

Ensayos

Identificación de la calidad sanitaria de leche cruda y queso fresco en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca, México

Recibido: 15-08-2018 Aceptado: 12-04-2019 (Artículo Arbitrado)

Resumen

La leche, considerada parte imprescindible en la dieta humana, es un producto altamente propenso a contaminación que necesita ser procesada bajo condiciones estrictas para garantizar la calidad higiénico-sanitaria, prolongar su vida útil y evitar efectos negativos en ella como en las personas que la consumen. El objetivo de este trabajo fue determinar y cuantificar la calidad sanitaria de leche cruda y queso fresco que se obtienen y distribuyen en la zona centro de Loma Bonita, Oaxaca, México, mediante la determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras y *Staphylococcus aureus*. La obtención de muestras se realizó en coordinación con la Asociación Ganadera de Loma Bonita, ubicando 15 puntos de muestreo. Los resultados obtenidos en cada una de las determinaciones, fueron comparados contra valores de referencia establecidos en la NOM-243-SSA1-2010 para leche y queso fresco. No se observó diferencia significativa en el crecimiento de mesófilos aerobios y *S. aureus* entre las muestras de leche, pero sí en el caso del queso ($p < 0.01$). Los mohos y levaduras presentaron únicamente diferencias en leche ($p < 0.0108$). La presencia de coliformes totales fue predominante en todos los puntos tanto en leche como en queso, excediendo el límite permisible establecido en la Norma.

Abstract

Milk is considered an essential part of the human diet and is highly prone to contamination. Therefore, it needs to be processed under strict conditions to ensure hygienic-sanitary quality, prolong its shelf life as well as avoid contamination and intoxication in people who consume this product. The objective of this work was to determine and quantify the sanitary quality of raw milk and fresh cheese obtained and distributed in the central area of Loma Bonita, Oaxaca, Mexico, by identifying aerobic mesophiles, total coliforms, molds-yeasts and *Staphylococcus aureus*. Samples were collected in coordination with the Loma Bonita Livestock Association, with 15 sampling points established. The results obtained in each of the determinations were compared against reference values established in the NOM-243-SSA1-2010 for milk and fresh cheese. No significant difference was observed in the growth of aerobic mesophiles and *S. aureus* among milk samples, but growth in these two elements was observed in the case of cheese ($p < 0.01$). Molds and yeasts presented differences in milk only ($p < 0.0108$). The presence of total coliforms was predominant at all sampling points for both milk and cheese, exceeding the limit established in the Standard.

Résumé

Le lait, considéré comme un élément essentiel de l'alimentaire humaine, est un produit hautement sujet à la contamination qui doit être traité dans des conditions strictes pour garantir la qualité hygiénique et sanitaire, prolonger sa durée de vie et éviter des effets négatifs sur lui ainsi que sur ses consommateurs. L'objectif de ce travail a été de déterminer et quantifier la qualité sanitaire du lait cru et du fromage frais, obtenus et distribués dans la zone centre de Loma Bonita, dans l'État de Oaxaca, au Mexique, en déterminant les mésophiles aérobies, les coliformes totaux, les moisissures-levures et les *Staphylococcus aureus*. Les échantillons ont été collectés en coordination avec l'Association de Bétail de Loma Bonita, qui a localisé 15 points d'échantillonnage. Les résultats obtenus dans chacune des déterminations ont été comparés aux valeurs de référence établies dans la NOM-243-SSA1-2010 pour le lait et le fromage frais. On n'a observé aucune différence significative dans la croissance des mésophiles aérobies et de *S. aureus* parmi les échantillons de lait, mais dans le cas du fromage ($p < 0,01$), oui. Les moisissures et les levures ne présentaient que des différences dans le lait ($p < 0,0108$). La présence de coliformes totaux était prédominante en tout point dans le lait et le fromage, dépassant la limite autorisée établie dans la norme.

Carolina Antonio Estrada¹
Rochel Anai Bernabé Peña

Universidad del Papaloapan
Campus Loma Bonita

Correspondencia:
¹carolinaae@unpa.edu.mx

Palabras clave: Calidad sanitaria, mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos-levaduras, *S. aureus*.

Keywords: Sanitary quality, aerobic mesophiles, total coliforms, molds-yeasts, *S. aureus*.

Mots-clés: Qualité sanitaire, mésophiles aérobies, coliformes totaux, moisissures-levures, *S. aureus*.

Introducción

La leche por sus características nutricionales, es uno de los alimentos de mayor importancia en muchos países del mundo, su calidad nutricional depende de factores como la raza del animal, tipo de alimentación,

estación del año, condiciones ambientales y sanitarias (Álvarez et al., 2012). Un mal manejo durante su producción y almacenamiento la convierte en un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades de carácter zoonótico (Rodríguez et al., 2015), pues numerosos son los casos de enfermedades alimentarias asociadas al consumo de lácteos con baja calidad sanitaria (Esquivel et al., 2018). Ejemplo de ello es la enfermedad diarreica aguda, ocasionada por la *Escherichia coli*, considerada uno de los problemas de salud pública de mayor importancia en el mundo, es una enfermedad intestinal generalmente infecciosa y que en ocasiones termina sin tratamiento. Este tipo de enfermedad se observa principalmente en países en desarrollo, ocasionando mayor número de casos graves y muertes en la población infantil (Cabrera et al., 2013).

Anteriormente, las infecciones e intoxicaciones se relacionaban principalmente con el consumo de carnes procesadas (Troncoso, 2011); en la actualidad, la mayoría se vinculan al consumo de leche cruda o quesos elaborados con leche sin pasteurizar (Rossi et al., 2008).

Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) los derivados lácteos son de los principales alimentos que frecuentemente ocasionan enfermedades de transmisión alimentarias entre países centroamericanos como México, ya que son alimentos que por su alto contenido nutricional y bajo costo son consumidos comúnmente (Hernández et al., 2011; Zendejas et al., 2104). Lo anterior indica que la verificación periódica en la recolección, centros de abastecimiento y procesamiento de esta materia prima, así como de sus productos derivados, resulta importante y necesaria para garantizar la calidad biológica de los productos que se ofrecen al mercado y con ello ayudar en la prevención de enfermedades en los consumidores.

Loma Bonita, es una ciudad ubicada en la región Papaloapan del estado de Oaxaca, se caracteriza por tener significativa producción de leche y derivados, sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios sobre la calidad microbiológica de lácteos y sus derivados, a pesar de que estos productos son considerados como de primera necesidad y contemplados en la canasta básica de los pobladores de esta

ciudad, debido al bajo costo de adquisición. Con base en lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo principal determinar algunas características microbiológicas de la leche y el queso fresco obtenido a partir de la misma, a fin de conocer en un primer inicio y de manera general la calidad sanitaria de estos dos productos.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio Químico-Biológico de la Universidad del Papaloapan campus Loma Bonita, Oaxaca, durante los meses de Julio a Diciembre de 2015, utilizando muestras de leche y queso fresco adquiridos en 15 puntos de venta de la zona centro de Loma Bonita, Oax., cuya ubicación geográfica es 17° 6' 30" longitud Norte, 96° 44' 40" latitud Oeste, con una altura media de 30 msnm (INEGI, 2005).

Las muestras de leche y queso fresco obtenidas, se recolectaron directamente de las perolas y cestos de expendio, respectivamente, en los puntos de venta para el consumidor y fueron llevadas al lugar de análisis tomando en cuenta lo descrito en la NOM-109-SSA1-1994. Las diluciones correspondientes se realizaron siguiendo la metodología descrita en la NOM-110-SSA-1994 para muestras líquidas y sólidas.

Para la determinación de mesófilos aerobios, se utilizó la técnica de vaciado en placas de vidrio, utilizando 1 mL de cada dilución en agar para métodos estándar. Se sembró una placa por dilución realizada de cada muestra y se incubó durante 48 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo, se registraron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en las placas que contenían de 25 a 250 colonias, se calculó la cuenta promedio en cada dilución por gramo y mililitro de muestra (NOM-092- SSA1, 1994).

La determinación de coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994) se realizó sembrando en agar de rojo violeta bilis lactosa 1 mL de cada dilución, aplicando para ello la técnica de vaciado en placa. Las placas sembradas se incubaron de manera invertida durante 24 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Transcurrido el tiempo de incubación, se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 UFC con morfología roja oscura rodeada de halo de precipitación color rojo claro o rosa, y elevación convexa con diámetros aproximados de

0.5 a 2.0 mm. Se calculó el número de coliformes por mililitro y por gramo para cada muestra, multiplicando el número de colonias identificadas por el inverso de la dilución correspondiente y se reportaron como las UFC/g o mL en placa de agar rojo violeta bilis lactosa, incubados a 35°C durante 24±2 h.

Para la siembra y conteo de mohos-levaduras se sembró, por vaciado en placa, 1 mL de cada dilución en agar papa y dextrosa ajustado a pH de 3.5 con ácido tartárico. Las placas se incubaron de forma invertida durante 5 días a 25±1°C. Transcurrido el tiempo de incubación se contaron las placas que contenían entre 10 y 150 colonias para mohos y levaduras y se multiplicó por el inverso de la dilución. El resultado de esta determinación se reportó como las UFC/g o UFC/mL de mohos y levaduras en agar papa y dextrosa acidificado incubados a 25±1°C (NOM-111-SSA1-1994).

La determinación y cuantificación de *S. aureus* se realizó por siembra directa. Se sembraron por extensión 0.1 mL de cada dilución sobre la superficie de agar Baird Parker. Las placas de vidrio sembradas se incubaron de forma invertida a 35°C durante 45 h. Transcurrido este tiempo, se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 colonias negras, circulares, brillantes, convexas, lisas y de diámetro de 1 a 2 mm con halo claro alrededor.

El resultado de esta determinación se reportó como las UFC/g y UFC/mL de *S. aureus* en agar Baird Parker incubados a 35°C. Para el caso de las placas que contenían menos de 15 colonias típicas, los resultados se consideraron como “valor estimado” (NOM-115-SSA1-1994).

Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados obtenidos fueron comparados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando para ello el programa SAS (SAS, 2010), con un alfa de 0.05. La comparación de medias entre variables (puntos de muestreo para leche y queso) a evaluar se realizó mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia del 95%.

Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra que el 80% de las muestras de leche y el queso analizados en este estudio, provienen de raza F1 (cebú/suizo), el 13% únicamente de suizo y el 7% de europeo. Esto contribuye en gran medida a

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

Es importante recalcar que todos los puntos de venta trabajan mediante sistema traspatio, realizando la ordeña manual y la producción de queso en forma artesanal sin aplicar ningún tratamiento de pasteurización en la leche.

La tabla 2 presenta el contenido de mesófilos aerobios en leche y queso para cada uno de los puntos de muestreo. A pesar de no encontrarse diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre puntos de muestreo para las cargas mesofílicas en leche, numéricamente si se observan amplios contrastes entre puntos; por ejemplo, el punto 5 con 9900±7728 UFC/mL duplicó la carga obtenida en el punto 3 (4277±1332 UFC/mL). La carga de mesófilos aerobios promedio para leche en los 15 puntos analizados fue de 6373 UFC/mL.

La presencia de mesófilos aerobios evidencia que la calidad sanitaria de las muestras, así como las condiciones de manipulación: ordeño y cuidados sanitarios de la leche, no se están llevando de manera adecuada en todos los casos, ya que todas las muestras de leche presentaron crecimiento microbiano. A pesar de los resultados obtenidos, los valores no rebasaron el límite establecido en el PROY-NMX-F-700-COFO-CALEC-2012, en donde se establece un valor menor a 100000 UFC/mL de leche cruda.

Tabla 1. Producción de leche y queso fresco de 15 puntos de venta en la zona centro de Loma Bonita, Oaxaca, México.

IP	Raza de los animales en producción	Producción de leche (L/día)	Producción de queso (kg/día)
1	Cebú/Suizo	100	9
2	Suizo	60	6
3	Suizo	200	18
4	Cebú/Suizo	40	*
5	Suizo Americano y Europeo	800	20
6	Cebú/Suizo	40	*
7	Cebú/Suizo	50	5
8	Cebú/Suizo	70	6
9	Cebú/Suizo	300	**
10	Cebú/Suizo	400	38
11	Cebú/Suizo	60	6
12	Cebú/Suizo	90	7
13	Holandés/Cebú/Suizo	600	50
14	Cebú/Suizo	100	8
15	Cebú/Suizo	1000	60

IP. Identificación del punto de venta-punto de muestreo

*Solo producen queso en caso de merma

**Solo produce queso Oaxaca

Al igual que en la leche, las muestras de queso resultaron positivas en todos los puntos de muestreo analizados para mesófilos aerobios. Sin embargo, en este caso, el crecimiento para queso mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre varios puntos, presentándose también diferencia numérica (puntos 1, 2 y 5: cargas menores y punto 12: mayor carga).

La variabilidad estadística que se observa en los resultados de la carga mesofílica en queso puede deberse principalmente a los utensilios y equipos utilizados durante el procesamiento, además de las condiciones higiénicas del lugar o el tratamiento aplicado a la leche en cada caso como la cadena de frío (Baca, 2009; Morales et al., 2012). Dávila et al. (2006), han detectado dos puntos de peligro y de control crítico en la elaboración de queso: desinfección del lugar-utensilios de procesamiento y la contaminación cruzada provocada por la vestimenta.

Es de esperarse que cualquier producto elaborado a partir de una materia prima contaminada, resultará igual o más contaminada, sin embargo, al comparar las cargas obtenidas para mesófilos aerobios entre la leche como materia prima y el queso como producto derivado, se observó lo contrario para algunos casos,

un 33.3% de las muestras analizadas presentaron una disminución en las cargas en queso, aunque estos casos no son estadísticamente significativos, el otro 66.6% presenta una contaminación mayor en queso que en leche.

Para el caso en que la carga microbiana resultó mayor en leche que en queso, de acuerdo con Dávila et al. (2006), esto se debe a la adición de cloruro de sodio (sal de mesa). Badui (2012), menciona que las moléculas de cloruro de sodio disminuyen la actividad de agua, que no es otra cosa que la cantidad de agua libre disponible para el crecimiento microbiano y para los procesos químicos y enzimáticos. El caso en donde el queso resultó más contaminado que la leche, demuestra que no se cuidó ningún aspecto relacionado con el procesamiento: manipulación de la leche, condiciones higiénicas del lugar, utensilios y refrigeración del producto terminado (González et al., 2016).

Para la determinación de coliformes totales, la tabla 3 muestra las UFC obtenidas para muestras de leche y queso sembradas en agar rojo violeta bilis lactosa, en el cual, se observa una cantidad elevada de crecimiento microbiano en cada punto de muestreo y para los dos productos analizados. De acuerdo con el crecimiento microbiano obtenido en esta determinación, para el caso de la leche, el 71.5% de las muestras analizadas supera las 4000 UFC y el resto contiene una cantidad menor a 2000 UFC, sin embargo, el 100% exceden el límite establecido por la norma mexicana NOM-243-SSA1-2010, que establece que la leche destinada a consumo humano debe contener una cantidad < 20 UFC/mL de coliformes totales.

Esta condición coloca a todas las muestras de leche analizadas en este estudio como alimentos con riesgo para la salud del consumidor. Lo anterior se debe a que, dentro del grupo de coliformes totales se encuentra la *E. coli* (Torres et al., 2005), enterobacteria que juega un papel importante como agente patológico de gastroenteritis, enfermedad caracterizada por diarrea sanguinolenta, dolor abdominal y fiebre y que de acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), en Estados Unidos, es una de las principales causas de muerte en los niños en países en desarrollo (Massoc, 2008). Tortora et al.

Tabla 2. Crecimiento de mesófilos aerobios en leche y queso, sembrados en agar para métodos estándar (valores estimados de la media y desviación estándar).

Punto de muestreo	UFC/mL en Leche	UFC/g en queso
1	6972 ± 1100 ^{a,x}	2312 ± 1030 ^{b,x}
2	6100 ± 1288 ^{a,x}	2245 ± 8620 ^{b,x}
3	4277 ± 1332 ^{a,x}	10665 ± 2218 ^{ab,x}
4	7130 ± 1000 ^{a,x}	SD
5	9900 ± 7728 ^{a,x}	2272 ± 1750 ^{b,x}
6	6382 ± 473 ^{a,x}	SD
7	4425 ± 462 ^{a,x}	6437 ± 4178 ^{ab,x}
8	5350 ± 1411 ^{ab,x}	7890 ± 2227 ^{ab,x}
9	6135 ± 4359 ^{a,x}	SD
10	5470 ± 2396 ^{a,x}	7412 ± 1893 ^{ab,x}
11	7273 ± 2626 ^{a,x}	12440 ± 5051 ^{ab,x}
12	7242 ± 2742 ^{a,x}	15983 ± 1006 ^{a,x}
13	5945 ± 1068 ^{a,x}	12803 ± 9038 ^{ab,x}
14	5537 ± 2294 ^{a,x}	8437 ± 2860 ^{ab,x}
15	7465 ± 4305 ^{a,x}	2312 ± 3479 ^{ab,x}
EE	1706	2624

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre puntos de muestreo $p < 0.05$ (a, b). Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencias significativas entre productos, para un mismo punto de muestreo $p < 0.05$ (x, y). El error estándar se representa (EE). SD: Sin determinar $p < 0.05$ (a, b)

(2007), reportan que la presencia de coliformes en leche indica principalmente una mala higiene de la ubre al ordeñar, un área de ordeño con presencia de lodo o heces de las mismas vacas u otros animales. Adicionalmente, Cedeño et al. (2015) mencionan que la elevada cantidad de este tipo de microorganismos está relacionada con el manejo sanitario inadecuado del proceso de extracción de leche, salud de los animales, las malas prácticas o falta de limpieza y desinfección del pezón antes del ordeño, limpieza y desinfección del equipo y superficies que contactan con la leche, así como de los utensilios de recolecta, higiene del personal y refrigeración inmediata de la leche a una temperatura menor a 6°C.

En contraste con nuestros resultados, Bermúdez et al. (2006), reportan valores de 1000000 de UFC/mL de bacterias coliformes; valores muy superiores a los encontrados en los análisis realizados en el presente estudio. Delgado y Mautua (2003), reportaron conteos de coliformes totales de 9330 y Dávila et al. (2006), de 4969 en la leche cruda, conteos similares a los encontrados en el estudio.

Los resultados en leche muestran que numéricamente, el punto 9 presentó la carga de crecimiento

más alta con 12930 ± 117 UFC/mL, y el punto 13 la menor carga con 1283 ± 1403 UFC/mL, estadísticamente no se presentaron diferencias significativas entre puntos de muestreo para el caso de la leche. Esto infiere que el manejo sanitario inadecuado persiste en todos los puntos y que tanto las instalaciones como las prácticas resultan semejantes.

Para el caso del queso, los resultados muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) entre puntos de muestreo, siendo el punto 13 y 14 el de mayor y menor contaminación con 27500 UFC/g y 4692 UFC/g, respectivamente. Esta notable diferencia estadística puede ser causada por varias razones, entre las que destacan: la adición de cloruro de sodio (sal de mesa), la cual puede variar al elaborar los quesos, la higiene del personal, las condiciones de sanidad de las instalaciones en las que elaboran los quesos, el tiempo que pasan los quesos sin refrigeración o el tratamiento que se le da al producto en el lugar de venta. Este último incide de manera importante en el crecimiento de coliformes, pues al permanecer los quesos a temperatura ambiente en los puntos de venta y ser un sustrato rico para el crecimiento microbiano, las bacterias coliformes encuentran las condiciones óptimas para poder desarrollar su fase exponencial de manera significativa.

El crecimiento microbiano obtenido para coliformes totales en todas las muestras de quesos, presentaron valores por encima del intervalo permitido por la norma (NOM-243-SSA1-2010), la cual establece como límite máximo una carga < 100 UFC/g para quesos de suero. A pesar de estos resultados, es necesario comentar que las cargas encontradas en las muestras del presente estudio resultan con menor contaminación al compararlas con las cargas reportadas por Moreno y Ruíz (2007) así como por Perdomo (2010) para este mismo tipo de quesos en lugares como Veracruz y Chiapas, los cuales presentaron cargas de 5000000 y 3500000 UFC/g de coliformes totales, respectivamente.

Al comparar la carga microbiana obtenida para coliformes totales en leche y queso, el 73% de las muestras presentaron diferencias significativas. De este porcentaje se esperaba que las cargas de UFC de coliformes totales encontradas en queso fueran superiores a las encontradas en leche, sin embargo, los resultados mostraron que en 33 % de las muestras hubo una disminución en las cargas en queso.

Tabla 3. Crecimiento de coliformes totales en leche y queso, sembrados en agar rojo violeta bilis lactosa (valores estimados de la media y desviación estándar).

Punto de muestreo	UFC/mL en Leche	UFC/g en queso
1	5695 ± 5523 ^{ax **}	7745 ± 5169 ^{b_cx ***}
2	10593 ± 6233 ^{ax **}	9698 ± 845 ^{b_cx ***}
3	11210 ± 693 ^{ax **}	10025 ± 2440 ^{b_cx ***}
4	7535 ± 345 ^{ax **}	SD
5	12875 ± 3217 ^{ax **}	9115 ± 686 ^{b_cx ***}
6	1830 ± 1000 ^{ax **}	SD
7	1848 ± 1771 ^{ax **}	11000 ± 990 ^{b_cy **}
8	5383 ± 5264 ^{ax **}	7777 ± 110 ^{b_cx **}
9	12920 ± 1403 ^{ax **}	SD
10	8693 ± 2839 ^{ax **}	11350 ± 1202 ^{b_cy **}
11	11400 ± 2475 ^{ax **}	10753 ± 569 ^{b_cx **}
12	6775 ± 2934 ^{ax **}	20500 ± 9899 ^{b_cy **}
13	1283 ± 117 ^{ax **}	27500 ± 1000 ^{ax **}
14	1695 ± 276 ^{ax **}	11445 ± 4674 ^{ab_y **}
15	4168 ± 4430 ^{ax **}	4692 ± 5385 ^{ax ***}
EE	3539	2780

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre puntos de muestreo $p < 0.05$ (a, b).

Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencias estadísticamente significativas entre productos, para un mismo punto de muestreo $p < 0.05$ (x, y).

El error estándar se representa (EE).

SD: Sin determinar

*Excede el límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para leche (< 20 UFC/mL)

**Excede el límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para quesos de suero (< 100 UFC/g).

Los resultados obtenidos para el recuento de mohos y levaduras (tabla 4) muestran crecimiento de estos microorganismos en todas las muestras analizadas y diferencias estadísticas entre los puntos de muestreo. Este resultado parece razonable, debido a que estos tipos de microorganismos se caracterizan por trasladarse en el aire, a través del ambiente, y atacar principalmente alimentos con alto contenido de humedad y nutrientes (carbohidratos), como es el caso de la leche y el queso fresco (Alais, 2001; Dávila, 2006).

Los conteos de mohos-levaduras para la leche en los puntos analizados mostraron cargas de 4000 a 10000 UFC/mL, cifra que desafortunadamente no puede ser comparada con un parámetro estándar para leche cruda pues no se encuentra descrita en la Norma Oficial Mexicana para leche fresca (NOM-243-SSA1-2014).

Con base en los resultados obtenidos en el crecimiento de mohos y levaduras en las muestras de queso, se observó que el 100% de las muestras exceden el límite permisible por la NOM-243-SSA1-2010, quien establece como límite máximo 500 UFC/g de mohos y levaduras para quesos frescos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$)

entre puntos, indicando con esto, que el producto se elabora bajo condiciones sanitarias semejantes, sin embargo, la carga fue numéricamente diferente entre las muestras de queso, el punto 11 con 9308 UFC/g fue el que presentó mayor contaminación y el punto 7 con 4692 UFC, el de menor crecimiento de mohos y levaduras.

La comparación de las cargas presentes en la leche y en el queso para cada punto de muestreo, denota que en la mayoría no existió diferencia estadísticamente significativa entre materia prima (leche) y producto derivado (queso). Sin embargo, en algunos casos, las cargas resultaron menores en queso que en la leche, esto puede atribuirse a una posible reacción de las sustancias químicas utilizadas en el proceso de elaboración del queso, pues se sabe que sustancias como el cloruro de sodio, afecta el crecimiento de hongos (Carrillo et al., 2006). Gandhi y Shah (2015), estudiaron el crecimiento microbiano con respecto a la cantidad de sal que se le añadió a los quesos, concluyendo que los quesos con una carga menor de sal o sin sal tenían un crecimiento mayor de microorganismos en comparación con los quesos con cargas normales.

El género *Penicillium* es uno de los hongos más comunes en la mayoría de los alimentos, tiene un color verdoso cuando crece sobre las superficies de los quesos, en los cuales interviene en el proceso de maduración (Romero, 2004). Otro tipo de hongos que podemos encontrar en la leche son las levaduras, principalmente la *Torula lactosa* y *T. cremoris*, estas producen gas, poco alcohol y son la causa de que la leche presente espuma. *Saccharomyces fragilis* fermenta la lactosa con producción de alcohol al igual que la *Turolopsis sphaerica*. Estos microorganismos están relacionados con una disminución en la vida de anaquel de la leche y queso. Godič y Venguštb (2008), describieron a la micotoxicosis como una de las enfermedades causadas por intoxicaciones alimentarias crónicas, provocada por mohos productores de toxinas activas por vía oral.

Muchos mohos producen sustancias proteicas conocidas como micotoxinas que afectan diferentes órganos (hígado, riñón, cerebro). De acuerdo con Willey et al. (2008), las micotoxinas pueden ingerirse por contaminación con mohos de alimentos de baja

Tabla 4. Crecimiento de mohos y levaduras en leche y queso, sembrados en agar papa y dextrosa (valor estimado de la media y desviación estándar).

Punto de muestreo	UFC/mL en Leche	UFC/g en queso
1	5250 ± 1430 ^{ab,x}	5073 ± 59 ^{a,x*}
2	5507 ± 2829 ^{ab,x}	5018 ± 1949 ^{a,x*}
3	4348 ± 983 ^{ab,x}	4947 ± 1160 ^{a,x*}
4	6865 ± 1000 ^{ab,x}	SD
5	10500 ± 520 ^{a,x}	4825 ± 3688 ^{a,y*}
6	1060 ± 177 ^{b,x}	SD
7	6007 ± 2183 ^{ab,x}	4692 ± 760 ^{a,x*}
8	9487 ± 6419 ^{a,x}	7622 ± 2512 ^{a,x*}
9	5113 ± 1288 ^{ab,x}	SD
10	8123 ± 778 ^{ab,x}	6712 ± 398 ^{a,x*}
11	7420 ± 1732 ^{ab,x}	9308 ± 3076 ^{a,x*}
12	7525 ± 3627 ^{ab,x}	5115 ± 1266 ^{a,x*}
13	4760 ± 1294 ^{ab,x}	6233 ± 569 ^{a,x*}
14	6382 ± 1828 ^{ab,x}	8012 ± 2507 ^{a,x*}
15	4012 ± 3092 ^{ab,x}	8882 ± 1136 ^{a,y*}
EE	1416	1115

Los resultados muestran el promedio de tres determinaciones ± su desviación estándar. Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre puntos de muestreo $p < 0.05$ (a, b). Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencias significativas entre productos, para un mismo punto de muestreo $p < 0.05$ (x, y). El error estándar se representa (EE). SD: Sin determinar $p < 0.05$ (a, b) *Excede el límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para queso (500 UFC/g)

actividad de agua ($a_w = 0.95-0.60$) como son: queso, mermelada, alimentos curados, cereales o por piensos, en el caso de animales con intoxicaciones crónicas pueden transmitir las toxinas a través de sus productos (huevos y leche).

La tabla 5 muestra los resultados de una prueba presuntiva para identificar *S. aureus*. De acuerdo con los resultados obtenidos en UFC/mL, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras de leche analizadas, sin embargo, los valores numéricos mostraron diferencias en cargas desde las 1218 hasta 7333 UFC/mL.

La presencia de *S. aureus* en leche denota baja calidad sanitaria en la materia, así como nulos trabajos de sanidad en la manipulación de ésta. Situación que genera alerta al ser *Staphylococcus* un género patógeno de bacterias que ocasiona graves enfermedades tanto en animales como en humanos (Zendejas, 2014).

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

Tabla 5. Crecimiento de *Staphylococcus aureus* en leche y queso, sembrados en agar Baird Parker. (Valor estimado de la media y desviación estándar).

Punto de muestreo	UFC/mL en Leche	UFC/g en queso
1	2728 ± 2606 ^{a,x} VE *	2913 ± 534 ^{ab,x} VE **
2	1698 ± 60 ^{a,x} VE *	10590 ± 2913 ^{a,x} VE **
3	4375 ± 4179 ^{a,x} VE *	9012 ± 5144 ^{ab,x} VE **
4	3715 ± 793 ^{a,x} VE *	SD
5	6960 ± 2645 ^{a,x} VE *	10355 ± 2539 ^{ab,x} VE **
6	1218 ± 1000 ^{a,x} VE *	SD
7	3305 ± 191 ^{a,x} VE *	6670 ± 643 ^{a,x} VE **
8	5308 ± 216 ^{a,x} VE *	5275 ± 269 ^{ab,x} VE **
9	10140 ± 6166 ^{a,x} VE *	SD
10	5685 ± 1478 ^{a,x} VE *	6538 ± 3058 ^{ab,x} VE **
11	2895 ± 332 ^{a,x} VE *	5950 ± 5480 ^{ab,x} VE **
12	5913 ± 1559 ^{a,x} VE *	8153 ± 9355 ^{ab,x} VE **
13	5923 ± 753 ^{a,x} VE *	180 ± 7 ^{b,x} VE
14	7333 ± 329 ^{a,x} VE *	6710 ± 863 ^{ab,x} VE **
15	1428 ± 1849 ^{a,x} VE *	1123 ± 1973 ^{ab,x} VE **
EE	1671	1747

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

Valores con literales distintas entre filas, indican diferencias significativas entre puntos de muestreo $p < 0.05$ (a, b).

Valores con literales distintas entre columnas, indican diferencias significativas entre productos, para un mismo punto de muestreo $p < 0.05$ (x, y).

El error estándar se representa (EE).

VE: Valor estimado

SD: Sin determinar

*Excede el límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para leche (10 UFC/mL)

** Excede el límite permitido por la NOM-243-SSA1-2010 para queso (1000 UFC/g)

En el caso del queso, la NOM-243-SSA1-2010 indica que éste debe tener como máximo 1000 UFC/g. Los quesos analizados en el presente trabajo presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre puntos de muestreo; el punto 5 fue el de mayor contaminación con 10590 UFC/g y el punto 13 el de menor carga con 180 UFC/g, siendo este último punto el que se encuentra dentro del parámetro establecido por la norma. Moreno y Ruíz (2007) reportan que existe mayor contaminación en los sistemas productivos cuando no se secan las ubres de las vacas (87600 UFC/mL) que cuando sí se secan (21481 UFC/mL). Por tanto, se sugiere el secado de las ubres como una práctica efectiva para controlar las cargas de *S. aureus* y de esta manera reducir las infecciones intramamarias causadas por este agente.

Comparando las cargas, siete de los puntos de muestreo presentaron cargas microbianas mayores para queso en comparación con la leche, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los productos. Es importante señalar que en las normas mexicanas únicamente el límite máximo es de 10 UFC/mL para el producto leche cruda y 1000 UFC/g para el queso fresco.

Al igual que en los conteos obtenidos para mesófilos aerobios, coliformes totales y hongos, las diferencias numéricas encontradas para *S. aureus* entre puntos de muestreo contrastan notablemente, no obstante, no se encontraron diferencias significativas entre ellos. A simple vista se observa en la tabla 5 que el queso presenta mayor contaminación que la leche en la mayoría de los puntos muestreados, y que tanto en la leche como en el queso la carga es elevada, sin embargo, como ya se mencionó anteriormente solo se encontraron diferencias significativas entre las muestras de queso.

Conclusiones

Las muestras de leche y queso fresco que se distribuyen y venden en 15 puntos en la zona centro del municipio de Loma Bonita, Oaxaca, presentaron un nivel alto de contaminación por microorganismos del grupo de coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras así como *S. aureus*, siendo el queso fresco el producto más contaminado.

Para el caso de la leche, los coliformes totales fueron los de mayor carga microbiana, seguido de los mesófilos aerobios, mohos-levaduras y *S. aureus*. En el queso, al igual que en la leche los coliformes totales resultaron con mayor crecimiento, seguido de mesófilos aerobios, *S. aureus* y los mohos-levaduras.

A pesar de que todas las muestras analizadas en el estudio se obtienen mediante técnicas artesanales los resultados reflejaron diferentes grados de deficiencias sanitarias en la manipulación y conservación, esto sugiere la implementación de programas de capacitación y vigilancia continua a los productores e involucrados para minimizar la contaminación del producto terminado.

Bibliografía

Alais, Ch. (2001). *Ciencia de la leche*. México, D.F. Editorial Continental.

Álvarez, F. G., Herrera, H. J. G., Alonso, B. G., Barreras, S. A. (2012). Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 44(3). 237-242.

Baca, B. M. I. 2009. El laboratorio microbiológico en la industria productora de envases plásticos farmacéuticos y alimenticios. Estado de México. UNAM.

Badui, D. S. (2012). La ciencia de los alimentos en la práctica. México, D.F. Editorial Pearson educación.

Bermúdez, N. E., De Silvestri, S. J. E. (2006). Análisis del Proceso de ordeño y de la calidad higiénica de la leche utilizada en la fabricación del Queso Paipa en el Municipio de Paipa (Boyacá), Colombia. *Revista de Investigación*. 6(002). 163-170.

Cabrera, G. D. A., Maldonado, B. M. A., Rojas, M. T., Grajales, M. C. (2013). Enfermedad diarreica aguda en niños menores de cinco años de edad: aportaciones de los núcleos trazadores de vigilancia epidemiológica 2012-2013. *Archivos de Investigación Materno Infantil*. 5(3). 118-125.

Carrillo, I. M. L., Ramírez, Z. M. R., Martínez, C. J. C. (2006). Effect of solutes on growth parameters of food spoilage moulds. *CYTA - Journal of Food*. 5(2). 142-146.

Cedeño, A. D. C., Vera, M. L. A., Gavilanes, L. P. I., Saltos, S. J. V., Loor, C. R. K., Zambrano, R. J. F., Demera, L. F. M., Almeida, V. A. M., Moreira, P. J. C. (2015). Factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 19(3). 37-54.

Dávila, J., Reyes, G., Corzo, O. (2006). Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una industria venezolana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 56(1). 51-59.

Delgado, C. R., Mautua, T. D. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp*. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 14(3). 158-164.

Esquivel, H. R. I., Correa, M. S. M., Martínez, C. J. L. (2018). *Nutrición y salud*. México. Editorial Manual Moderno.

Gandhi, A., Shah, N. P. (2015). Effect of salt on cell viability and membrane integrity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum* as observed by flow cytometry. *Food Microbiology*. 49. 197-202.

Godič, T. K., Venguštb, A. (2008). The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control*. 19(6). 570-577.

González, C. A. F., Yescas, C., Ortiz, E. A. M., De la Rosa, A. A., Hernández, M. A., Vallejo, C. B. (2016). Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*. 99(5). 3250-3262.

Hernández, C. C., Aguilera, A. M. G., Castro, E. G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Revista Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 31(4). 137-151.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía - INEGI. (2005). Marco geoestadístico municipal versión 3.1. Pronuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Loma Bonita, Oaxaca, México.

Massoc, P. A. (2008). Enfermedades asociadas a los alimentos. *Revista Chilena de Infectología*. 25(5). 395-397.

Morales, P. R., Ávalos, D. C. D. A., Leyva, R. G., Ybarra, M. M. C. (2012). Calidad bacteriológica de la leche cruda de cabra producida en Miravalles, Puebla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 11(1). 45-54.

Moreno, G. M. E., Ruiz, G. E. (2007). *Staphylococcus epidermidis* formador de biofilm en blefaroconjuntivitis. *Revista Médica del Hospital General de México*. 70(1). 24-29.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

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.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

- Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Perdomo, N. (2010). Evaluación de la Calidad Microbiológica de Leche y Queso Fresco "de prensa" Artesanal Elaborado en el Municipio de Jesús Carranza, Veracruz, México. Universidad Veracruzana. Veracruz.
- Proyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-F-700-COFO-CALEC-2012. Sistema Producto Leche- Alimento Lácteo-Leche cruda de vaca. Especificaciones físico-químicas, sanitarias y métodos de prueba.
- Rodríguez, T. H., Barreto, A. G., Sadrés, C. M., Bertot, V. J., Martínez, S. S., Guevara, V. G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 16(8). 1-27.
- Romero, D. C. S., Mestres, L. J. (2004). *Productos lácteos: Tecnología*. Catalunya, España. Editorial Universidad Politécnica de Catalunya.
- Rossi, M. L., Paiva, A., Tornese, M., Chianelli, S., Troncoso, A. (2008). Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. *Revista Chilena de Infectología*. 25(5). 328-335.
- SAS INSTITUTE INC. (2010). *Sas/Stat® 9.22. User's Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc., Cary NC, USA. 8444 p. Disponible en: <http://support.sas.com/documentation/cdl/en/statug/63347/PDF/default/statug.pdf>.
- Torres, L. M. J., Vallejo, C. B., Díaz, C. M. E., Mazorra, M. M. A., González, C. A. F. (2006). Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican fresco chesse. *Food Control*. 17(9). 683-690.
- Tortora, J. G., Funke, R. B., Case, L. C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana.
- Troncoso, A. (2011). *Infecciones Alimentarias*. Como prevenir las enfermedades transmitidas por alimentos. Buenos Aires. Editorial Salud pública.
- Wiley, M. J., Sherwood, M. L., Woolverton, J. C. (2008). *Microbiología de Prescott*. España. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana.
- Zendejas, M. G. S., Ávalos, F. H., Soto, P. M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*. 25(3). 129-143.

