

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y
ALIMENTOS**

TESIS PROFESIONAL

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA
DE QUESOS FRESCOS EN
MERCADOS DE TUXTLA
GUTIÉRREZ, CHIAPAS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADO EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

ADAI CANCINO LORENZANA

DIRECTOR DE TESIS

DR. GILBER VELA GUTIÉRREZ

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS

JUNIO 2024





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACION ESCOLAR



Autorización de Impresión

Lugar y Fecha: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, 7 de noviembre de 2024

C. Adai Cancino Lorenzana

Pasante del Programa Educativo de: Ciencia y Tecnología de Alimentos

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:
Evaluación microbiológica de quesos frescos en mercados de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Mtro. Evaristo Julio Ballinas Díaz

Mtra. Mayra Ruby Méndez Bautista

Dr. Gilber Vela Gutiérrez

Firmas



COORDINACIÓN
DE TITULACIÓN

AGRADECIMINETO

Principalmente, le agradezco a Dios por guiarme a lo largo de mi carrera y por permitirme tener tan buenas vivencias e increíbles momentos dentro de la universidad, así como permitirme convertirme en un profesionalista.

Le agradezco a mi madre Guadalupe Lorenzana Ruiz por su apoyo incondicional durante mi etapa de universidad estando a mi lado en todo momento con su apoyo emocional tanto como económico y principal mente con una hermosa sonrisa.

Le agradezco a mis hermanos Yessica Cancino Lorenzana y Gerardo Cancino lorenzana por sus hermosas palabras de aliento, así como su apoyo incondicional en todo momento.

Le agradezco a mis tíos Aaron Lorenzana Ruiz y Ana Ruiz López por acompañarme en toda mi etapa universitaria agradezco su enorme apoyo y todos sus grandes consejos.

Le agradezco a mis primos: Aaron Lorenzana Ruiz y Viridiana Lorenzana Ruiz por estar en esta gran etapa de universidad, así como pasar increíbles momentos juntos como contar su apoyo en todo momento.

Le agradezco a mi compañera María Del Rosario Gómez Vásquez por siempre contar con su apoyo dentro y fuera del aula sus grandes charlas como sus consejos, pero principal mente por ser una gran amiga.

Le agradezco a cada uno mis maestros de clases por sus conocimientos compartido, le agradezco a mi asesor de tesis el Dr. Guilber Vela Gutiérrez por el tiempo y la dedicación en la elaboración de mi tesis, le agradezco a las maestras Ivonne Anahí López Miceli, Diana Laura Cortes Rodríguez y Miriam Izel Manzo Fuentes por ser grandes docentes, así como administrativos dentro de la universidad, pero principalmente ser increíbles personas.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
OBJETIVOS.....	7
GENERAL:	7
ESPECÍFICOS:	7
MARCO TEÓRICO.....	8
¿Qué son los microorganismos?.....	8
Tipos de microorganismo	8
Clasificación de los microorganismos.....	9
Importancia de las pruebas microbiología en los alimentos.....	15
Métodos de evaluación microbiológica	17
Clasificación de los medios de cultivo	19
Inocuidad alimentaria.....	20
Importancia de la inocuidad en alimentos	21
Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS).....	22
Agentes causales de ETA	23
Alimentos propicios a adquirir alguna de las ETA	26
Curva de crecimiento de microorganismos	26
Factores relacionados con el crecimiento microbiano	27
.....	28
Queso fresco.....	29
Distribución:.....	29
Características del queso fresco.	29
Composición nutrimental.....	30
HIPÓTESIS	31
METODOLOGÍA	32
TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	32
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	32
MATERIA PRIMA	32
MUESTRA	32

MUESTREO	32
VARIABLES	33
DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA	33
MATERIALES Y EQUIPOS.....	33
REACTIVOS.....	33
DIAGRAMA DE FLUJO DE EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA	33
DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS	34
Determinación de <i>salmonella</i> y <i>shigella</i> (<i>SS</i>).....	34
Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Determinación de Bacterias ácido lácticas	37
Determinación de mohos y levaduras.....	39
Determinación de coliformes totales en placa.....	40
Determinación de Bacterias coliformes.....	42
REPRESENTACIONES Y ANALISIS DE RESULTADOS	45
REFERENCIAS DOCUMENTALES.....	47
CONCLUSIÓN	54
RECOMENDACIONES	55
GLOSARIO	56
ANEXO	57

TABLA DE CONTENIDO

Tabla 1 Principales características que diferencian a las bacterias Grampositivas y Gramnegativas	10
Tabla 2 Características y clasificación de microorganismos contaminantes de alimentos	10
Tabla 3 Principios, modos de acción y aplicaciones de algunas pruebas.....	18
Tabla 4 Principales ETAS.....	23
Tabla 5 Brotes según el tipo de alimento	26
Tabla 7 Clasificación Bacteriana de acuerdo con las temperaturas Cardinales para su desarrollo	28
Tabla 9 Composición nutrimental del queso fresco	30
Tabla 10 Diseño experimental	32

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Los tres reinos, vegetales, animales y microorganismos, y la diferenciación entre procariotas y eucariotas (Hans et al., 1997).....	9
Figura 2. Dimensiones de la calidad).....	21
Figura 3. Curva de crecimiento bacteriano (Corrales et al., 2008).....	27
Figura 4. Rangos de pH en el crecimiento bacteriano (Corrales et al., 2008)	28
Figura 5. Diagrama general para la elaboración de queso fresco (Gunasekaran et al., 2003)	30

INTRODUCCIÓN

La Microbiología es la ciencia que estudia los microorganismos, bacterias, hongos, protistas y parásitos y otros agentes como virus, viroides y priones. Los microorganismos cumplen funciones esenciales en todos los ecosistemas; estableciendo relaciones mutualistas, parasíticas o neutras entre ellos y con los demás organismos. Desde hace miles de años, estos organismos han sido aprovechados para la producción de alimentos y actualmente poseen el mayor potencial de aprovechamiento biotecnológico dada su diversidad metabólica.

El consumo de productos lácteos, como el queso fresco, es una práctica arraigada en la cultura alimentaria de muchas comunidades alrededor del mundo. Sin embargo, la inocuidad microbiológica de estos alimentos es de suma importancia para garantizar la salud pública. En el contexto de los mercados locales de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México, la calidad microbiológica de los quesos frescos expedidos es una preocupación relevante que requiere atención.

La Organización Mundial de la Salud (OMS,2019) señaló que los alimentos contaminados con microorganismos patógenos son una causa importante de enfermedades transmitidas por alimentos. Entre los microorganismos de interés en la evaluación microbiológica de quesos frescos se encuentran bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, entre otros (Martínez-Carrillo, 2017).

Los quesos frescos son alimentos perecederos que pueden albergar una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*. La presencia de estos microorganismos en niveles altos puede representar un riesgo para la salud pública, ya que pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en los consumidores.

La seguridad alimentaria es un aspecto fundamental en la producción y comercialización de alimentos. La presencia de microorganismos patógenos en los quesos frescos puede comprometer la seguridad de los alimentos y, por lo tanto, poner en riesgo la salud de los consumidores. La evaluación microbiológica ayuda a identificar posibles fuentes de

contaminación y a implementar medidas preventivas para garantizar la inocuidad de los alimentos.

La presencia de microorganismos indeseables en los quesos frescos puede afectar la calidad sensorial del producto, como su sabor, textura y aroma. Una evaluación microbiológica adecuada ayuda a identificar posibles problemas de calidad y a implementar medidas correctivas para mejorar la calidad del producto final.

Los mercados locales representan un punto crítico en la cadena de suministro de alimentos, donde los productos lácteos pueden estar expuestos a condiciones ambientales subóptimas y manipulación no adecuada, lo que aumenta el riesgo de contaminación microbiológica. De acuerdo con estudios previos, la falta de higiene en la producción y comercialización de *quesos frescos es una preocupación significativa en diversas regiones (Guzmán-Hernández et al., 2016)*.

En este contexto, esta investigación se propone realizar una evaluación microbiológica exhaustiva de los quesos frescos expedidos en los mercados de Tuxtla Gutiérrez. El objetivo principal es identificar y cuantificar la presencia de microorganismos indicadores de contaminación, así como de patógenos potenciales, con el fin de proporcionar información relevante para mejorar las prácticas de producción y comercialización, y así contribuir a la seguridad alimentaria de la población local.

El propósito de las pruebas microbiológicas es identificar y restringir los microorganismos dañinos, que pueden estropear los alimentos, o transmitirse a través de ellos, y garantizar la inocuidad frente a las enfermedades transmitidas por estos.

Aunque los análisis microbiológicos son solo un componente del sistema de seguridad alimentaria y no garantizan el 100% de la seguridad del producto, son un requisito previo y una parte integral que debe realizarse para garantizar el bienestar de las personas. En estos métodos se incluyen los métodos horizontales, inmunoensayo y reacción en cadena de polimerasa.

JUSTIFICACIÓN

La evaluación microbiológica de los quesos frescos expedidos en los mercados de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, es crucial debido a la importancia de garantizar la seguridad alimentaria y proteger la salud pública en esta comunidad. Este estudio es relevante por varias razones fundamentales.

Las pruebas microbiológicas cuantitativas y cualitativas contribuyen de manera significativa a la identificación de los alimentos y de los brotes de enfermedades alimentarias.

Según Gimferrer (2014), prevenir la presencia de patógenos es primordial para asegurar la calidad y la seguridad de los alimentos. En la gran mayoría de ocasiones, el motivo de una infección alimentaria es una mala praxis en la manipulación de los alimentos. Vegetales que no se lavan de forma adecuada, comida elaborada con manos sucias o una mala higiene de los utensilios de cocina son los factores más destacados. Las bacterias son los patógenos más conocidos en la contaminación alimentaria, son los más habituales y los más estudiados.

Respecto a la calidad de un alimento se debe considerar el aspecto microbiológico, que resulta elemental ya que afecta a la conservación y la vida útil del producto, además los microorganismos pueden ser causantes de enfermedades conocidas como enfermedades transmitidas por los alimentos FBI (Foodborne illness) (Andino y Castillo,2010) De tal manera que, para garantizar la inocuidad del alimento, se requiere la determinación de criterios para los microorganismos patógenos y/o toxinas y en algunos casos la utilización de microorganismos indicadores (relacionados con la presencia de un patógeno). Por eso, su detección en los alimentos es de vital importancia.

Los alimentos pueden contaminarse en cualquier momento desde su producción hasta que llega a la mesa del consumidor. Por lo tanto, la Inocuidad de Alimentos es la garantía que el consumo de un alimento no causaran ninguna enfermedad o daño al consumidor.

La inocuidad de los productos debe considerarse sin ninguna duda la prioridad máxima, que un alimento sea inocuo es uno de los requisitos no incluido en muchas de las especificaciones de los clientes a diferencia de otras características del producto, como el aspecto, el sabor o el costo, la inocuidad no es negociable; los consumidores demandan y confían en que la inocuidad esté presente en todo tipo de alimento, sea manufacturado, tratado con mínimo proceso, o fresco.

La evaluación microbiológica proporciona datos objetivos sobre la calidad microbiológica de los productos, lo que permite identificar áreas problemáticas en la cadena de suministro y mejorar las prácticas de producción y comercialización. Estos datos son fundamentales para la toma de decisiones informadas por parte de los productores, las autoridades de salud pública y los consumidores, y contribuyen a la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos y al fortalecimiento de la seguridad alimentaria en la comunidad.

Investigar y analizar la calidad microbiológica de los quesos frescos comercializados en los mercados de Tuxtla Gutiérrez, identificando los posibles riesgos para la salud pública y proponiendo medidas para mejorar su inocuidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La inocuidad alimentaria es un aspecto crucial para garantizar la salud pública y la seguridad alimentaria en cualquier comunidad. En este contexto, la evaluación microbiológica de los alimentos, incluidos los quesos frescos, desempeña un papel fundamental en la identificación y prevención de riesgos para la salud asociados con la contaminación microbiológica. Sin embargo, en los mercados locales de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México, la calidad microbiológica de los quesos frescos expedidos puede ser motivo de preocupación debido a las condiciones de producción y comercialización.

Los alimentos contaminados con microorganismos (bacterias, levaduras, virus) pueden suponer un riesgo para el consumidor. Además de la detección de microorganismos patogénicos, es importante mantener el control de los organismos que favorecen habitualmente la descomposición para reducir pérdidas durante la producción.

Las técnicas tradicionales de detección de contaminantes, como los análisis microbiológicos y químicos, si bien son útiles, tienen limitaciones en cuanto a tiempo, precisión y sensibilidad, en los últimos años, han surgido nuevas tecnologías que ofrecen soluciones más avanzadas, como:

Espectroscopía: Permite identificar la composición molecular de un alimento y detectar contaminantes como pesticidas, micotoxinas y patógenos.

Biosensores: Estos dispositivos utilizan biomoléculas para detectar de forma específica y sensible la presencia de contaminantes.

Nanotecnología: Las nanopartículas se pueden utilizar para detectar contaminantes a través de diferentes mecanismos, como la resonancia óptica o la detección electroquímica.

La falta de datos sobre la presencia y concentración de microorganismos indicadores de contaminación y patógenos en los quesos frescos dificulta la evaluación de los riesgos para la salud pública asociados con su consumo.

Identificar las posibles fuentes de contaminación, como prácticas inadecuadas de higiene, condiciones ambientales desfavorables y manipulación incorrecta de los alimentos, es crucial para implementar medidas preventivas eficaces.

La falta de información sobre la calidad microbiológica de los quesos frescos expedidos en los mercados de Tuxtla Gutiérrez plantea un problema significativo para la salud pública y la seguridad alimentaria en la comunidad. Es crucial abordar estas incertidumbres mediante una

investigación rigurosa que permita identificar y comprender los riesgos asociados con la contaminación microbiológica de los alimentos en estos entornos locales.

Se puede reducir drásticamente la contaminación microbiológica de estos si el personal de trabajo cuenta con la vestimenta adecuada para la manipulación de alimentos como, guantes, cofia, cubre bocas, ropa blanca, así como una constante capacitación de buenas prácticas de higiene (BPH).

OBJETIVOS

GENERAL:

Investigar y analizar la calidad microbiológica de los quesos frescos comercializados en los mercados de Tuxtla Gutiérrez, identificando los posibles riesgos para la salud pública y proponiendo medidas para mejorar su inocuidad.

ESPECÍFICOS:

- Muestrear representativamente diferentes tipos de quesos frescos vendidos en cuatro mercados de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas..
- Identificar y cuantificar la presencia de microorganismos patógenos potenciales, como Salmonella, Listeria monocytogenes y Escherichia coli.
- Evaluar las condiciones de higiene durante la producción, manipulación y almacenamiento de los quesos frescos mediante inspecciones in situ.

MARCO TEÓRICO

¿Qué son los microorganismos?

Los microorganismos son seres vivos de diminuto tamaño, unicelulares de suma importancia en la vida en el planeta, cumplen con funciones específicas en el entorno que nos rodea. Para ser observados es necesario hacer uso de equipos especializados como los microscopios. Dentro de la gama de los microorganismos mayormente analizados pertenecen a grupos biológicos como los protozoarios, algas, hongos y bacterias (Mayoral, 2018).

A la mitad del siglo XVII se realizaron las primeras observaciones de microorganismos en microscopio simple diseñado por Antonio Van Leewenhoek, fue así como inicia la historia de la microbiología con el descubrimiento de los primeros microorganismos, con el paso de los años científicos destacados de la historia dan inicio a investigaciones relacionadas con la teoría del surgimiento de los seres vivos diminutos presentes en el planeta, Louis Pasteur y Robert Koch emplearon su tiempo en el estudio de microorganismos, con la finalidad de integrar conocimientos sobre su origen, características peculiares de cada grupo de organismo y poder enlazarlos en una clasificación específica, las investigaciones sirvieron para descubrir algunas enfermedades que son causados por organismos patógenos (Bionova, 2014).

Tipos de microorganismo

Los microorganismos se conforman en dos grupos denominados: procariotas y eucariotas. Dentro de los microorganismos procariotas se derivan las archeas y las bacterias. Abarcan a los procariotas que no cuentan con peptidoglucano en la pared celular. Mientras que los organismos eucariotas lo integran los hongos, algas y protozoarios. Si bien los virus, priones y priones son considerados microorganismos (Brock, 1998).

Los organismos procariotas se caracterizan por no tener núcleo que rodee la membrana celular, el material genético ADN se encuentra en forma de hebra circular cerrada libre en el citoplasma. Se encarga de transportar la información requerida para la reproducción de la célula, este organismo bacteriano no tiene orgánulos, los ribosomas que contiene son pequeños trabajan junto con las enzimas involucradas en la síntesis de proteína (Hans *et al.*, 1997).

Sin embargo, los organismos eucariotas contienen núcleo (karyon), dentro del núcleo se localiza la mayor parte del genoma de la célula. Dentro del genoma se encuentra un sin fin de cromosomas, cuando llevan a cabo el proceso de duplicación se separan unos de otros este mecanismo de transformación se conoce como mitosis proceso de la división celular. El material

genético ADN contenido en los cromosomas se encuentra relacionado con las histonas, otra característica representativa de los organismos eucariotas es la presencia de orgánulos, mitocondrias, ribosomas de gran tamaño. Por otra parte, en la célula vegetal contienen cloroplastos (Hans *et al.*, 1997). La figura 1 representa la posición de los microorganismos en la naturaleza.

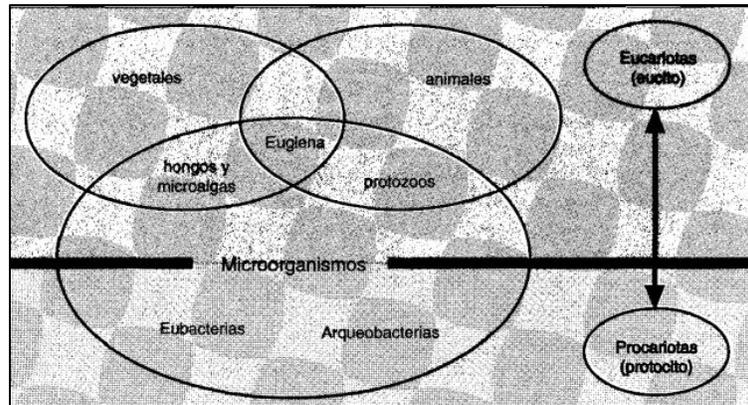


Figura 1. Los tres reinos, vegetales, animales y microorganismos, y la diferencia Entre procarionotas y eucariotas (Hans *etal.*,1997).

Clasificación de los microorganismos

Para la clasificación y caracterización de la morfología de las bacterias se empleó el método propuesto por el bacteriólogo Danes Hans Christian Gram en el año de 1884, la técnica de estudio fue nombrado como tinción Gram. Esta técnica facilita caracterizar e identificar el tipo de bacteria presente de acuerdo al color que tiende a teñir la membrana celular de la bacteria. Para clasificar a las bacterias por grupo se debe identificar las características en cuanto a la morfología y la capacidad de reproducción y supervivencia que tienen, deben cumplir con ciertas características que distinguen a las bacterias Grampositivas como teñirse de color morado después de realizar la tinción, mientras que las Gramnegativas se tornan de color rosa, rojo o grosella. Respecto al color que tienden a tomar las bacterias Grampositivas en la tinción, se debe al mayor grosor que tienen las bacterias en la pared celular, mientras que las bacterias Gramnegativas el reactivo cristal violeta se consume fácilmente. Sin embargo, algunas bacterias como las micobacterias causante de la tuberculosis, no son posibles identificarlas con el método de tinción Gram, a consecuencia de su alto contenido lipídico que tiene en la pared celular.

(Brenner *y cols.*, 2005) La tabla 1 muestra las principales características que destacan en cada grupo de bacterias.

Tabla 1 Principales características que diferencian a las bacterias Grampositivas y Gramnegativas

Características	Grampositiva	Gramnegativa
Reacción Gram	Retiene el colorante cristal violeta y se tiñe de violeta o púrpura.	Se decolora y posteriormente retiene el colorante safranina; se tiñe de rojo o rosa.
Capa de peptidoglicano	Gruesa (multicapas)	Delgada (unicapa)
Ácidos teicoicos	Presentes en la mayoría	Ausentes
Espacio periplásmico	Ausente	Presente
Membrana externa	Ausente	Presente
Contenido de lipopolisacáridos	Nulo	Alto
Contenido de lípidos y lipoproteínas	Bajo	Alto
Resistencia al rompimiento celular de manera mecánica	Alta	Baja
Susceptibilidad a detergentes aniónicos	Alta	Baja
Resistencia a la desecación	Alta	Baja

Fuente: (CIATEJ, 2017)

Los microorganismos son analizados, organizados y clasificados de acuerdo a la rama de la ciencia biológica denominada microbiología (Prats, 2008). La tabla 2 contextualiza los principales grupos de microorganismos contaminantes.

Tabla 2 Características y clasificación de microorganismos contaminantes de alimentos

Microorganismo	Morfología	Características	Alimento en que se encuentra
Levaduras	Ovaladas, esféricas y alargadas	Crecimiento con pH bajo, bajo presión osmótica alta	lácteos fermentados, frutas, oleaginosas, granos, cereales

Hongos y mohos	Filamentosos ramificados	Las condiciones humedad y calidad favorecen su crecimiento, cubre las superficie semejando terciopelo	Frutas y verduras alimentos azucarados
Bacterias	Esférica, bastoncillos curva	La bacterias pueden vivir en cualquier habitad, siendo esta el organismos más abundante en el mundo.	Carnes, aves mariscos, Leche Derivados de la leche Alimentos azucarados
Virus	Formados por una cabeza y cola	Este microorganismo tiene la capacidad de autoreplicarse	Agua contaminada Mariscos Vegetales contaminados
Parásitos	Huevos, larvas y quistes	Vive a espensas de otra especie y se alimenta de ella	Carnes Pescados Frutas

Fuente: (Bibek, 2010).

Bacterias: son microorganismos procariotas, que carecen de núcleo, contienen un solo cromosoma, se caracterizan por tener la capacidad de multiplicarse por bipartición, conjugación, transformación y transducción. Se denomina de cuerdo a tipo de morfología que presenten las bacterias caracterizadas, por ejemplo, las que tienen forma alargada y cilíndrica reciben el nombre de bacilos, los de forma redonda se denominan cocos, los de aspecto helicoidal son llamados espirilos, mientras que los cortos y curvados con formatura de coma son nombrados vibrios. Por otro lado, como se menciona en la tabla 1, las bacterias se subclasifican de acuerdo a la reacción que tengan ante el método de tinción Gram, pudiendo ser bacterias Gram positivas o bacterias Gram negativas. Respecto al tipo de nutrición que las bacterias realizan son heterótrofas otras, en menor cantidad, son autótrofas, saprofitas o simbioses (Anónimo, 2014).

Virus: microorganismos lo suficientemente simples, carecen de la capacidad de nutrirse, no pueden reproducirse por sí solos, si no que requieren de un medio adecuado para poder crecer

y reproducirse, ya sea un medio con actividad intracelular de tipo animal o vegetal. Algunas características que estos organismos poseen de acuerdo a su morfología son: icosaedricos si tienen forma esférica, helicoidales o cilíndricos si son alargados, complejos si están formados por dos partes es decir una cabeza y una cola. También pueden ser citopáticos es decir si eliminan a la célula que infectan, pero si únicamente generan una infección crónica en la célula del huésped sin eliminarla son catalogados como virus no citopático (Sánchez, 2014)

Hongos: se caracterizan por microorganismos eucariotas unicelulares o pluricelulares, realizan una nutrición heterótrofa en su multitud son saprofitos, es decir obtiene sus nutrientes de materia muerta o en descomposición. La forma de reproducción que tienen estos organismos es mediante la gemación, esporulación o fragmentación, pueden ser de tipo levadura, hongo con hifas (Tortora *et al.*, 2007).

Parásitos: son microorganismos de tipo eucariota, es decir contienen núcleo en su membrana celular, dentro de su clasificación taxonómica se encuentran los protozoos y los helmintos, el primero es un organismo eucariota unicelular, el medio de propagación que emplea es un medio intracelular o extracelular. El segundo organismo son eucariotas pluricelulares llamados gusanos, se reproducen por vía sexual (Tortora *et al.*, 2007).

Existe otros tipos de clasificación de acuerdo a las características específicas que tienen los microorganismos tales como la inmunidad, resistencia, temperatura y grado de riesgo.

1) Clasificación por el tipo de resistencia: según la capacidad de resistir acción de los germicidas en productos de desinfección (Anónimo, 2014).

Microorganismos de menor resistencia: se encuentran las bacterias como Salmonella, Erisipelotrix, Brucella, Pasteurella, E. Coli, virus de la peste porcina clásica, diarrea viral bovina, rabia, anemia infecciosa y hongos Trichophyton y Microsporum.

Microorganismos de mayor resistencia: se encuentran las bacterias del género Staphylococcus, Leptospira y los Streptococcus, virus como la fiebre aftosa, lengua azul, estomatitis vesicular, diversos adenovirus y hongos del género Candida.

Microbacterias patógenas atípicas: de las cuales se encuentra la M. tuberculosis, M. bovis, M. avium.

Microorganismos esporulantes: del género Clostridium haemoliticum, Clostridium chauvoei y Clostridium tetani.

2) Clasificación de acuerdo a la respuesta inmunitaria: esta clasificación se origina según el lugar que habita en la célula del huésped (Anónimo, 2011).

Microorganismos extracelulares: se caracterizan por emplear como medio de crecimiento a las bacterias, hongos, en algunos casos como los virus los emplean para atacar e infectar las células de los organismos mencionados.

Microorganismos intracelulares: habitan regularmente una célula, para poder infectar otras células abandonan la célula huésped donde se alojan.

3) Clasificación de acuerdo a la temperatura: los microorganismos crecen y se desarrollan en temperaturas cardinales diferentes, se dividen en tres grupos (Anónimo, 2010)

Microorganismos psicrófilos: conocidos también como criófilas, lo integran dos clases la primera son los: Psicrófilas obligados: se desarrollan a una temperatura entre 15 y 18°C entre ellos la *Flavobacterium*. La segunda clase son los **Psicrófilas facultativas:** crecen a temperaturas que oscilan los 20 y 30°C en ocasiones alcanzan los 35°, son responsables de la descomposición de los alimentos almacenados en ambientes fríos como las heladeras.

Microorganismos mesófilos: se desarrollan en condiciones óptimas de temperatura en un rango de 35° a 47°C, lo integran las eubacterias.

Microorganismos termófilos: la temperatura de estos microorganismos oscila entre los 50° y 75°C en algunos casos alcanzan los 113°C, microorganismos capaces de sobrevivir a tratamientos térmicos altos, integrado por los organismos procariotas.

4) Clasificación de acuerdo al grado de riesgo: este grupo de microorganismos se caracteriza por el grado de riesgo que puede presentar si se aloja en la célula del huésped (OMS, 2005).

Grupo de riesgo I: lo integran aquellos organismos como las bacterias, hongos, virus y parásitos que no provocan enfermedades al personal de laboratorio y animales.

Grupo de riesgo II: a diferencia del grupo uno, estos organismos si son capaces de generar un moderado al personal que labora en laboratorios, así como en animales, sin embargo, existen tratamientos para contrarrestar los síntomas.

Bacterias, Clamidas, Mycoplasmas: *Actinobacillus*, *Actinomyces pyogenes* (*C. pyogenes*), *Bacillus cereus*, *Bartonella bacilliformis*, *B. henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica*, *Borrelia recurrentis* y *B. burgdorferi*, *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. fetus*, *C. jejuni*), *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci* (cepas no aviares), *C. trachomatis*, *Clostridium botulinum*, *Cl. chauvoei*, *Cl. difficile*, *Cl. haemolyticum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. novyi*, *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. sordellii*, *Cl. Tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *C. haemolyticum*, *C. pseudotuberculosis*, *C. pyogenes*. *Mycoplasma pneumoniae*, *M. hominis* *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*, *Pasteurella*, (todas

las especies excepto *P. multocida* tipo B que corresponde a grupo 3), *Pseudomonas aeruginosa*, Salmonella entérica (*S. choleraesuis*), Salmonella entérica serovar arizonae (*Arizona hinshawii*) etc.

Hongos: Cryptococcaceae, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, Moniliaceae, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium spp.*, *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton spp.*

Virus: Adenoviridae Adenovirus, todos los serotipos; Arenaviridae virus de la coriomeningitis linfocítica (líneas adaptadas en laboratorio); complejo de virus Tacaribe: Tamiami, Tacaribe, Pichinde Bunyaviridae género Bunyavirus Bunyamwera y virus relacionados; grupo de la encefalitis de California etc.

Parásitos: Los estados infecciosos de los siguientes parásitos han causado infección por ingestión, penetración por la piel o mucosas o inyección accidental. Las preparaciones que se saben libres de los estados infectivos no requieren este nivel de contención. **Protozoos:** *Babesia microti*; *Babesia divergens*; *Balantidium coli*; *Cryptosporidium spp.*; *Entamoeba histolytica*; *Giardia spp.* (mamíferos) etc.

Grupo de riesgo III: el nivel de riesgo de este grupo de organismos es alto, debido a que pueden desencadenar enfermedades en los seres humanos y animales, existen tratamientos para contrarrestar las infecciones causadas por estos microorganismos a base de antimicrobianos y antiparasitarios. Algunos microorganismos que conforman este grupo son:

Bacterias, Clamydias, Rickettsias: *Bacillus anthracis*; Brucella -todas las especies-; Burkolderia (*Pseudomonas mallei*; *B. pseudomallei*; *Chlamydia psittaci* (solo líneas aviarias); *Coxiella burnetii*; *Francisella tularensis*, tipo A (biovar tularensis); *Mycobacterium tuberculosis*; *M. bovis* (no líneas BCG); *Pasteurella multocida*, tipo B; *Rickettsia* (todas las especies); *Yersinia pestis*

Hongos: Moniliaceae; *Ajellomyces dermatitidis*; (*Blastomyces dermatitidis*) *Coccidioides immitis*; *Ajellomyces capsulatum* (*Histoplasma capsulatum* incluyendo *var. duboisii*); *Paracoccidioides brasiliensis*
VIRUS Arenaviridae; virus de la coriomeningitis linfocítica, cepas neurotróficas; Bunyaviridae: Bunyavirus sin clasificar, Hantaan, fiebre hemorrágica coreana y virus de la nefrosis epidémica incluyendo el virus responsable del síndrome pulmonar por Hantavirus etc.

Parásitos: Ninguno

Grupo de riesgo IV: el riesgo de contraer este tipo de enfermedades por microorganismos patógenos de este grupo es alto en seres humanos y animales, cuando no existe tratamiento alguno para atacar la enfermedad el medio de transmisión puede propagarse rápidamente de persona a persona. Por mencionar algunos microorganismos que integran este grupo:

Bacterias: Ninguna

Hongos: Ninguno

Virus: Arenaviridae virus de Lassa, Junín y Machupo, Sabia, Guanarito; Bunyaviridae género Nairovirus Crimean-Congo hemorrhagic fever Filoviridae: virus de Marburg; virus de Ebola; Flaviviridae: complejo de la encefalitis Tick-borne; incluyendo –encefalitis rusa, de primavera - verano; virus del bosque de Kyasanur; virus de la fiebre hemorrágica de Omsk; Herpesviridae; Alphaherpesvirinae; género Simplexvirus: Herpes B virus (virus del mono) Poxviridae género Orthopoxvirinae Variola Monkeypox.

Parásitos: Ninguno

Importancia de las pruebas microbiología en los alimentos

A partir del siglo XXI, la contaminación de alimentos por microorganismos sigue siendo una problemática relevante, en la salud de los seres humanos a causa de la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos patógenos y metabolitos microbianos que comprometen la salud de los consumidores. No todos los microorganismos se desarrollan en los alimentos por malas prácticas de higiene o manufactura, en ocasiones se encuentran en los tejidos animales vivos o de los vegetales durante la recolección, por ello es importante después de realizar la cosecha de los vegetales o bien la matanza de animales, tener buenas prácticas de manufactura e higiene, manteniendo siempre la inocuidad en los alimentos (Arthur, 2002).

En la revista (avances de la microbiología de alimentos, 2021), la microbiología aun no era una ciencia reconocida e involucrada en la ciencia de los alimentos, sin embargo, se elaboraron productos como vino, pan, cerveza y leches fermentadas producto del trabajo de fermentación de microorganismos encargados de la fermentación láctica, acética o alcohólica, los productores realizaban los trabajos a prueba y error, sin conocer acerca de las técnicas y procesos necesarios para producir alimentos fermentados. Dos décadas anteriores en el panorama de los organismos responsables de acusar enfermedades en los consumidores se incluían las especies como: Salmonella Typhi y Paratyphi, Shigella spp., Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Bacillus cereus y el virus de la Hepatitis A, con el paso de los años las infecciones causadas por la contaminación e intoxicación de alimentos han ido en aumento, incrementado el número de agentes patógenos responsables de comprometer el estado de salud de la población, incorporado nuevos patógenos como Campylobacter spp., Salmonella Enteritidis, Salmonella Typhimurium DT104, Listeria monocytogenes, las cepas verotoxigénicas de Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Vibrio vulnificus, Vibrio parahaemolyticus O3:K6, astrovirus, rotavirus,

norovirus, *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium parvum* y priones por mencionar algunos (Tauxe, 2002).

En presencia del aumento de incidencias de enfermedades en los seres humanos, surgen los primeros métodos rápidos de análisis microbiológico en la década de los 60's, los procesos de identificación de microorganismos fueron evolucionando con el paso de los años, mejorando los métodos y las técnicas de estudio. Diez años más tarde la microbiología comienza a involucrar la aplicación en análisis de los alimentos (Fung, 2002).

Alguno de estos métodos de identificación rápida de microorganismos son los inmunoensayos respaldan resultados eficaces, siendo métodos rentables y de fácil acceso, a diferencia de las técnicas basadas en cultivos, uno de ellos los métodos en reacciones antígeno-anticuerpo, ELISA es sin duda el más adoptado al evaluar el riesgo microbiológico debido a *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli* O157: H7 de los alimentos (Tilocca *et al.*, 2020).

El método de microscopia por fluorescencia se emplea un colorante fluorescente para teñir la pared celular del *Lactobacillus acidophylus* y poder ser identificado (Page *et al.*, 2020).

Los métodos rápidos y automatizados deben cumplir con ciertos criterios específicos como:

- Precisión en la obtención de resultados, según los criterios establecidos: sensibilidad, límites de detección mínimos, especificidad del sistema de análisis, versatilidad, aplicación potencial y comparación con métodos de referencia.
- Rapidez: las pruebas deben ser eficaces y rápidos, en el menor lapso de tiempo posible en la obtención de resultados.
- Bajos costos: inicial, por análisis, reactivos, trabajo.
- Aceptabilidad: debe ser aceptado por la población científica y de los organismos encargados de los sistemas analíticos.
- Sencillez de manejo: preparación de la muestra, funcionamiento del equipo analítico y procesamiento informático de los datos.
- Cualificación y formación del personal adecuada para la técnica a realizar.
- Reactivos: facilidad de preparación, estabilidad, disponibilidad.
- Fiabilidad del método: avalada por la compañía u organismo responsable de la técnica analítica.
- Soporte técnico adecuado: rapidez, disponibilidad y coste.
- Mínimo espacio útil requerido.

Métodos de evaluación microbiológica

Los métodos de identificación de bacteria se clasifican en fenotípicos, moleculares, actualmente el método proteómicos. Estos métodos benefician en la obtención de resultados de valor microbiológico (Germán, *et al.*, 2011).

Métodos fenotípicos

La identificación y caracterización de microorganismos bacterianos a través de técnicas convencionales en las características fenotípicas, de fácil acceso al método, así como los costos son accesibles para su realización (Isenberg, 2004).

Este método se encarga de reunir las características de los organismos bacterianos tales como: morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas y metabólicas. Los resultados son confiables, además este método otorga el acceso de aislar los microorganismos de estudios, para su respectiva caracterización e identificación. Para el uso de este método es importante la experiencia del microbiólogo en la identificación de grupos bacterianos, para hacer buen uso de este método además de que el laboratorio donde se lleva a cabo las investigaciones deberá contar con el equipamiento necesario, así como los reactivos que se empleen de lo contrario sería un método aplicado de alto costo, si no se cuenta con los conocimientos necesarios y el equipamiento para llevar a cabo este método.

Las pruebas bioquímicas mayormente empleadas en el campo de identificación de bacterias son: la prueba de catalasa y oxidasa. Existen otras pruebas rápidas que involucran el tiempo de resultado aproximadamente de 6 h como la prueba de hidrólisis del hipurato, la β -galactosidasa (ONPG), las aminopeptidasas, la ureasa y el indol. Dentro de las pruebas lentas que implica en obtener los resultados en un rango de 18 a 48 h, se encuentran las pruebas de óxido fermentación, reducción de nitratos, rojo de metilo, Voges-Proskauer, Agar hierro de Kligler, fermentación de azúcares, hidrólisis de la esculina, coagulasa, fenilalanina-desaminasa, DNasa, hidrólisis de la gelatina, decarboxilasas, lipasa, lecitinasa, utilización de citratos, utilización de malonato, y prueba de CAMP entre las más frecuentes. Para las pruebas de caracteres de resistencia algunas sustancias como, por ejemplo: optoquina, bacitracina, solubilidad en bilis, y crecimiento en caldo hipersalino.

Tabla 3 Principios, modos de acción y aplicaciones de algunas pruebas

Prueba	Enzima bacteriana	Aplicaciones
Indol	Triptofanasa	Reacción positiva (color rojo) identifica a <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
ONPG	B -galactosidasa	Determina la fermentación de lactosa (color amarillo) en fermentadores lentos de la lactosa. Diferencia, por ej., <i>Neisseria lactamica</i> de especies patógenas de <i>Neisseria</i>
Oxidasa	Citocromo C oxidasa	Diferenciación entre los no-fermentadores (reacción +, color azul-morado); también ayuda a la identificación de <i>Neisseria</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i> y <i>Campylobacter</i>
Catalasa	Catalasa	Diferenciación de estafilococos (reacción + con burbujeo) de estreptococos (reacción -) y de <i>Listeria</i> de los estreptococos
Solubilidad en bilis		Identificación presuntiva de <i>Streptococcus pneumoniae</i> (colonias lisadas) en cultivos de esputo, sangre o LCR
PYR (L-pirrolidonil-Bnaftilamida)	L-pirroglutamilamino-peptidasa	Identificación de estreptococos del grupo A de Lancefield. Diferencia <i>Enterococcus</i> de los estreptococos del grupo D (reacción +, color rojo brillante)

Ureasa (rápida)	Ureasa	Prueba de cribado (positiva, color rojo) para <i>Cryptococcus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> y <i>Yersinia enterocolitica</i>
Hipurato (rápido)		Identificación de <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Listeria</i>
Plasmocoagulasa		Diferencia <i>S. aureus</i> de estafilococos coagulasa negativos

Fuente: (FDA, 2012)

Métodos moleculares

Los métodos moleculares se caracterizan por ser más especializados en la identificación de los genes moleculares, se han empleado como dianas moleculares en análisis taxonómico o de filogenia. Este método surge con la necesidad de aprobar mayoritariamente los resultados obtenidos en el método fenotípico debido a que identifican las características taxonómicas del microorganismo presente pero los resultados son probables y no definitivos (Clarridge, 2004). El gen mayormente empleado es el ARNr 16S.

Métodos proteómicos

El método proteómico se basa en el análisis y caracterización de las proteínas que integran un genoma (proteoma), mediante la determinación por electroforesis y espectrometría de masas. La espectrometría de masas se basa en estudiar y analizar la integración de distintos elementos químicos, mide la cantidad de iones derivados de moléculas, los separa para acomodarlos en función a su relación masa/carga (m/z) (Anhalt, 1975).

Dentro de los componentes básicos de un espectrómetro de masas se encuentran: la fuente de ionización encargado de analizar la producción de iones, enseguida está el analizador de masas el responsable de separar los iones en la relación masa/carga, y por último se encuentra el detector es el encargado de registrar el espectro de masa obtenido.

Clasificación de los medios de cultivo

Los medios de cultivo se clasifican de acuerdo a Comisión Federal para la Contra Protección Riesgos Sanitarios (COFEPRIS, 2023) en cinco grupos:

- 1) **Medios de mantenimiento:** se encargan de mantener cultivos puro, para ser empleados en futuras pruebas y poder conservarlos por mayor tiempo. Los componentes de este

tipo de medio restringen el crecimiento excesivo de microorganismos para su almacenamiento.

- 2) **Medios Selectivos:** tienen ingredientes que permiten únicamente el crecimiento de los microorganismos que se desean identificar, es decir inhiben el desarrollo de microorganismos que no se desean identificar.
- 3) **Medios diferenciales:** dentro de sus ingredientes contienen colorantes indicadores que facilitan identificar el crecimiento de microorganismos a través del cambio de color que presentan los medios como parte de las reacciones bioquímicas.
- 4) **Medio de enriquecimiento:** este medio se emplea para inocular la muestra con el objetivo de incrementar el crecimiento microbiano y reducir la proliferación de microorganismos no deseados, el medio de cultivo es líquido.
- 5) **Medios selectivos y diferenciales:** medios sólidos, contienen ingredientes que facilitan la identificación de los microorganismos deseados diferenciándolos unos de otros.

Inocuidad alimentaria

La palabra inocuidad contextualiza asegurando la garantía sobre aquel o aquellos alimentos que no causarán daño alguno al consumidor, garantizando el cuidado de su salud, término que finalmente se relaciona con la seguridad alimentaria con “Calidad” que es una característica compleja que determina el valor o aceptabilidad para el consumidor y contempla cuatro dimensiones (Díaz *et al.*, 2016; García *et al.*, 2017). La figura 2 expresa las cuatro dimensiones de la calidad.



Figura 2. Dimensiones de la calidad (Elaboración de los autores)

Importancia de la inocuidad en alimentos

Las Naciones Unidas se ha preocupado por la situación de la calidad e inocuidad de los alimentos que se consumen día a día por ello nombro a dos organismos responsables de velar por la inocuidad de los alimentos en todo el mundo siendo, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (OMS, 2019).

Estudios revelan que los alimentos contaminados matan alrededor de 420 000 personas al año, cifras alarmantes para las organizaciones encargadas de velar por la inocuidad alimentaria, lo que afecta el bolsillo de la población al recurrir a los servicios de salud, que en muchas ocasiones por el desabasto de medicamentos y la falta de atención pierden la vida. Muertes que son totalmente evitables”, señaló por su parte Tedros Adhanom Ghebreyesus, Director General de la OMS. Por ello la importancia de llevar una adecuada higiene e inocuidad en los servicios de alimentos, desde que son recolectados en el campo, hasta la transformación de las materias primas en los campos industriales. Por ello la FAO y la OMS elaboraron una guía acerca de los cinco pasos para obtener cambios en la inocuidad de los alimentos (OMS, 2019).

- 1) **Garantice la inocuidad:** los encargados o representantes de cada país, estado etc., deben garantizar la inocuidad y nutrición de los alimentos.

- 2) **Cultive alimentos inocuos:** los productos del campo agrícolas deben optar por las buenas practicas, para asegurar la calidad de los alimentos cosechados.
- 3) **Mantengan los alimentos inocuos:** los encargados de operar las empresas transformadoras de alimentos, deben emplear las medidas de seguridad, de transporte, almacén y procesamiento de forma inocua.
- 4) **Compruebe que sean inocuos:** la población consumidora de alimentos debe tener al alcance información oportuna, clara y confiable, acerca de los riesgos por enfermedades alimentarias.
- 5) **Actué conjuntamente en pro de la inocuidad:** los gobiernos, organismos económicos, regionales y de las Naciones Unidas entre otros, deben trabajar en el cuidado y la mejoría de los sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos.

Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS)

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015) contextualiza a los países con menor índice de desarrollo con mayor presencia de enfermedades transmitidas por alimentos ETA siendo la principal causa de muerte por la falta de servicios de salud que puedan dar solución a los padecimientos presentados por los habitantes, la frecuencia de ETA se debe a la falta de las BPH en la producción de alimentos, así como métodos industrializados para la conservación de los mismos. A diferencia de los países con índice de desarrollo las ETA son la principal causa de pérdida económica en gastos de servicios de salud, además las industrias y cualquier medio que se dedique a la producción de alimentos debe acatar e implementar las políticas de inocuidad lo que conlleva a invertir en capacitaciones para sus empleados, así como certificaciones que avalen la calidad e inocuidad de los alimentos que se producen en la industria alimentaria. Un estudio reveló que el 70% de las infecciones diarreicas son causadas por el consumo de alimentos contaminados por microorganismos o toxinas (Zúñiga et al., 2017). Existe alrededor de 250 agentes responsables de causar las ETA dentro del grupo de agentes están las bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales pesados, cada uno de ellos pueden causar mortalidad si no son atendidos correctamente (Jones et al., 2008). Los cambios en los hábitos alimentarios en la población influyen en el incremento de ETA (González et al., 2005).

Agentes causales de ETA

La contaminación con microorganismos patógenos son la principal fuente de transmisión en alimentos derivado de un tratamiento incorrecto en el proceso de transformación, almacenamiento o preparación de los alimentos (Domínguez et al., 2007).

Se conoce como ETA a todas las enfermedades causadas por la ingesta de alimentos contaminados. Las causas más comunes son intoxicaciones e infecciones (Gutiérrez, 2009).

Infección: resultado de ingerir alimentos contaminados por agentes patógenos de tipo parásitos, virus, bacterias como Salmonella presente en huevo, carnes, lácteos, vegetales y frutas peladas. (OPS)

Intoxicación: es la ingesta de alimentos contaminados por agentes químicos o toxinas producidas por gérmenes presentes en alimentos como mohos (OPS).

Principales enfermedades adquiridas por alimentos

La siguiente tabla expresa las principales causantes de enfermedades adquiridas en la ingesta de alimentos contaminados.

Tabla 4 Principales ETAS

ETA	Agente causal	Vía de transmisión	Tiempo de incubación	Síntomas	Alimentos involucrados
Salmonelosis	Bacteria Salmonella spp (Gram-negativa)	Oral	6 a 72 horas después de la exposición Duración: 4 a 7 días	Náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre, dolor de cabeza	Carnes crudas, mariscos crudos, huevos crudos, frutos secos crudos, frutas y verduras
Fiebre tifoidea	Fiebre tifoidea	Oral	1 a 3 semanas después de la exposición Duración: hasta 2 meses	Fiebre alta, letargo, dolor abdominal, diarrea, dolor de cabeza y musculares, pérdida de apetito	Aguas contaminadas, heces de animales

Intoxicación Estafilocócica	Bacteria Staphylococcus aureus (Gram-positivo)	Alimentos contaminados con enterotoxinas de S. aureus	1 a 7 horas después de la exposición Duración: desde un par de horas a 1 día	Náusea, calambres abdominales, vómitos y diarrea. casos graves deshidratación, dolor de cabeza.	Productos cárnicos, aves de corral, huevos, ensaladas, productos de panadería, productos lácteos.
Enterocolitis por E. coli	Bacteria Escherichia Coli (Gram-negativa)	Oral	4 horas después de la exposición Duración: 21 a 120 días	Diarrea acuosa, vómitos y fiebre leve.	Alimentos y líquidos contaminados con heces.
Gastroenteritis por Clostridium perfringens	Bacteria Clostridium perfringens (Gram-positiva)	Oral	16 horas después de la exposición Duración: 12 horas a 2 semanas	Diarrea acuosa y calambres abdominales	Alimentos que no se utilizan o refrigeran después de ser cocinados (carne y verduras).
Botulismo	Bacteria Clostridium botulium (Gram-positiva)	Oral	18 a 36 horas después de la exposición Duración: semanas a meses	Adultos: visión doble y borrosa, párpados caídos, dificultad para hablar y tragar, boca seca, debilidad muscular Niños: estreñimiento, llanto débil, mala alimentación, dificultad para tragar y respirar, babeo excesivo, debilidad muscular	Latas de alimentos abollados, alimentos envasados en casa.

Gastroenteritis por Bacillus cereus	Bacteria Bacillus cereus (Gram-positivo) existen dos tipos: Tipo diarreaica y tipo emético	Oral	Tipo diarreaica: entre 6 a 15 horas después de la exposición Tipo emético: entre 0,5 a 6 horas después de la exposición Duración: 24 horas	Tipo diarreaicas: diarrea acuosa, dolor abdominal, náuseas y vómito. Tipo emético: náuseas y vómito	Arroz alimentos ricos en almidón, carnes, verduras, leche no pasteurizada.
Listeriosis	Bacteria Listeria monocytogenes (Gram-positivo)	Oral	Entre un par de horas hasta 2 a 3 días después de la exposición. Duración: desde un par de horas hasta semanas	Fiebre, dolores musculares, náuseas, vómitos y diarrea.	Quesos sin pasteurizar (especialmente blandos), leche no pasteurizada, pescados, camarones cocidos, mariscos ahumados, carnes, embutidos.
Shigelosis	Bacteria Shigella (Gram-negativa)	Persona a persona es la ruta fecal-oral. Comida, moscas, dedos, heces, fómites	8 a 50 horas después de comer. Duración: 5 a 7 días	Dolor abdominal, calambres, diarrea, fiebre, vómitos, sangre pus o moco en las heces.	Alimentos crudos (lechuga, papatas, atún, camarón), leche y productos lácteos, aves de corral.
Cólera	Bacteria Vidrio cholerae serogrupos O1 y O139 (Gram-negativa)	Oral ciclo fecal-oral	Un par de horas después de la exposición y hasta 3 días. Duración: 5 a 7 días	Dolor abdominal, diarrea acuosa, vómitos.	Pescados, mariscos provenientes de aguas contaminadas, agua de beber contaminada,

					verduras y ensaladas.
--	--	--	--	--	-----------------------

Fuente: (FDA, 2012)

A pesar de tomar medidas a favor de contrarrestar la existencia de enfermedades transmitidas por alimentos en países desarrollados y proceso de desarrollo, sigue siendo una problemática significativa. (OMS, 2015)

La comunidad más propensa a padecer estos tipos de ETA son los niños a causa de su inmadurez anatomofuncional, al no tener cuidados en adquirir alimentos en condiciones aceptables. Otro grupo vulnerable son los adultos mayores al tener un sistema propenso a adquirir estos tipos de infecciones podría llegar a comprometer la vida. (Torres et al., 2015)

Alimentos propicios a adquirir alguna de las ETA

Las peculiaridades de los alimentos son un factor importante en el desarrollo de agentes patógenos que llegan a comprometer a la salud de la población, (Rodríguez et al., 2015). Investigaciones realizadas por el instituto de tecnología de alimentos (IFT, 2004) hace referencia acerca de los productos cárnicos, pescado, huevo y derivados de la leche con mayo incide de riesgo en contraer algún tipo de microorganismo alterando el estado físico, químico y nutricional del alimento. A continuación, en la si tabla se mencionan los principales alimentos susceptibles a contraer una contaminación grave, así como los números de casos que se han presentados.

Tabla 5 Brotes según el tipo de alimento

Tipo de alimento	No. de brotes	%
Cárnicos	96	55.5
Repostería	34	19.6
Lácteos	15	8.7
Otros	13	7.5
Pescados y derivados	8	4.6
Elaborados de huevos	7	4.1
Total	173	100

Fuente: Rodríguez et al., 2013

Curva de crecimiento de microorganismos

El crecimiento microbiano consta de 4 fases (figura 3):

- 1) **Fase de adaptación:** las bacterias adaptan su metabolismo en el ambiente que se han alojado para nutrirse y pasar a la siguiente fase.
- 2) **Fase exponencial o logarítmica:** las bacterias comienzan aumentar la velocidad de crecimiento, así mismos empiezan hacer uso de sus nutrientes almacenados para poder multiplicarse.
- 3) **Fase estacionaria:** en esta fase el número de bacterias no aumenta, el metabolismo cambia, además acumulan y liberan metabolitos secundarios responsables de infecciones e intoxicaciones.
- 4) **Fase de muerte:** se reduce la cantidad de bacterias del medio (Corrales *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2016).

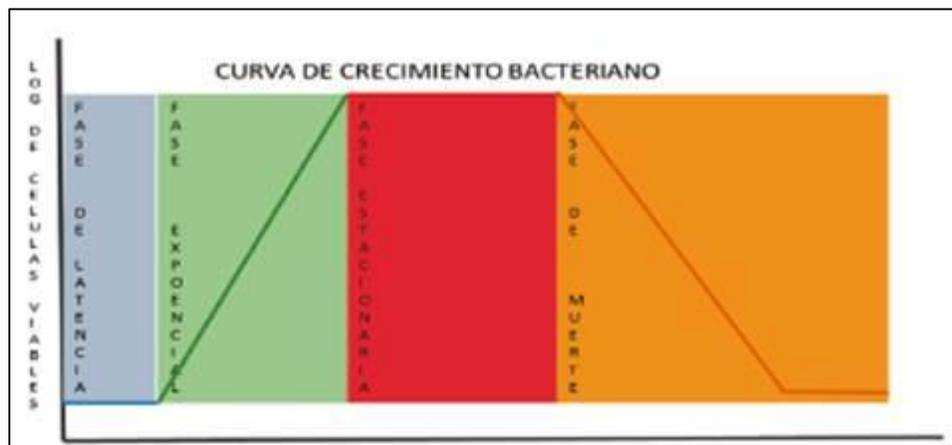


Figura 3. Curva de crecimiento bacteriano (Corrales *et al.*, 2008)

Factores relacionados con el crecimiento microbiano

Los indicadores de crecimiento microbiano necesitan moléculas específicas para alojarse en un medio y crecer. En algunos casos las bacterias buscar coenzimas o precursores como vitaminas para favorecer su medio de crecimiento. Tal es el caso de la bacteria del género *Brucella* que se aloja en medios de cultivo en presencia de biotina, niacina, tiamina y ácido pantoténico. (Corrales *et al.*, 2013)

Factores involucrados en el desarrollo de microorganismos:

Temperatura: los microorganismos tienen una temperatura específica para adaptarse y poder crecer en un medio específico. En temperaturas bajas no hay crecimiento.

microbiano, a diferencia de temperaturas altas el incremento es mayor, sin embargo, cuando el crecimiento microbiano lleva una velocidad acelerada se produce la muerte celular del microorganismo, a diferencia del crecimiento nulo en condiciones de temperaturas bajas se debe a la reducción de la velocidad de reacción enzimática (Prescott *et al.*, 2018).

La tabla 7 clasifica a los microorganismos de acuerdo a la temperatura de crecimiento:

Tabla 7 Clasificación Bacteriana de acuerdo con la temperaturas Cardinales para su desarrollo

CLASIFICACIÓN	T. MÍNIMA	T. ÓPTIMA	T. MÁXIMA
PSICROTROFOS O PSICROTOLERANTES	-5 °C	0 °C	35 °C
PSICRÓFILA	0 °C	12 – 15 °C	20°C
MESÓFILA	20°C	35 – 37°C	42°C
TERMÓFILA	42°C	56°C	80°C
HIPERTERMÓFILA	60°C	80 °C	Más de 110 °C
TERMÓTROFOS	15 – 20 °C	30 – 40 °C	45 – 50 °C

Fuente: Tomado de Conceptos Básicos de Microbiología (Corrales *et al.*, 2008)

pH: los microorganismos crecen por lo regular en condiciones de pH 7 integrado por el grupo de los neutrófilos, mientras que los acidófilos se desarrollan a un pH inferior a 5, sin embargo, existen microorganismos que logran crecer en pH con valores igual o mayores a 8 pertenecen al grupo de los basófilos o alcalófilos (Madigan *et al.*, 2002). Figura 4

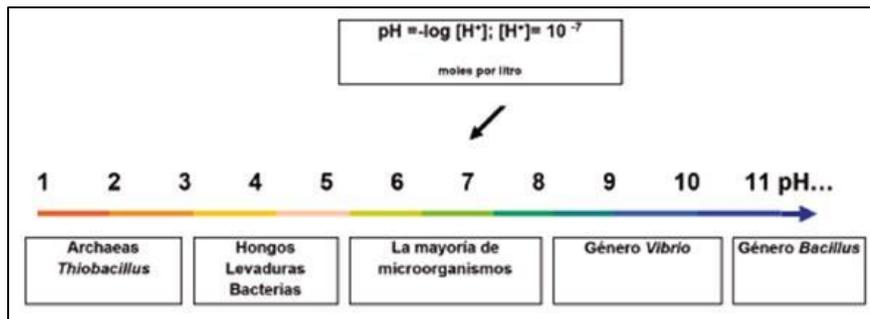


Figura 4. Rangos de pH en el crecimiento bacteriano (Corrales *et al.*, 2008)

Actividad de agua: los microorganismos que se alojan en medios con actividad de agua baja, retienen el crecimiento, sin embargo, el hecho de no contener el agua suficiente para su crecimiento no garantiza la muerte inmediata del microorganismo si no que se delimita y resiste

por un tiempo prolongado tal es el caso de las esporas. El agua está conformada por moléculas que representan una geometría molecular generando una dipolaridad elevada (Marín, 2009).

Potencial del óxido-reducción (REDOX)

Las reacciones de óxido reducción contienen una sustancia oxidante que (gana electrones) y un agente reductor (pierde electrones), (Petrucci *et al.*, 2017). La reacción redox se encarga de medir la cantidad de ganar o perder electrones. La concentración de oxígeno se ve involucrado en este mecanismo de redox, algunos microorganismos hacen uso de medios oxidantes para desarrollarse, sin embargo, otros organismos buscan ambientes con reducción de oxígeno.

Queso fresco

En particular, el Queso fresco de Chiapas es un queso genuino mexicano, el cual pertenece al grupo de quesos de pasta blanda, fresca y prensada. Se elabora con leche de vaca procedente de ganado de doble propósito, cruda o bronca, entera o parcialmente descremada (Enríquez, 2011).

Distribución:

Características del queso fresco Queso de pasta blanda, fresca, prensada, con cuajada mixta (ácido-enzimática). Tiene una forma de prisma rectangular. Pesa entre 0.5 y 1Kg.

Método de elaboración: La producción de queso fresco generalmente se lleva a cabo utilizando equipos automáticos. El proceso comienza con la pasteurización y fermentación de la leche, Luego las masas de queso se cortan y se separan en trozos más pequeños mediante cortadoras especiales, Estas piezas se pasan a través de un homogeneizador, La homogeneización asegura que las masas de queso tengan una textura más suave, a continuación, las masas se amasan en mezcladoras y se mezclan con sal, especias, aromas u otros ingredientes. En esta etapa, se determinan las características del queso. Como se muestra en la figura 5, el método de elaboración.

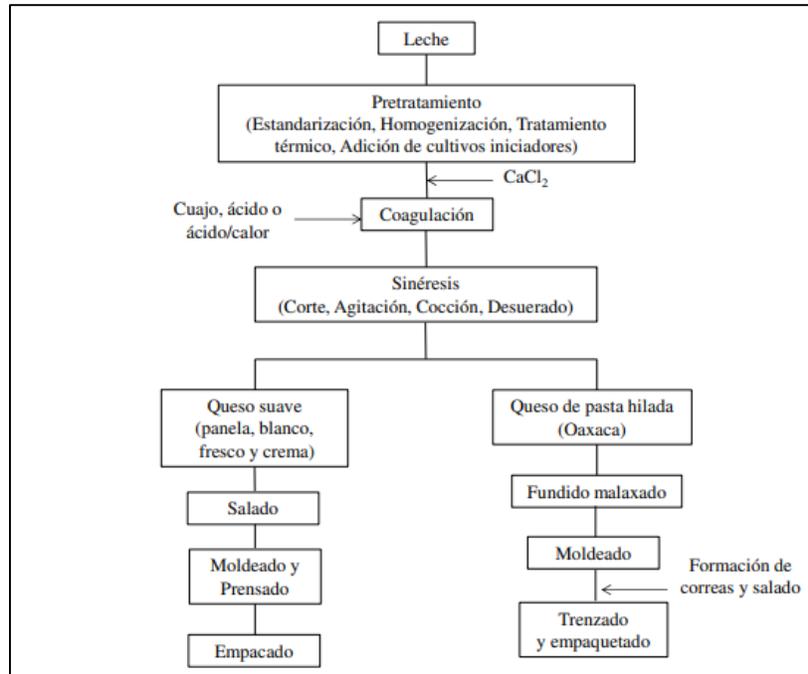


Figura 5. Diagrama general para la elaboración de queso fresco. (Gunasekaran *et al.*, 2003)

Composición nutrimental

Composición nutrimental del queso fresco

Fibra (%)	Humedad(%)	Proteína(%)	Cenizas(%)	Grasas (%)	CHO (%)	Calorías (Ca1/g)
1,02	54,87	26,88	1,29	11,65	4,29	229,53

Fuente: (Parra *et al.*, 2012)

HIPÓTESIS

Los quesos frescos expedidos por los distintos mercados de la Ciudad de Tuxtla Gutiérrez Chiapas, son exhibidos bajo condiciones inadecuadas de refrigeración, lo que propicia el aumento de carga microbiana afectando la salud de los consumidores.

METODOLOGÍA

TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación a desarrollar es de tipo cuasi- experimental, descriptiva y con enfoque cuantitativo. Cuasi-experimental, debido a que se seleccionó el lugar donde se tomó la muestra y el tipo de queso, además, de que con los resultados se describió la calidad e inocuidad de los quesos y su cumplimiento con los parámetros permitidos en las normas oficiales.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En dicha investigación se analizaron muestras de quesos que frescos fueron tomadas de distintos mercados de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, los análisis microbiológicos fueron realizados por triplicado, En la tabla 10, se presenta el diseño experimental de la investigación.

Tabla 6 Diseño experimental

MERCADOS	UBICACIÓN
Santa Cruz	Av. Tercera Nte. Pte., Terán, 29050 Tuxtla Gutiérrez, Chis.
Rafael Pascasio Gamboa	Calle Primera Pte. Sur 453, Asamblea de barrio, El Calvario, 29000 Tuxtla Gutiérrez, Chis.
San Juan	Mercado San Juan, C. El Pensil, Los Choferes, 29077 Tuxtla Gutiérrez, Chis.

MATERIA PRIMA

Queso fresco

MUESTRA

Las muestras serán recolectadas de tres puntos distintos de la ciudad Tuxtla Gutiérrez Chiapas, los mercados Juan Sabines ubicado en el centro de la capital, San Juan ubicado del lado sur oriente y en el lado norte el mercado Santa Cruz en San José Terán.

MUESTREO

Se llegó al punto de venta de los quesos frescos para ser adquiridos y trasladados a la UNICACH, para su posterior análisis microbiológico en el Laboratorio de Investigación y Productos Funcionales (LIDPF).

VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
<ul style="list-style-type: none">• Tipo de mercado• Tipo de medio	<ul style="list-style-type: none">• Carga microbiológica

DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

El queso fresco es un producto elaborado a los alrededores de los municipios de Tuxtla Gutiérrez, por lo general estos productos son sometidos bajo tratamientos o condiciones no asépticas de acuerdo a las normas de calidad e inocuidad.

MATERIALES Y EQUIPOS

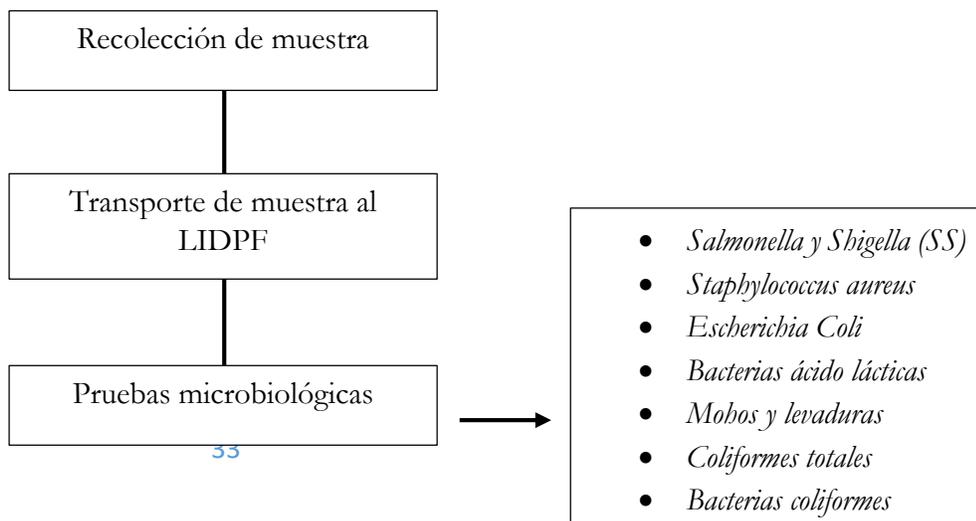
Materiales: vidrio de reloj, cuchillo, pipeta graduada de 10 mL, espátula, cajas petri, matraz erlenmeyer 250 mL, vaso de precipitado de 500 mL, matraz erlenmeyer con tapa rosca de 250 mL, probeta de 250 mL, mortero, agitador magnético, mechero de alcohol, tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca, propipeta, gradilla metálica, micropipeta, puntilla para micro pipeta de 1 mL.

Equipos: parrilla eléctrica (thermo scientific), estufa de cultivo ecoshel, autoclave aesa mod.cv 300, contador de colonias, balanza sartorius, campana de extracción novatech.

REACTIVOS

Agua destilada (esteril, BD Bioxon) Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA), (Difco™) Caldo lactosa verde brillante, (DIBICO) Agar papa dextrosa, (Difco™) Agar MRS, (BD Bioxon) Agar Salmonella-Shigella, Agar 110.

DIAGRAMA DE FLUJO DE EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA



DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS

Determinación de salmonella y shigella (SS)

Medio de cultivo

Agar para Salmonella y Shigella (SS)

Preparación del medio.

Suspender los ingredientes en un litro de agua destilada estéril y calentar a ebullición hasta disolución completa. Ajustar el pH. No esterilizar en autoclave. Enfriar a 50°C y distribuir en cajas de petri estériles en condiciones asépticas. El aspecto del medio fundido es claro y de color rosado.

Materiales y equipo

Horno para esterilizar que alcance los 180°C. Incubadora con termostato para evitar variaciones mayores de $\pm 0,1^\circ\text{C}$ y termómetro. Autoclave con termómetro o manómetro, probado con termómetro de máximas. Baño maría con termostato y termómetro. Balanza granataria con sensibilidad de 0,1 g, o Balanza de precisión o analítica. Licuadora de una o dos velocidades controladas por un reóstato, con vasos esterilizables (vidrio o aluminio). Mecheros Bunsen o Fisher. Potenciómetro. Matraces Erlenmeyer de 500 mL. Recipientes de boca ancha, de capacidad apropiada para contener las muestras simples y compuestas. Cucharas, bisturíes, cuchillos y pinzas. Tubos de ensaye de 16 x 150 mm y de 20 x 100 mm. Pipetas bacteriológicas de 10,0 y 5,0 mL, graduadas en 0,1 mL y protegidas con tapón de algodón. Pipetas de 1 mL, con graduaciones de 0,01 mL. Cajas de petri estériles de vidrio o desechables. Rejillas para tubos de ensaye. Asa de platino o nicromel de aproximadamente 3 mm de diámetro. Papel pH (intervalo de 6-8) con graduaciones máximas de 0,4 unidades de pH para cambios de color. Todo el material que tenga contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante: Horno, durante 2 horas a 170-175°C o autoclave, durante 15 min como mínimo a $121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Perilla. Vórtex. Estomacher (opcional)

Preparación de muestra

Pesar asépticamente 25 g de la muestra en una caja petri estéril. Adicionar 90 mL del medio preenriquecimiento estéril.

Procedimiento

Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.

Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 ml del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar. Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos. Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) a una temperatura de 35°C por 24 y 48 h.

Determinación de Staphylococcus aureus

Medio de cultivo

Agar para estafilococos 110

Preparación

Disolver los ingredientes o el agar base en agua y calentar con agitación constante y hervir durante 1 min. Esterilizar a 121°C ±1 durante 15 min. Enfriar y mantener el medio a 45°C. En el caso de usar medio base deshidratado, seguir las indicaciones del fabricante.

Materiales y equipos

Todos los instrumentos que se utilicen para trabajar la muestra deben esterilizarse mediante horno, durante 2 h de 170-175°C o como alternativa en autoclave durante 15 min como mínimo a 121°C ±1.

Cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas y separador de huevo. Tubos de cultivo de 16 mm x 150 mm o frascos de 125 a 250 mL de capacidad, con tapón de rosca. Tubos de cultivo de 10 mm x 75 mm, con tapón de rosca. Cajas Petri de 90 a 100 mm de diámetro. Pipetas bacteriológicas de 1 mL y 10 mL de capacidad graduadas en 0,1 mL y 1 mL respectivamente y diámetro de 2 a 3 mm. Pipetas Pasteur. Probetas. Varillas de vidrio de 3,5 mm de diámetro aproximadamente y 20 cm de largo dobladas en ángulo recto, o varillas de plástico estériles desechables. Matraz Erlenmeyer con perlas de vidrio Cámara húmeda: consiste en una caja Petri en la cual se coloca una varilla de vidrio en forma de "V" rodeada de algodón humedecido con agua. Horno para esterilizar que alcance 180°C. Autoclave con termómetro. Baño de agua con regulador de temperatura de 35 ± 0,5°C. Baño de agua con regulador de temperatura de 45 ±

0,5°C. Balanza con capacidad no mayor de 2,500 g y sensibilidad de 0,1 g. Incubadora a 35 ± 1°C.

Preparación de la muestra

Pesar una cantidad de 10 u 11 g de la muestra por analizar en un recipiente o bolsa plástica estériles de tamaño adecuado. Adicionar un volumen de 90 a 99 mL del diluyente llevado a una temperatura similar a la de la muestra. Operar la licuadora o el homogeneizador peristáltico de 1 a 2 minutos hasta obtener una suspensión completa y homogénea según se indique en la técnica correspondiente para cada alimento. Aun en los equipos más lentos, este tiempo no debe exceder de 2,5 minutos. Permitir que las partículas grandes se sedimenten, y transferir la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión. Cuando la dilución primaria es muy viscosa o pegajosa, adicionar más diluyente, lo cual debe tomarse en cuenta para las operaciones subsecuentes o expresión de resultados. El homogeneizador peristáltico (Stomacher) puede no ser adecuado para algunos productos (por ejemplo, aquellos con partículas agudas o constituyentes que no se dispersen fácilmente). Debe ser utilizado sólo cuando exista evidencia (publicada o por ensayos comparativos) de que los resultados obtenidos no difieren significativamente con aquellos obtenidos con licuadora.

Procedimiento

Utilizando diferentes pipetas de 1 mL para cada dilución, depositar 0,1 mL sobre la superficie de las placas de agar para estafilococos 110. Distribuir el inóculo sobre la superficie del agar con varillas estériles de vidrio en ángulo recto, utilizando una para cada dilución. Mantener las placas en su posición hasta que el inóculo sea absorbido por el agar. Invertir las placas e incubar de 45 a 48 h a 35°C. Seleccionar las placas que tengan entre 15 y 150 colonias típicas de *Staphylococcus aureus*; si no es posible, seleccionar las placas de las diluciones más altas no obstante tengan más de 150 colonias. Cuando las placas tengan menos de 15 colonias típicas también pueden ser utilizadas y al informe se debe agregar la nota de "valor estimado". Las colonias típicas son negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2mm y muestran una zona opaca y un halo claro alrededor de la colonia.

Determinación de Escherichia Coli

Medio de cultivo

Agar Macconkey

Preparación del medio de cultivo

Suspender los componentes del medio deshidratado en un litro de agua. Hervir hasta total disolución. En caso de medios deshidratados seguir las instrucciones del fabricante.

Preparación de la muestra

Las muestras deben prepararse y diluirse, siempre que sea posible, de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Procedimiento

Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado. Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 ml del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar. Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos. Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) a una temperatura de 35°C por 24 y 48 h.

Determinación de Bacterias ácido lácticas

Medio de cultivo

Agar MRS

Preparación del medio de cultivo.

Suspender los componentes del medio deshidratado en un litro de agua. Hervir hasta total disolución. Distribuir en recipientes de vidrio esterilizables de capacidad no mayor de 500 ml, cantidades de aproximadamente la mitad del volumen del mismo. Esterilizar en autoclave a $121 \pm 1,0$ °C, durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser $7,0 \pm 0,2$ a 25°C. Si el medio de cultivo es utilizado inmediatamente, enfriar a $45^\circ\text{C} \pm 1,0$ °C en baño de agua y mantenerlo a esta temperatura hasta antes de su uso. El medio no debe de fundirse más de una vez. En caso de medios deshidratados seguir las instrucciones del fabricante. El medio de cultivo anterior es el

de uso más generalizado. Para algunos alimentos en particular se requerirá de un medio de cultivo especial que se debe indicar al describir la técnica para ese alimento.

Materiales

Todo el material que tenga contacto con las muestras o los microorganismos debe estar estéril. Se requiere, los materiales mencionados en la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Aparatos e instrumentos

Se requiere, además de los mencionados en la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, los siguientes: Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0^{\circ}\text{C}$, provista con termómetro calibrado. Contador de colonias de campo obscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador. Registrador mecánico o electrónico. Microscopio óptico. Baño de agua con o sin circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de hasta $1,0^{\circ}\text{C}$ y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

Preparación de la muestra

Para la preparación de la muestra seguir la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Procedimiento

Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado. Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 ml del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar. Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos. Incubar

las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requieran, según el tipo de alimento y microorganismo de que se trate, véase el cuadro 1.

CUADRO 1

Grupo Bacteriano	Temperatura	Tiempo de Incubación
Termofílicos aerobios	55 ± 2°C	48 ± 2 h
Mesofílicos aerobios	35 ± 2°C	48 ± 2 h
Psicrotróficos	20 ± 2°C	3 - 5 días
Psicrofílicos	5 ± 2°C	7 - 10 días

Determinación de mohos y levaduras

Medios de cultivo.

Agar papa - dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada.

Preparación del medio de cultivo.

Seguir instrucciones del fabricante y después de esterilizar, enfriar en baño de agua a $45 \pm 1^\circ\text{C}$, acidificar a un pH de $3,5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1,4 ml de ácido tartárico por 100 ml de medio). Después de adicionar la solución, mezclar y medir el pH con potenciómetro. Dejar solidificar una porción del medio. Hacer esto en cada lote de medio preparado. A fin de preservar las propiedades gelificantes del medio, no calentar después de agregar el ácido tartárico.

Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 1 ml y 2 ml), con tapón de algodón. Pueden utilizarse pipetas graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total. Cajas Petri. Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca. Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca. Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc. Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio, deben esterilizarse mediante: Horno, durante 2 h de 170 a 175°C o por 1h a 180°C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C . Incubadora con termostato que pueda ser mantenido a $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$ provista con termómetro calibrado. Autoclave que alcance una temperatura mínima de $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de $0,1^\circ\text{C}$ y que

mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$. Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadriculada y lente amplificador. Registrador mecánico o electrónico. Microscopio óptico. Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25°C .

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Procedimiento

Colocar por duplicado en cajas Petri 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril. Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución. Verter de 15 a 20 ml de agar papa dextrosa acidificado, fundido y mantenido a $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ en un baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que es vertido el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos. Mezclar cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Permitir que la mezcla se solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Preparar una caja control con 15 ml de medio, para verificar la esterilidad. Invertir las cajas y colocarlas en la incubadora a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, seleccionar aquellas placas que contengan entre 10 y 150 colonias. Si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis. Si es necesario, cuando la morfología colonial no sea suficiente, examinar microscópicamente para distinguir las colonias de levaduras y mohos de las bacterias.

Determinación de coliformes totales en placa

Medio de cultivo

Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA)

Preparación del medio de cultivo.

Mezclar los componentes en el agua y dejar reposar durante algunos minutos. Mezclar perfectamente y ajustar el pH a 7,4 con ácido clorhídrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N a

25°C, de forma que después del calentamiento se mantenga en este valor. Calentar con agitación constante y hervir durante 2 minutos. Enfriar inmediatamente el medio en un baño de agua hasta que llegue a 45°C. Evitar el sobrecalentamiento del medio. No debe esterilizarse en autoclave. Usar el medio dentro de las tres primeras horas después de su preparación. En el caso de utilizar medio de cultivo deshidratado, seguir las instrucciones del fabricante.

Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 11 y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total. Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca. Tubos de 16 X 150 mm con tapón de rosca. Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc. Cajas Petri. Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante: Horno, durante 2 h a 170 - 175°C, o 1 h a 180°C; o en autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$. El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C. Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas. Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de $0,1^\circ\text{C}$ y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Licuadora de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher). Vasos para licuadora con tapa esterilizables o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0^\circ\text{C}$, provista con termómetro calibrado. Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador. Registrador mecánico o electrónico. Microscopio óptico. Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25 °C.

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico".

Procedimiento

Colocar en cajas Petri por duplicado 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril. Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución. Vertir de 15 a 20 ml del medio RVBA fundido y mantenido a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en baño de agua. En el caso de utilizar cajas de Petri de plástico se vierte de 10 a 15 ml del medio. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos. Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Permitir que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Preparar una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad. Después de que está el medio completamente solidificado en la caja, verter aproximadamente 4 ml del medio RVBA a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en la superficie del medio inoculado. Dejar que solidifique. Invertir las placas y colocarlas en la incubadora a 35°C , durante 24 ± 2 horas. Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias con el contador de colonias. Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.

Determinación de Bacterias coliformes

Medio de cultivo

Caldo lactosa bilis verde brillante

Preparación

Disolver los componentes o el medio completo deshidratado en agua, calentar si es necesario. Ajustar el pH, de tal manera que después de la esterilización éste sea de 7,2 a 25°C . Distribuir el medio en cantidades de 10 ml en tubos de 16 X 160 mm conteniendo campana de fermentación. Esterilizar en autoclave por 15 minutos a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$. Las campanas de fermentación no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.

Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 11 y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total. Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca. Utensilios esterilizables para la obtención

de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc. Tubos de cultivo 20 x 200 mm y de 16 x 160 mm con tapones metálicos o de rosca. Campanas de fermentación (tubos de Durham). Pipetas bacteriológicas graduadas de 10 y 1 ml. Gradillas. Asa de platino o nicromel de aproximadamente 3 mm de diámetro. Todo el material que tenga contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante: Horno, durante 2 horas a 170 a 175 °C o 1 h a 180 °C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0$ °C. El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170 °C. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0$ °C, provista con termómetro calibrado. Termómetro de máximas y mínimas. Autoclave que alcance una temperatura mínima de $121 \pm 1,0$ °C. Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25 °C.

Preparación de la muestra

Las muestras deben prepararse y diluirse, siempre que sea posible, de acuerdo a la NOM-110-SSA1- 1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

Procedimiento

Inoculación. Tomar tres tubos de medio de enriquecimiento de mayor concentración. Usar una pipeta estéril para transferir a cada tubo 10 ml de la muestra si es líquida o 10 ml de la dilución primaria inicial, en el caso de otros productos. Tomar tres tubos de concentración sencilla del medio selectivo de enriquecimiento. Usar una pipeta estéril para transferir a cada uno de estos tubos 1 ml de la muestra si es líquida o 1 ml de la dilución primaria en el caso de otros productos.

9.2.1.1.2 Para las diluciones subsecuentes, continuar como se indica en el párrafo anterior, usando una pipeta diferente para cada dilución. Mezclar suavemente el inóculo con el medio.

9.2.1.2 Incubación. Incubar los tubos a $35 \pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas y observar si hay formación de gas, en caso contrario prolongar la incubación hasta 48 ± 2 horas.

El análisis microbiológico de los quesos de tres diferentes mercados regionales de Tuxtla Gutiérrez Chiapas (Terán, San Juan y Centro), para la determinación de calidad, buenas prácticas de higiene y manufactura durante su elaboración, se pudo observar los siguientes resultados de acuerdo a las especificaciones de las normas (colocar aquí las NOM):

tabla 1; mercado de Terán, de acuerdo a los resultados obtenidos de la muestra se encuentra no apto para consumo humano debido a que sobrepasa lo establecido por las normas, indicando que no se aplicaron buenas prácticas de higiene y manufactura durante la elaboración.

tabla 2; mercado San Juan, de acuerdo a los resultados obtenidos de la muestra se encuentra no apto para consumo humano debido a que sobrepasa lo establecido por las normas, indicando que no se aplicaron buenas prácticas de higiene y manufactura para su elaboración.

tabla 3; mercado Centro, de acuerdo a los resultados obtenidos de la muestra se encuentra apto para consumo humano debido a que cumple lo establecido por las normas, indicando que se aplicaron buenas prácticas de higiene y manufactura para su elaboración.

La comparativa y análisis de resultados se llevaron a cabo con las normas correspondientes:

NOM-114-SSA1-1994

NOM-243-SSA1-1994

NOM-115-SSA1-1994

NOM-111-SSA1-1994

NOM-112-SSA1-1994

NOM-113-SSA1-1994

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

TABLA 1. MERCADO SANTACRUZ TERAN, TUX

DETERMINACION	RESULTADOS	PARAMETROS	DICTAMEN DE LA ESPECIFICACION
Agar BRV- bacterias coliformes totales	Incontable	≤100 UFC/g o ml	Fuera de norma
caldo BVB-bacterias coliformes fecales	Negativo	Negativo	Dentro de norma
Agar papa-destrosa mohos y levaduras	Incontable	500 UFC/g o ml	Fuera de norma
Agar staphylococcu 110-bacterias staphy	Incontable	1000UFC/g o ml	Fuera de norma
Agar MAC-bacterias echerichia coli	67 UFC/g o ml	100 UFC/g o ml	Dentro de norma
Agar salmonella shigella	65 UFC/ g o ml	Ausente	Fuera de norma
MRS Bacterias acido lácticas	Incontable	1x10 ⁶ UFC/g o ml	Fuera de norma

TABLA 2. MERCADO SAN JUAN, TUX

DETERMINACION	RESULTADOS	PARAMETROS	DIACTAMEN DE LA ESPECIFICACION
Agar BRV- bacterias coliformes totales	35 UFC/ g o ml	≥100UFC/g o ml	Dentro de norma
caldo BVB-bacterias coliformes fecales	Negativo	Negativo	Dentro de norma
Agar papa-destrosa mohos y levaduras	Incontable	500 UFC/g o ml	Fuera de norma
Agar staphylococcu 110-bacterias staphy	Incontable	1000 UFC/g o ml	Fuera de norma
Agar MAC-bacterias echerichia coli	Incontable	100 UFC/g o ml	Fuera de norma
Agar salmonella shigella	Incontable	Ausente	Fuera de noma
MRS Bacteria ácido láctico	incontable	1x10 ⁶ UFC/g o ml	Fuera de norma

TABLA 3. MERCADO CENTRO, TUX

DETERMINACION	RESILTADOS	PARAMETROS	DICTAMEN DE LA ESPECIFICACION
Agar BRV- bacterias coliformes totales	17 UFC/ g o ml	≤100 UFC/g o ml	Dentro de norma
caldo BVB-bacterias coliformes fecales	Negativo	Negativo	Dentro de norma
Agar papa-destrosa mohis y levaduras	1 UUFC/g o ml	500 UFC/g o ml	Dentro de norma
Agar staphylococcu 110-bacterias staphy	Negativo	1000 UFC/g o ml	Dentro de norma
Agar MAC-bacterias echerichia coli	Negativo	100 UFC/g o ml	Dentro de norma
Agar salmonella shigella	Negativo	Ausente	Dentro de norma
Bacterias acido lácticas	150 UFC/g o ml	1x10 ⁶ UFC/g o ml	Dentro de norma

Discusión

Los mercados santa cruz y san juán cuentan con una alta contaminación de microorganismos debido a que ambos quesos se encontraban expuestos a la intemperie sin ningún tipo de refrigerante lo cual no es nada favorable para los productos derivados de la leche, así como su personal no contaba con la vestimenta adecuada para la manipulación de alientos, siendo su manipulación uno de las principales fuentes de contaminación debido a esto ambos quesos están fuera de norma no siendo aptos para el consumo lo cual los resultados se representan en la tabla 1 y 2, a diferencia del queso del mercado del centro que contaba con las estaciones adecuadas, todos sus quesos se encontraban en refrigeración así como su personal contaba con la vestimenta adecuada tanto como capacitación siendo que en los análisis realizados fueran muy favorables para este queso estando dentro de norma lo cual lo ase apto para el consumo humano como lo expresa la tabla de resultados 3

CONCLUSION

En la investigación correspondiente se pueden apreciar los diferentes análisis microbiológicos que se ha realizando a los quesos frescos obtenidos de 3 mercados distintos en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Así como en su momento de recolección de dichos quesos donde se pudo apreciar que no existe ninguna regulación de higiene por parte de la secretaria de salud de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas lo cual hace que en su gran mayoría los establecimientos vendas sus productos en condiciones no aptas, al igual que recomendaciones aptas que se hacen para mejorar las instalaciones, vestimenta, manipulación y cuenten con las condiciones aptas para su venta.

REFERENCIAS DOCUMENTALES

ANÓNIMO. Clasificación de los microorganismos. 1-7. [en línea]. Fecha de publicación: 21 de Abril, 2014. Consultado: 25 de Julio, 2024. Disponible en: [http://www.bioygeo.info/pdf/18_Clasificacion_microorganismos.pdf].

ANÓNIMO. Microorganismos. Bionova. 1-17. [en línea]. Fecha de publicación: 21 de Abril del 2014. Consultado: 25 de Julio, 2024. Disponible en: [<http://www.bionova.org.es/biocast/documentos/tema20.pdf>].

ANHALT JP. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Anal Chem.* (47) :219-25, 1975.

ARTHUR, María. Emerging microbiological food safety issues. *Food Technology.* Vol 56, (2): 48-51. 2002.

BRENNER, Don, KRIEG, Noel, STALEY, James, GARRITY, George. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Nueva York, Springer Verlag. Vol 2. 2005.

BIBEK, Ray. *Fundamentos de Microbiología de los alimentos.* 4ª. ed. México: Mc Graw Hill. 2010. 352 p.

BROCK, Thomas. *Biology of microorganisms, USA,* Prentice Hall (1998)

CAYCEDO, Liliana, CONSTANZA, Lucía, TRUJILLO, Diana. Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova.* Vol 19, (36). Bogotá. Junio, 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>

CLARRIDGE III JE. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev.* (17):840–62, 2004.

COFEPRIS. Catálogo oficial de medios de cultivo [en línea]. México: 2022. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/791017/Cat_logo_oficial_de_medios_de_cultivo.pdf

CORRALES, Lucia, GONZÁLEZ Ana, ÁVILA Sara. Conceptos Básicos de Microbiología. Bogotá- Colombia: Editorial Universidad Colegio Mayor De Cundinamarca. 2008.

CORRALES L, ÁVILA. S, ESTUPIÑÁN. M., Bacteriología Teoría y Práctica. Bogotá-Colombia: Editorial Universidad Colegio Mayor De Cundinamarca, 2013.

DÍAZ, M., GARCÍA, M., JIMÉNEZ, J., GUZMÁN, J. y VILLANUEVA, A. Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio. *Estudios Sociales: Revista de investigación científica*. Vol 25, (47): 87- 110, 2016.

FERNÁNDEZ, Sergio, MARCÍA, Jhuniór, BU, Jessy, BACA, Yanina, CHAVEZ, Vilma, MONTOYA, Hector, VERALA, Ingris, RUÍZ, Jenny, LAGOS, Suany, ORE, Franklin. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. Vol 5, (2); 2284. México, 2021.

Food and Drug Administration (FDA). Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins. [en línea]. 2. ed. New Hampshire; 2012. Consultado: 22 de Julio, 2024. Disponible en: [<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM297627.pdf>].

FUNG, Daniel. Rapid methods and automation in microbiology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol 1, (1): 3-22. 2002^a.

GARCÍA, A, MEDINA, A, JAQUINET, M, FRÍAS, R. Aplicación del diccionario de actividades al proceso de gestión de la inocuidad en servicios gastronómicos. *Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo*, Vol 11, (3): 387-412. 2017.

GUNASEKARAN, S. y Ak, M.M. Cheese Rheology and Texture. *CRC Press*. Nueva York, EE.UU. 437 pp. 2003

GONZÁLEZ, F.T, ROJAS, H.R., “Enfermedades transmitidas por alimentos y pcr: prevención y diagnóstico”, *Salud Pública de México*, Vol 47 (5): 388-391, 2005.

GÜNTER, Hans, ZABOROSCH, Christiane. *Microbiología general*. Nueva edición. Barcelona: Omega, 1997. 669 p.

KIM, Kyukwang, CHOI, Pato, LIM, Hwijoon, KIM, Hyeong, JEON, Jessie. Examen in situ basado en marcadores de visión del crecimiento bacteriano en medios de cultivo líquidos. *Sensores (Basilea)*. Vol 16, (12): 2179. Diciembre de 2016. <https://doi.org/10.3390/s16122179>

LÓPEZ, Hontangas, CASTILLO, Francisco, SALAVERT, Miguel. Técnicas de identificación [en línea]. Enero. 2015. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/266052838>

MARTÍN, Rosario. Métodos rápidos y automatizados aplicados al análisis microbiológico de los alimentos [en línea]. Facultad de veterinaria. Universidad complutense de Madrid. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/230316061.pdf>

MADIGAN, Michael, MARTINKO John, PARKER, Jack. *Brock Biología de los microorganismos*. 8va edición. Editorial Prentice Hall. Madrid 2002.

MARÍN, Bienvenido. *Manual de química del agua*. Editorial Universidad del Magdalena. Santa Martha. Colombia. 2009; 17.

MAYORAL, Sandra, REYES, Daniela. ¿Qué son los microorganismos?. [en línea]. Fecha de publicación 14 de Abril, 2018. Consultado: 25 de Julio, 2024. Disponible en: <https://conogasi.org/articulos/que-son-los-microorganismos/>

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

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-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

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

NORMA Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella 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.

OMS. Clasificación de microorganismos según grupos de riesgos (OMS, Manual de Bioseguridad en Laboratorio). 3ª. ed. Ginebra: OMS, 2005. 223 P.

OMS. La inocuidad de los alimentos es responsabilidad de todos [en línea]. Junio. 2019. Roma. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/06-06-2019-food-safety-is-everyones-business>

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Recuperado de: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200047/1/WHO_FOS_15.02_spa.pdf.

PARRA, Ricardo, FONSECA, Eliana. Características fisicoquímica, proximal y sensorial de un queso tipo crema saborizado. *Vitae*. Vol 19, (1). Colombia. Abril, 2012. S216-S218.

PAGE, R., BURK, D., & ARYANA, K. “Cell Wall Integrity and Protoplast Formation of the Probiotic *Lactobacillus acidophilus* through Fluorescent Staining and Fluorescence Microscopy”. *J Prob Health*. Vol 8, (218): 1-5, 2020.

PRATS Guillem. Microbiología clínica. 1era Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España. 2008. 219-221.

PETRUCCI, Ralph. HERRING, Geoffrey, MADURA, Jeffry. BISSONNETTE, Carey. Química General. Principios y aplicaciones modernas. 11a edición. Editorial Pearson. 2017. 1528 p.

PRESCOTT LM, WILLEY, Joanne, SHERWOOD Linda, WOOLVERTON Christopher. Microbiología. 5 ème edition. De Boeck Supérieur; Louvain-la-Neuve. 2018.

RAMÍREZ, Luis y MARTÍNEZ, Luis. Agrobiología Una visión general y sus aplicaciones [en línea]. Brasil: 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.4322/mp.2020.001>

RODRÍGUEZ, H, BARRETO, G, SEDRÉS, M, GUEVARA, G, BERTOT, J. Los cárnicos: vehículos principales en los brotes de enfermedades alimentarias bacterianas en Camagüey, Cuba (Meat products: main vehicles of the bacterial foodborne outbreaks in Camagüey, Cuba). *Revista electrónica de Veterinaria*. Vol 14, (3). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030313/031307.pdf>. 2013.

SÁNCHEZ, María, GÓNZALEZ, Tania, AYORA, Teresa, MARTÍNEZ, Zahaed, PACHECO, Neith. ¿Qué son los microbios? *Ciencia*. Vol 68, (2). Junio, 2017.

SÁNCHEZ G.J.; Microbiología. (IV)1- 17. [en línea]. Fecha de publicación: 21 de Abril, 2014. Consultado: 25 de Julio, 2024. Disponible en: [http://www.catedras.quimica.unlp.edu.ar/ingenieriabioquimicaIyII/microbiologia.pdf].

TAUXE, Roberto. Patógenos emergentes transmitidos por los alimentos. *International Journal of Food Microbiology*. Vol 78, (1)(2): 31-41. Septiembre, 2002.

TILOCCA, B, COSTANZO, N, RONCADA, P. Foodomics and Microbiological Risk Assessment of Food, Reference Module in Food Science, Elsevier. 2020.

TORTORA, Funke, Case; Introducción a la microbiología. 9 na edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires- Argentina. 2007: 283-292, 327-330, 345-370, 389-397.

TORRENS, Herlinda, ARGILAGOS G.B, CABRERA, Martha, VALDÉS J.B, SÁEZ S.M, VIERA G.G. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, Vol 16, (8):1-27, 2015.

VARGAS, Tatiana, VILLAZANTE, Leydi. Clasificación de los microorganismos. *Revista de Actualización Clínica Investiga*. ISSN 2304-3768. Vol 44; 2309-2313, 2014.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se puede apreciar como en los mercados de Tuxtla (santa cruz, Rafael pascasio gamboa y san juán) cuentan con una alta deficiencia en la parte de higiene, sus productos se encuentran sometidos a la intemperie por lo cual no cuenta con las temperaturas adecuadas, para los productos lácteos o son manipulados directamente ya que el personal no cuenta con la vestimenta adecuada y al no tener producto básico de limpieza como agua potable podría presentar contaminación física, química o microbiológica.

Al realizar los análisis microbiológicos correspondientes con los quesos de los tres mercados se pudo apreciar como los resultados eran positivos principalmente arrugando altas cantidades de contaminación como lo es estaphilococcus aureus, salmonela shigella, mohos y levaduras

Recomendaciones

Para todos los vendedores de quesos en los establecimientos del mercado deben de contar un análisis de recepción de la leche es decir inspeccionar que la leche que se utilizara para elaborar su producto (queso) visual mente no debe presentar ningún tipo de contaminación, los cuales principal mente pueden ser restos de excremento, insecto pequeño, ramas pequeñas, hojas. Para así pasar por un proceso de tamización para eliminar todos aquellos restos aún más pequeños que a simple vista no se pudiesen operar, una vez verificando que la leche no presenta ninguna contaminación física, se someterá a una pasteurización donde la leche debe ser expuesta a una temperatura de 66 a 67 °c por un tiempo de 15 a 30 minutos en constante movimiento para eliminar así todo tipo de microorganismos que pueda contener la leche para así comenzar su proceso de elaboración el personal debe contar con la ropa adecuada en todo momento, ropa blanca, botas blancas, guantes, cofia, cubre bocas para evitar cualquier tipo de contaminación en su proceso de elaboración, el área de trabajo debe contar con un área de higiene para todo el persona que cuente con los productos básicos lo que son, agua, jabón líquido, gel desinfectante, sanitas, letrero de buen lavado de manos.

Una vez elabora el producto este debe estar en todo momento en refrigeración hasta el proceso de su venta a una temperatura de 5°c a 10°c para evitar el crecimiento de cualquier tipo de microorganismo.

El consumidor debe observar que el producto que valla adquirir debe estar expuestos en refrigeración en un área limpia y el personal cuente con la vestimenta adecuada anterior mente mencionada.

GLOSARIO

Agente patógeno: Cualquier microorganismo, como una bacteria o un virus, causante de enfermedad

Bacteria: son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas las partes de la Tierra. Son vitales para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones realmente extremas de temperatura y presión. El cuerpo humano está lleno de bacterias, de hecho se estima que contiene más bacterias que células humanas. La mayoría de bacterias que se encuentran en el organismo no producen ningún daño, al contrario, algunas son beneficiosas. Una cantidad relativamente pequeña de especies son las que causan enfermedades.

Calidad: es la adaptación y conformidad de los requisitos que la propia norma y los clientes establecen. En otras palabras, la calidad es el nivel de perfección de un proceso, servicio o producto entregado por su empresa, de modo que cumpla con las exigencias definidas por la ISO y, por supuesto, por sus clientes.

Contaminación: cuando en un entorno ingresan elementos o sustancias que normalmente no deberían estar en él y que afectan el equilibrio del ecosistema.

Inocuidad: La inocuidad de los alimentos puede definirse como el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de alimentos para asegurar que una vez ingeridos, no representen un riesgo para la salud.

Intoxicación: Una intoxicación es causada por la exposición de una persona a una sustancia dañina que puede producirse por haber sido ingerida, inyectada, inhalada, tocada, entre otros métodos de exposición; la mayoría de las intoxicaciones ocurren por accidente y se deberá buscar ayuda médica

Microorganismos: Organismo que solo puede verse bajo un microscopio. Los microorganismos incluyen las bacterias, los protozoos, las algas y los hongos. Aunque los virus no se consideran organismos vivos, a veces se clasifican como microorganismos.

Muestreo: El muestreo es un proceso o conjunto de métodos para obtener una muestra finita de una población finita o infinita, con el fin de estimar valores de parámetros o corroborar hipótesis sobre la forma de una distribución de probabilidades o sobre el valor de un parámetro de una o más poblaciones.

Monitoreo: El monitoreo es el proceso continuo y sistemático mediante el cual se verifica la eficiencia y la eficacia de un proyecto mediante la identificación de sus logros y debilidades y en consecuencia, se recomiendan medidas correctivas para optimizar los resultados esperados del proyecto.

Ganaderización: al proceso de sustitución en la superficie, en producción y en el VBP efectuado por los cultivos forrajeros al desplazar a los cultivos no forrajeros.

Insalubre: las que den lugar a desprendimiento o evacuación de productos que puedan resultar directa o indirectamente perjudiciales para la salud humana.

Lisis: se refiere al deterioro de una célula debido a una lesión en su membrana plasmática (exterior). Esta puede ser por medios químicos o físicos (por ejemplo, detergentes fuertes u ondas sonoras de alta energía) o por infección con una cepa de un virus que puede lisar las células.

Micobacterias: son agentes de enfermedades infecciosas que han acompañado al hombre a lo largo de su historia.

anexo

