

# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---



INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

MAESTRÍA TECNOLÓGICA EN PRODUCTOS LÁCTEOS

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO DE PORO GENUINO DE  
BALANCÁN, TABASCO, DE ACUERDO CON LA NORMATIVIDAD EUROPEA  
(92/46 CEE) Y MEXICANA (NOM-243-SSA1-2010) “**

**JUAN GABRIEL SÁNCHEZ VÁZQUEZ**

**T E S I N A**

PRESENTADA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRÍA TECNOLÓGICA**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2016

La presente tesina, titulada “**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO DE PORO GENUINO DE BALANCÁN, TABASCO, DE ACUERDO CON LA NORMATIVIDAD EUROPEA (92/46 CEE) Y MEXICANA (NOM-243-SSA1-2010)**”, realizada por el alumno: **Juan Gabriel Sánchez Vázquez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRÍA TECNOLÓGICA  
EN PRODUCTOS LÁCTEOS**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:   
\_\_\_\_\_ **Dr. Adolfo Bucio Galindo**

ASESORA:   
\_\_\_\_\_ **Dra. Consuelo del Carmen Bautista  
Muñoz**

ASESORA:   
\_\_\_\_\_ **MC. Margarita Madrigal Mendoza**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO A 28 DE SEPTIEMBRE DEL 2016

## RESUMEN

“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO DE PORO GENUINO DE BALANCÁN, TABASCO, DE ACUERDO CON LA NORMATIVIDAD EUROPEA (92/46 CEE) Y MEXICANA (NOM-243-SSA1-2010) “

Juan Gabriel Sánchez Vázquez, MT

Colegio de Postgraduados, 2016

Para evaluar la calidad microbiológica del queso poro genuino que se elabora de manera artesanal con leche cruda sin ningún tratamiento térmico (pasteurización), en el municipio de Balancán, Tabasco, se utilizó la NOM-243-SSA1-2010 y Europea 92/46 CEE para comparar los límites permisibles, entre los principales microorganismos patógenos aislados se encuentran, *Salmonella ssp* (*S. ssp.*), mediante la técnica de aislamiento con medios selectivos XLD, SB y VB por estrías cruzadas y pruebas bioquímicas, *Escherichia coli* (*E. coli*) por la técnica de NMP/g, por fluorescencia y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) por la técnica de dilución en medio selectivo Baird Parker; en dos condiciones de almacenamiento (maduración) a 60 días a 4°C y 7 días a 33-35°C. La contrastación del experimento indica que para la primera condición *E. coli*, *S. aureus* y *S. ssp.* Cumplen con los límites permisibles para ambas legislaciones, lo que hace al queso poro consumible a nivel nacional sin problemas de salud pública. Para la segunda condición *E. coli* y *S. ssp* cumplen con los límites permisibles, pero respecto al conteo de *S. aureus* sobrepasa los límites permisibles de la NOM-243, por lo que no se recomendaría su consumo, por lo tanto para el caso de *S. aureus* se recomienda ajustar los parámetros de las Buenas Prácticas de Manufacturas para evitar los efectos a nivel salud en la elaboración de queso poro genuino.

Palabras claves: Maduración, Bacterias patógenas, Aislamiento, Inocuidad

## ABSTRACT

“Microbiological quality of cheese genuine pore Balancan, Tabasco. According to European (92/46 CEE) and Mexican standars (NOM-243-SSA1-2010)”

Juan Gabriel Sánchez Vázquez, MT

Post graduate School, 2016

To assess the microbiological quality of genuine pore cheese made by craftsmen with raw milk (unpasteurized milk), in the municipality of Balancan, Tabasco, NOM-243-SSA1-2010 and European 92/46 EEC was used to compare the permissible limits, among the main pathogens including *Salmonella ssp* (*S. ssp.*) using the technique of isolation with selective medium XLD, SB and VB, by cross striations technique, and biochemical tests. *Escherichia coli* (*E. coli*) by the technique of MPN/ g, fluorescence and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) by dilution technique using Baird Parker selective medium; two storage conditions (maturity) to 60 days at 4 ° C and 7 days at 33-35 ° C. The contrast of the experiment indicates that for the first condition for *E. coli*, *S. aureus* and *S. ssp.* meet the allowable limits for both legislations, making cheese consumable without nationwide public health problems. For the second condition *E. coli* and *S. ssp* meet the permissible limits, but for the counting of *S. aureus* exceeds the permissible limits of the NOM-243, so that consumption would not recommend, so in the case of *S. aureus* is recommended to set the parameters of the Good Manufacturing Practices to avoid the effects to health level in the making of genuine pore cheese.

Key words: maturation, bacteria pathogens, isolation, innocuous.

## DEDICATORIA

Cuando decides dar un paso más en tu vida profesional siempre hay personas que están contigo apoyándote, pero la familia siempre está ahí cuando la necesitas, por lo tanto esta Tesina la dedico:

A **mis padres** y **hermanos** que siempre están ahí dándome ánimos.

## AGRADECIMIENTOS

He terminado un paso más en mi carrera profesional y no agradecerles a muchas personas sería demasiado presuntuoso o tal vez hasta irrespetuoso, porque mis Profesores de la Maestría Tecnológica, mis compañeros de clase, mis compañeros de trabajo y por supuesto mi familia de una u otra forma me apoyaron a dar este pasó.

A la **Sociedad Quesos de Poro Genuino de Balancán, Tabasco S.P.R. de R.L. de C.V.**, por haber gestionado la realización de la Maestría y haberme invitado a participar en la misma.

A la **Universidad Tecnológica del Usumacinta** por haberme dado las facilidades para cursar la Maestría.

Al **Dr. Adolfo Bucio Galindo**, por haber tenido el tiempo y la paciencia, para apoyarme en la elaboración y revisión del documento de Tesis que hicieron que el mismo tuviera un mayor realce.

A la **Dra. Consuelo del Carmen Bautista Muñoz** por todos sus consejos y comentarios que me ayudaron a enriquecer la Tesis.

Al **M.C. Margarita Madrigal Mendoza** por su colaboración para enriquecer la tesina

A mis compañeros de Maestría que de cierta manera estuvieron cerca y apoyando con sus valiosos comentarios para llevar a buen término la Maestría.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN .....	i
ABSTRACT .....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS .....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	3
3. OBJETIVOS .....	5
3.1. General: .....	5
3.2. Específicos:.....	5
4. ALCANCES .....	6
5. ANTECEDENTES .....	7
6. REVISIÓN DE LITERATURA .....	8
6.1 Avances en México en relación con la gestión de calidad en cuestiones de inocuidad en quesos con leche sin pasteurizar.....	8

7. MARCO TEÓRICO.....	13
7.1 Importancia de los quesos mexicanos .....	13
7.2 Valor nutricional de los quesos mexicanos artesanales .....	14
7.3 Definición y clasificación de los quesos .....	15
7.5 Legislación mexicana en relación con los quesos sin pasteurizar .....	19
7.6 Legislación europea en relación con los quesos sin pasteurizar.....	21
7.6.1 Norma Europea (92/46 CEE) .....	21
7.6.2 Anexo a disposiciones relativas a las condiciones de recepción de la leche cruda en los establecimientos de tratamiento y/o de transformación capítulo .	22
7.7 Problemática de los quesos mexicanos genuinos sin pasteurizar .....	24
7.8 Importancia de implementar las Buenas Práctica de Manufacturas en las queserías artesanales.....	25
8. METODOLOGÍA.....	27
8.1 Localización .....	27
8.2 Plan de muestreo y análisis del queso de poro .....	27
8.3 Diseño experimental.....	28
8.4 Muestreo .....	28
8.5 Análisis microbiológicos .....	28
8.5. 1 Determinación de <i>Salmonella ssp</i> .....	29
8.5.2 Siembra, inoculación y detección en placa .....	29
8.5.3 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
8.5.4 Determinación de <i>Echerichia coli</i> .....	30

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
9.1 Interpretación de los resultados para identificación de <i>Salmonella ssp</i> .....	32
9.2 Interpretación de los resultados para identificación de <i>Echerichia coli</i> .....	34
9.3 Interpretación de los resultados para identificación <i>Staphylococcus aureus</i> .	35
10. CONCLUSIONES .....	37
11. LITERATURA CITADA .....	38
12. ANEXOS .....	42
Anexo 1 Límites máximos de contenido microbiano para leche y derivados lácteos	42
Anexo 2. Aislamiento e Identificación de <i>Salmonella ssp</i> en queso poro.....	43
Anexo 3. Aislamiento e Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> en queso poro. .	44
Anexo 4. Aislamiento e Identificación de <i>Escherichia coli</i> en queso poro. ....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Muestra el crecimiento microbiano en diferentes condiciones de maduración. 11

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características Básicas de los Queso Mexicanos Genuinos..... 16

Tabla 2 Principales síntomas observados en las infecciones producidas por estos patógenos..... 17

Tabla 3 Microorganismos estudiados, medios selectivos empleados y características de las colonias con las que se realizó la identificación..... 31

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Presencia de *Salmonella ssp* en el queso poro en dos tratamientos..... 33

Cuadro 2 Presencia de *Escherichia coli* en queso de poro en dos tratamientos..... 34

Cuadro 3 Presencia de *Staphylococcus aureus* en queso por en dos tratamientos..... 35

## 1. INTRODUCCIÓN

El queso es un alimento completo que contiene, poco más o menos, todos los nutrientes que son necesarios para el crecimiento y desarrollo del cuerpo humano. De igual manera que la leche, es indispensable en las primeras etapas de la vida de los mamíferos (Walther *et al.* 2008).

El origen del queso se remota tan lejos como las sociedades organizadas. Desde que los hombres prehistóricos domesticaron y explotaron a ciertos mamíferos (v.g. cabras u ovejas), tomaron su leche y persistieron en conservarlos. En realidad eso fue decisivo para la aparición del queso, aunque debió precederlo el fenómeno de la coagulación espontánea de la leche abandonada a sí misma (West, 2008).

Existen evidencias pictóricas que se remontan al tercer milenio A.C. que revela que los sumerios ordeñaban su ganado y transformaban la leche. También en Egipto, en la tumba de faraón Horus-aha (situado entre los años 3000-2800 años A.C.) se hallaron recipientes con indicios de leche cuajada. De igual manera, en otras culturas milenarias existe evidencia de que se explotó la leche de varios mamíferos y de que se elaboró queso, aunque seguramente no del tipo que se conoce ahora en día (Villegas de Gante, 2003).

Igualmente hay indicios, proporcionados por obras pictóricas y literarias clásicas, de que los griegos y los romanos conocían “el arte” de fabricar quesos, llegando a ser una alimento tanto común para la población. Los tipos de quesos que predominan posiblemente fueron los de pasta blanda, pasta prensada, madurados por mohos, esto es, con pasta entreverada con venas verde-azules de micelo fungal (Villegas de Gante, 2003).

Actualmente la manufactura de quesos se ha modernizado y muchos de ellos utilizan leche pasteurizada (Montero y Lagunés *et al.* 2009). Así los productos son más aptos para la población. La legislación promueve esos quesos (Ramos *et al.* 2009).

Pero también existe una gran cantidad de quesos que aún se fabrican con leche cruda; la legislación europea y americana les permite que estos quesos sean comercializables después de ser almacenados 60 días a una temperatura de 4°C, pues los microbios desaparecen, en México no existe legislación que regule la fabricación de quesos con leche cruda; de ahí que este estudio se propone evaluar si tras un almacenamiento de 60 días a una temperatura de 4°C se reducen los microbios señalados en la legislación europea y mexicana Onofre y Aguirre (2010).

## 2. JUSTIFICACIÓN

La mayor parte de los alimentos se convierten potencialmente en peligrosos para el consumidor solo después de que no se llevan a cabo los principios de inocuidad. Si los alimentos han estado sometidos a condiciones que pudieran haber permitido la llegada a los mismos y/o a la multiplicación de agentes infecciosos o toxicogénicos, pueden constituirse en vehículos de transmisión de enfermedades, tales como la salmonelosis o la intoxicación estafilocócica.

La mayoría de las infecciones transmitidas por alimentos comúnmente reconocidas son las que se ocasionan por las bacterias *Salmonella spp.*, *Escherichia coli O157:H7*, *Staphylococcus aureus* (Alcazar et al. 2006).

Uno de los principales inconvenientes de consumir quesos con leche cruda es que pueden tener patógenos debido a que en su elaboración no se realiza ningún proceso térmico (pasteurización) que asegure la destrucción de estos, microorganismos que bien se puedan desarrollar o pudieran contaminar los mismos en las diferentes etapas de su elaboración, almacenamiento hasta su posterior consumo. Además que no se lleva a cabo las Buenas Prácticas de Higiene, se puede mencionar que no cumplen con ciertos parámetros de acuerdo con las normas oficiales mexicanas en el proceso de su elaboración, que los justifique como seguros para los consumidores.

La NOM-243-SSA1-2010 hace referencia que la leche deberá someterse a un tratamiento térmico con un tiempo y temperatura determinado la cual garantizara su inocuidad, independientemente del uso que se le dé para su posterior transformación, pero también hace énfasis que la leche destinada a la elaboración de diferentes productos lácteos puede no ser sometida a tratamiento térmico, pero la empresa deberá cumplir con un sistema HACCP (Análisis de Riesgos y puntos Críticos de Control), el cual será implementado para sus procesos, conforme a lo establecido en el Apéndice A de la NOM-251-SSA1-2009, citada en el apartado de referencias.

El método de Análisis de Riesgo, Identificación y Control de Puntos Críticos, se basa en identificar y evaluar los riesgos o peligros que pudieran generarse en cada una de las operaciones del proceso de alimentos, y en definir las medidas preventivas o los medios necesarios para que esos riesgos o peligros no se generen o presenten. Mortimore y Wallace (2001).

El primero de los 7 principios del HACCP, es identificar los riesgos y el segundo es generar medidas de control, de acuerdo a este método, el peligro la leche cruda es que puede contener microorganismos patógenos, la norma europea como medida de prevención está el almacenar los quesos en refrigeración por 60 días y otra alternativa almacenados por ese tiempo y temperatura de 4°C.

Un programa de BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) bien instrumentado proporciona a cualquier sistema una garantía de calidad, que permite aplicar y verificar las medidas que aseguren la aceptabilidad higiénica de los alimentos. Debido a lo anterior todas las queserías artesanales por muy pequeña o grande que sea deben de diseñar un Manual de Buenas Prácticas de Manufactura, que les sirva de guía para seguir y cumplir con los procedimientos y establecer los controles que le permitan contribuir en la inocuidad de sus productos (Ramírez, 2011).

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la calidad sanitaria, con los indicadores microbiológicos, que pongan en evidencia su condición del queso poro, que se elabora en el municipio de Balancán, Tabasco; antes y después de su almacenamiento de 60 días a una temperatura de 4°C y realizar una comparación de los resultados que se obtengan con la normatividad oficial Europea y Mexicana (Norma 92/46 CEE). Además se evaluarán muestras a temperatura ambiente, con una temperatura de entre 33 -35 °C, y tiempo de maduración de 7 días.

De esta manera conocer las diferencias entre los límites permisibles de los patógenos que regulan las dos normatividades, permitiría proponer a los productores de queso implementar las Buenas Prácticas de Manufactura.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. General:**

Determinar la calidad microbiológica del queso de poro genuino que se expende al público en el municipio de Balancán, Tabasco, de acuerdo con la normatividad Europea y Mexicana vigentes.

#### **3.2. Específicos:**

Evaluar la calidad microbiológica del queso poro durante el almacenamiento por 60 días a 4°C

Comprobar la eliminación o reducción de los microorganismos durante la maduración del queso poro por 7 días a temperatura ambiente

Realizar análisis microbiológicos al queso poro aplicando la metodología oficial conforme a la norma Europea (*92/46CEE*) y Mexicana (*NOM-243-SSA1-2010*).

Realizar análisis estadísticos a los resultados para identificar diferencias entre los resultados obtenidos acuerdo con la normatividad oficial Europea y Mexicana vigentes.

#### **4. ALCANCES**

Al finalizar esta investigación se pretende lograr de acuerdo con los diferentes análisis realizados en muestras de queso poro de la región, un registro sanitario más amplio sobre las marcas de queso poro que se elaboran con leche entera de vaca, de manera artesanal en el municipio de Balancán, Tabasco, y confirmar si se encuentran fuera o dentro de los límites que las normas oficiales, tanto mexicanas como europea establecen.

Generar una postura de protección al consumidor evitando riesgos potenciales para la salud pública.

## 5. ANTECEDENTES

El queso poro es un producto meramente regional que se elabora en la zona de los Ríos en el estado de Tabasco; concretamente en los municipios de Balancán y Tenosique en su elaboración se emplea leche de ganado cruzado cebú- pardo suizo.

El queso de poro es un queso de pasta blanda y prensada, elaborada con leche cruda de vaca entera. A menudo experimenta una ligera maduración involuntaria por tardar su distribución y comercialización. Se presenta en el mercado, en piezas pequeñas y prismático-rectangulares planas, con un peso que oscilan entre 250 gr y 1 kg (Cervantes *et al.* 2006).

La pasta de este queso se encuentra fuertemente desmineralizada debido al reposo prolongado, de la cuajada húmeda en el molde. Durante el proceso de desmineralización la acidez de la pasta aumenta es decir el pH disminuye constituyéndose esta un factor para su conservación.

Otra característica notable de la pasta es friabilidad (desmorona fácilmente) cuando ya ha perdido mucha humedad; por ejemplo, si el queso ha madurado algunas semanas.

Cuando el queso es fresco, al cortarse o tajarse la pasta, parece separarse en capas; a veces también luce pequeños hoyos, lo primero es debido a la disposición de la cuajada en capas durante el moldeado, habiendo transcurrido cierto tiempo entre dos aplicaciones sucesivas, lo segundo es el efecto, probablemente de la actividad microflora gaseosa (tal vez de coliformes).

El queso de poro se comercializa a los pocos días de producido; sin embargo, por problemas de distribución, puede ocurrir que su venta se retarde varias semanas; durante ese tiempo la pasta del queso continua un proceso de maduración hasta llegar al consumidor. En cuanto al rendimiento se obtienen cifras que oscilan entre 9 y 11 kg de queso por 100 Lt. de leche, según la época del año (Escoto *et al.* 2006).

## 6. REVISIÓN DE LITERATURA

### 6.1 Avances en México en relación con la gestión de calidad en cuestiones de inocuidad en quesos con leche sin pasteurizar.

El sistema HACCP tiene un enfoque preventivo y sistemático que asegura la inocuidad de los alimentos desde su producción primaria hasta llegar al consumidor final ya que interviene en todas y cada una de las fases de producción del alimento, monitorea y controla toda operación crucial y garantiza que se establezcan, mantengan y evalúen las medidas adecuadas y eficaz para asegurar su inocuidad (Castellanos *et al.* 2004).

Sin embargo, a pesar de su importancia y aunque se afirme que el sistema HACCP puede ser aplicado en cualquier fábrica de alimentos, desde la más artesanal hasta la más sofisticada, su aceptación y aplicación ha sido más frecuente en las empresas alimentarias grandes que en las empresas y servicios de alimentos más pequeños (Castellanos *et al.* 2004). Ello se debe, entre otros factores, a que productores de alimentos artesanales lo perciben como sistemas complicados que requieren de un manejo excesivo de documentación y de cumplimiento de requerimientos que no se ajustan a la producción artesanal (Le *et al.* 2014).

Para implementar un sistema de gestión de la inocuidad como HACCP se debe cumplir una serie de prerrequisitos que permitan la producción de alimentos inocuos a lo largo de toda la cadena agroalimentaria; uno de los principales es el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) conocidas internacionalmente como GMP (Good Manufacturing Practices). Estas prácticas se definen como un conjunto de principios, normas y procedimientos que rigen el manejo adecuado de alimentos desde las materias primas hasta el producto final (Costa *et al.* 2012). Además controlan las condiciones operacionales dentro de un establecimiento para la producción de alimentos inocuos (Castellano *et al.* 2004).

En cuestiones de avances sobre la inocuidad de los quesos artesanales se visitaron en Balancán, Tabasco, dos queserías artesanales que se dedican a la producción de queso poro; con la finalidad de investigar el grado de ejecución por parte de cada una de ellas sobre el uso e implementación sobre las Buenas Prácticas de Manufacturas tomándose como punto de referencias desde el proceso completo de producción, iniciando por la recepción de la materia prima (leche) hasta el etiquetado y venta. Eligiéndose dos queserías artesanales que forman parte de la asociación de quesos de poro genuinos en la zona ríos.

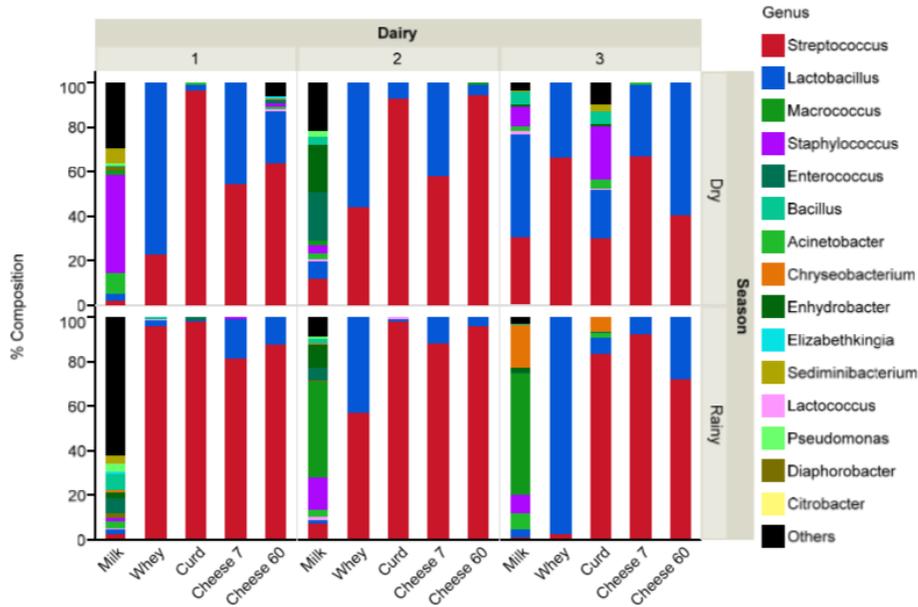
El procedimiento se efectuó de acuerdo con una lista de control, mediante el seguimiento e implementación de la NOM-251-SSA1-2010, que establece los principales procedimientos que deben cumplir las personas que se dedican al proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, destinados a los consumidores en territorio nacional dentro de las que se encuentran las BPM y la implementación de un sistema HACCP. La verificación del cumplimiento de esta norma en las queserías artesanales se efectuó durante 4 días evidenciado con fotografías cada uno de los puntos que se evaluaron. Por lo que las queserías se identificaron como A y B para ir registrando y comparando cada uno de los procedimientos y ejecuciones que los productores realizan en su cadena de producción.

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron se pudo afirmar con las investigaciones realizadas sobre las dos queserías seleccionadas ambas tienen diseñado el mismo procedimiento de elaboración de los quesos, señalando que la quesería B está migrando a la tecnología por que ha implementado el uso de moldes de acero inoxidable por lo que existe una polémica por parte de los productores que no le proporciona las mismas propiedades organolépticas al queso al igual que los moldes de madera.

La ejecución de la evaluación en la implementación de las BPM (Buenas Prácticas de Manufacturas) para ambas plantas se tomó cuatro puntos importantes dentro de su elaboración, señalando los principales puntos evaluados:

- 1.- Cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene por parte del personal
- 2.- Edificios en instalaciones
- 3.- Equipos y utensilios utilizados para su elaboración.
- 4.- Proceso de elaboración del queso poro.

En el caso del cumplimiento de las BPM del personal sobre el primer punto se observó que la planta B cumple en mayor porcentaje (80%) que la planta A (40%), sin embargo, a pesar de los esfuerzos, ambas carecen de un control de verificación de higiene de su personal y de exámenes médicos que con el fin de evitar riesgo en la seguridad del alimento, ya que la presencia de *Staphylococcus aureus* reportado como microorganismo presente en estos productos (Aldrete *et al.* 2014). De acuerdo con lo anterior que especifica este autor en su artículo solamente se ha encontrado *Staphylococcus aureus* reportado como microorganismo presente en estos productos, en esta tabla se evidencia que solo se ha encontrado esta bacterias en leches no en queso poro o madurados de 7 -60 días de maduración. La figura 1 muestra la Abundancia relativa de la comunidad bacterias de diferentes géneros en diferentes proporciones en muestras de productos lácteos durante la producción de queso poro. Queso a 7 días de maduración, así como quesos a 60 días de maduración (Aldrete *et al.* 2014).



**Figura 1 Muestra el crecimiento microbiano en diferentes condiciones de maduración.**

En cuanto al cumplimiento de las BPM de las instalaciones sobre el punto 2, la planta B nuevamente muestra mejores condiciones que la planta A; sin embargo se observa que el diseño de ambas plantas no permite su correcta limpieza y desinfección, además de no contar con una iluminación adecuada ni con un almacenamiento de materia prima correcto.

Por último, los puntos 3 y 4, muestra que ninguna de las dos plantas cuenta con programas establecidos de mantenimiento preventivo, monitoreo de agua, calibración de equipos, verificación de limpieza de equipos y utensilios, verificación de cumplimiento de especificaciones de materia prima, empaque, agua y producto terminado siendo indispensable, entre otros factores, el monitoreo de estas plantas para que puedan alcanzar un sistema de gestión de la inocuidad básico como es el sistema HACCP, ayudados de todos los sectores involucrados, desde las instancias gubernamentales en materia de salud y verificación de estos establecimientos hasta los sectores académicos y de investigación. (Díaz *et al.* 2016).

Es indispensable generar conciencia, brindar apoyo económico y capacitar a los productores en la implementación y puesta en marcha las BPM y sobre todo las principales ventajas que implica un buen manejo y control de las condiciones sanitarias de sus procesos dado que el beneficio de una comercialización mejor remunerada va de la mano de un adecuado control de la documentación de los procesos y del aseguramiento de la inocuidad de los alimentos producidos.

## 7. MARCO TEÓRICO

### 7.1 Importancia de los quesos mexicanos

Los quesos juegan un papel importante en el desarrollo rural de México, se destacan las oportunidades que ofrecen a pequeños y medianos productores de leche que, generalmente, no encuentran cabida en las cadenas industrializadas; la estabilidad que aportan al precio de la leche ante los efectos de la estacionalidad amplían la oferta de empleos y la generación de valor agregado en los espacios rurales y permiten mejorar los ingresos familiares en los territorios donde se producen; en términos generales, favorecen un conjunto de dinámicas sociales y económicas en torno a la producción y comercialización de la leche y el queso. (Grass *et al.* 2015).

Algunos quesos artesanales mexicanos son tan originales( por su forma, origen de la leche con que se elaboran, técnica de fabricación, maduración, propiedades organolépticas, etc) que, en principio pueden ser aspirantes a lograr una figura de protección jurídico-comercial como una marca colectiva (MC) o una denominación de origen (DO). Este es el caso del queso de poro de Tabasco (Balancán), o el queso chihuahua menonita Chombo (2008).

La obtención de una marca colectiva o de una denominación de origen para los quesos artesanales mexicanos reporta las siguientes ventajas: el producto se diferencia nítidamente, gana posición en el mercado, logra reconocimiento y aumenta su calidad percibida (Bertozzi, 2005, citado por Villegas de Gante, 2008).

Se reconoce la importancia de los quesos mexicanos genuinos en la seguridad y soberanía alimentaria del país; en este sentido destacan su participación en la reducción de la dependencia de este tipo de productos (la balanza comercial de quesos en México es negativa), su contribución en la preservación del saber hacer local y la gastronomía

regional y su capacidad para proveer productos lácteos a sectores de la población de bajos ingresos. (Villegas de Gante *et al.* 2008).

## **7.2 Valor nutricional de los quesos mexicanos artesanales**

La leche de vaca tiene mucha demanda por su valor nutritivo, sus propiedades, su sabor y la gama de productos que pueden elaborarse a partir de ella, con igual o mejores cualidades.

La determinación de calidad de los quesos comprende, fundamentalmente, su composición en los principales constituyentes, esto es; humedad, sólidos totales, materia grasa, proteínas, cenizas y sal. (Villegas de Gante, 2003).

El queso como tal presenta uno de los más variados y gustados a lo largo de la historia, desde sus orígenes reconocidos por su valor nutritivo y sus principales propiedades para conservarlo, debido a la calidad de las proteínas lácteas en cuanto a su alto porcentaje, al igual que los otros macro y micronutrientes que los integran: como grasa, sales minerales, vitaminas y minerales, es un alimento considerado hasta la actualidad como un alimento accesible que cumple en gran parte con los requerimientos de una alimentación completa. Los quesos contienen del 10 al 30 % de proteína (Ramírez, 2011).

El queso es una fuente excelente de calcio y varía de acuerdo al contenido de agua y el método de manufactura. Al igual que el calcio de la leche, el del queso también es bien asimilado por el cuerpo humano. El contenido de vitaminas A, D, E, depende directamente del contenido de grasa en el producto (de 0 % en los quesos descremados a 70 % en los quesos enriquecidos con crema). El contenido de vitaminas del Complejo B y vitamina C, varían considerablemente de acuerdo al tipo de queso

### 7.3 Definición y clasificación de los quesos

La Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, define a los quesos como productos elaborados de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado. En la actualidad para la producción de quesos ácidos, se usa la coagulación acida o mixta, que se sigue realizando por las pequeñas empresas de todo el mundo.

El método consiste en la adición de microorganismos acidificantes (bacterias lácticas), por ejemplo con la adición de suero, ácidos (por ejemplo, el jugo de limón, vinagre) y también el uso de enzimas (quimosina o renina). El cuajo producido es un gel firme y elástico, en comparación con el gel frágil y débil producido por coagulación exclusivamente acida por ejemplo yogur (Vétier *et al.* 2003). Los quesos encontrados se clasifican de acuerdo al área de producción, forma, peso, tipo de pasta. Como se describe en el siguiente cuadro (Cervantes Escoto *et al.* 2006).

**Tabla 1 Características Básicas de los Queso Mexicanos Genuinos**

TIPO DE QUESO	ÁREA DE PRODUCCIÓN	FORMA Y PESO	TIPO DE PASTA
<b>Oaxaca (queso de bola, quesillo, queso de hebra)</b>	Prácticamente en todo el país	25 gr. Aproximadamente (Chiapas), hasta más de 1kg; en forma de bola o madeja.	Hilada
<b>Chihuahua</b>	Originalmente Chihuahua, Durango, Coahuila, Zacatecas, en varios estados del país.	Cilindro, plano, prisma rectangular, desde 5kg. Hasta cerca de 10 kg	Prensada, no cocida, o ligeramente cocida
<b>Manchego Mexicano</b>	En varios estados del país	Cilindro, plano, prisma rectangular, desde 1kg. Hasta 5 kg. Aproximadamente.	Prensada, no cocida, a veces ligeramente lavada.
<b>Panela</b>	En varios estados del país	Troncocónico-plano	Fresca y blanda
<b>Asadero</b>	Principalmente en la zona templada en algunos estados del norte de Chihuahua, Durango y Centro.	Desde 0.5 hasta 2 kg. Discoidal, delgado en el norte del país, prismático y rectangular con más frecuencia.	Hilada
<b>Cotija( Región de origen)</b>	Sierra de Jalmich, Jalisco y Michoacán	Cilíndricos aproximadamente 20 kg.	Semidura, dura, prensada, madura, mayor a 3 meses.
<b>Molido ( De aro, Ranchero)</b>	Varios estados del país	Pequeño, cilíndrico-plano, desde 250 gr. Hasta más de 1kg. Cilíndrico más de 1kg.	Blanda, no prensada, fresca, semidura, prensada.
<b>Adobera</b>	Jalisco, Guanajuato, Michoacán, Querétaro, Hidalgo.	Prismático- rectangular, desde 500 gr. Hasta 1 kg.	Prensada, Molida Cheddarizada
<b>Crema Tropical</b>	Chiapas y Tabasco.	Pequeño, Cilíndrico-plano y prismático-rectangular, desde 250gr. Hasta 1 kg.	blanda prensada, altamente desmineralizada y descalcificada
<b>Queso de sal</b>	Costa de Chiapas	Pequeño, Cilíndrico-plano y prismático-rectangular, desde 250gr. Hasta 1 kg.	Blanda, no prensada, ligeramente prensada
<b>Ranchero Veracruzano</b>	Centro de Veracruz	Cilíndrico y prismático-rectangular, desde 250gr. Hasta 20 kg.	Blanda, prensada
<b>De Cincho Guaje</b>	Morelos, Huasteca Potosina	Cilindro, más de 2kg.	Blanda prensada
<b>Guaje ( de bola )</b>	Huasteca Potosina	Pequeño en forma de basto o guaje, desde 250gr. Hasta 1kg.	Hilada
<b>Chapingo</b>	Chapingo, Estado de México	Cilíndrico, de 4 a 5kg.	Semidura, prensada
<b>De Hoja</b>	Centro de Veracruz	Pequeño, cilíndrico, alrededor de 250 gr.	Blanda, autoprensada
<b>De Poro</b>	Zona Ríos Tabasco ( Balancán)	Pequeño, prismático-rectangular, plano desde 250 a 500gr.	Blanda, Prensada ligeramente

Fuente: F. Cervantes *et al.* 2006.

## 7.4 Impacto de la inocuidad en las queserías artesanales

Hoy en día, dentro de la producción de lácteos, el queso enfrenta problemas que dificultan su comercialización. Debido al proceso artesanal de producción, con leche sin pasteurizar, el queso es altamente perecedero y su consumo constituye un riesgo potencial para la salud (Ramírez, 2011).

La calidad sanitaria de los quesos es muy importante; siendo factores decisivos, el empleo de leche cruda proveniente de animales sanos y de calidad o pasteurizada, las condiciones sanitarias en que fueron elaborados y almacenados, la maduración y el tiempo transcurrido para ser consumido; ya que si se descuida esta calidad, es probable que los productos se contaminen con microorganismos alterantes, dañando su estabilidad o con microorganismos patógenos, resultando un riesgo inminente para la salud de los consumidores. (Castro *et al.* 2005). A la vez, la leche y los quesos también puede ser vehículo de bacterias patógenas para el hombre cuando procede de un animal enfermo o cuando después del ordeño se contamina por diversas causas; entre los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en la leche se encuentran: *Brucella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Aureus*. (Fernández, 2002).

**Tabla 2 Principales síntomas observados en las infecciones producidas por estos patógenos**

BACTERIAS	INCUBACION	DURACION Y SINTOMAS
<i>S. typhimurium</i> <i>S. enteritidis</i> ( <i>Salmonellosis</i> )	8-48 horas en general de 12 a 36 horas	1-7 Días. Diarrea, dolores abdominales, vómitos, fiebre la mayor parte del tiempo.
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5- 6 horas	6-24 Horas. Nauseas, vómitos, diarrea, dolores abdominales, no presenta fiebre, colapsos y deshidratación en los casos graves.
<i>Escherichia coli</i> ( <i>diarrea y colitis</i> )	12-72 horas	1-7 Días. Afecciones parecidas al cólera, diarrea acuosa y dolores abdominales, forma parecida a una disentería, diarrea prolongada, sangrante y con mucosidad
<i>Clostridium botulinum</i>	18-36 horas	Muerte en 24 horas a 8 días, o convalecencia lenta entre 6 a 8 meses. Perturbación de la visión, dificultades de elocución y salivación, lengua y faringe muy seca, debilidad progresiva y paro respiratorio.
<i>Campylobacter</i>	2-5 días	Fiebre, diarrea profusa, dolores abdominales.

Fuente: Prescott *et al.* 2004.

De acuerdo con Le *et al.* (2014). Los patógenos, tales como *E. coli* 0157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* Y *Staphylococcus aureus* presentes en leche cruda, pueden persistir en el medio ambiente de fabricación del queso y pueden contaminar los mismos durante la producción Ahmed *et a.* 2000; Canillac y Mourey (1993).

A nivel nacional, se comercializan 200 mil toneladas al año de quesos frescos, de los cuales 60 mil toneladas que representan el 30%, son elaborados con materia prima sin pasteurizar y con deficiencia higiénica. (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios; 2005).

Por estas razones la normatividad mexicana específica que la leche que no se pasteurice de acuerdo con las características y exigencias de los quesos durante su elaboración deberá cumplir con un sistema de BPM, de esta manera contribuir a que no se adquieran algunos de estos patógenos durante el consumo de quesos con materia prima sin pasteurizar cumpliendo con lo siguiente:

Tener implementado un sistema HACCP para su proceso, conforme a lo establecido en el Apéndice A de la NOM-251-SSA1-2009, citada en el apartado de referencias. 6.1.5.6 Los tratamientos térmicos a los que se someta la leche, fórmula láctea o producto lácteo combinado para su comercialización, o antes de su uso como materia prima para el caso de la leche, pueden ser: ebullición, pasteurización, ultrapasteurización, esterilización o deshidratación. (NOM-243-SSA1-2010).

## **7.5 Legislación mexicana en relación con los quesos sin pasteurizar**

### ***Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP) Y directrices para su aplicación (NOM-251-SSA1-2009)***

En este apéndice se ofrecen orientaciones generales para la aplicación del sistema, a la vez que se reconoce que los detalles para la aplicación pueden variar según las circunstancias de la industria alimentaria.

El sistema de HACCP, que tiene fundamentos científicos y carácter sistemático, permite identificar peligros específicos y medidas para su control con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos. Es un instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de control que se centran en la prevención en lugar de basarse principalmente en el ensayo del producto final. Todo sistema de HACCP es susceptible de cambios que pueden derivar de los avances en el diseño del equipo, los procedimientos de elaboración o el sector tecnológico.

El sistema HACCP puede aplicarse a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde el productor primario hasta el consumidor final, y su aplicación deberá basarse en pruebas científicas de peligros para la salud humana, además de mejorar la inocuidad de los alimentos, la aplicación del sistema HACCP puede ofrecer otras ventajas significativas, facilitar asimismo la inspección por parte de las autoridades de reglamentación, y promover el comercio internacional al aumentar la confianza en la inocuidad de los alimentos.

Para que la aplicación del sistema de HACCP dé buenos resultados, es necesario que tanto la dirección como el personal se comprometan y participen plenamente. También se requiere un enfoque multidisciplinario en el cual se deberá incluir, cuando proceda, a

expertos agrónomos, veterinarios, personal de producción, microbiólogos, especialistas en medicina y salud pública, tecnólogos en alimentos, expertos en salud ambiental, químicos e ingenieros, según el estudio de que se trate. La aplicación del sistema de HACCP es compatible con la aplicación de sistemas de gestión de calidad, como la serie ISO 9000, y es el método utilizado de preferencia para controlar la inocuidad de los alimentos en el marco de tales sistemas.

Si bien aquí se ha considerado la aplicación del sistema de HACCP a la inocuidad de los alimentos, el concepto puede aplicarse a otros aspectos de la calidad de los alimentos.

El Sistema de HACCP consiste en los siete principios siguientes:

❖ PRINCIPIO 1

Realizar un análisis de peligros.

❖ PRINCIPIO 2

Determinar los puntos críticos de control (PCC).

❖ PRINCIPIO 3

Establecer un límite o límites críticos.

❖ PRINCIPIO 4

Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC.

❖ PRINCIPIO 5

Establecer las medidas correctivas que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado PCC no está controlado.

❖ PRINCIPIO 6

Establecer procedimientos de comprobación para confirmar que el Sistema de HACCP funciona eficazmente.

❖ PRINCIPIO 7

Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.

Antes de aplicar el sistema de HACCP a cualquier sector de la cadena alimentaria, es necesario que el sector cuente con programas, como buenas prácticas de higiene, conforme a los Principios Generales de Higiene de los Alimentos del Codex, los Códigos de Prácticas del Codex pertinentes, y requisitos apropiados en materia de inocuidad de los alimentos. Estos programas previos necesarios para el sistema de HACCP, incluida la capacitación, deben estar firmemente establecidos y en pleno funcionamiento, y haberse verificado adecuadamente para facilitar la aplicación eficaz de dicho sistema.

En todos los tipos de empresa del sector alimentario son necesarios el conocimiento y el compromiso por parte de la dirección para poder aplicar un sistema de HACCP eficaz. Tal eficacia también dependerá de que la dirección y los empleados posean el conocimiento y las aptitudes técnicas adecuados en relación con el sistema de HACCP.

No obstante, la eficacia de cualquier sistema de HACCP dependerá de que la dirección y los empleados posean el conocimiento y la práctica adecuados sobre el sistema de HACCP, y por tanto se requiere la capacitación constante de los empleados y la dirección a todos los niveles, según sea apropiado.

## **7.6 Legislación europea en relación con los quesos sin pasteurizar.**

### **7.6.1 Norma Europea (92/46 CEE)**

DIRECTIVA 92/46/CEE DEL CONSEJO de 16 de junio de 1992 por la que se establecen las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos.

Considerando que algunos productos lácteos pueden elaborarse con leche cruda; que, debido a la naturaleza de estos productos, puede resultar necesario establecer condiciones particulares aplicables a dichos productos y una lista de tales productos que pueden comercializarse;

Artículo 8 1. Los Estados miembros podrán conceder, para la elaboración de quesos con un ciclo de maduración de 60 días como mínimo, excepciones individuales o generales: a) por los que se refiere a las características de la leche cruda, a los requisitos del capítulo IV del Anexo A; b) a los puntos 2) y 4) del apartado A del artículo 7, siempre que el producto acabado tenga las características establecidas en el apartado A del capítulo II del Anexo C; Podrá confeccionarse, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 31, una lista de productos elaborados con leche cruda.

### **7.6.2 Anexo a disposiciones relativas a las condiciones de recepción de la leche cruda en los establecimientos de tratamiento y/o de transformación capítulo I**

Disposiciones de sanidad animal aplicable a la leche cruda 1. La leche cruda deberá proceder:

a) de vacas y de búfalas: i) pertenecientes a una cabaña que, conforme al apartado 1 del Anexo A de la Directiva 64/432/CEE, esté: - oficialmente indemne de tuberculosis, indemne u oficialmente indemne de brucelosis; ii) que no presenten síntomas de enfermedades contagiosas transmisibles al hombre por la leche; iii) que no puedan transmitir a la leche características organolépticas anormales; iv) que no presenten ningún trastorno visible del estado general de salud y que no padezcan enfermedades del aparato genital con flujo, enteritis con diarrea acompañada de fiebre ni inflamaciones perceptibles de la ubre; v) que no presenten ninguna herida en la ubre que pueda alterar la leche, vi) por lo que respecta a las vacas, que den al menos dos litros de leche por día.

CAPÍTULO II Higiene de la explotación 1. La leche cruda deberá proceder de explotaciones registradas y controladas con arreglo al apartado 1 del artículo 13 de la presente Directiva. Cuando las vacas, búfalas, los ovinos y los caprinos no se críen al aire libre, los locales utilizados deberán ser diseñados, construidos, mantenidos y administrados de modo que garanticen: a) buenas condiciones de alojamiento, higiene,

limpieza y salubridad de los animales; y b) condiciones higiénicas satisfactorias para el ordeño, la manipulación, el enfriamiento y el almacenamiento de la leche.

CAPÍTULO III Higiene del ordeño, de la recogida de la leche cruda y de su transporte desde la explotación de producción al centro de recogida o de estandarización o al establecimiento de tratamiento o al establecimiento de transformación, Higiene del personal A, Higiene del ordeño 1. El ordeño deberá efectuarse de modo higiénico y en las condiciones establecidas en la Directiva 89/362/CEE.

Si la leche no fuere recogida antes de las dos horas siguientes al ordeño, deberá enfriarse a una temperatura igual o inferior a 8 °C, en caso de que se recoja diariamente, y de 6 °C cuando no se efectúe la recogida todos los días. Durante su transporte a los establecimientos de tratamiento y/o de transformación, la temperatura de la leche enfriada no deberá superar los 10 °C.

CAPÍTULO IV Normas que deberán respetarse en el momento de la recogida de la leche cruda en la explotación de producción o en el momento de la recepción de la leche cruda en el establecimiento de tratamiento o de transformación A. Leche cruda de vaca Sin perjuicio de que se respeten los límites establecidos en los Anexos I y III del Reglamento (CEE) no 2377/90: 1. La leche cruda de vaca destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente, de leche fermentada, cuajada, coagulada o aromatizada y de cremas deberá cumplir las siguientes normas:

Contenido de gérmenes a 30 °C (por ml) & {ì9}; 100 000 (a) Contenido de células somáticas (por ml) & {ì9}; 400 000 (b) (a) Media geométrica observada durante un período de dos meses, con dos muestras, por lo menos, al mes.

CAPÍTULO II Criterios microbiológicos aplicables a los productos lácteos y a la leche de consumo A. Criterios microbiológicos que deberán cumplir determinados productos lácteos al salir del establecimiento de transformación 1. Criterios obligatorios: gérmenes patógenos.

Tipo de gérmenes Productos Norma (ml, g) (a) - *Listeria monocitogenes* - quesos, distintos de los de pasta dura ausente en 25 g (c) n = 5, c = 0 - otros productos (b) ausente en 1 g.

- *Salmonella spp* - todos salvo la leche en polvo - leche en polvo ausente en 25 g (c) n = 5, c = 0 ausente en 25 g (c) n = 10, c = 0, Por otra parte, no deberán presentar microorganismos patógenos ni sus toxinas en una cantidad que afecte a la salud de los consumidores.

-*Staphylococcus aureus* Queso a base de leche cruda y a base de leche termizada m = 1 000 M = 10 000 n = 5 c = 2.

- *Escherichia coli* Queso a base de leche cruda y a base de leche termizada m = 10 000 M = 100 000 n = 5 c = 2.

Además, por lo que se refiere al queso a base de leche cruda y a base de leche termizada y al queso de pasta blanda, todo rebasamiento de la norma M implicará la búsqueda para detectar la presencia eventual de toxinas en dichos productos, siguiendo un método que deberá fijarse con arreglo al procedimiento del artículo 31 de la presente Directiva.

### **7.7 Problemática de los quesos mexicanos genuinos sin pasteurizar**

Los estudios de evaluación de los riesgos asociados al consumo de leche cruda y de productos lácteos elaborados a partir de la misma. El conjunto de problemas que enfrentan actualmente, estos pueden resumirse de la siguiente manera:

- ✓ Presentan calidad variable, desde un punto de vista de composición, sanidad y atributos sensoriales; debido a la falta de estandarización de la leche y en los procesos de fabricación de quesos depende de la calidad original de la leche cruda.

- ✓ Falta de cumplimiento con la normatividad, sobre todo con la legislación sanitaria, ya que la leche con que se elabora adolece de una baja calidad bacteriológica, a menudo no se pasteuriza.
  
- ✓ Existen evidencias que relacionan estos riesgos con los siguientes microorganismos patógenos: *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y algunas serovariedades de *Salmonella*. Estas evidencias, son calificadas como moderadas en algunos informes (Jaros *et al.* 2008) y altas en otros estudios para, al menos, dos de los cuatro patógenos señalados (NSCFS, 2006) (FSAI, 2009) (AFSCA, 2012). Asimismo, estas evidencias marcan diferencias en cuanto a la severidad de los diferentes agentes, destacando la severidad manifiesta para *Escherichia coli* productor de *shigatoxina* y *Listeria monocytogenes*, particularmente para las poblaciones especialmente sensibles en el caso de este último agente. (María *et al.* 2015).
  
- ✓ La mayoría de las administraciones sanitarias y agencias de seguridad alimentaria tienen establecidas recomendaciones relacionadas con el consumo de leche cruda o de productos lácteos elaborados a partir de leche cruda dirigiendo las mismas hacia el riesgo que supone respecto a los agentes citados y manteniendo la opinión de que los posibles beneficios que podrían suponer el consumo de leche no tratada por el calor no compensan los perjuicios determinados por la posible presentación de estas enfermedades. (Villegas de Gante, 2008).

### **7.8 Importancia de implementar las Buenas Prácticas de Manufacturas en las queserías artesanales.**

A través de la aplicación de un programa de buenas prácticas de manufactura, las empresas queseras artesanales que se dedican a procesar leche sin pasteurizar obtendrían los siguientes beneficios:

- ✓ Establecimiento de las condiciones mínima para el cumplimiento obligatorio de las normativas vigentes.
- ✓ Reducción de los riesgos de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S).
- ✓ Logro de mayor satisfacción y lealtad de los distribuidores y consumidores.
- ✓ Disminución de costos, salidas de productos no conformes, al evitarse con ello reproceso, devoluciones, pérdida de la reputación de la empresa, desmotivación de los empleados y responsabilidades legales.
- ✓ Nuevas oportunidades de negociación y mayor rentabilidad
- ✓ Estandarización y mejora de los procesos de producción
- ✓ Creación de una cultura organizacional para el cumplimiento de las BPM.
- ✓ Mayor competitividad entre las empresas (Ramírez, 2011).

## 8. METODOLOGÍA

### 8.1 Localización

El municipio de Emiliano Zapata, se localiza en la zona del Usumacinta en el estado de Tabasco, de acuerdo a su posición geográfica se encuentra entre las coordenadas 17° 44' latitud norte y entre 91° 46' longitud oeste. La extensión total que cubre al territorio de Emiliano Zapata es de 437.40 kilómetros cuadrados, con una altura promedio de 30 metros sobre el nivel del mar. (Chávez, 2015). Actualmente cuenta con una asociación de queso poro genuinos integrado por 11 queserías artesanales entre las cuales se encuentran; Achotal, 3 Hermanos, 4 Hermanos, Sunina, San José, Derivados lácteos de los ríos, San marcos, Bejucal, San Pedro y Natividad.

### 8.2 Plan de muestreo y análisis del queso de poro

Se colectaron muestras de queso de poro con un peso aproximado entre 250- 300 gramos recién elaborados en dos queserías del municipio de Balancán, Tabasco, las muestras tomadas se almacenaron por 60 días conservadas en refrigeración con una temperatura de 4 °C, una vez cumplido con el tiempo de almacenamiento y temperatura recomendada, se tomaron otras muestras de queso de poro recién elaboradas listas para comercializar por 7 días almacenados a temperatura ambiente, sometiéndose las muestras a diferentes análisis para la investigación de patógenos que pudieran estar presente en las muestras, de acuerdo con ciertas condiciones de almacenamiento. Con la finalidad de registrar los cambios en la población microbiana patógena del queso de poro regional. Los principales microorganismos que se investigan son: *Salmonella spp.*, *E. coli O157:H7*, *Staphylococcus aureus* de acuerdo a las normas Europea (92/ 46 CEE) y mexicana (NOM-243-SSA1-2010).

### **8.3 Diseño experimental**

Se realizó un diseño completamente al azar, de acuerdo con las siguientes condiciones: marcas de queso, tiempo de almacenamiento (7 días y 60 días) y temperatura de almacenamiento (refrigeración a 4 °C y temperatura de 33-35°C). Las repeticiones de las muestras de queso se poro se definieron de acuerdo al periodo de tiempo y a la cantidad de las muestras.

### **8.4 Muestreo**

Las piezas de queso poro se seleccionaron, se transportaron y almacenaron en refrigeración en el Laboratorio de Microbiología Sanitaria del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, posteriormente las muestras una vez cumplido con el tiempo y temperatura de almacenamiento se transportaron en condiciones de refrigeración a la Universidad Tecnológica del Usumacinta ubicada en Emiliano Zapata, Tabasco, para realizar las posteriores investigaciones de patógenos, de las diferentes piezas seleccionadas para el análisis se tomaron de cada una de ellas de diferentes puntos de la pieza para que el análisis sea representativo tomándose asépticamente las cantidades de 25 gramos y 10 gramos respectivamente se homogenizaron.

### **8.5 Análisis microbiológicos**

Las muestras asépticas de queso poro, fueron sometidos a la realización de análisis microbiológicos para determinar *Salmonella ssp.*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* de acuerdo a las Normas Oficiales Mexicanas NOM-109-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994, NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994 y NOM-145-SSA1-1994.

### **8.5. 1 Determinación de *Salmonella ssp***

Con la finalidad de restaurar las condiciones fisiológicas de las células bacterianas que pudieran estar dañadas en los quesos almacenados, los 25 gramos de muestras se sometieron a un pre enriquecimiento en 225 mL de agua peptona da tamponada en matraces Erlenmeyer ajustando se pH a 7, posteriormente se incubaron durante un periodo de 18- 24 horas a 35°C, transcurrido el tiempo se transfieren del matraz un 1 mililitro a cada medio de enriquecimiento caldo Tetrionato y caldo Vassiliadis Rappaport conteniendo 10 mililitros en cada medio incubados sin agitación 18- 24 horas a 35°C.

### **8.5.2 Siembra, inoculación y detección en placa**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación se procedió al aislamiento e identificación de las bacterias, para ello se utilizó la técnica de estrías cruzadas en medios selectivos para la investigación de salmonella entre los cuales se utilizó los siguientes agares: XLD, SB, VB, se procedió a inocular cada uno de los medios enriquecimiento caldo tetrionato y caldo vassiliadis rappaport en cada una de los agares mencionados y estriados e incubados 18- 24 horas a 35°C, posteriormente se procedió a observar las placas con colonias presuntivas con morfologías características. Procedimiento utilizado (NOM-114-SSA1-1994, NOM-243-SSA1-2010).

### **8.5.3 Determinación de *Staphylococcus aureus***

Para la determinación de esta bacteria se tomaron asépticamente 10 gramos de muestras en un recipiente estéril y agregar 90 mL de solución diluyente buffer de fosfatos homogenizar durante 1 minuto, posteriormente se realizaron diluciones decimales hasta la cuarta dilución tomando 0.1 mL de cada una de las diluciones y depositándolo en medios de cultivos selectivos para su identificación para este aislamiento se utilizó el medio selectivo Baird-Parker, la técnica de aislamiento es por

dilución de la muestra con una varilla de vidrio hasta que la muestra sea absorbida por el medio, posteriormente incubar a 35° durante 48 horas, posteriormente se procedió a observar las placas con colonias presuntivas con morfologías características de *Staphylococcus aureus*. Si existen colonias presuntivas proceder a realizar la prueba de DNasa y Coagulasa para su interpretación. Procedimiento utilizado (NOM-115-SSA1-1994, NOM-243-SSA1-2010).

#### **8.5.4 Determinación de *Echerichia coli***

Para la determinación de *E. coli* se utilizó la técnica de NMP, se tomaron asépticamente 10 gramos de muestra de queso en un recipiente esteral, agregar 90 mL de solución diluyente buffer de fosfatos homogenizar durante 1 minuto, realizar diluciones decimal hasta la tercera dilución por triplicado en tubos que contengan 9 mililitros de caldo lauril sulfato de concentración sencilla con campanas Durham, en los cuales transferir 1 mL a cada tubo de acuerdo con la dilución correspondientes, agitar suavemente e incubar a 35° durante 24-48 horas. Posteriormente se procedió a observar los tubos considerando positivos a los tubos que al agitar liberen gas que se encuentre encerrado en la campana Durham hacia la superficie. Los tubos considerados positivos se transfieren dos asadas a tubos que contengan caldo EC + MUG como medio confirmatorio para *E. coli*, incubar en baño de coliformes a 44.5 °C durante 24-48 horas, posteriormente observar los tubos en un cuarto oscuro el cual al ser expuesto a una fuente de luz ultravioleta (UV) de onda larga (365 nm) produce una fluorescencia azul fácil de observar. Cuando el MUG es incorporado al caldo EC se puede identificar *E. coli*. (NOM-145-SSA1-1995).

Se analizaron las muestras de queso e poro para investigación de 3 grupos de microorganismos descritos en la tabla 3, con los medios utilizados para su detección y morfología características de acuerdo con las normas oficiales mexicanas.

**Tabla 3 Microorganismos estudiados, medios selectivos empleados y características de las colonias con las que se realizó la identificación**

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>TÉCNICA EMPLEADA</b>	<b>MEDIO SELECTIVO</b>	<b>MORFOLOGÍA COLONIAL</b>
<i>Salmonella ssp</i>	Aislamiento por estrías cruzada y filtración por membranas	1. Agar XLD  2. Agar SB  3. Agar VB	1.- Colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos pueden aparecer completamente negras.  2.-Colonias rojas o rosas pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas.  3.- Colonias típicas de Salmonella pueden ser cafés, grises o negras; con o sin brillo metálico
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Aislamiento por dilución UFC/gr.	1. Agar Baird Parker	1.-Colonias típicas son negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2 mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia
<i>Escherichia coli</i>	Aislamiento por NMP/gr. Aislamiento por estrías cruzada	1. Caldo EC. + MUG  2. Agar Mac Conkey	1.- Irradiar los tubos con una fuente de luz UV, observar fluorescencia azul y hacer la lectura 2.-Las colonias típicas fermentadoras de color rojo rodeadas de un halo opaco de precipitación de sales biliares

Fuente: NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994, NOM-145-SSA1-1995.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una de las principales características del queso poro es su baja acidez, una mayor acidez en algunas marcas de queso puede ser consecuencia de que descienda el pH, el cual se ha observado que tiene valores de pH entre 4.0 a 4.1, pudiendo obtener una acidez más baja. Haciendo un análisis de la información de (Jay, 2000) citado por Pacheco 2012, en relación a los parámetros de pH de los quesos de poro, destacan que esos valores están debajo o igual al pH mínimo para el crecimiento de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella ssp* y *Staphylococcus aureus*. Aunque generalmente existe variabilidad del pH mínimo para el crecimiento de esas especies. Pero en general, a esos pH solo algunas levaduras, hongos y bacterias lácticas pueden crecer. Entre más bajo sea el pH más extensa será la vida útil que tenga el queso mientras que los quesos que tengan un pH más alto alrededor de 6.6 a 7.5 provee condiciones óptimas para el desarrollo de patógenos, y bióticas para su descomposición (Pacheco, 2012).

De acuerdo con los estudios realizados por Pacheco, 2012, la disminución del pH en los queso poro es importante debido a que existen otros factores intrínsecos del mismo como el  $A_w$ , potencial redox entre otros los cuales contribuyen a que la carga microbiana de los queso se vean favorecidos con su disminución, contribuyendo a la eliminación de los patógenos que presentan un riesgo para la salud pública con el consumo de quesos sin pasteurizar.

### 9.1 Interpretación de los resultados para identificación de *Salmonella ssp*

Para el aislamiento e identificación de *Salmonella ssp*, en el cuadro 1 se muestra los resultados de los dos tratamientos, el primero a 60 días a 4°C y el segundo 7 días a 33-35°C, dentro de las cuales los resultados obtenidos para ambos tratamientos, no existió crecimiento y aislamiento característico de colonias típicas de *Salmonella* en las muestra analizadas, por lo que se estima que cumplen con la normatividad vigentes tanto Mexicana y Europea para este patógeno (ver anexo 2).

En el caso de *Salmonella ssp* de una muestra presuntiva en el medio selectivo de sulfito de bismuto se tomaron dos colonias se realizó una prueba bioquímica con los siguientes medios TSI, LIA, MIO TRIPTONA AL 0.5% y BAB (NOM-243-SSA1-2010), al realizarse la lectura e interpretación bioquímica, la prueba dio negativo a salmonella por lo que su expresión arroja que se trata de otro microorganismo, por lo que se descarta su presencia en la muestra de queso poro, contribuyendo a que al realizar repeticiones en las muestras como ausente a *Salmonella ssp*.

**Cuadro 1 Presencia de *Salmonella ssp* en el queso poro en dos tratamientos.**

MUESTRAS POSITIVAS/TOTAL DE MUESTRAS				
Procedencia	# de muestras	Condición de almacenamiento	Resultados	Valor de referencia
Control +	<i>Salmonella "D"</i>	N/A	Positivo	Positivo
Bejucal	1	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	2	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	3	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	4	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	5	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	6	60 días 4°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	7	7 días 33-35°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
Bejucal	8	7 días 33-35°C	Ausente	Ausente en 25 gr.
San Marcos	9	7 días 33-35°C	Ausente	Ausente en 25 gr.

En general en las muestras de queso poro analizadas no se encontraron patógenos en las dos condiciones de almacenamiento por lo que la norma oficial Mexicana y Europea establecen los límites permisibles para *Salmonella ssp* la cual deberá ser ausente en 25 gramos de muestra para este patógeno.

## 9.2 Interpretación de los resultados para identificación de *Echerichia coli*.

En los resultados para investigación de *E. coli*, en el cuadro 2 se muestran, para las marcas de queso poro, las muestras evaluadas a 7 días a temperatura de 35° y a 60 días a temperatura de 4°C, no existió crecimiento de microorganismos por la técnica de NMP/g y por aislamiento en medio selectivo Mac Conkey de acuerdo con las dos condiciones de almacenamiento, estimando los valores promedios expresados en por NMP/g. de las poblaciones bacterianas.

**Cuadro 2 Presencia de *Escherichia coli* en queso de poro en dos tratamientos.**

MUESTRAS POSITIVAS/TOTAL DE MUESTRAS				
Procedencia	# de muestras	Condición de almacenamiento	Resultados	Valor de referencia
Control +	<i>E. coli</i>	N/A	Positivo	Positivo
Bejucal	1	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	2	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	3	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	4	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	5	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	6	60 días 4°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	7	7 días 33-35°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
Bejucal	8	7 días 33-35°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.
San Marcos	9	7 días 33-35°C	≤ 10 NMP/g.	≤ 10 NMP/g.

Respecto a *E. coli* no se observó presencia en todas las muestras analizadas, por lo cual el valor estimado es de ≤ 10 NMP/g, tal como lo especifica la legislación mexicana, aunque cabe señalar que la legislación europea establece un límite que va de 1000 a 10000 UFC/g en productos lácteos sin pasteurizar, por lo tanto, las muestras analizadas cumplen con ambas normas (ver anexo 4).

### 9.3 Interpretación de los resultados para identificación *Staphylococcus aureus*

Con respecto a los resultados para investigación *Staphylococcus aureus* el cuadro 3 se muestra la presencia, a los 7 días a 35°C y a los 60 días a 4°C si existe presencia en cuanto a la carga bacteriana para la determinación de *Staphylococcus aureus*, presentándose una disminución progresiva en cuanto aumentaban los días de almacenamiento el crecimiento a los 60 días a 4°C comparado con los quesos de 7 días y a 35°C que su interpretación de resultados expresan fuera de norma para este patógeno.(ver anexo 3)

**Cuadro 3 Presencia de *Staphylococcus aureus* en queso por en dos tratamientos.**

MUESTRAS POSITIVAS/TOTAL DE MUESTRAS				
Procedencia	# de muestras	Condición de almacenamiento	Resultados	Valor de referencia
Control +	<i>Staphylococcus aureus</i>	N/A	Positivo	Positivo
Control –	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	N/A	Negativo	Negativo
Bejucal	1	60 días 4°C	≤ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	2	60 días 4°C	3 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	3	60 días 4°C	≤ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	4	60 días 4°C	≤ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	5	60 días 4°C	1 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	6	60 días 4°C	≤ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	7	7 días 33-35°C	≥ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
Bejucal	8	7 días 33-35°C	≥ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.
San Marcos	9	7 días 33-35°C	≥ 100 UFC/g.	≤ 100 UFC/g.

Con respecto a las diferentes muestra analizadas para la identificación de *Staphylococcus aureus*, existió una disminución progresiva en el conteo en cuanto al crecimiento de este patógeno y los límites permitidos es de ≤ 100 UFC/g de acuerdo a la normatividad vigente, por lo tanto se encuentran dentro de los límites permitidos por la norma oficial Mexicana y Europea para este patógeno, en la primera condición de

almacenamiento. En cambio las muestra que tienen 7 días a 33-35° de almacenamiento el conteo de este patógeno sobre pasa los límites permisibles por la normatividad Mexicana vigente obteniéndose valores  $\geq 100$  UFC/g como valor estimado de las muestras analizadas. En comparación con los límites permisibles por la normatividad Europea para este patógeno el límite ideal es 1000- 10,000 UFC/g. para quesos con leche sin pasteurizar (ver anexo 1).

## 10. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación para evaluar la calidad sanitaria del queso poro, elaborados con leche sin pasteurizar, que se expenden al público en el municipio de Balancán, Tabasco, en un almacenamiento de 60 días a 4°C se confirmó que *Salmonella ssp*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* se encontraron dentro de los límites permisibles por la legislación mexicana y europea vigentes, por lo que podemos mencionar que los quesos almacenados en esta condición inhiben el crecimiento de los patógenos, por tanto es seguro su consumo.

En cuanto a las condiciones de maduración de 7 días a 33-35°, solo *Salmonella ssp*, *E. coli* se encuentran dentro de los límites permisibles por ambas legislaciones vigente. El conteo de *Staphylococcus aureus* fue de > de 100 UFC/g, sobrepasando los límites permisibles por ambas legislaciones.

De acuerdo a los resultados los productores de queso de poro artesanal deben de hacer conciencia sobre la importancia que tiene al Implementar las Buenas Prácticas de Manufacturas y contribuir a disminuir la incidencia de enfermedades transmitidas por el consumo de este lácteo. Ya que un almacenamiento de 60 días a una temperatura de 4°C, sería imposible de cumplir ya que elevaría los costos de producción. Que da mostrado que un almacenamiento a temperatura ambiente se incrementa el riesgo de que se pueda desarrollar un patógeno como los identificados.

## 11. LITERATURA CITADA

- Abraham Villegas de Gante *Septiembre 2003, Los quesos mexicanos 2da edición, Universidad Autónoma de Chapingo pp 15-19, 189-192.*
- AFSCA (2012). Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire. In: EFSA. Annual Report on the Micro-biological Risk Assessment Network. Supporting Publications 2012: EN-369.
- Ahmed, R. et al. (2000) "Epidemiologic typing of salmonella enterica serotype ente- ritidis in a Canada-wide outbreak of gastroenteritis due to contaminated cheese" *Journal of Clinical Microbiology* . Vol. 38, núm. 6, pp. 2403-2406.
- Aldrete-Tapia, A. et al. (2014) "High-throughput sequencing of microbial commu- nities in Poro cheese, an artisanal Mexican cheese" *Food Microbiology*. Vol. 44, pp. 136-141.
- Alcázar, C., Rubio, M., Núñez, F., Alonso, R., 2006, *Detección de Salmonella spp. Y Listeria monocytogenes en quesos frescos y semimadurados que se expenden en vía pública en la ciudad de México*, *Veterinaria, México*, Vol. 37 (4) pp 417 – 429.
- Castellanos, L. C., Villamil, L. C. y J. R. Romero (2004) "Incorporación del sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control en la legislación alimentaria" *Revista de Salud pública*. Vol. 6, núm. 3, pp. 289-301.
- Cervantes Escoto; F., Villegas de Gante, A., Cesín Vargas, A., Espinoza Ortega., A., 2006, *Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar*. III Congreso de la Red Sial Alimentación y Territorios, Baeza, España.
- Cervantes, E. F., Villegas de G., A., Cesin, V. A. y Espinoza, O. A. (2008). *Los quesos mexicanos genuinos*. Ed. Mundi-Prensa. México
- Chombo- Morales, P. (2008). *El queso Cotija Región de Origen (MC): un caso especial*. En: *Los Quesos Mexicanos Genuinos*. Ed. Mundi-Prensa. México.
- Chávez Dehesa Juan Francisco, *Propuesta de Elaboración y Estandarización de Queso Tipo Poro con Leche Pasteurizada*, Noviembre 2015. pp 19-20.
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. *La seguridad alimentaria. Guía didáctica*, 2005.

- Costa, T. D. S. et al. (2012) "Workshops for good manufacturing practices: Building strategies for ensuring food security" *Brazilian Journal of Food Technology* . Vol. 15 (SPE), pp. 64-68.
- Díaz Ramírez, Mayra; García Garibay, Mariano; Jiménez Guzmán, Judith; Villanueva Carvajal, Adriana Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio *Estudios Sociales*, vol. 25, núm. 47, enero-junio, 2016, pp. 89-11.
- F. Cervantes Escoto; A. Villegas de Gante; A. Cesín Vargas; A. Espinoza Ortega Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar (Universidad Autónoma Chapingo; Campus Puebla; Universidad Autónoma del Estado de México) 2006.
- Fernández EE. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. México: Editorial México; 2002.
- FSAI (2009). Food Safety Authority of Ireland. Health Risks from Unpasteurized Milk. General Facsheet series, Issue nº 1.
- Grass Ramírez, José Fernando; Sánchez Gómez, Julia; Altamirano Cárdenas, J. Reyes Análisis de redes en la producción de tres quesos mexicanos genuinos *Estudios Sociales*, vol. XXIII, núm. 45, enero-junio, 2015, pp. 185-212 Coordinación de Desarrollo Regional Hermosillo, México.
- Jaros, P., Cogger, N. y Frech, N (2008). A systematic review of the human disease evidence associated with the consumption of raw milk and raw milk cheeses. Report prepared for the New Zealand Food Safety Authority.
- Le, S. et al. (2014) "Awareness and perceptions of food safety of artisan cheese makers in Southwestern Ontario: A qualitative study" *Food Control*. Vol. 41, pp. 158-167.
- Montero-Lagunes M., Juárez-Lagunes F., García-Galindo H. (2009) Suero de leche fermentado con lactobacilos para la alimentación de becerros en el tropico. *Agrociencia*. 43 (6): 585-593.
- Mortimore Sara; Wallace, HACCP Enfoque Práctico, Segunda Edición, Editorial Acriba, 2001, pp. 1-11

NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de Salmonella en Alimentos.

NOM-115-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de Staphylococcus aureus en Alimentos.

NOM-145-SSA1-1995, Productos Cárnicos Troceados y Curados. Productos Cárnicos Curados y Madurados. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias.

NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Norma 92/46 CEE Normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos.

NSCFS(2006). Norwegian Scientific Committee for Food Safety. A qualitative assessment of the risks of transmission of microorganisms to human resulting from the consumption of raw milk and raw cream in Norway.

Onofre R., Aguirre A. (2010) Caracterización sensorial del queso “de poro” de Balancán Tabasco artesanal y estandarizado. XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Acapulco, Guerrero, México.

Pérez P. Fernando (2012), Caracterización de Parámetros Físicoquímicos y Calidad Microbiológica del Queso Poro del Municipio de Balancán, Tabasco, México. pp 29.

Presscott M. Lansing; Harley P. Jhon; Klein A. Donald. Microbiología. Madrid España 2004. Segunda Edición, pp. 1055-1060.

Ramírez, M. D., Garibay, M. G., Guzmán, J. J., & Carvajal, A. V. (2016). Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio. Estudios Sociales, 25(47), 89-111.

- Ramírez Mendoza Ina, "Importancia del Establecimiento de Las Buenas Practicas de Manufacturas en la Industria Quesera". Año 5 # 50 Septiembre-Octubre 2011 pp.2-5.
- Ramos-Izquierdo B., Bucio-Galindo A., Bautista-Muñoz C., Aranda-Ibáñez E., Izquierdo-Reyes F. (2009) Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido Lácticas para la elaboración de queso crema tropical. Universidad y Ciencia. 25(2):159-171.
- Vétier N, Banon S, Chardot V. Hardy, J, Effect of Temperature and Aggregation Rate on the Fractal Dimension of Renneted Casein Aggregates. Journal of Dairy Science. 2003.
- Víctor Castro-Georgana, Ana María Díaz-Rodríguez, Bertha Torres-Torres Análisis de la calidad sanitaria de las queserías y los quesos en el Estado de Tabasco en el período del 2002- 2005.
- Villegas de Gante Abraham, Los Quesos Mexicanos Genuinos "Necesidad de su Rescate y Revaloración", Agosto-Septiembre 2008 pp. 114-19.
- Walther B, Schmid, A. Sieber R. Wehrmüller K. Cheese in nutrition and Health. Dairy Science and Technology 2008. 88, 389-405.
- West H. (2008) Food fears and raw – milk cheese. Appetite. 51: 25–29

## 12. ANEXOS

### Anexo 1 Límites máximos de contenido microbiano para leche y derivados lácteos

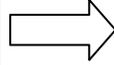
Microorganismo	Límite máximo	Productos
<b>Organismos Coliformes totales</b>	≤100 UFC/g o mL	Helados y sorbetes. Quesos de suero
	≤50 UFC/g o mL	Bases o mezclas para helados.
	≤20 UFC/g o mL	En punto de venta: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados.
	≤10 UFC/g o mL	En planta: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados o deshidratados. Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche.
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	≤10 UFC/ mL por siembra directa	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado pasteurizado.
	≤100 UFC/g o mL	Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche. Quesos madurados y quesos procesados
	1000 UFC/g	Quesos frescos y quesos de suero
<b><i>Salmonella spp</i></b>	Ausente en 25g o mL	Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado: pasteurizados y deshidratados. Quesos frescos, madurados y procesados. Quesos de suero. Cremas, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche*, helados, sorbetes y bases para helados. Mantequillas.
<b><i>Escherichia coli</i></b>	100 UFC/g o mL	Quesos frescos.
	≤3 NMP/g o mL	Leche utilizada como materia prima para la elaboración de quesos. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; deshidratados.
	≤ 10 NMP/g	Quesos madurados y procesados.
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	Ausente en 25g o mL	Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados ** Quesos. Quesos de suero. Helados, bases para helados y sorbetes.**.
<b><i>Vibrio cholerae</i> ***</b>	Ausente en 25g	Quesos frescos. Helados, sorbetes y bases para helados.
	Ausente en 50g	Quesos de suero.
<b>Enterotoxina estafilococcica</b>	Negativa	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado; deshidratados y la que se emplee como materia prima para elaboración de quesos. Quesos frescos, madurados y procesados. Helados, sorbetes y bases para helados.
<b>Toxina botulínica**</b>	Negativa	Quesos frescos, madurados y procesados, envasados al alto vacío.
<b>Mohos y levaduras</b>	500 UFC/g o mL	Quesos frescos, madurados*** y quesos de suero.
	100 UFC/g o mL	Quesos procesados.
	50 UFC/g o mL	Bases o mezclas para helados.
<b>Mesofílicos aerobios</b>	200,000 UFC/g o mL	Helados y sorbetes.
	100,000 UFC/g o mL	Bases para helado.

Fuente: NOM-243-SSA1-201

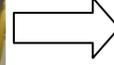
## Anexo 2. Aislamiento e Identificación de *Salmonella ssp* en queso poro.



Pesar asépticamente  
25 gr. de muestra



Homogenizar las  
muestra



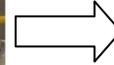
Agregar medio de pre enriquecimiento  
Agua peptonada tamponada 225 mL



Incubación a 35°C  
durante 24 horas



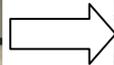
Trasferir la muestra a  
medios de  
enriquecimiento



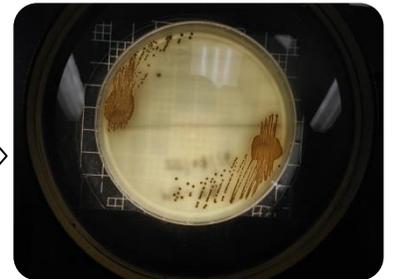
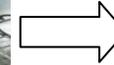
Incubación a 35°C  
durante 24 horas



Inoculación en  
medios selectivos  
XLD, SB, VB



Estría cruzada para  
aislamiento

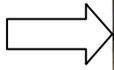


Observar colonias  
características a  
*Salmonella ssp*

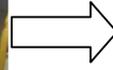
### Anexo 3. Aislamiento e Identificación de *Staphylococcus aureus* en queso poro.



Pesar asépticamente  
10 gr. de muestra



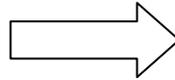
Homogenizar  
perfectamente la



Agregar 90 ml de  
solución diluyente



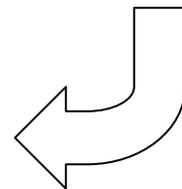
Depositar 0.1 mL al  
medio selectivo Baird  
Parker distribuir con  
varilla estéril



Incubar a 35°  
durante 48 horas



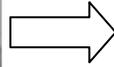
Realizar la lectura e  
interpretación de  
resultados



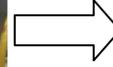
#### Anexo 4. Aislamiento e Identificación de *Escherichia coli* en queso poro.



Pesar asépticamente  
10 gr. de muestra



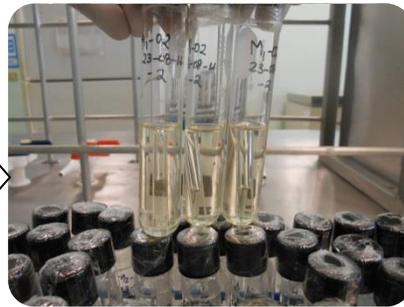
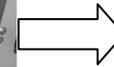
Homogenizar  
agregando 90 mL de  
solución diluyente



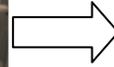
Inocular tubos con caldo  
lauril sulfato en  
concentración sencilla  
como medio presuntivo



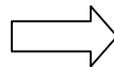
Incubar a 35°  
durante 24-48 horas



Realizar las lecturas  
a las 24- 48 horas



Inocular los tubos  
positivos en caldo EC +  
MUG medio confirmatorio  
incubar a baño maría a  
44.5 °C de 24-48 horas



Interpretación de resultado confirmatoria con  
una lámpara UV produciendo fluorescencia en  
las muestras que son positivas.