

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**DETERMINACIÓN DE *Salmonella* spp EN QUESO FRESCO Y DE
CAPAS PRODUCIDO ARTESANALMENTE Y DISTRIBUIDO EN
EL MERCADO LA TERMINAL ZONA 4**

BRENDA LISSET VELÁSQUEZ LÓPEZ

Química Bióloga

Guatemala, Marzo de 2,008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Química Bióloga

Guatemala, Marzo de 2,008

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cobar Pinto, PhD

DECANO

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto.

SECRETARIO

Licda. Lilian Irving Antillón

VOCAL I

Licda. Liliana Vides. MA.

VOCAL II

Licda. Beatriz Batres.

VOCAL III

Br. Mariaesmeralda Arriaga.

VOCAL IV

Br. José Juan Vega Pérez.

VOCAL V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por ser la luz que guía e ilumina mi vida.

A LA VIRGEN MARIA

Que ha sido un ejemplo para mi vida.

A MIS PADRES

Helder Velásquez y Esther López de Velásquez, por su apoyo, sabiduría, amor y comprensión.

A MIS HERMANAS Y HERMANOS

Noemí, Judith, Estuardo y Adí, por su amor y amistad incondicional.

A MIS ABUELOS

Felix López (QEPD), Elena Julián y César Velásquez (QEPD), Berta Godoy por su cariño y apoyo.

A MIS TIOS Y PRIMOS

Por su apoyo y cariño.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A la licenciada Karin Herrera, por su colaboración, asesoría y orientación en este trabajo de tesis.

A la licenciadas Rosario Hernández y Vivian Matta, por su tiempo, paciencia y enriquecimiento en la revisión de este trabajo de tesis.

A la licenciada Liliana Velásquez por su colaboración en este trabajo de tesis.

Al personal del Laboratorio Microbiológico de Referencia LAMIR, por su amistad y cariño.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	
Generalidades del queso	4
<i>Salmonella</i>	11
Coliformes	16
Inocuidad de los alimentos	18
Métodos de conservación	19
Conservación del queso	21
Prácticas de higiene en los centros de distribución	22
Regularizaciones	23
JUSTIFICACIÓN	27
OBJETIVOS	28
HIPÓTESIS	29
MATERIAL Y MÉTODOS	30
RESULTADOS	36
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS	44

I. RESUMEN

La industria alimentaria tiene una responsabilidad especial en cuanto al mejoramiento de la calidad microbiológica de los alimentos, sin embargo, la misma es siempre multidimensional. En la manufactura alimentaria hay un atributo particular de calidad que es indispensable: la inocuidad¹.

El presente estudio evaluó las propiedades bacteriológicas del queso producido de forma artesanal, ya que la mayoría de los habitantes del país consumen este tipo de productos y que es distribuido en el mercado la Terminal, el cual es considerado un centro de abasto para toda la ciudad de Guatemala.

El muestreo se llevó a cabo en las queserías permanentes del mercado La Terminal, la muestra estuvo conformada por diez quesos de capas y diez quesos frescos, debido a que no se contó con un dato exacto del número de lotes producidos. A cada queso se le realizó un análisis microbiológico de las muestras se efectuó por el método de vertido en placa.

En todos los quesos se encontró un conteo elevado de coliformes totales y fecales y solo una muestra de queso de capas presentó *Escherichia coli*, lo que representa el 5% del total de las muestras analizadas. En ninguna muestra se aisló *Salmonella* spp, sin embargo, se considera que estos quesos son de riesgo para la salud del consumidor, al encontrarse microorganismos indicadores de contaminación en conteo elevado, por lo que pueden estar presentes agentes causantes de infecciones intestinales.

La presencia de este tipo de bacterias indica la gravedad de las prácticas antihigiénicas durante la elaboración, producción y almacenamiento del producto terminado (queso).

¹ Inocuidad: Condición básica de alimento que sea peligroso o no.

Se realizó un análisis descriptivo de los datos obtenidos tanto de la observación visual como de los resultados microbiológicos de las muestras analizadas en el laboratorio, representados en tablas con lo que se elaboraron las conclusiones y recomendaciones pertinentes las que se dieron a conocer a la unidad de Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

II. INTRODUCCION

Dentro de los múltiples productos derivados de la leche se encuentra el queso fresco y de capas, que por su precio accesible, sabor y combinación con una amplia gama de comidas, posee mucha aceptación dentro de la dieta de los guatemaltecos del área rural y urbana. Además son fuentes importantes de proteínas, grasa, agua, sales minerales y vitaminas indispensables para el organismo (1).

Cualquier alimento o producto alimenticio puede contaminarse, convirtiéndose en un alimento riesgoso para la salud del consumidor (2).

La importancia de determinar la presencia y/o ausencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal y *Salmonella* spp, en queso fresco y de capas producidos de forma artesanal y distribuidos en el mercado La Terminal, radica en que la mayoría de habitantes del país consumen quesos elaborados con leche no pasteurizada y en condiciones higiénicamente precarias por lo que el riesgo de contaminación por las bacterias antes mencionadas, aumenta.

El presente trabajo pretendió determinar microorganismos indicadores (coliformes totales, fecales y *E. coli*) y *Salmonella* spp en quesos fresco y de capas producido de manera artesanal y expandidos en el mercado la Terminal. Para la determinación de los primeros se utilizó el método de vertido en placa, por ser una técnica sistemática y poseer un grado de confiabilidad satisfactoria, mientras que para *Salmonella* se realizó un enriquecimiento para favorecer el desarrollo de la misma y medios selectivos para aislamiento de colonias características.

Se realizó un análisis descriptivo de los datos obtenidos tanto de la observación visual como de los resultados microbiológicos de las muestras analizadas en el laboratorio, con lo que se elaboró las conclusiones y recomendaciones pertinentes, los

cuales se presentarán a la unidad de Control de Alimentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

1. Descripción del producto y su consumo

El queso, es un producto alimenticio que se obtiene separando el componente sólido de la leche cuajada, del líquido, suero. El queso se elabora desde tiempos prehistóricos a partir de la leche de diferentes mamíferos, incluidos camellos y alces. Hoy en día, la mayoría de los quesos son producidos a partir de leche de vaca, a pesar del incremento que ha experimentado en los últimos años la producción de quesos de cabra y oveja (3,4).

Es un elemento importante en la dieta de casi todas las sociedades porque es nutritivo, natural, fácil de producir en cualquier entorno y de bajo costo (4). Independientemente del tipo de queso y de la forma de consumo, este producto, está presente en la dieta de los guatemaltecos, tanto del área rural como urbana (4).

El consumo del queso contribuye a la ingesta de proteínas, así como la mayor parte de los ingredientes nutritivos de la leche, incluidos grasa, minerales, azúcar y vitaminas (principalmente vitamina A). En 1994 se estimó un consumo de 32.03 gramos de queso/familia/día, considerando una familia de 5 personas, o sea, 6.06 gramos de queso/persona/día (5).

2. Características del queso

a. Características nutricionales

El queso tiene un alto valor nutritivo en proteínas, grasas, agua, sales minerales y vitaminas. Constituye una interesante fuente de calorías y contribuye a la remineralización del organismo puesto que contiene una abundante cantidad de fósforo

y calcio. Sin embargo el nivel del suero varía en función del contenido de agua y del tipo de fabricación (6).

Respecto a la grasa que contiene un queso, no solo suministra calorías sino que es también portador de vitaminas liposolubles esencialmente vitaminas A y D. Las vitaminas del grupo B son en gran parte eliminadas con el lactosuero a lo largo del desuerado² quedando retenido únicamente el 25% en la cuajada. La vitamina C es totalmente eliminada en el proceso de elaboración (1).

b. Características sensoriales

El análisis sensorial es una disciplina que cada vez está tomando un mayor auge en el mundo de la alimentación, éste se utiliza al momento de lanzar cualquier alimento al mercado y medir la aceptabilidad del mismo por el consumidor. El consumidor es cada vez es más exigente a la hora de seleccionar los productos que le interesan, y además cada vez es un mayor conocedor de las propiedades no sólo nutricionales sino también organolépticas del producto. Los métodos sensoriales son empleados para analizar, describir y cuantificar las características del producto (aspecto, textura y aroma del producto) (5).

Entre los aspectos que se analizan se encuentran: (5).

i. Defectos del sabor: Fermentado, rancio, agrio, quemado, o cualquier otro sabor anormal o extraño (5).

ii. Defectos en el olor: Fermentado, amoniacal, fétido, rancio, mohoso, o cualquier olor anormal o extraño (5).

iii. Defectos en el color: Anormal; no uniforme, manchado o moteado, provocado por crecimiento de mohos o microorganismos que no correspondan a las características del queso de que se trate (5).

² Desuerado: Es el proceso por el cual se separa el suero de la leche. Diccionario Enciclopédico Océano. Editorial Océano. España 1990.

3. Materia prima

La agroindustria quesera, utiliza principalmente como materia prima la leche de vaca integra fluida y aditivos: sal, cuajo³ y cloruro de calcio. El equipo utilizado en las queserías es muy sencillo y de tipo artesanal. El mismo consiste en recipientes plásticos, tinajas, moldes, agitadores de madera y molinos (3).

La leche está formada por glóbulos de grasa suspendidos en una solución que contiene lactosa, proteínas (fundamentalmente caseína) y sales de calcio, fósforo, cloro, sodio, potasio y azufre. No obstante, es deficiente en hierro y es inadecuada como fuente de vitamina C (6).

La leche entera está compuesta en un 80 a un 90 % de agua. La leche de vaca fresca tiene un olor agradable y sabor dulce; su densidad es de 1.028 kg/m³ y 1.035 kg/m³. Los glóbulos de grasa tienen una densidad relativa inferior a la de la fase líquida y, por lo tanto, ascienden a la superficie para formar nata (crema), cuando se deja reposar la leche en un recipiente (6,7).

La calidad de la leche está determinada por aspectos de composición e higiene, esta puede sufrir alteraciones, porque es un medio magnífico para el desarrollo de microorganismos y por esto presenta un riesgo de rápido deterioro de su calidad microbiológica a partir del ordeño, hasta el tiempo de utilización en la planta procesadora de leche (10).

La leche utilizada como materia prima en la elaboración de queso debe ser de vacas sanas y bien alimentadas, no se debe de utilizar si éstas están enfermas con las siguientes enfermedades: brucelosis, tuberculosis, fiebre aftosa, listeriosis, mastitis y salmonelosis (6,11).

³ Fermento de la mucosa del estomago de mamíferos, coagula la caseína de la leche.

a. Contaminantes de la leche

El alto valor nutricional de la leche se puede ver afectado con la existencia accidental de diversos tipos de contaminantes químicos y biológicos (6):

i. Contaminantes químicos

Los contaminantes químicos más frecuentemente detectados son: insecticidas (DDT, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro), fungicidas, herbicidas, higienizantes (yodo, cloro, peróxido de hidrógeno, amonio cuaternario) y antibióticos (penicilina, estreptomicina, clortetraciclina) (6,7).

ii. Contaminantes biológicos

La leche por su variada composición química, ofrece un medio de cultivo óptimo para el desarrollo de bacterias, las cuales se alimentan básicamente de proteínas, lactosa o grasas. La actividad que ejercen sobre cada uno de estos compuestos será proteolíticas, sacarolíticas o lipolíticas, respectivamente (6,8).

La cantidad y clase de microorganismos que se encuentran en la leche está en función de las prácticas de higiene y sanidad observadas en el manejo del producto durante la producción, transporte, procesamiento y venta (1).

Dentro del grupo de contaminantes biológicos encontrado en la leche tenemos: bacterias, hongos, rickettsias y virus. De estos unos son patógenos para el hombre y otros son saprófitos, la importancia de estos radica en que los primeros dañan al hombre mientras los últimos causan el deterioro en la calidad de la leche (11,12).

4. Descripción del proceso de elaboración de queso fresco artesanal

La agroindustria artesanal del procesamiento de la leche ha adquirido sus conocimientos por experiencia y tradición. En este tipo de microempresas⁴ no se lleva

⁴ Microempresa: empresa que tiene menos de 20 empleados.

un registro de los procedimientos establecidos para la elaboración del producto final: el queso (7).

El procedimiento que realiza la industria quesera artesanal para la producción del queso es el siguiente: la leche es recibida y transportada en recipientes plásticos de 125 litros de capacidad, el productor posee de 5 a 10 toneles plásticos, dependiendo el volumen de leche procesada al día. Pocos utilizan tanques en donde se almacena toda la leche. Los tanques utilizados son fabricados de fibra de vidrio, plástico o acero inoxidable (7).

El queso fresco y de capas producido a nivel artesanal, es obtenido de la coagulación de la leche cruda sin pasteurizar, por medio de la adición del cuajo (pastillas o líquido). Después de cuajado, el queso es desuerado, molido, amasado, salado y moldeado (7,8).

La presentación final del queso se realiza en el moldeo, en el cuál es colocado en recipientes cilíndricos con capacidad de una a cinco libras. El queso así obtenido, es almacenado y/o vendido al consumidor final o a intermediarios. Cuando el queso es vendido a intermediarios no se utiliza ningún tipo de empaque. El queso vendido al consumidor final es puesto en bolsa transparente, ya que la utilización de otros tipos de envoltorio (hoja de banano) ha quedado en desuso (7).

5. Rendimiento de queso

Para el año 2003, en el país se obtuvo una producción de 633,222 litros de leche por día, siendo el principal productor el departamento de Escuintla; seguido por el de Guatemala. De esto se obtuvo una producción anual de queso 1,304,064 libras de queso fresco y 724,471 libras de queso de capas, siendo el departamento de Escuintla el mayor productor (9)

El control sobre cantidad de queso obtenido de la leche no es constante en todas las queserías. Los rendimientos o porcentajes se estiman de la siguiente manera:

% Crema = (litros crema obtenidos/litros leche descremada)*100

% Queso = (kg de queso obtenidos/litros de leche procesada) *100 (10)

Aparte de la producción del queso fresco tradicional, son pocos los productores que realizan otro tipo de queso: de pita, de capas o madurados (camembert, parmesano, mozzarella etc.) (8).

Un estimado que se realizó en base al número de quesos producidos en las queserías del sur del país, reveló que el rendimiento del mismo es variable. Esta es la razón por lo cual los precios y la cantidad de queso es variable tanto para consumo departamental como para los mercados locales (8).

6. Mercado de venta de queso artesanal

Guatemala es un país en vías de desarrollo, en el cual más del 70% de las ventas de alimentos se realiza en negocios tradicionales especializados: almacenes, carnicerías, verdulerías, queserías, abarroterías, pescaderías y panaderías. En el último censo empresarial en el año 2001 se determinó que había más de 64,000 establecimientos minoristas de la alimentación, englobados en la categoría de pequeños comercios tradicionales (11).

La ciudad capital de Guatemala constituye el principal mercado del productor artesanal de queso del área sur del país, comercializando 1,024 kg queso/día que constituye el 51% de producción de estos, mientras el 49% restante lo realiza en el interior del país (8).

El 51% de la producción antes mencionada es distribuida a los distintos mercados cantonales y abarroterías de consumo diario, los cuales no poseen un sistema

de control sanitario que verifique que se lleven a cabo las Buenas Prácticas de Distribución (1,7).

La Municipalidad de Guatemala es el ente regulador de los mercados cantonales de la ciudad Capital, la misma no cuenta con información acerca del monitoreo de la calidad sanitaria de los productos que se distribuyen en los mercados (11).

El Ministerio de Salud verifica la calidad sanitaria de los productos expendidos por los establecimientos minoristas, por medio del Laboratorio Nacional de Salud, sólo si se presenta algún caso de intoxicación alimentaria y si ésta es reportada, por el personal médico que lo atiende (12).

7. Características microbiológicas

Los microorganismos pueden causar cambios desagradables (deterioro) en los alimentos en cuanto a sabor, olor y aspecto. En el control microbiológico de un alimento se toman en cuenta tres grupos de microorganismos:

- a. Deteriorantes
- b. Patógenos
- c. Indicadores.

A pesar de esta clasificación no existe una división estricta entre deteriorantes, indicadores y patógenos, ya que todos estos microorganismos pueden deteriorar los alimentos (13,14).

Los microorganismos deteriorantes son aquellos que se encuentran como microbiota normal en el queso, los cuales puede crecer rápidamente en condiciones adecuadas de temperatura (13,14).

Los organismos indicadores son especies o grupos de microorganismos, principalmente bacterias, su ausencia es un indicador de que se realizan prácticas de

higiene durante el proceso de elaboración y distribución de un producto, aumentando la vida del mismo, por lo que facilitan la evaluación sanitaria de los alimentos. Además, un número elevado indica ausencia de las prácticas de higiene y que puede existir un riesgo potencial de la presencia de patógenos (15).

En alimentos fermentados, las bacterias lácticas afectan considerablemente el desarrollo de bacterias patógenas, como por ejemplo, la sobrevivencia de *S.aureus* en refrigeración o a temperatura ambiente es precaria. Mientras salmonela puede permanecer viable durante, largos periodos de tiempo, esto se debe a factores no fáciles de controlar en forma inmediata como lo es el grado de contaminación presente en la materia prima y la actividad del cultivo adicionado (16).

Los valores limite de aceptabilidad microbiológica en los quesos del tipo fresco y de capas producidos de forma artesanal, se detallan el anexo 1 (17).

B. *Salmonella*

La mayoría de especies del género *Salmonella* son consideradas patógenas para el hombre, aunque difieren en cuanto a las características y gravedad de la enfermedad que causan. En la actualidad, salmonela, es considerada universalmente una de las causas más importantes de enfermedad transmitida por alimentos (4).

1. Características generales y clasificación

El género *Salmonella* se ubica dentro del orden *Enterobacteriales*, familia *Enterobacteriaceae*. Sus miembros son bacilos Gram negativo, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *S. gallinarum*), anaerobios facultativos, no esporulados ni encapsulados. La diferenciación entre especies y subespecies se realiza tomando en cuenta diferentes propiedades bioquímicas. No fermentan la lactosa, excepto *S.*

choleraesuis subespecie *arizonae* y *S. choleraesuis* subespecie *diarizona*; fermentan glucosa con producción de gas (excepto *S. typhi*), no degradan indol y no degradan urea, descarboxilan la lisina y la ornitina. Salmonela se desarrolla dentro de 8-45 °C y un pH de 8; no sobrevive a temperaturas mayores de 70 °C (18,19).

La diferenciación inicial de salmonela de otras bacterias se basa en características bioquímicas. Todas las salmonelas tienen similitud antigénica y es esta estructura la que le confiere la denominación de la especie. Para ser calificado como una salmonela es necesario que posea los antígenos y las características bioquímicas apropiadas (20).

Casi todas las salmonelas son flageladas por medio del empleo de las condiciones de proliferación adecuadas pueden evaluarse de forma separada los antígenos flagelares y somáticos (20).

Además de los antígenos H y O algunas cepas, específicamente *S.typhi*, tienen un antígeno somático adicional asociado a la virulencia (Vi). Se utiliza un sistema de tipificación con bacteriófagos contra el antígeno Vi con frecuencia para la investigación epidemiológica de las epidemias de fiebre entérica (tifoidea) (20).

2. Distribución de salmonella en animales

Salmonela puede estar presente en gatos, perros, cerdos y ganado vacuno aunque las fuentes animales más frecuentes son aves, huevos de aves y roedores. Los pollos, pavos, gansos y patos pueden infectarse con los numerosos serotipos de salmonela que se encuentran en la materia fecal, en huevos o en carne de las aves preparadas para su venta (21).

Los roedores infectados como la rata y el ratón pueden contaminar los alimentos no protegidos a partir de sus heces y en consecuencia contribuir a la diseminación de

salmonela. Las moscas juegan un papel importante en este proceso de disseminación, especialmente contaminando los alimentos con materiales fecales. También es probable que las cucarachas contribuyan a extender la enfermedad (21).

Además de los suplementos nutritivos para los animales de carnicería, se ha comprobado que muchos alimentos para animales domésticos, especialmente los deshidratados, contienen microorganismos que causan salmonelosis en perros y gatos (18).

Muy raras veces estas infecciones pueden dar lugar a zoonosis⁵, especialmente en niños ya que estos manejan objetos que han estado en contacto con la boca del animal o que se han contaminado de otra forma (18).

3. Aspectos epidemiológicos

Salmonela esta ampliamente distribuido en la naturaleza y se encuentra como comensal cuando la cantidad presente en el tracto gastrointestinal de los mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves, insectos y roedores no es alta. salmonela causa cuadros clínicos en el hombre y animales que varían de forma aguda que terminan fatalmente, hasta muy leves o del todo asintomático (19).

Salmonela es uno de los géneros bacterianos que se encuentran asociados a brotes de enfermedades de origen hídrico, ya que son aislados del agua fresca, servidas, dulce y saladas además de ciertos alimentos (anexo 2) (22).

Salmonela es causante de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis, que pueden dividirse en dos síndromes:

- a. Fiebre entérica (causada por *S. typhi*)

⁵ Zoonosis: enfermedad infecciosa transmitida a los seres humanos por animales vertebrados.

- b. Gastroenteritis o envenenamiento por alimentos, que es una infección restringida a la mucosa gastrointestinal causada por varios serotipos, siendo los más comunes *S. typhimurium* y *S. enteritidis* (20).

Salmonela es el patógeno más encontrado como causante de infecciones en países desarrollados y uno de los más frecuentes junto con *E. coli* y *Shigella*, en países en vías de desarrollo. Constituye la segunda causa de morbilidad en países en vías de desarrollo, después de los procesos respiratorios, en donde la mayor parte de envenenamientos o contaminación de alimentos, son de origen bacteriano (24).

Cuando el queso es fabricado artesanalmente en malas condiciones higiénicas, la contaminación de la cuajada o del producto terminado, suponen un riesgo importante de intoxicación alimentaria, pero los datos epidemiológicos son escasos (14).

4. Manifestaciones clínicas

La salmonelosis se presenta básicamente bajo tres modalidades denominadas fiebres entéricas entre las cuales las más comunes son:

a. Fiebre tifoidea

La fiebre tifoidea producida por la *S. typhi*, es una enfermedad exclusiva del hombre. La puerta de entrada es la vía digestiva. El bacilo debe sobrepasar la barrera defensiva representada por la acidez gástrica. Son más susceptibles los individuos con aclorhidria y aquellos que ingieren antiácidos. El agente bacteriano que consigue sobrevivir las primeras 24 a 72 horas en el intestino, penetra el epitelio donde se multiplica y produce alteraciones histopatológicas (21).

En el caso de la fiebre tifoidea los bacilos buscan un hábitat intracelular, lo que corresponde a la llamada fase mesentérica, en la cual las bacterias penetran a los

ganglios y continúan multiplicándose para posteriormente pasar a la circulación sanguínea y a las placas de Peyer, órganos linfoides del intestino (23).

Dentro de las manifestaciones clínicas más frecuentes están: fiebre acompañada de dolor abdominal, evacuaciones intestinales frecuentes, líquidas, de aspecto verdoso, fétidas, mucoides y en ocasiones con estrías de sangre. El cuadro clínico es más severo en niños y ancianos. En niños desnutridos puede observarse la diseminación hematógena, dando lugar a bacteremias con compromiso de otros órganos tales como meninges, oído, pulmones, riñones y huesos (19).

El mecanismo de producción de diarrea, está relacionado directamente con la respuesta inflamatoria debido a la penetración de la bacteria, esto produce liberación de prostaglandinas, que a su vez estimulan la producción de AMP cíclico y como consecuencia, secreción activa de líquidos (19).

b. Gastroenteritis

Es un grupo de trastornos cuya causa es la infección producida por varios tipos de microorganismos, entre ellos *S. typhimurium*. Se asocia a los siguientes síntomas como: pérdida de apetito, náuseas, vómitos, diarrea moderada a intensa, retortijones y malestar en el abdomen, conjuntamente se pierde sodio y potasio (24).

c. Septicémica

Caracterizada por la bacteremia asociada a lesiones focales, debida frecuentemente a la *S. choleraesuis*. (19).

5. Tratamiento

En pacientes sanos la gastroenteritis causada por *Salmonella*, que en la mayoría de los casos es una condición autolimitada, no requiere administración de antibióticos pero sí de líquidos y electrolitos (19).

En la actualidad, se dispone de varios antimicrobianos útiles para el tratamiento de las gastroenteritis severas o con bacteremia, pueden ser tratados con sulfametoxazol-trimetoprim, dos veces al día; ampicilina 100 mg/kg/día o ciprofloxacina 500-750 mg/12 horas (18).

C. Coliformes

1. Características generales y clasificación

El grupo coniforme pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* e incluye a bacilos Gram negativo, aeróbicos y anaeróbicos facultativos, que fermentan la lactosa con producción de gas, crecen en un periodo de 48 horas de 35-37°C, son bacterias no termoduricas pues se destruyen con el proceso de pasteurización (25).

Este grupo contiene diferentes especies, cuyos habitats varían desde el intestino de vertebrados, hasta el suelo, tierra y granos. Los miembros del grupo coliforme proliferan en medios de cultivo simples, ya que sus demandas nutricionales son satisfechas sin necesidad de recurrir a compuestos complejos (25,26). El desarrollo de los organismos coliformes se ve limitado por concentraciones altas de sal y una baja actividad de agua (25).

Diversos autores han reportado una inhibición de *S. aureus* por organismos coliformes, resultado del efecto combinado de sustancias antibióticas y competencia de nutrientes, la represión se acentúa a temperaturas inferiores a la del medio ambiente (27).

2. Epidemiología

Entre los serotipos de *E. coli* patógenas al hombre están: *E. coli* enterotoxigénica (ECET), enteropatógena (ECEP), enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH) y enteroadherente (ECEA) (25).

E. coli enterotoxigénica (ECET), es la causante de gastroenteritis humana. Cumple con las características de los grupos coliforme y coliforme fecal, por lo que es necesario identificarla serológicamente de acuerdo a sus componentes capsulares, somáticos y flagelares (28).

La dosis infectiva de *E. coli* se encuentra en un rango de 10^5 - 10^7 UFC/g para adultos, siendo menor la dosis infectiva para niños (26).

3. Incidencia en los alimentos

Los organismos coliformes totales y fecales por sus necesidades nutricionales, pueden estar presentes en cualquier tipo de alimento (animal o vegetal), multiplicando las vías de acceso, si existe una deficiente higiene (27).

Al desarrollarse sobre los alimentos, los organismos coliformes totales y fecales pueden dar lugar a algunas alteraciones; esta acción proviene de la intensa facultad heterofermentativa, una importante capacidad putrefactiva y el carácter psicrotrófico de muchas cepas (27,28).

En la leche y sus derivados, principalmente llegan a causar diversos cambios. La actividad de los coliformes cuando se presentan en gran cantidad o cuando los cultivos lácticos no funcionan adecuadamente conducen a productos de deficiente calidad e incluso alteraciones de sabor, resultante de la actividad proteolítica (25).

En el 2000, Sagastume, realizó un estudio en 7 industrias dedicadas a la elaboración de queso fresco en forma artesanal en el municipio de San José Pinula, encontrando que el 94.2% de muestras analizadas presentó contaminación por bacterias coliformes, con un recuento superior a 1 millón de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g), y que el 11.42% presentó contaminación por *E. coli* (1).

4. Importancia de la presencia de coliformes en los alimentos

La presencia de coliformes totales en los alimentos, no guarda relación cualitativa ni cuantitativa con la contaminación fecal, puesto que este tipo de microorganismos son capaces de proliferar en sustratos distintos a su ambiente natural, no siendo así con los coliformes fecales y *E.coli*. La ausencia o cifras bajas de estos últimos microorganismos en los alimentos, como producto terminado, suele generar situaciones de confianza en el consumidor desde el punto de calidad sanitaria (28).

Si en la elaboración de productos alimenticios no se realiza un correcto saneamiento del equipo o el ambiente, los coliformes presentes en él pueden sobrevivir (multiplicándose si los residuos de materia orgánica existente es suficiente), al entrar en contacto con el alimento en proceso, se contamina, pudiendo no solo sobrevivir los microorganismo sino incrementar su número (27).

La presencia y recuento de organismos coliformes totales en los alimentos, adquiere significado cuando su número es elevado, son indicativos de malas prácticas de distribución, mientras que la presencia de coliformes fecales indica prácticas sanitarias objetables en el manejo o fabricación de un alimento (25).

D. Inocuidad alimentaría

La inocuidad se refiere a la cualidad de los alimentos de no contener ningún microorganismo patógeno ni sustancias extrañas, tóxicas o que representen algún riesgo para la salud del consumidor (29).

La inocuidad alimentaría es una condición básica que no se puede negociar en la industria de alimentos que implica el cumplimiento de las siguientes condiciones:

- a. Que satisfaga o supere la necesidad y expectativas del consumidor.
- b. Una oferta y demanda disponible de alimentos adecuados.

c. La calidad de acuerdo al precio de venta (29).

Las medidas de control de la inocuidad y la calidad varían según la etapa en que se encuentra el alimento y las características del mismo. La responsabilidad de la inocuidad atañe a todos los participantes de la cadena alimentaria, desde los productores primarios (agricultores, ganaderos), secundarios (procesadores, envasadores), terciarios (puntos de venta) y por último a los consumidores (29).

Las políticas gubernamentales enfocadas a la inocuidad alimentaria, las medidas de control, pretenden que todo alimento que llega al consumidor sea un alimento "seguro", libre de contaminaciones para no poner en riesgo la salud del mismo (29).

E. Métodos de conservación de alimentos

El hombre a lo largo de la historia siempre se ha preocupado por disponer de reservas de alimentos que le permitan superar situaciones de carencia. Pero los alimentos perecederos⁶ son susceptibles a sufrir alteraciones microbianas, químicas y físicas; y para prolongar sus características deben de controlarse los factores que influyen sobre su estabilidad, es decir, carga microbiana, actividad enzimática, temperatura y humedad (30).

El desarrollo de la industria alimentaria, ha supuesto un notable avance en lo que se refiere a la conservación. Por otra parte los métodos de conservación hoy cumplen doble función, mantener el alimento en buenas condiciones y mantener el sabor del alimento apreciable. Entre las técnicas de conservación tenemos (31):

⁶ Alimento perecedero: alimento el cual su vida útil es corta.

1. Mediante calor:

a. Pasteurización

Es el proceso aplicado con el objeto de minimizar los posibles riesgos para la salud que proceden de microorganismos patógenos asociados a la leche, mediante un tratamiento térmico que produzca mínimos cambios químicos, físicos y organolépticos del producto. (30).

b. Uperización (U.H.T.)

La uperización es un tratamiento en donde el producto se calienta en un flujo continuo en un intercambiador de calor a una temperatura de 135-150°C menos de un segundo con cambios aceptables en el producto. Aunque esta leche es estable a temperatura ambiente, las reacciones químicas que causan alteración son dependientes de la temperatura y el almacenamiento no refrigerado reduce la vida útil de la misma (30).

2. Mediante frío

a. Refrigeración

Es uno de los procedimientos utilizados por la industria alimentaria para prolongar la vida de los alimentos, consiste en mantener los mismos a baja temperatura (entre 2 y 8 °C) sin alcanzar la congelación. Con el descenso de la temperatura disminuye la velocidad de reacciones químicas catalizadas por enzimas presentes en el alimento, al mismo tiempo, se disminuye la proliferación de microorganismos responsables del deterioro y de intoxicaciones (31).

3. Aditivos

Los aditivos alimentarios se diferencian de otros componentes de los alimentos en que se añaden voluntariamente, no pretenden enriquecer el alimento en nutrientes y solamente se utilizan para mejorar alguno de los aspectos del alimento como son: tiempo de conservación, sabor, color, textura, etc. (32).

a. Salazón

Consiste en la adición de cloruro sódico (sal común), que inhibe el crecimiento de los microorganismos, la degradación de los sistemas enzimáticos y, por tanto, la velocidad de las reacciones químicas. El alimento obtenido tiene modificaciones de color, sabor, aroma y consistencia. En el queso el salado actúa de cuatro formas diferentes: inhibiendo el desarrollo de bacterias indeseables, ayuda al desuerado, contribuye a la formación de la corteza y aumenta el sabor del queso (7).

F. Conservación del queso

Para su perfecta conservación, los quesos deben estar en una atmósfera húmeda, bien aireada y una temperatura que oscila entre 6 y 10°C. Los quesos de pasta, dura (machengo, roncal, gruyère, etc.) pueden guardarse al aire libre, en un lugar fresco, excepto en las épocas más calurosas del año (33).

Debido a su alto contenido de humedad, el queso suave se mantiene en buen estado por un corto período. Una práctica bastante común resulta mezclar hasta un 10% de sal en la cuajada, lo que permite extender su periodo de conservación y mejorar su sabor (7).

Para conservar el queso en tiempo de calor, el mejor recurso es la refrigeración, se debe de tener especial cuidado en el control de temperatura y humedad. Los quesos frescos y de capas, deben de envolverse cuidadosamente con papel de estaño o plástico, para evitar que se sequen (32).

El empaquetado del producto, juega un papel muy importante, cumpliendo la función de protección del producto desde el momento de ser envasado hasta su consumo final, soporta el manipuleo de la carga, descarga, transporte y almacenamiento del mismo(33).

G. Prácticas de higiene en los centros de distribución

Las enfermedades de origen alimentario se acompañan de mortalidad y morbilidad en personas de cualquier edad. En los Estados Unidos el Centro de Control de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) calcula que en ese país cada año surgen más de 76 millones de este tipo de enfermedades, lo que ocasiona más de 325000 hospitalizaciones y 5000 fallecimientos anuales (34).

La prevención de las intoxicaciones por alimentos empieza con la higiene del personal de la empresa alimentaria, así como de las personas encargadas de su distribución, por lo que estas deberán evitar tener contacto directo o indirecto con piel humana, cabello, ropa, oídos, nariz, boca y heces, mientras preparan o distribuyen alimentos, ya que si lo hicieran se tiene el riesgo de contaminar los alimentos con bacterias presentes en los lugares antes mencionados (6,35).

Es por eso cuando se manipulen los alimentos, se deben lavar las manos antes de cocinar o vender alimentos, principalmente cuando éstos no se encuentran con el embalaje idóneo (35).

El asesoramiento para la higiene alimentaria se aplica a tres áreas principales:

- a. Higiene personal.
- b. Limpieza de la zona donde se encuentran los alimentos.
- c. Práctica de normas de higiene para los centros de distribución (35).

Las buenas prácticas de distribución (BPD) tienen como objetivo minimizar el riesgo de contaminación del producto. Para ello, se debe considerar los siguientes aspectos (36):

- a. Flujo de producto: evitando los riesgos de contaminación cruzada.
- b. Centro almacenaje: requisitos relativos al diseño y construcción.
- c. Maquinaria y equipos: de fácil limpieza y adecuados para el uso previsto.
- d. Gestión y mantenimiento de equipos e instalaciones.
- e. Limpieza y desinfección: descripción detallada de la sistemática, asignación de responsables y verificación de la eficacia.
- f. Control de plagas: realizada por una empresa debidamente autorizada.
- g. Almacenamiento: gestión de disponibilidad.
- h. Gestión de la calidad del agua: incluyendo hielo y vapor de agua.
- i. Gestión de residuos y control de contaminación cruzada.
- j. Higiene del personal: ropa protectora.
- k. Formación: el personal debe poseer y adquirir los conocimientos necesarios de acuerdo a las responsabilidades y actividades asignadas.
- l. Salud, seguridad y bienestar laboral.
- m. Transporte: se debe de garantizar con carga máxima del vehículo la temperatura adecuada para los productos (36).

H. Regulaciones

Las normativas para la higiene de los alimentos tienen fuerza legal en muchos países del mundo, para proteger al público y reducir el número de intoxicaciones alimentarias, las cuales deben ser aceptadas por cualquiera que manipule alimentos en la industria alimentaria (32).

a) Internacionales

Norma Codex General Para El Queso (Codex Stan A-6 1978 rev 1999):

“Los productos lácteos y sus derivados, desde la producción de materias primas hasta el producto terminado, regulado por esta norma deberán de estar sujetos a una serie de medidas de control las cuales podrán incluir, por ejemplo la pasteurización y deberá mostrarse que estas medidas pueden lograr el nivel adecuado de protección de salud pública” (32).

b) Nacionales

COGUANOR(NGO⁷) 34-197 “Establece el valor permitido de *S. aureus* es de 1000 ufc/gramo y ausencia de *Salmonella* spp/25 gramos de alimento” (37).

COGUANOR (NGO⁷) 34 046 h1 “Establece los procedimientos para la toma de muestras de leche y de productos elaborados a partir de leche, que serán sometidos a inspección por muestreo” (37).

COGUANOR (NGO⁷) 34 046 h23 “Establece el método para la determinación de bacterias coliformes y *Escherichia coli* en la leche y los productos lácteos” (37).

Existen varios estudios a nivel internacional que demuestran la importancia de la implementación de regularizaciones, estas permiten que los alimentos no sean nocivos para el consumidor final.

En 1998, Larios efectuó un estudio en España, sobre la tendencia de los mercados, opinión pública y regulación nacional para aumentar la exigencia respecto a los procesos productivos de los alimentos y la manera de cómo se contaminan, llegando

⁷ NGO: Norma Guatemalteca Obligatoria.

a la conclusión que el público pagaría un mayor precio por productos alimenticios que sean de mejor calidad y que tengan menor probabilidad de estar contaminados (38).

En 1985, Cifuentes realizó un estudio en el departamento de Escuintla sobre las regularizaciones utilizadas por los productores de productos lácteos, encontrando que en la práctica, los niveles de la normativa legal (refiriéndose a *S. aureus*), en general son bajos y que las leyes en su mayoría son desconocidas por la industria artesanal de lácteos (39).

En 1993 Castillo realizó un estudio en el que comparó la cantidad de coliformes y *S. aureus* en cremas y quesos no madurados con las normas COGUANOR vigentes, y determinó que en esos productos lácteos existía una alta cantidad de coliformes, por lo que en dicho trabajo de tesis se recomendó elaborar un índice de coliformes para dichos productos lácteos, lo que en la actualidad no existe (40).

En 1996 el Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación conjuntamente con la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó una intervención tecnológica en ocho municipios de la Costa Sur. El carácter de la intervención fue encaminada al análisis microbiológico del queso fresco y de capas producido de forma artesanal por las queserías que participaron en el estudio, así como la capacitación del personal operativo de las antes mencionadas. Encontrándose nuevamente que las normas COGUANOR no contemplan parámetros de contaminación fecal (41).

IV. JUSTIFICACIÓN

La ciudad de Guatemala cuenta con 2,567,000 habitantes, siendo esta urbe el principal mercado consumidor de queso artesanal del interior del país. Los productos artesanales son llevados a mercados de abastecimiento, donde expendedores minoristas los llevan a las diferentes colonias de la ciudad capital, vendiéndose en abarroterías y comercios que distribuyen productos de consumo diario, entre ellos el queso fresco y de capas, los cuales pueden ser causantes de enfermedades gastrointestinales.

Las enfermedades de origen alimentario se acompañan de morbilidad⁸ y mortalidad considerables en personas de cualquier edad, especialmente en niños, ancianos e inmunodeficientes. En Guatemala se registró un total de 93,328 casos de diarreas en marzo del 2006 de las cuales 115 correspondieron a intoxicaciones de origen alimentario (42).

La importancia de determinar la presencia y/o ausencia de microorganismos indicadores totales, fecales, *E.coli* y *Salmonella* spp, en queso fresco y de capas producidos de forma artesanal y distribuidos en el mercado La Terminal, radica en que la mayoría de habitantes del país consumen quesos elaborados con leche no pasteurizada y en condiciones higiénicamente precarias por lo que el riesgo de contaminación por bacterias antes mencionadas aumenta.

IV. OBJETIVOS

⁸ Proporción de personas que enferman en un sitio y tiempo determinado.

A. GENERALES

1. Determinar la calidad sanitaria del queso fresco y de capas producido artesanalmente y distribuido en las queserías permanentes del mercado la Terminal.

B. ESPECIFICOS

1. Establecer por medio de análisis microbiológico la presencia y/o ausencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal en queso fresco y de capas producido artesanalmente y distribuido en el mercado la Terminal.
2. Establecer por medio de análisis microbiológico la presencia y/o ausencia de *Salmonella* spp en queso fresco y de capas producido artesanalmente y distribuido en el mercado la Terminal.
3. Determinar las condiciones higiénicas y prácticas de distribución que se realizan en las queserías que se encuentran permanentemente en el mercado la Terminal, por medio de un reconocimiento visual a las mismas.

V. HIPOTESIS

Debido a que la investigación es de carácter descriptivo, no es necesaria la formulación de una hipótesis.

VI. MATERIAL Y METODOS

A. Universo y muestra

El universo de trabajo lo conforman los quesos frescos y de capas que se expenden en las queserías permanentes del mercado “La Terminal” ubicado en la ciudad Capital.

La muestra estuvo conformada por 10 quesos frescos y 10 quesos de capas lo que hizo un total de 20 muestras.

B. Materiales

1. Recursos humanos

- Br. Brenda Lisset Velásquez López (tesista)
- Licda. Karin Herrera (asesora)

2. Recursos institucionales

- Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC
- Biblioteca Universidad del Valle de Guatemala

3. Recursos físicos

3.1. Materiales de oficina

- | | |
|----------------------|--------------|
| ○ Hojas papel bond | ○ Fotocopias |
| ○ Impresora | ○ Escritorio |
| ○ Computadora | ○ Lapiceros |
| ○ Cartuchos de tinta | ○ Lápices |

- Marcador indeleble

3.2. Materiales de laboratorio

- Cajas de Petri
- Bolsas estériles con tamaño 28 x 37 cm con cierra fácil
- Papel mayordomos
- Algodón
- Pliegos papel kraft
- Etiquetas
- Tubos de vidrio de 16 x 150 mm y 20 x 150 mm
- Campanillas de Durham
- Frascos estériles
- Tapones para frascos
- Erlenmeyers
- Asas de nicromo
- Gradillas
- Beakers de 250 ml
- Magnetos
- Hielera con baterías de hielo
- Pipetas graduadas de 1.0 ml y 10.0 ml estériles
- Varillas de vidrio
- Cinta adhesiva
- Crayón graso

3.3. Equipo de laboratorio

- Baño de María
- Cámara Québec para conteo de colonias
- Espátulas de metal
- Mechero de Bunsen
- Estufa
- Incubadora, de $35\pm 1.0^{\circ}\text{C}$
- Balanza con capacidad mayor de 2 kg y una sensibilidad de 0.1g
- Termómetro graduado
- Campana de Bacteriológica
- Estomacher (homogenizador)

3.4. Medios y reactivos

- Agar Chromocult
- Caldo Salmocyst
- Agua desmineralizada
- Reactivo para tinción de Gram
- Agar Rambach
- Agua peptonada bufferada al 1%
- Frasco de alcohol etílico al 70%
- Antisuero polivalente O (somático) para *Salmonella*

C. Metodología

1. Recolección y transporte de muestra

1. Se recolectaron 20 muestras al azar, en todas las queserías que se encuentran permanentemente en el mercado la Terminal, por ser este un centro de abastecimiento.
2. Las muestras se colocaron dentro de bolsas estériles identificadas.
3. Se llenaron las hojas de identificación correspondientes a las muestras recolectadas (Anexo No.4).
4. Las muestras se colocaron en hielera con hielo para mantenerlas a una temperatura menor de 10°C durante el transporte.

5. Las muestras se trasladaron a la unidad de análisis, Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), para su proceso en un período no mayor a 2 horas (36).

2. Procesamiento de muestra

1. Se preparó agua peptonada al 1%.
2. Se pesó 50 gramos de muestra (queso) de manera estéril, en una bolsa estéril con cierre fácil (ziploc).
3. Se agregó a 450 ml de agua peptonada al 1%.
4. Se homogenizó en el “homogenizador” (37).

3. Análisis microbiológico de muestras

i. Metodología para determinación de Coliformes generales y *E.coli*

1. Se vertió en condiciones estériles en 12 tubos, 9 mililitros de agua peptonada al 1% por cada muestra analizada y se dividieron en 3 series de tubos, de 3 tubos cada una.
2. Se agregó a tres tubos de esta (primera serie) 1 mililitro de muestra homogenizada en el “homogenizador” con lo que se obtuvo una dilución 1:100 (≈ 10 mg de la muestra) y se mezclaron.
3. De cada uno de estos tubos se pasó 1 mililitro a la segunda serie de tubos, con lo que se obtuvo una dilución 1:1000 (≈ 1 mg de la muestra) y se mezcló.
4. De cada uno de estos tubos se pasó 1 mililitro a la tercera serie de tubos, con lo que se obtuvo una dilución 1:10000 (≈ 0.1 mg de la muestra) y se mezcló.
5. Se agregó 1 mililitro de cada una de las diluciones a una caja de Petri, previamente identificada.

6. Se difundió a la caja de Petri por el método de vertido en placa se agregó agar Chromocult (43).
7. Se incubó a 37 ± 1 °C durante 24 horas.
8. Se evaluó la caja para establecer la presencia de colonias color rosado y violeta (Anexo No. 5).
9. Se reportó en hojas de resultado (Anexo No.4) (40).

ii. Metodología para confirmación de *E.coli*

1. Se aislaron las colonias presuntivas de *E.coli* (color violeta), en un portaobjetos con asa en punta.
2. Se agregó una gota de reactivo de Kovacs.
3. Se observó el cambio de color en cada una de las colonias aisladas (Anexo No. 6).
4. Se reportó en las hojas de resultado (Anexo No. 4) (44).

iii. Metodología para determinación de *Salmonella*

1. Se pesó 50 gramos de la muestra de manera estéril y homogenizaron en seco.
2. Se agregó la muestra homogenizada a 450 ml de caldo Salmocyst (43) previamente preparado.
3. Se incubó a 37 ± 1 °C de 18 a 24 horas.
4. Se tomó 10 ml de muestra y colocar en frasco estéril.
5. Se agregó suplemento (pastilla) de caldo Salmocyst (43).
6. Se incubó 6 horas a 37 ± 1 °C.
7. Se tomó una asada del caldo Salmocyst e inocular en agar Rambach.
8. Se incubó 24 horas a 37 ± 1 °C.
9. Se evaluó las cajas de agar Rambach para establecer la presencia de colonias características de salmonela (Anexo No. 7).
10. Se reportaron los resultados en hojas correspondientes (Anexo No.4) (43).

vi. Metodología para la evaluación visual

1. Se visitó el área de reconocimiento de queserías del mercado “La Terminal”.
2. Se evaluó según parámetros especificados en el Anexo No. 10.

E. Diseño de la investigación

De acuerdo a la norma del Codex Alimentarius (Norma No. B1 de la FAO/OMS, “Toma de Muestra de Leche y de Productos Lácteos”, párrafos 2 y 7) “para análisis microbiológico se deberá tomar 20 muestras por cada lote producido”. Por no contar con un dato exacto de los lotes producidos, por ser distribuidores y no productores, se tomó la decisión de realizar un muestreo por conveniencia. La muestra poblacional estuvo conformada por un total de 20 quesos distribuidos de la siguiente forma diez quesos frescos y diez de capas, por lo que se realizaron 4 muestreos. Estos se llevaron a cabo dos veces por semana los días lunes y miércoles (32,46).

Se realizó un análisis descriptivo de los datos obtenidos tanto de la observación visual como de los resultados microbiológicos de las muestras analizadas en el laboratorio, representados en tablas y gráficos con lo que se elaboraron las conclusiones y recomendaciones pertinentes.

VIII. RESULTADOS

El presente estudio evaluó las propiedades bacteriológicas del queso producido de forma artesanal. El muestreo se llevó a cabo en las queserías permanentes del mercado la Terminal, la muestra estuvo conformada por diez quesos de capas y diez quesos frescos, esto se debió a que no se contó con un dato exacto de lotes producidos.

En la tabla 1 y 2 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos efectuados a una muestra representativa de 10 quesos frescos y 10 quesos de capas producidos de manera artesanal, los cuales fueron muestreados en las queserías permanentes del mercado la Terminal, los resultados se presentan en UFC/ gramo de alimento para los coliformes totales y fecales, encontrándose los mismos en el orden de 10^6 y de 10^3 .

Para *Salmonella* spp y *E. coli* se reportó como ausente en caso de no haberse aislado y presente si se confirmó la presencia de las bacterias antes mencionadas. Como se observa en la tabla 2, solo en una muestra se aisló *E. coli*, lo que representa el 5% de las muestras analizadas.

En la tabla 1 se presentan los resultados microbiológicos con respecto al recuento de coliformes totales, fecales, *E. coli* y *Salmonella* spp en una muestra representativa de 10 quesos de frescos producidos de manera artesanal.

Tabla No.1 Análisis microbiológico realizado en muestras de queso de fresco producidos de forma artesanal y distribuido en las queserías permanentes del mercado la Terminal.

Muestra No.	Coliformes totales UFC/g ¹	Coliformes fecales UFC/g ¹	<i>Escherichia coli</i> UFC/g ¹	<i>Salmonella</i> spp
1	510x10 ^{6*}	4600	Ausente	Ausente
2	510x10 ^{6*}	1500	Ausente	Ausente
3	510x10 ^{6*}	1700	Ausente	Ausente
4	510x10 ^{6*}	2700	Ausente	Ausente
5	510x10 ^{6*}	Ausente	Ausente	Ausente
6	510x10 ⁶	<1000	Ausente	Ausente
7	510x10 ^{6*}	<1000	Ausente	Ausente
8	510x10 ^{6*}	<1000	Ausente	Ausente
9	57x10 ³	4600	Ausente	Ausente
10	510x10 ^{6*}	7200	Ausente	Ausente

*: Dato estimado (crecimiento excesivo)

¹: Unidades Formadoras de Colonia por Gramo de alimento

Fuente: Datos obtenidos fase experimental LAMIR

En la tabla 2 se presentan los resultados microbiológicos obtenidos en una muestra representativa de 10 quesos de capas producidos de manera artesanal, investigándose coliformes totales, fecales, *E. coli* y *Salmonella* spp.

Tabla No.2 Análisis microbiológico realizado en muestras de queso capas producidos de forma artesanal y distribuido en las queserías permanentes del mercado la Terminal.

Muestra No.	Coliformes totales UFC/g¹	Coliformes fecales UFC/g¹	<i>Escherichia coli</i> UFC/g¹	<i>Salmonella</i> spp
1	510x10 ^{6*}	Ausente	Ausente	Ausente
2	510x10 ^{6*}	Ausente	Ausente	Ausente
3	510x10 ^{6*}	1000	Ausente	Ausente
4	510x10 ^{6*}	1000	Presente	Ausente
5	43x10 ³	1000	Ausente	Ausente
6	46x10 ³	1000	Ausente	Ausente
7	510x10 ^{6*}	Ausente	Ausente	Ausente
8	250x10 ³	1000	Ausente	Ausente
9	250x10 ³	4600	Ausente	Ausente
10	510x10 ^{6*}	1000	Ausente	Ausente

*: Dato estimado (crecimiento excesivo)

¹: Unidades Formadoras de Colonia por Gramo de alimento

Fuente: Datos obtenidos fase experimental LAMIR

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Realizar el recuento bacteriano de coliformes, dentro de un análisis microbiológico, es importante porque puede ser utilizado para verificar la calidad del queso y es considerado un índice útil del grado de higiene de la industria quesera y del expendedor (47).

La elevada contaminación microbiana de los quesos artesanales está relacionada con la carencia de prácticas higiénicas en el ordeño, procesamiento, traslado a puntos de venta, así como la incorrecta implementación de métodos de conservación en la comercialización del mismo.

El 100% de las queserías permanentes del mercado La Terminal utilizan como método de conservación la refrigeración, sin embargo, se observó que en estas queserías, este método no es utilizado correctamente, ya que el queso es retirado de los refrigeradores por las mañanas y expuesto a temperatura ambiente por varias horas, para que sea visualizado por el comprador y en el mostrador está expuesto a moscas. El producto que no se vende en el día es nuevamente introducido a los refrigeradores al final de la jornada.

Lo anterior fue verificado con los resultados microbiológicos, puesto que los coliformes totales en todas las muestras se encontraron elevados (tablas 1 y 2). Los resultados demuestran que existe una gran diferencia en los datos obtenidos, encontrándose la mayoría en el orden de 10^6 UFC/gramo de alimento para coliformes totales y de 10^3 UFC/gramo de alimento para coliformes fecales.

Los resultados variaron significativamente de una muestra a otra, sin embargo, se observó un mayor número de coliformes fecales en el queso fresco que en el de capas. La diferencia observada posiblemente se debe al proceso empleado en la fabricación de los mismos, el primero no se deja en salmuera al 10%, mientras que en el segundo sí. Esta salmuera actúa como inhibidor de microorganismos, disminuyendo la humedad del producto final además de proporcionarle la textura y apariencia del mismo.

En una sola muestra de queso de capas se aisló *E. coli*, lo que representa un 5% de las muestras analizadas, lo que indica que la higiene durante el proceso de

producción fue deficiente. La *E. coli* se aisló de una muestra de queso de capas que provenía de Taxisco, no se pudo determinar el nombre y la ubicación exacta de la quesería artesanal que elaboró dicha muestra.

Este es el primer estudio que pretendió aislar *Salmonella* spp en los quesos que se venden en las queserías permanentes ubicadas en el interior del mercado La Terminal. En ninguna muestra analizada fue aislada *Salmonella* spp (tablas 1 y 2) sin embargo, estos quesos continúan siendo un riesgo para la salud del consumidor ya que se aislaron microorganismos indicadores de contaminación en número elevado, por lo que podrían estar presentes agentes causantes de infecciones intestinales.

En el proceso de comercialización del queso fresco y de capas en las queserías permanentes del mercado la Terminal, se observó que no se toman en cuenta las buenas prácticas de distribución, ya que los dependientes de mostrador no utilizan redcilla, no tienen las uñas bien recortadas y limpias, la misma persona que despacha cobra también el producto y no se lavan las manos después de efectuar cada operación.

Se observaron como focos de infección: pisos sucios, basura, colindancia con puestos de venta de tusas, hojas para tamales y vísceras, además son rondados por perros y gatos, siendo dichos lugares potenciales nidos de cucarachas y ratas.

Uno de los aspectos importantes en la investigación fue tratar de identificar la procedencia exacta de las muestras, para realizar un seguimiento y determinar donde se produce la contaminación. Por ello se les preguntó a los dependientes de mostrador sobre la procedencia de los quesos, sin embargo, no proporcionaron esta información, indicando únicamente el nombre de los municipios que proveen el producto. Los principales municipios proveedores fueron: San José Pinula y Taxisco, determinándose que todas las queserías les compran un porcentaje de mercadería a los proveedores de quesos antes mencionados. Cuando se trató de investigar la cantidad que compran los

expendedores, estos se mostraron reuentes a proporcionarla. Únicamente indicaron que compraban los quesos que tenían previsto vender cada semana.

X. CONCLUSIONES

1. La alta contaminación por bacterias indicadoras demuestra que el queso fresco y de capas, producido de manera artesanal y distribuido en el mercado la Terminal, es de calidad sanitaria deficiente.

2. El 100% de quesos analizados microbiológicamente presentaron altos niveles de coliformes totales, en 65% (13) se detectó contaminación por coliformes fecales y el 5% (1) presentó contaminación por *E. coli*.
3. Se determinó por medio del análisis microbiológico, que las muestras de queso fresco y de capas producido de forma artesanal y distribuido en el mercado la Terminal, registraron ausencia de *Salmonella* spp.
4. La limpieza del mercado La Terminal es deficiente, porque no cuenta con un sistema de saneamiento adecuado en sus locales y sus alrededores.

1.1

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios en los que se incluya un monitoreo en distintos mercados de la ciudad capital y de empresas artesanales que se dedican a la producción de derivados lácteos en el interior del país.

2. Capacitar y dar información al personal encargado de la venta de derivados lácteos, en los mercados de la ciudad Capital.
3. Promover el uso de buenas prácticas de distribución e higiene en los vendedores del mercado la Terminal para alargar la vida útil de los productos que ellos distribuyen.
4. Promover el uso de buenas prácticas de manufactura en las empresas artesanales, dedicadas a la producción de derivados lácteos.
5. Sugerir a las industrias artesanales, dedicadas a la elaboración de productos lácteos que mantengan un estricto control higiénico-sanitario, sobre el personal vinculado tanto en la elaboración como en la distribución del mismo.
6. Divulgar a la población en general, el riesgo que corren al consumir alimentos incorrectamente manipulados y conservados.
7. Sugerir a la Asociación de Productores de Derivados Lácteos, impartir cursos sobre aseguramiento de calidad de producción y distribución dentro de sus asociados y no asociados (productores artesanales).

1.2 XII. REFERENCIAS

1. Sagastume, A. Determinación bacteriológica de quesos producidos de forma artesanal en el departamento de San José Pinula. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación. Facultad de Veterinaria). 2000. Páginas 7, 9, 8,12.
2. Cabrera, SS. Situación de enfermedades transmitidas por alimentos en Guatemala. San José Costa Rica, Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura y la Alimentación (FAO), Doc. Téc. 2001. p. 9-15.

3. De León, L. *et al.* Adaptación y transferencia de tecnología para mejorar la calidad sanitaria del queso artesanal en Guatemala. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). Guatemala 1999.
4. Adams MR., Moss, MO. Microbiología de los alimentos. Vergues, MR trad. Zaragoza: Acribia, S.A. 1995. p. 100-106,241-254.
5. Cermeño, A. N. Wageningen University Food Info. Net. USA. Consultada 03.08.06 Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>
6. Almedom, A. *et al.* Procedimientos de evaluación de la higiene: enfoques y métodos para la valoración de las prácticas de higiene relacionadas con el agua y el saneamiento. Fundación Internacional de Nutrición para Países en Desarrollo. Londres.1999.
7. De León, L. Adaptación y transferencia de tecnología para mejorar la calidad sanitaria del queso artesanal en Guatemala. Guatemala. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP).1999.
8. Instituto Nacional de Estadística (INE). Cuarto Censo Agropecuario. Año 2004.
9. Pulgar V. J. Evaluación de unidades mínimas destinadas a la fabricación de quesos. Lima, Perú: Universidad Estatal Lima (Tesis Ingeniero Zootecnista). 1992.
10. Instituto Nacional de Estadística (INE). Tercer Censo Industrial. Año 2002.
11. Augusto V. Encargado de Mercados. Municipalidad de Guatemala. Referencia personal.
12. Muñoz, C. Departamento de Epidemiología Ministerio de Salud y Asistencia Social. Referencia personal.
13. Delgado, C. Manual de Tecnología alimentaría. Editorial Saravia. Guatemala.1996.

14. Varnam, AH. Leche y productos lácteos. Almundí R. trad. Zaragoza: España. Editorial Acribia. 1995. p 355-358
15. Hotchkinss, JH. Ciencia de los alimentos. Saenz, B. trad. 5a edicion. Mexico. Editorial Acrabia.1999. p 254,347,357, 451.
16. Goel, M.C., Kulshrestha, D.C. Fate of coliformes in yoghourt, buttermilk, sour cream and cottage cheese during refrigerated storage. J.Milk Technol.34:54-58.1992.
17. Ministerio de Salud. Norma sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano. Decreto N° 007-98 SA en: www.oirsa.org/OIRSA/Miembros/Nicaragua/Decretos_Leyes_Reglamentos/NTON-03-022-99.htm. Consultada 25.04.04
18. U.S. Food & Drug Administration. Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins; *Salmonella* spp. United States of America. Center of Food Safety and Applied Nutrition. Doc. Tec. 2002. Disponible en: www.usda.gov.
19. López, J.C. Toxiinfecciones alimentarias. México. Editorial Mc Graw Hill. 1994. p 6, 72-92.
20. Stainer, R.Y. Diodoroff, E.A. El mundo de las bacterias. Trad. Gonzalez W. 3ª edición. New Yersey, USA. Editorial Prentice Hall. 1999. p 212-215.
21. Madrid, V. Curso de industrias lácteas. 1ª Edición. Zaragoza-España. Editorial Acriba 1996. p 150-200.
22. Waites, WM, Arbuthnott JP. Foodborne pathogens an ilustrated text. London: Inland. Wolfe.1991. p557.

23. Ram S. Microbiological quality and incidence of organisms of public health importance in food and water in Ludhiana. 1^a edition. México. Editorial Acribia. 1996. p 103,253.
24. Manual Merck de información médica para el hogar. Comendador, F. trad. Barcelona, España: Océano, 2000. p 550-557.
25. Carlucci, A.F. y Pramer, D. An evaluation of factors affecting the survival of *Escherichia coli* in sea water . *Appl .Microb.* 8:254-256.1996.
26. Fishbein, M., Surkiewicz, BF., Coliforms, fecal coliforms, *E.coli* and enteropathogenic ed. Speck , M.L. American Public Health Assoc., Washington, USA.1996.
27. Frank, J.F. Survey of and semisoft cheese for presence of fecal coliform and serotypes of enteropathogenic *E.coli*. *J.Food Prot.*41: 198-200.1998.
28. Fernández, E. Microbiología sanitaria. Guadalajara, México: Universidad de Guadalajara, 1991. p 23-25, 555-559.
29. Manual Codex Alimentarius. Disponible en www.codexalimentarius.net/index_es.stm revisada 25 de agosto de 2005.
30. Mataix, J. Nutrición y alimentación humana. Barcelona, España: Océano, 2005. p 449-452.
31. Amito, J. Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 1995. p 25-28.
32. Manual Codex Alimentarius. Disponible en www.codexalimentarius.net/index_es.stm revisada 25 de agosto de 2005.
33. Benenson, AS. Manual de lucha contra las enfermedades trasmisibles. 16^a edición. Mexico: editorial American Public Health Association. 2000.

34. Danaji, AS. *Prevention of bacterial*. United State Departament of Agriculture (USDA). USA. Disponible <http://www.foodsafety.gov>> consultada el 21.03.06.
35. Goodnough, Mc. Jonson EA. Control of *Salmonella enteritidis* infections. *Environ. Microbiol.* 1991.51, 78, 3.
36. Normas Coguanor. Guatemala. Disponible en
www.mineco.gob.gt/mineco/coguanor/2003/clasificacion_normas.htm.
Publicadas año 2003. Consultada 25 de agosto de 2005
37. Sánchez, O. Certificación de sistemas gestión de calidad alimentaría. Boletín semanal, Diario de seguridad alimentaría. Fundación Eroski Consumaseguridad. España. 22.11.2005. Disponible en: www.consumaseguridad.com. Consultada el 15.03.06.
38. Larios, J.J. Hacia un modelo de calidad. FAO.01.2000. disponible en www.fao.org. Consultada el 08.11.06.
39. Cifuentes, D. Análisis bacteriológico en pequeñas empresas de productos lácteos: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación. Facultad de Veterinaria). 1985 p 19,55.
40. Castillo, C. Determinación de coliformes y *S.aureus* en cremas y quesos no madurados producidos de forma artesanal respecto a las normas COGUANOR vigentes: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1992. Páginas 19,20.
41. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA). Proyecto Intervención Tecnológica en ocho municipios de la Costa Sur de Guatemala. 1996. p 27,47,48.

42. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. La semana epidemiológica en Guatemala. No. 12. Marzo 2006. Disponible en: www.mspas.com.gt. Consultada el 02.08.06.
43. Manual Merck. KgA .Darmstadt, Germany. 2002.
44. American Public Association. Compendium of methods for microbiological examination. 4^a edition. USA 2001. Cap 46. p 473-479.
45. Conde, F. Métodos y técnicas de investigación en ciencias sociales. México. Editorial Delgado. 2001. p 53-69.
46. Nave, F. Departamento de Bioestadística, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Referencia personal
47. Lago, P. et al. Recuento microbiológico, Medicina Tropical: Vol 57: 2005: 111-119. Disponibilidad en [hhp// Suelo. Sld. cullSuelo.php](http://hhp//Suelo.Sld.cullSuelo.php). consultado 09.05.07

INDICE ANEXOS

Características microbiológicas de los quesos	49
Brotos de importancia documentados, de salmonelosis transmitidas por alimentos	50
Diagrama de flujo para la producción de queso fresco	51
Hoja de identificación y resultados de muestras	52
Interpretación de resultados coliformes y <i>E.coli</i>	53
Interpretación de resultados confirmación de <i>E.coli</i>	54
Interpretación de resultados <i>Salmonella</i> en agar Rambach	55
Interpretación de resultados batería bioquímica para <i>Salmonella</i> spp	56
Interpretación de resultados pruebas serológicas para <i>Salmonella</i>	57
Parámetros de evaluación visual queserías	58

Anexo No. 1

Tabla 1. Características microbiológicas idóneas en los quesos

Microorganismos	n ¹	C ²	m ³	M ⁴
Coliformes totales, UFC/g	5	2	200	500
Coliformes fecales, UFC/g	5	1	10	10
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	0	0	0
<i>Salmonella</i> en 25/ gramos	5	0	0	0

De donde:

- 1 n** = Número de muestras que deben analizarse
- 2 c** = Número de muestras que se permite que tengan un recuento mayor que m pero no mayor que M.
- 3 m** = Recuento máximo recomendado
- 4 M** = Recuento máximo permitido (37).

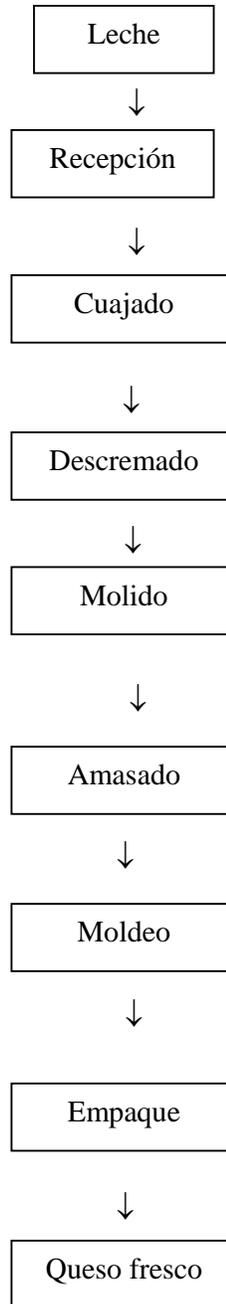
Fuente: Normativa nicaragüense en línea disponible en www.oirsa.org/OIRSA/Miembros/Nicaragua/Decretos_Leyes_Reglamentos/NTON-03-022-99.htm.

Anexo No. 2
Tabla No. 2. Brotes de importancia documentados, de salmonelosis transmitida por alimentos.

Año	País	Alimento	Serovariedad	No. De Casos
1992	Países Bajos	Leche cruda	<i>Indiana</i>	700
1992	Escocia	Buffet frio	<i>typhimurium</i>	654
1993	Inglaterra	Pollo	<i>montevideo</i>	245
1994	Inglaterra	Chocolate	<i>Napoli</i>	126
1994	Noruega	Pimienta negra	<i>oranienburg</i>	766
1996	Inglaterra	Carne cocida	<i>virchow</i>	274
1996	Canadá	Queso cheddar	<i>typhimurium</i>	2000
1997	Inglaterra	Bife asado frio	<i>typhimurium</i>	450
1999	Inglaterra	Carne cocida	<i>infantis</i>	150
1999	EEUU	Leche pasteurizada	<i>typhimurium</i>	200
2001	Inglaterra	Leche en polvo para lactantes	<i>ealing</i>	60

Fuente: Waites, WM, Arbuthnott JP. Foodborne pathogens an illustrated text. London: England. Wolfe.1991. p557.

Anexo No.3
Diagrama No. 1. Procedimiento para elaboración de queso



FUENTE: Diagrama copiado del libro de: Warner, J. Principios de la tecnología de los Lácteos. Editorial Limusa. Mexico. 1989

Anexo No. 4

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DETERMINACIÓN DE SALMONELLA SPP EN QUESO FRESCO Y DE
CAPAS PRODUCIDO ARTESANALMENTE Y DISTRIBUIDO EN EL
MERCADO LA TERMINAL.**

HOJA DE IDENTIFICACION DE MUESTRAS

No. De identificación _____ No. De muestreo _____

Hora de toma de muestra _____

Fecha de muestreo _____

Nombre de quesería _____

Nombre encargado _____

Procedencia del queso _____

Fecha de recepción _____

Condiciones de transporte _____

Condiciones de llegada de muestra _____

Hora de ingreso al laboratorio (LAMIR) _____

Hora inicio de análisis microbiológico _____

Resultados

Análisis				
Coliformes totales, UFC/g				
Coliformes fecales, UFC/g				
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g				
<i>Salmonella</i> en /25 gramos				

Fuente: ficha elaborada por la tesista para el analisis de muestras.

Anexo 5

Cuadro No. 1. Interpretación de resultados Coliformes generales y *E.coli*

Microorganismos presentes el medio de cultivo	Resultado Positivo	Resultado Negativo
Coliformes totales	Colonias de color rosa	Colonias incoloras.
Coliformes fecales	Colonias color violeta	Colonias color diferente.
<i>E. coli</i>	Colonias color violeta	Colonias con un color diferente.

Fuente: Manual Merck. KgA .Darmstadt, Germany. 2002.

Anexo 6

Cuadro No. 2. Interpretación de resultados de confirmación *E.coli*

Microorganismos presentes el medio de cultivo	Resultado Positivo	Resultado Negativo
<i>E. coli</i> + Reactivo de Kovacs	Colonias color rojo.	Colonias sin cambio de coloración.

Fuente: Manual Merck. KgA .Darmstadt, Germany. 2002.

Anexo 7

Cuadro No. 3. Interpretación de resultados *Salmonella* spp Agar Rambach

Microorganismos presentes el medio de cultivo	Resultado Positivo	Resultado Negativo
Coliformes	Colonias de color azul a violeta azulado	Colonias incoloras.
<i>Salmonella</i>	Colonias color rojo	Colonias incoloras.

Fuente: Manual Merck. KgA .Darmstadt, Germany. 2002.

Anexo 8

Cuadro No. 4. Interpretación de resultados batería bioquímica para *Salmonella*

Tubo	Resultado Positivo <i>Salmonella</i> spp	Resultado Negativo para <i>Salmonella</i> spp
TSI	Alcalino/ácido con o sin producción de gas	Sin variación de coloración
LIA	Alcalino/ácido con producción de gas	Sin variación de coloración
UREA	Negativa (sin variación de color)	Coloración fucsia
INDOL	Negativa	Positiva

Fuente: American Public Association. Compendium of methods for microbiological examination. 4ª edition. USA 2001. Cap 46. p 473-479.

Anexo 9

Cuadro No. 3. Interpretación de resultados prueba serológica para identificación de salmonela

Resultado Positivo	Aglutinación en muestra
Resultado negativo	No aglutinación
Control	No aglutinación

Fuente: American Public Association. Compendium of methods for microbiological examination. 4ª edición. USA 2001. Cap 46. p 473-479.

Anexo No.10
Parámetros de evaluación visual a Queserías

Nombre de quesería: _____

Parámetro de evaluación local y equipo	Punto Disponible	Calificación
1. Limpieza de local.	1	
2. Limpieza de equipo (cuchillo, balanza).	1	
3. Estado de refrigerador.	1	
4. Limpieza de piso.	1	
5. Limpieza de áreas aledañas.	1	
Punteo		

OBSERVACIONES:

Malo: 0 - 2 Deficiente: 3-4 Bueno: 5

Parámetro de evaluación de personal	Punto Disponible	Calificación
1. Uso de redcilla.	1	
2. Uñas limpias y recortadas.	1	
3. Maquillaje.	1	
4. Uso de alajas (anillos, pulseras).	1	
5. Uso de zapatos cerrado.	1	
6. Limpieza de gabacha.	1	
7. Lavado de manos después de cada venta.	1	
Punteo Total		

Malo: 0 - 3 Deficiente: 3-5 Bueno: 5-6 Excelente: 7

Fuente: Ficha elaborada por tesista.

Brenda Lisset Velásquez Lopez
Autora

MSc. Karin Herrera
Asesora

Licda. Rosario Hernández
Revisora

MSc. Vivian Matta
Revisora

MSc. Vivian Matta
Directora de Escuela

Oscar Manuel Cóbar Pinto, PhD.
Decano

