli*)

- Límites máximos permitidos para coliformes fecales

Cuentas altas en base al límite permitido de Coliformes Totales descrito en la NOM-093-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

AGUA: L.M. no detectable NMP/100mL. Manual de Capacitación “Mejora Continua de la Calidad Higiénico-Sanitaria de la Leche de Vaca”, (2011).

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 100 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Muestras que presentaron desarrollo de coliformes fecales (*Escherichia coli*).

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Manos de ordeñador antes</i>	36	< 3	>1,100
<i>Manos de ordeñador después</i>	290	< 3	>1,100
<i>Partes individuales internas de la pezonera</i>	>1,100	< 3	>1,100
<i>Mangueras de la leche al depósito</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Depósito de la leche</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Mangueras del depósito a sala de proceso</i>	>1,100	< 3	< 3
<i>Tubeo en la pared de entrada</i>	280	< 3	< 3
<i>Agua utilizada para la limpieza de pezón</i>	< 2	< 2	< 2
<i>Manos de procesador antes</i>	36	< 3	< 3
<i>Manos de procesador después</i>	200	< 3	< 3
<i>Mesas y prensa</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Tina de cuajado, lira y agitador</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado</i>	36	< 3	< 3
<i>Mantas de envoltura de queso y moldes</i>	>1,100	< 3	< 3
<i>Agua directa de la llave</i>	< 2	< 2	< 2
<i>Agua de filtro bacteriológico</i>	< 2	< 2	< 2
<i>Superficies internas de refrigerador</i>	36	< 3	40
<i>Superficie de mesas</i>	< 3	< 3	< 3
<i>Escobetillas</i>	750	< 3	< 3
<i>Mantas de limpieza de pezón</i>	< 3	< 3	40
<i>Agua para limpieza de materiales</i>	< 2	< 2	3,6

Muestras de alimentos que presentaron desarrollo de coliformes fecales (*Escherichia coli*).

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
Leche directa de la ubre	< 3	< 3	< 3
Leche del depósito	>1,100	< 3	>1,100
Leche de tina de cuajado	>1,100	92	>1,100
Cuajado después de desuerado	>1,100	>1,100	>1,100
Queso del día	>1,100	>1,100	>1,100
Queso almacenado del día anterior	>1,100	750	>1,100

Resultado del análisis de coliformes fecales (*Escherichia coli*) en quesos control.

Quesos	Promedio
Quesos controles positivos	>1,100
Quesos controles negativos	< 3

Mohos y Levaduras

- Límites máximos permitidos para hongos

* SUPERFICIES VIVAS.

** SUPERFICIES INTERTES.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 500 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Resultados del análisis de mohos en los materiales del cuarto de lavado.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
**Superficie de mesas	90	< 10	< 10
**Escobetillas	28x10 ¹	< 10	48
**Mantas de limpieza de pezón	80	< 10	26
<i>Agua para limpieza de materiales</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Ambiente del cuarto de lavado</i>	> 100	> 100	> 100

Resultados del análisis de mohos en la sala de ordeña.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)</i>	< 10	< 10	< 10
<i>*Manos de ordeñador antes</i>	10	60	30
<i>*Manos de ordeñador después</i>	70	24x10 ¹	25x10 ¹
**Partes individuales internas de la pezonera	< 10	13x10 ²	< 10
**Mangueras de la leche al depósito	< 10	< 10	< 10
**Depósito de la leche	30	10	< 10
**Mangueras del depósito a sala de proceso	< 10	30	12
**Tubo en la pared de entrada	< 10	70	< 10
<i>Leche directa de la ubre</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Leche del depósito</i>	80x10 ¹	30	11x10 ²
<i>Agua utilizada para la limpieza de pezón</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Ambiente de la Sala de Ordeña</i>	> 100	> 100	> 100

Resultados del análisis de mohos en la sala de proceso.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Manos de procesador antes del proceso</i>	< 10	< 10	< 10
<i>*Manos de procesador después del proceso</i>	< 10	< 10	< 10
<i>**Mesas y Prensa</i>	< 10	< 10	< 10
<i>**Tina de cuajado, lira y agitador</i>	< 10	< 10	< 10
<i>**Fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado</i>	40	< 10	< 10
<i>**Mantas de envoltura de queso y moldes</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Leche de tina de cuajado</i>	33x10 ¹	11x10 ¹	13x10 ³
<i>Cuajado después de desuerado</i>	40	15x10 ¹	22x10 ¹
<i>Queso del día</i>	44x10 ¹	23x10 ¹	17x10 ²
<i>Agua directa de la llave</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Agua de filtro bacteriológico</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Ambiente de sala de proceso</i>	< 100	< 100	< 100

Resultado del análisis de mohos en quesos control.

Quesos	Promedio
<i>Quesos controles positivos</i>	< 10
<i>Quesos controles negativos</i>	< 10

Resultados del análisis de mohos en la sala de almacenamiento de quesos.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>Superficies internas de refrigerador</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Queso almacenado (24 horas)</i>	< 10	14x10 ¹	17x10 ¹
<i>Ambiente de la sala de almacenamiento</i>	< 100	< 100	< 100

Resultados del análisis de levaduras en los materiales del cuarto de lavado.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
**Superficie de mesas	33x10 ¹	< 10	96
**Escobetillas	76x10 ²	< 10	34x10 ¹
**Mantas de limpieza de pezón	85x10 ¹	< 10	34x10 ¹
Agua para limpieza de materiales	< 10	< 10	< 10
Ambiente del cuarto de lavado	> 100	> 100	> 100

Resultados del análisis de levaduras en la sala de ordeña.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
*Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)	15	16x10 ¹	< 10
*Manos de ordeñador antes	62x10 ¹	30	45
*Manos de ordeñador después	86x10 ¹	20	20x10 ²
**Partes individuales internas de la pezonera	17x10 ³	24x10 ³	60x10 ³
**Mangueras de la leche al depósito	53x10 ²	< 10	20
**Depósito de la leche	11x10 ³	< 10	< 10
**Mangueras del depósito a sala de proceso	18x10 ³	24x10 ¹	59x10 ¹
**Tubo en la pared de entrada	57x10 ⁴	25x10 ²	69x10 ¹
Leche directa de la ubre	< 10	< 10	79
Leche del depósito	23x10 ²	45x10 ¹	24x10 ³
Agua utilizada para la limpieza de pezón	< 10	< 10	< 10
Ambiente de la sala de ordeña	> 100	> 100	> 100

Resultados del análisis de levaduras en la sala de proceso.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>*Manos de procesador antes del proceso</i>	< 10	< 10	< 10
<i>*Manos de procesador después del proceso</i>	11x10 ¹	16x10 ¹	14x10 ¹
<i>**Mesas y prensa</i>	< 10	< 10	< 10
<i>**Tina de cuajado, lira y agitador</i>	< 10	< 10	< 10
<i>**Fibras, esponjas, mantas de limpieza y secado, tarja de lavado</i>	20x10 ¹	35x10 ²	< 10
<i>**Mantas de envoltura de queso y moldes</i>	13x10 ²	< 10	< 10
<i>Leche de tina de cuajado</i>	24x10 ²	67x10 ¹	93x10 ³
<i>Cuajado después de desuerado</i>	75x10 ¹	13x10 ²	20x10 ²
<i>Queso del día</i>	60x10 ²	83x10 ²	27x10 ³
<i>Agua directa de la llave</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Agua de filtro bacteriológico</i>	< 10	< 10	< 10
<i>Ambiente de sala de proceso</i>	< 100	< 100	< 100

Resultado del análisis de levaduras en quesos control.

Quesos	Promedio
<i>Quesos controles positivos</i>	13x10 ⁵
<i>Quesos controles negativos</i>	22x10 ¹

Resultados del análisis de levaduras en la sala de almacenamiento de quesos.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
<i>Superficies internas de refrigerador</i>	< 10	< 10	52
<i>Queso Almacenado (24 horas)</i>	57x10 ²	32x10 ²	12x10 ²
<i>Ambiente de la sala de almacenamiento</i>	< 100	< 100	< 100

Staphylococcus aureus

- Límites máximos permitidos para *Staphylococcus aureus*

³ No se cuenta con Norma Oficial Mexicana para evaluar este parámetro

LECHE: L.M. ≤ 10 UFC/ mL. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 1000 UFC/g o mL. . NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

QUESOS FRESCOS: L.M. ≤ 1000 UFC/g o mL. NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Resultados del análisis de *Staphylococcus aureus*.

Tipo de muestra	Períodos de muestreo		
	Verano	Invierno	Primavera
³ Pezón de vaca (4 vacas, 6 pezones)	< 10	< 10	< 10
³ Manos de ordeñador antes	35X10 ²	< 10	10
³ Manos de ordeñador después	< 10	< 10	11x10 ²
Leche directa	< 10	< 10	< 10
Leche del depósito	25X10 ²	< 10	45x10 ³
³ Manos de procesador antes	< 10	< 10	10
³ Manos de procesador después	15X10 ²	< 10	70
Leche de tina de cuajado	< 10	< 10	< 10
Cuajado	< 10x10 ²	< 10x10 ²	60x10 ³
Queso del día	< 10x10 ²	< 10x10 ²	49x10 ²
Queso almacenado (24 horas)	80X10 ²	18X10 ²	12x10 ³

Resultado del análisis de *Staphylococcus aureus* en quesos control.

Quesos	Promedio
<i>Quesos controles positivos</i>	15x10²
<i>Quesos controles negativos</i>	< 10x10 ²