



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

TESIS PROFESIONAL

**CALIDAD SANITARIA DE BEBIDAS PREPARADAS EN 3
CADENAS DE CAFETERIAS DE LA CIUDAD DE OAXACA**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

INGENIERIO QUÍMICO

PRESENTA:

GABRIEL HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

ASESORES:

Dr. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ MEDINA

COMISIÓN REVISORA

Dra. ALMA DOLORES PÉREZ SANTIAGO

Dr. LUIS JAVIER TOLEDO FLORES

M. C. CARLOS FRANCISCO VARAPIZUELA SÁNCHEZ

Agradecimiento

Quiero agradecer primero que nada a mi madre Natividad Lucia y familia por su apoyo y aliento constante, porque su mayor ayuda en este proceso fue estar siempre presente.

A mis queridas amigas Ahimé y Karime por motivarme y estar siempre presente en los buenos y malos momentos, también a mis amigos que como siempre estuvieron presente durante todo este proceso a Cesar, Dany, Kristal Gaby, Ángel, Mau, Karin, Vale, Rudy y aquellos que solo estuvieron un tiempo pero fueron parte importante para que llegara hasta este momento a mis profesores Dr. Marco Antonio Sánchez Medina, M. C. Carlos, Dr. Toledo y M. C. Donaji que siempre estuvieron ahí presente cuando necesite de su apoyo.

Gracias a todos los que han estado y seguirán estando

Contenido

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
Objetivo General	2
Objetivos Específicos	2
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 CALIDAD SANITARIA DE LOS ALIMENTOS	3
1.2 TIPOS DE CONTAMINANTES	4
1.2.1 Tipos de contaminantes en los alimentos	6
1.2.2 Tipos de peligros en los alimentos	7
1.2.3 Vías de Contaminación de los alimentos.	8
1.3. ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR LOS ALIMENTOS	8
1.3.1 Causas más comunes de enfermedades transmitidas por alimentos	10
1.3.2 Alimentos Contaminados.	11
1.3.3 Enfermedades más comunes trasmitidas por los alimentos	11
1.4 BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS	13
1.5 MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE.	13
1.5.1 Microorganismos mesófilos aerobios	13
1.5.2 Cuenta de mohos y levaduras	14
1.5.4 Coliformes fecales	16
1.5.5 <i>Salmonella</i>	16
1.5.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	19
2.1 MUESTREO.	19
2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y DILUCIONES.	20
2.3 MESOFILOS AEROBIOS	20
2.4 MOHOS Y LEVADURAS	21
2.5 <i>Salmonella Spp.</i>	21
2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.7 COLIFORMES TOTALES Y FECALES	22
2.7.1. PRUEBA PRESUNTIVA	22
2.7.2. PRUEBA CONFIRMATIVA	23
2.7.3 <i>ESCHERICHIA COLI</i>	24
3 RESULTADOS.	25
3.1. MUESTREO	25

3.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	27
3.3.1. Capuchino	27
3.3.2. Frappe	28
3.3.3. Moka	29
4 CONCLUSIONES	33
REFERENCIAS	34

Índice de tablas

<i>Tabla 1 Fuentes de contaminación bacteriana (Caballero, 2008)</i>	5
<i>Tabla 2 Enfermedades más comunes transmitidas por los alimentos (SAGARPA, 2013)</i>	12
<i>Tabla 3 Cuadro latino de tres variables</i>	19
<i>Tabla 4 Combinaciones del cuadro latino de tres variables</i>	19
<i>Tabla 5 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.</i>	28
<i>Tabla 6 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.</i>	29
<i>Tabla 7 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.</i>	30
<i>Tabla 8 Casos de incumplimiento de la norma NOM-218-SSA1-2011 en los productos estudiados</i>	31

Índice de figuras

<i>Figura 1 Clasificación de las enfermedades alimentarias (Frazier, 2003)</i>	10
<i>Figura 2 Disolución de Coliformes (Toledo, 2005)</i>	23
<i>Figura 3 Mapa correspondiente al Centro de la Ciudad de Oaxaca (Google Maps).</i>	25
<i>Figura 4 Mapa correspondiente a la Colonia Reforma (Google Maps).</i>	26
<i>Figura 5 Mapa correspondiente a Plaza del valle (Google Maps).</i>	26

Índice de Gráficos

<i>Gráfico 1 Porcentaje de muestras que no cumplen con la norma NOM-218-SSA1-2011.</i>	32
--	----

INTRODUCCIÓN

La calidad es un atributo fundamental de cualquier bien o servicio y se debe fomentar en todas las áreas prioritarias para el desarrollo de los individuos, por lo tanto la salud no debe ser la excepción. Sin embargo, a pesar de los conocimientos, avances y esfuerzos realizados por actores clave en la materia, la ausencia de calidad o de garantías mínimas de ésta en la atención a la salud representa un reto social a nivel mundial, sobre todo, para aquellos países cuyos niveles de desarrollo no han alcanzado estándares deseables y sostenidos para su progreso sanitario y social (Hernández, 2012).

En la actualidad, miles de niños y adultos mueren cada año en todo el mundo por no tener cuidado en la preparación higiénica de alimentos, en restaurantes, fondas, puestos callejeros y hasta en la propia casa. México no está exento de esta problemática: se calcula que en el país ocurren cada año cerca de 200 millones de episodios de diarrea por comer alimentos contaminados, cifra alarmante aunque no todas las veces se acude con el médico ya que se recurre a la automedicación, y estos datos no se registran (COFEPRIS, 2015).

Los análisis microbiológicos son de gran importancia para conocer la inocuidad de los productos que se ofrecen al público. En este trabajo se analizaron 27 muestras de 9 establecimientos de tres cadenas de cafeterías de la ciudad de Oaxaca ubicados en la Colonia Reforma, Centro y Plaza del Valle. El 96% de las muestras analizadas presentó algún tipo de contaminación microbiológica, esto se puede deber al mal manejo e higiene de los equipos y productos. De todas las muestras analizadas, solamente una muestra de capuchino ubicada en plaza del valle no rebasó los límites máximos permitidos por la norma.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la calidad sanitaria de bebidas preparadas en tres cadenas de cafeterías de la ciudad de Oaxaca.

Objetivos Específicos

- a) Seleccionar puntos de muestreo utilizando un cuadro latino de 3 variables.
- b) Realizar Análisis Microbiológico de acuerdo a las normas oficiales mexicanas.
 - i. Mesofilos Aerobios.
 - ii. Coliformes totales y fecales.
 - iii. Mohos y Levaduras.
 - iv. *Salmonella*.
 - v. *Staphylococcus Aureus*.
 - vi. *E. Coli*
- c) Comparar los resultados con la Norma Oficial Mexicana.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 CALIDAD SANITARIA DE LOS ALIMENTOS

El origen de la Bromatología, y por tanto de la Higiene, Inspección y Control Alimentario, puede remontarse a los propios inicios de la historia del hombre, en el intento de éste por conseguir alimentos que satisfagan sus necesidades nutritivas. Por otra parte, si la alimentación es consustancial con la especie humana, las normas higiénicas, más o menos elementales, van necesariamente unidas a ésta. Esta dependencia del suministro alimenticio obligó al hombre a profundizar en el estudio de los alimentos, siendo éste el punto de partida de la evolución histórica de la Bromatología como Ciencia (López, 2000).

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. En los últimos años se ha avanzado en la sensibilización acerca de la importancia de la inocuidad teniendo en cuenta toda la cadena alimentaria, puesto que se considera que algunos problemas pueden tener su origen en la producción primaria, es decir en la finca, y se transfiere a otras fases como el procesamiento, el empaque, el transporte, la comercialización y aún la preparación del producto y su consumo (MINSALUD, 2018).

Desde que en 1882 Schardinger determinó la calidad sanitaria según la presencia de lo que hoy conocemos como *Escherichia coli*, en lugar de hacerlo según *Salmonella typhi*, los microorganismos indicadores han sido de gran utilidad. Se hace una amplia utilización de grupos o especies de microorganismos cuya enumeración o recuento se realiza con mayor facilidad y su presencia en los alimentos en determinado número indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas y/o toxigénicas (Caballero, 2008).

En México existen 2 agencias principales que se encargan de la inocuidad de los alimentos frescos y procesados. Dichas agencias son responsabilidad de dos Secretarías de Estado, la Secretaría de Salud (SSA) y la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Conforme a la Ley General de Salud, la SSA ejerce las atribuciones de regulación, control y fomento sanitario, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y la SAGARPA se encarga de los aspectos de Inocuidad a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) (SAGARPA, 2013).

En la superficie de las plantas en crecimiento existe una flora microbiana típica que se puede contaminar por el aporte de microorganismos de procedencia extraña. De igual forma, los animales poseen una flora microbiana superficial típica más una flora intestinal, eliminan microorganismos en sus excreciones y secreciones, contaminándose también por microorganismos de procedencia extraña. Sin duda, tanto las plantas como los animales que padecen enfermedades parasitarias albergan el patógeno que produce la enfermedad. No obstante, se ha señalado que los tejidos internos sanos de las plantas y de los animales contienen pocos microorganismos vivos o son estériles. En la Tabla 1 se indican los microorganismos de varias procedencias naturales los cuales pueden estar presentes en la mayoría de los alimentos (Caballero, 2008).

1.2 TIPOS DE CONTAMINANTES

Cuando se habla de contaminación de alimentos se habla de la modificación que estos sufren por la presencia de gérmenes o elementos extraños como metales, productos tóxicos, etc., y que suponen un riesgo para la salud del consumidor (Garcinuño, 2007).

Tabla 1 Fuentes de contaminación bacteriana (Caballero, 2008)

	Personas				Animales				Agua			
	Piel	Intestino	Heces	Otras	Piel	Intestino	Heces	Otras	Salada	Dulce	Suelo	Alimentos
<i>Acinetobacter</i>	+	+	+	+						+	+	+
<i>Aeromonas</i>			+	+								
<i>Alcaligenes</i>		+				+			+	+	+	+
<i>Alteromonas</i>					+				+			+
<i>Bacillus</i>			+				+		+	+	+	+
<i>Brevibacterium</i>			+		+				+		+	+
<i>Brochotrix</i>					+		+				+	
<i>Campylobacter</i>		+	+	+		+	+	+		+	+	+
<i>Clostridium</i>		+				+			+	+	+	
<i>Corynebacterium</i>	+		+	+	+			+				+
<i>Desulfotomaculum</i>							+		+	+	+	+
<i>Enterobacter</i>			+	+			+	+		+	+	+
<i>Erwinia</i>				+				+				+
<i>Escherichia</i>	+				+							
<i>Flavobacterium</i>				+				+	+	+	+	
<i>Halobacterium</i>									+			
<i>Klebsiella</i>		+				+					+	
<i>Leuconostoc</i>												+
<i>Listeria</i>		+	+	+		+	+	+			+	+
<i>Microbacterium</i>											+	
<i>Micrococcus</i>	+				+					+	+	
<i>Moraxela</i>	+			+				+				+
<i>Proteus</i>			+				+				+	
<i>Pseudomonas</i>				+					+	+	+	
<i>Salmonella</i>		+	+		+	+			+			

No es lo mismo un alimento contaminado que un alimento alterado o deteriorado, ya que cuando un alimento se encuentra deteriorado sus cualidades, olor, sabor, aspecto, se reducen o anulan, pudiéndose apreciar por medio de los sentidos (vista, olfato, gusto, tacto). Sin embargo, la contaminación ni se nota ni se ve ya que los microorganismos no se aprecian a simple vista al ser microscópicos. Un alimento contaminado puede parecer completamente inocuo. Por tanto, es un error suponer que un alimento con buen aspecto está en buenas condiciones para su consumo, puesto que puede estar contaminado por bacterias (Garcinuño, 2007).

1.2.1 Tipos de contaminantes en los alimentos

Existen tres tipos de contaminantes en los alimentos:

- a) **Contaminación primaria o de origen:** Ocurre en el proceso mismo de producción primaria de alimentos. Por ejemplo: cosecha, ordeña, pesca. Un típico ejemplo es cuando el huevo se contamina por las heces de la gallina (Agricultura, 2016).
- b) **Contaminación directa:** Es cuando el agente contaminante es el manipulador. Las situaciones que dan a una contaminación de este tipo son simples, pero no poco importantes y todas coinciden en un punto: la responsabilidad del manipulador como tal, estornudar sobre la mesa de trabajo o el alimento, manipular alimentos cuando hay heridas en las manos y más aún cuando hay posibilidad de infección en la herida o permitir que los alimentos tomen contacto con insectos o productos químicos como los insecticidas o detergentes (Gonzalez, 2018).
- c) **Contaminación cruzada:** La contaminación cruzada de alimentos es causa muy frecuente del transporte de gérmenes entre productos y se presenta especialmente (PRESCAL, 2000):
 - i. Cuando se transportan de manera incorrecta alimentos crudos con otros ya procesados

- ii. Al almacenar los productos procesados o semiprocados con alimentos crudos.
- iii. Cuando hay una manipulación inadecuada de productos crudos y procesados y se manipulan unos y otros con las manos, o con utensilios sin higienizar.

1.2.2 Tipos de peligros en los alimentos

Existen tres tipos de peligros que pueden contaminar los alimentos y provocar un riesgo para la salud pública:

a) **Peligros Físicos:** Se considera contaminación física del alimento, cualquier objeto presente en el mismo y que no deba encontrarse allí, y sea susceptible de causar daño o enfermedad a quien consuma el alimento (Elika, 2016). Estos son:

- i. Huesos, astillas o espinas
- ii. Cristales, porcelana
- iii. Tozos de madera y metal
- iv. Reloj, anillo, pendientes
- v. Materiales de envasar o empaquetar

b) **Peligros Químicos:** La Contaminación química se produce cuando el alimento se pone en contacto con sustancias químicas. Esto puede ocurrir durante los procesos de producción, elaboración industrial y/o casera, almacenamiento, envasado y transporte. Las sustancias involucradas pueden ser plaguicidas, residuos de medicamentos de uso veterinario (antibióticos, hormonas), aditivos en exceso, productos de limpieza, materiales de envasado inadecuado, etc. (Camacho, 2014).

Un ejemplo pueden ser residuos de productos químicos utilizados en los cultivos para el control de plagas, durante las etapas de transporte, almacenado y elaboración de alimentos que tengan contacto directo con

sustancias tóxicas, tales como plaguicidas, combustibles, lubricantes, pinturas, detergentes, desinfectantes, entre otros (Agricultura, 2016).

- c) **Peligros Biológicos:** Es un fenómeno que se presenta por la invasión de microbios patógenos (patos = enfermedad; geno = que da origen) durante la elaboración, la manipulación, el transporte y la distribución al público de los alimentos, u originada por el mismo consumidor. Las principales causas son: animales enfermos portadores de enfermedades, contaminación de alimentos durante la elaboración, manipulación, transporte y distribución al público (Álvarez, 2012).

1.2.3 Vías de Contaminación de los alimentos.

Existen dos vías de contaminación de los alimentos:

- a) **Vectores:** Los principales vectores que contaminan los alimentos son las aves, moscas, cucarachas, ratas o ratones y hormigas. Estos transportan los microorganismos y contaminan los alimentos, por lo tanto, es indispensable que en los lugares que se manipulan alimentos se cuente con un programa de control de plagas. (Hernández, 2012)
- b) **Basura:** La basura en el lugar de preparación o almacenamiento de los alimentos representa un medio de cultivo ideal para el desarrollo de los microorganismos y la presencia de plagas. (Hernández, 2012)

1.3. ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR LOS ALIMENTOS

Los trastornos gastrointestinales debido a la ingestión de alimentos pueden obedecer a diversas causas, por ejemplo: la ingestión de excesiva cantidad de alimentos, alergias, carencias nutritivas, verdaderos envenenamientos químicos, por plantas o animales tóxicos, toxinas bacterianas e infecciones por microorganismos. Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) de origen bacteriano son las que con mayor frecuencia se reportan a nivel mundial. El perfil de las causas microbianas demuestra en la actualidad matices muy

singulares. La lista de patógenos se ha incrementado notablemente. En algunos casos se trata de microorganismos recientemente descubiertos, en otros, son microorganismos que perdieron vigencia de acuerdo con los reportes epidemiológicos, pero han resurgido y se informan cada vez con mayor frecuencia, denominados microorganismos emergentes y reemergentes. Estos patógenos incluyen los virus tipo *Norwalk*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholera* y *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahemolyticus*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis* e *Isospora belli* (Caballero, 2008; OMS, 2017).

La Iniciativa de la OMS para estimar la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria y preparado por el Grupo de Referencia sobre Epidemiología de la Carga de Morbilidad de Transmisión Alimentaria (FERG), aporta las primeras estimaciones mundiales de la incidencia y mortalidad de estas enfermedades de las cuales se incluyen 31 agentes alimentarios causantes de 32 enfermedades: 11 agentes etiológicos de enfermedades diarreicas (1 virus, 7 bacterias y 3 protozoos), 7 de enfermedades infecciosas invasivas (1 virus, 5 bacterias y 1 protozoo), 10 helmintos y 3 productos químicos (FERG, 2015).

Pese a las deficiencias de los datos y a las limitaciones de estas estimaciones iniciales, queda de manifiesto que la carga mundial de ETA es considerable y afecta a personas de todas las edades, pero sobre todo a los menores de 5 años y a quienes viven en subregiones del mundo con ingresos bajos (OMS, 2017).

En la figura 1 se muestra otra clasificación de las enfermedades alimentarias. En ella, el conjunto de las enfermedades alimentarias se subdivide en intoxicaciones e infecciones. Las intoxicaciones alimentarias pueden ser consecuencia de un envenenamiento químico o de la ingestión de una toxina (intoxicación). La toxina se puede encontrar de forma natural en determinadas plantas o animales o ser un producto metabólico de naturaleza tóxica excretado por un microorganismo. Cuando se habla de una determinada intoxicación alimentaria bacteriana se alude a las enfermedades alimentarias causadas por la presencia de una toxina bacteriana que se ha originado en el alimento (Frazier, 2003).

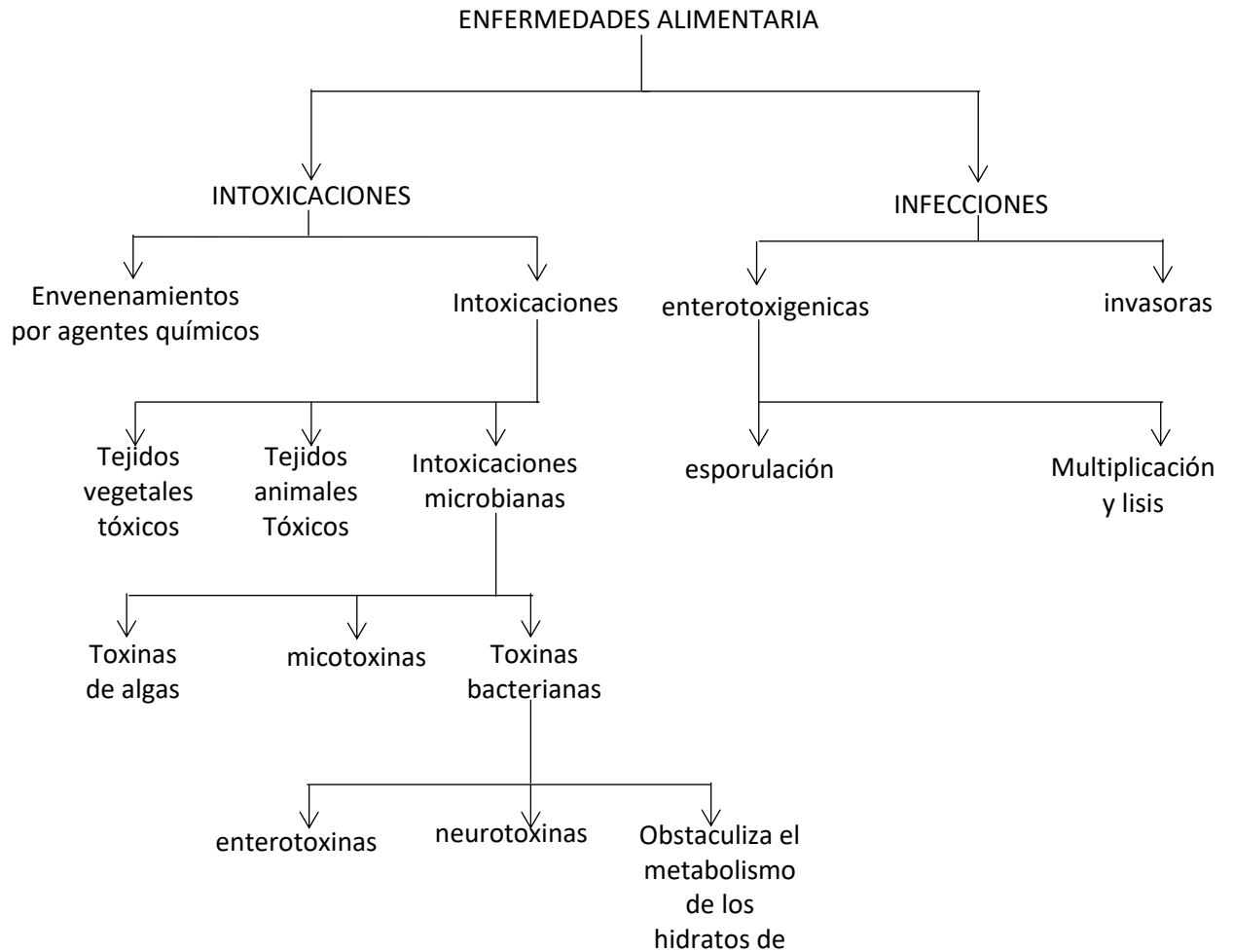


Figura 1 Clasificación de las enfermedades alimentarias (Frazier, 2003)

1.3.1 Causas más comunes de enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) es un término que se aplica a todas las enfermedades adquiridas por medio del consumo de alimentos contaminados. Las causas más comunes son intoxicaciones e infecciones.

- a) Infección: Presente cuando se consume un alimento contaminado con gérmenes que causan enfermedad, como pueden ser bacterias, larvas o huevos de algunos parásitos. Puede ser el caso de bacterias como Salmonella presente en huevos, carnes, pollos, lácteos, vegetales crudos y frutas cortadas o peladas (Fernández, 1981).

- b) Intoxicación: Las intoxicaciones por alimentos son infecciones o irritaciones del tracto gastrointestinal causadas por alimentos o bebidas que contienen una bacteria dañina, parásitos, virus o químicos. El tracto gastrointestinal es una serie de órganos huecos que se unen en un tubo largo y enrollado desde la boca hasta el ano. Los síntomas comunes de la intoxicación por alimentos incluyen vómitos, diarrea, dolor abdominal, fiebre y escalofríos (NIH, 2014).

1.3.2 Alimentos Contaminados.

Un alimento contaminado es aquel que contiene microorganismos como bacterias, hongos, parásitos, virus; o toxinas producidas por los microorganismos. Un alimento también puede estar contaminado por la presencia de sustancias extrañas (tierras, trozos de palo, pelos) o contaminantes químicos, tales como detergentes, insecticidas o productos químicos (Agricultura, 2016).

El ser humano es uno de los principales causantes de la contaminación de los alimentos. La contaminación generalmente se produce durante la manipulación de los alimentos. Las manos son la principal fuente de contaminación, porque a través de ellas se pueden introducir microorganismos muy dañinos para el ser humano.

1.3.3 Enfermedades más comunes transmitidas por los alimentos

En la tabla 2 se muestran algunos de los microorganismos con mayor presencia en los alimentos y las enfermedades que causan (SAGARPA, 2013).

Tabla 2 Enfermedades más comunes transmitidas por los alimentos (SAGARPA, 2013)

Microorganismos transmisores	
Salmonelosis, Fiebre Tifoidea, Estafilocócica y <i>E. Coli</i>	
Vía de Trasmisión	Oral, consumo de alimentos contaminados
Síntomas	Náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre, dolor de cabeza. 2. Fiebre tifoidea: Fiebre alta, letargo, síntomas gastrointestinales (dolor abdominal y diarrea), dolor de cabeza, dolores musculares, pérdida de apetito. Existen ocasiones donde la fiebre tifoidea se presenta con una erupción de manchas
Alimentos Involucrados	Carnes crudas, mariscos crudos, huevos crudos, frutos secos crudos (y otros alimentos secos), frutas y verduras. Alimentos que se han vinculado a este tipo de intoxicación alimentaria incluyen: Carne y productos cárnicos, aves de corral y huevos, ensaladas, productos de panadería (pasteles rellenos de crema, pasteles de crema y pasteles de chocolate), leche y productos lácteos.
Medidas de Control	1. Cocción completa; 2. Lavado de manos, 3. Separar los alimentos crudos de los alimentos cocidos, y; 4. Mantener los alimentos a la temperatura correcta de refrigeración (5°C o menos).

1.4 BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS

Las bebidas no alcohólicas son las que en su composición entra el agua potable gasificada o no, adicionada con cualquiera de las sustancias siguientes: azúcares, jugos de frutas, extractos vegetales permitidos, ácidos orgánicos (cítrico, láctico, fumárico, glucánico, málico y tartárico), esencias y colorantes naturales o sintéticos autorizados. Se clasifican en: aguas gaseadas, gaseosas, bebidas de fruta, de tubérculos y de semillas disgregadas, batidos, horchata, refrescos (Caballero, 2008).

1.5 MICROORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE.

Los microorganismos indicadores sirven para evaluar las condiciones higiénicas bajo las cuales se ha elaborado un alimento. La presencia en los alimentos de algunas bacterias como *E. coli*, sugiere que el alimento se contaminó con material fecal. Los coliformes son microorganismos indicadores, en el sentido de que su presencia en el alimento indica una deficiencia sanitaria en su manejo (Fernandez, 2000).

1.5.1 Microorganismos mesófilos aerobios

Cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, la técnica comúnmente utilizada es la cuenta en placa. En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en las condiciones establecidas. Las condiciones de temperatura y la presencia de oxígeno permiten seleccionar grupos de bacterias cuya presencia es importante en diferentes alimentos, por ejemplo, las bacterias mesofílicas aerobias, o mesófilas aerobias son un indicador general de la población que puede estar presente en una muestra y, por lo tanto, de la higiene con que ha sido manejado el producto. Este grupo en particular se determina en la mayor parte de los alimentos, pero para algunos productos, también es importante

determinar la presencia de bacterias termofílicas, psicofílicas y/o psicrotróficas para predecir la estabilidad del producto bajo diferentes condiciones de almacenamiento (Toledo, 2005; Campuzano, 2015).

Los Mesófilos aerobios además indican el grado de contaminación de una muestra y las condiciones que han favorecido o reducido la carga microbiana. Desde luego, no se aplica a alimentos fermentados, y puede dar escasa información sobre el manejo del alimento cuando éste es poco favorable para el desarrollo microbiano por su pH ó aw, por ejemplo. Este grupo es un indicador importante en alimentos frescos, refrigerados y congelados, en lácteos y en alimentos listos para consumir (RTE por sus siglas en inglés: ready to eat) (Doyle, 2001).

1.5.2 Cuenta de mohos y levaduras

Las levaduras que se encuentran en los alimentos pueden ser beneficiosas o perjudiciales, Las fermentaciones producidas por levaduras durante la elaboración de alimentos como el pan, la cerveza, los distintos tipos de vino, el vinagre y los quesos de maduración externa, cultivándose también para obtener enzimas y alimentos. Las levaduras son perjudiciales cuando producen la alteración del Chucrut, de los jugos de frutas, de los jarabes, de la melaza, de la miel, de las carnes, del vino, de la cerveza y de otros alimentos (Frazier, 2003; Toledo, 2005).

Algunos hongos causan reacciones alérgicas y problemas respiratorios y otros hongos en las condiciones adecuadas, producen “micotoxinas”, sustancias venenosas que pueden enfermar a las personas (USDA, 2017).

Los mohos crecen en la superficie de los alimentos con su típico aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces pigmentado y que generalmente todo alimento enmohecido se considera no apto para el consumo. (Frazier, 2003; USDA, 2017).

Los hongos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, por lo que son frecuentes en la microbiota habitual de muchos alimentos; se dispersan fácilmente por el aire y el polvo. Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde las condiciones no favorecen el crecimiento bacteriano, por ejemplo: pH ácido, baja humedad, alto contenido en sales o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, presencia de antibióticos u otros antibacterianos. Como grupo indicador son útiles para evidenciar grado general de contaminación en alimentos con estas características o cuando los mesófilos aerobios no son útiles, como en alimentos fermentados. También son indicadores del riesgo de desarrollo de hongos toxigénicos en alimentos como frutos secos, especias, cereales y otros granos, y sus derivados (Doyle, 2001).

1.5.3 Cuenta de Coliformes totales

Los coliformes son bacilos cortos que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las principales especies de bacterias coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*; no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose entre las mismas especies de otros géneros de la familia Enterobacteriaceae e incluso especies de *Aeromonas*. El grupo de coliformes fecales incluye a los coliformes capaces de crecer a temperatura elevada (44 ó 45°C). El primer objetivo de las pruebas de incubación a temperatura elevada fue la diferenciación de los coliformes de origen fecal de los que no tienen origen fecal (Frazier, 2003).

Para su determinación se pueden utilizar los métodos del número más probable (NMP ó MPN por sus siglas en inglés) que es un método estadístico en tres etapas y permite el hallazgo de cantidades muy bajas de coliformes. También se pueden detectar por cuenta en placa utilizando agar bilis-rojo violeta (ABRV ó RVBA por sus siglas en inglés) en el cual las colonias fermentadoras de lactosa causan el vire del indicador; pueden detectarse por filtración en membrana (Millipore) e

incubación en medios adecuados, por métodos rápidos como Petrifilm y reacciones cromogénicas o fluorogénicas (Doyle, 2001).

1.5.4 Coliformes fecales

Esta prueba se considera indicador de contaminación fecal reciente, humana o animal en productos como agua embotellada, leche y jugos, alimentos infantiles, y alimentos procesados en general. Se caracteriza por ser coliformes termotolerantes (fermenta lactosa a 44.5°C) que producen indol a partir de triptofano y produce β -glucuronidasa, características que se usan para su identificación en laboratorio, generalmente en la etapa final del NMP o de alguno de los otros métodos utilizados para coliformes totales (Doyle, 2001).

Estos microorganismos se aíslan con frecuencia de la materia fecal pero no son exclusivos de ella. Un porcentaje considerable de coliformes termotolerantes tiene como hábitat el agua, el suelo y las plantas (Fernandez, 2000). Debido a esto, la presencia de coliformes termotolerantes en un alimento en general no es indicativo de contaminación fecal, excepto en el agua limpia, ostiones y algunas verduras crudas (Fernández, 1981). No obstante, su presencia y/o abundancia en el agua y los alimentos, pueden ser indicativa de malas prácticas de higiene durante cualquier etapa de elaboración, almacenamiento y transporte de los alimentos (Jay, 2000).

1.5.5 *Salmonella* spp

Salmonella es una bacteria invasora que causa infecciones humanas, conocidas como Salmonelosis. Puesto que el intestino es el hábitat natural de algunas variedades de *Salmonella*, los alimentos sin procesar de una fuente animal ocasionalmente albergan al patógeno. (Toledo, 2005). *Salmonella* es la causa más

común de ETA en diversos países. En Cuba es el primer agente causal de brotes de origen alimentario. *Salmonella* es uno de los géneros más estudiados entre los patógenos que pueden ser aislados de los alimentos. El primer brote de salmonelosis se describió en Alemania en 1888, entre 50 personas que habían ingerido carne cruda molida proveniente de una vaca moribunda. Los integrantes de este género son bacilos gramnegativos no esporulados oxidasa negativa, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae (Caballero, 2008).

Salmonella tiene como hábitat el intestino de animales, incluyendo el hombre. El huésped puede ser víctima de una infección o ser un portador asintomático. En ambas condiciones funciona como fuente de contaminación al excretar los microorganismos por heces. Se conocen 2300 serotipos de *Salmonella*, de estos alrededor de 80 son los que se encuentran involucrados en la mayoría de los brotes por alimentos (Black, 1982).

La clasificación del género *Salmonella* es confusa, y la denominación de los microorganismos no sigue las reglas usuales de nomenclatura. Desde el punto de vista histórico, las denominaciones asignadas a las *Salmonellas* primeramente aisladas se relacionaron con su patogenicidad en las personas o en los animales, por ejemplo *S. fyphimurium*, agente de la salmonelosis del ratón, y *S. typhi*, agente de la fiebre tifoidea del hombre. Por lo que se refiere a las infecciones humanas, este procedimiento para designar las salmonelas dio paso a la denominación basada en el sitio o localidad del primer aislamiento, por ejemplo, *S. london*, *S. panama* y *S. stanleyville*. En la actualidad, los aislamientos de microorganismos del género *Salmonella* se identifican utilizando el esquema de Kauffman-White, método serológico en el que los microorganismos se pueden representar mediante cifras y letras correspondientes a los diferentes sitios antígenicos: O (somáticos), VI (capsulares), y H (flagelares) (Frazier, 2003).

La manipulación de los alimentos en gran escala, como se tiene que realizar en muchos establecimientos, tiende a aumentar las posibilidades de diseminación. Los alimentos para los animales de compañía pueden transmitir *Salmonellas* y a partir de ellos infectar a los niños en casa (Frazier W.C., 1993).

1.5.6 *Staphylococcus aureus*

Las células de *Staphylococcus Aureus* son Gram positivas, no móviles, esféricas y generalmente dispuestas en racimos irregulares. El crecimiento de *S. aureus* es acompañado por la producción de algunos compuestos extracelulares tales como hemolisinas, nucleasas, coagulasas, lipasas y enterotoxinas, Estas enterotoxinas pueden causar intoxicaciones alimentarias y son producidas por casi una tercera parte de las cepas de *S. aureus* coagulasa positivas (LEI, 2004).

Las enterotoxinas son un grupo heterogéneo de proteínas globulares termoestables, solubles en agua, de cadena sencilla que tienen un peso molecular entre 28,000 y 35,000 daltones, son siete enterotoxinas distintas serológicamente A, B, C1, C2, C3, D Y E. (I.C.M.S.F, 1991). Por la dificultad de llevar a cabo la detección de las enterotoxinas directamente en los alimentos se han utilizado criterios auxiliares que permitan poner de evidencia el riesgo potencial de un alimento de contenerlas. Los criterios auxiliares que más se han utilizado son además de determinar un número elevado de *S. aureus* en los alimentos, investigar la capacidad de las cepas de producir enterotoxina así como poner en evidencia la presencia de la enzima termonucleasa directamente en los alimentos. (Fernandez, 2000).

Una de las intoxicaciones alimentarias que se presentan con mayor frecuencia es la originada por la ingestión de la enterotoxina que se forma en los alimentos cuando en los mismos se multiplican ciertas cepas de *Staphylococcus aureus*. La toxina recibe la denominación de enterotoxina porque produce gastroenteritis o inflamación de la mucosa que reviste el tracto gastrointestinal (Frazier, 2003).

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 MUESTREO.

El muestreo se realizó a tres cadenas de cafeterías de la ciudad de Oaxaca (A, B, C) y tres locales de cada una (1, 2, 3), constituyendo un total de 9 puntos de muestreo, distribuidos en tres zonas de gran afluencia de la ciudad de Oaxaca: zona aledaña a Plaza del Valle, Centro Histórico y Colonia Reforma. Para realizar el análisis comparativo, se seleccionaron tres bebidas de mayor consumo en las tres cadenas: moka (M), capuchino (C) y frappé (F), utilizando un cuadro latino de tres variables. En total se analizaron 27 muestras como se describe en la tabla 3.

Tabla 3 Cuadro latino de tres variables

CADENA	ESTABLECIMIENTO	CAPUCHINO	FRAPPE	MOKA
A	1	C ₁	F ₁	M ₁
	2	C ₂	F ₂	M ₂
	3	C ₃	F ₃	M ₃
B	1	C ₁ '	F ₁ '	M ₁ '
	2	C ₂ '	F ₂ '	M ₂ '
	3	C ₃ '	F ₃ '	M ₃ '
C	1	C ₁ "	F ₁ "	M ₁ "
	2	C ₂ "	F ₂ "	M ₂ "
	3	C ₃ "	F ₃ "	M ₃ "

En la tabla 4 se muestran las combinaciones obtenías del cuadro latino de tres variables.

Tabla 4 Combinaciones del cuadro latino de tres variables

A1C ₁	A1F ₂	A1M ₃	A2C ₂	A2F ₂	A2M ₂	A3C ₃	A3F ₃	A3M ₃
B1C ₁ '	B1F ₁ '	B1M ₁ '	B2C ₂ '	B2F ₂ '	B2M ₂ '	B3C ₃ '	B3F ₃ '	B3M ₃ '
C1C ₁ "	C1F ₁ "	C1M ₁ "	C2C ₂ "	C2F ₂ "	C2M ₂ "	C3C ₃ "	C3F ₃ "	C3M ₃ "

Se compró una bebida de cada muestra y se almacenó en una hielera en condiciones de esterilidad para transportarla al laboratorio. Los análisis se realizaron inmediatamente.

2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y DILUCIONES.

En un vaso mezclador estéril se pesaron 25 g de la muestra, se añadieron 225 ml de caldo lactosado y se homogenizó durante 1 minuto en una licuadora marca Osterizer a velocidad media, se dejó reposar durante 3 minutos más hasta que desapareció la espuma, obteniendo así una dilución de 10^{-1} .

Se tomó 1 ml de la dilución 10^{-1} del homogeneizado evitando la formación de espuma y se pasó a un nuevo tubo con 9 ml de diluyente (caldo lactosado), se agita vigorosamente obteniendo así una dilución 10^{-2} .

2.3 MESÓFILOS AEROBIOS

El análisis se realizó de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Se preparó medio ACS (agar cuenta estándar) (Anexo1). Para la muestra directa y cada dilución se tomaron 0.1 ml y se inoculó en la superficie de una placa con medio ACS. Se extendió cada alícuota sobre la superficie del medio utilizando una espátula de Drigalski estéril, se dejaron reposar las placas durante 15 minutos y se incubaron invertidas durante 48 horas a 35 °C. El análisis se realizó por triplicado.

2.4 MOHOS Y LEVADURAS

El análisis se realizó de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Se preparó el medio PDA (agar papa dextrosa) (Anexo 1). Se tomaron 0.1 ml de la muestra directa y de cada dilución, se inoculó por plaqueado y se invirtieron las placas después de sembrar incubando a una temperatura de 20-24°C durante 3 a 5 días. Se contaron las colonias de cada placa en un contador de colonias después de 3, 4 y 5 días de incubación. Para realizar el conteo, después de 5 días se seleccionaron aquellas placas que contenían entre 10 y 150 colonias. El análisis se realizó por triplicado.

2.5 *Salmonella Spp.*

El análisis de *Salmonella* se realizó de acuerdo a la norma ISO 6579:2002 (E). Se transfirió 1 ml del cultivo de pre-enriquecimiento a un tubo que contenía 10 ml de caldo tetracionato (Anexo I) y se incubó 24 hr a 35 °C. Se agitaron los tubos de cultivo y con un asa de platino se sembró por estriado en medio agar sulfito bismuto (Anexo I) incubando a 35°C durante 24 horas. Se monitorearon los cultivos para identificar morfológicamente las colonias sospechosas. En agar sulfito de bismuto las colonias son negras o cafés, con o sin brillo metálico y rodeado de un halo. Para confirmar la presencia de *salmonella*, se transfirió por punción una colonia a un tubo que contenía agar triple azúcar hierro (Anexo I), incubando 24 hrs a 35 °C.

La *salmonella* desarrolla en el medio de agar triple azúcar hierro colonias traslucidas, transparentes u opacas y algunas con centro negro. Las colonias fermentadoras de la lactosa son rojas.

2.6 *Staphylococcus aureus*

El análisis de *S. aureus* se desarrolló de acuerdo a la norma ISO 6888-1/2:2000 y NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-115-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de *staphylococcus aureus* en alimentos. Se transfirieron 0.1 ml de la muestra directa y de cada dilución en placas que contenían medio agar baird-parker (Anexo I) y se distribuyó sobre la superficie del medio utilizando un espátula de Drigalski. Se dejaron reposar las placas durante 15 minutos y se incubaron de forma invertida de 45 a 48 horas a 35 °C.

Se contaron las colonias de *S. aureus* en un contador de colinas y aquellas que tuvieran un número mayor a 150 colinas fueron identificadas como incontables. Las colonias típicas son negras, circulares, brillantes, de 2-3 mm de diámetro y rodeadas de una zona clara. Sin embargo, en este tipo de alimentos pueden aparecer colonias negras sin brillo, que no presentan zona clara. El análisis se realizó por triplicado.

2.7 COLIFORMES TOTALES Y FECALES

Se realizó las pruebas de coliformes totales y fecales de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-112-SSA1-1994, bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

2.7.1. PRUEBA PRESUNTIVA

Para la prueba presuntiva se utilizaron tres series de tres tubos cada una que contenían 10 ml de caldo lactosado. A la primera serie se le añadieron 5 ml de la muestra líquida, a la segunda serie 1 ml y a la tercera 0.1 ml. como se muestra en la figura 2, incubando los tubos a 35°C para coliformes. Se examinaron los tubos a las 24 y 48 hrs para ver si había formación de gas.

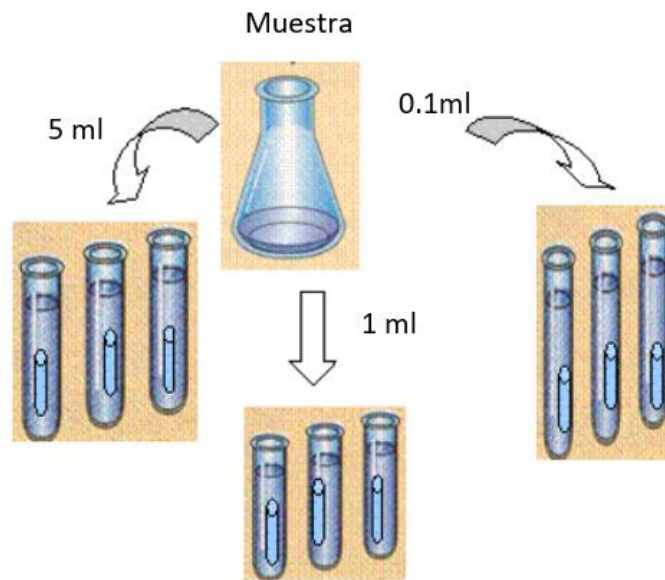


Figura 2 Disolución de Coliformes (Toledo, 2005)

2.7.2. PRUEBA CONFIRMATIVA

De cada tubo que mostró formación de gas, se tomaron tres azadas y se sembraron en un número igual de tubos con caldo lactosado EC, incubando una serie a 35°C para Coliformes totales y otra serie a 45°C para la determinación de Coliformes Fecales, examinando a las 24 horas y 48 hrs para ver si había formación de gas.

2.7.3 *ESCHERICHIA COLI*

Se tomó una azada de un tubo positivo de caldo EC y se sembró por estría cruzada en agar EMB-L (Anexo I) para su aislamiento, incubando las placas a 35 ± 1 °C por 24h. Las colonias presentan un centro negro y son planas con o sin brillo metálico.

3 RESULTADOS.

3.1. MUESTREO

Se realizó el muestreo en 9 cafeterías de tres cadenas en la ciudad de Oaxaca. En total se obtuvieron 27 muestras para su análisis microbiológico. En las figuras 3, 4 y 5 se observa la distribución de 9 cafeterías muestreadas en el Centro Histórico, Colonia Reforma y Plaza del Valle respectivamente, todas están marcadas con una flecha de color negra.

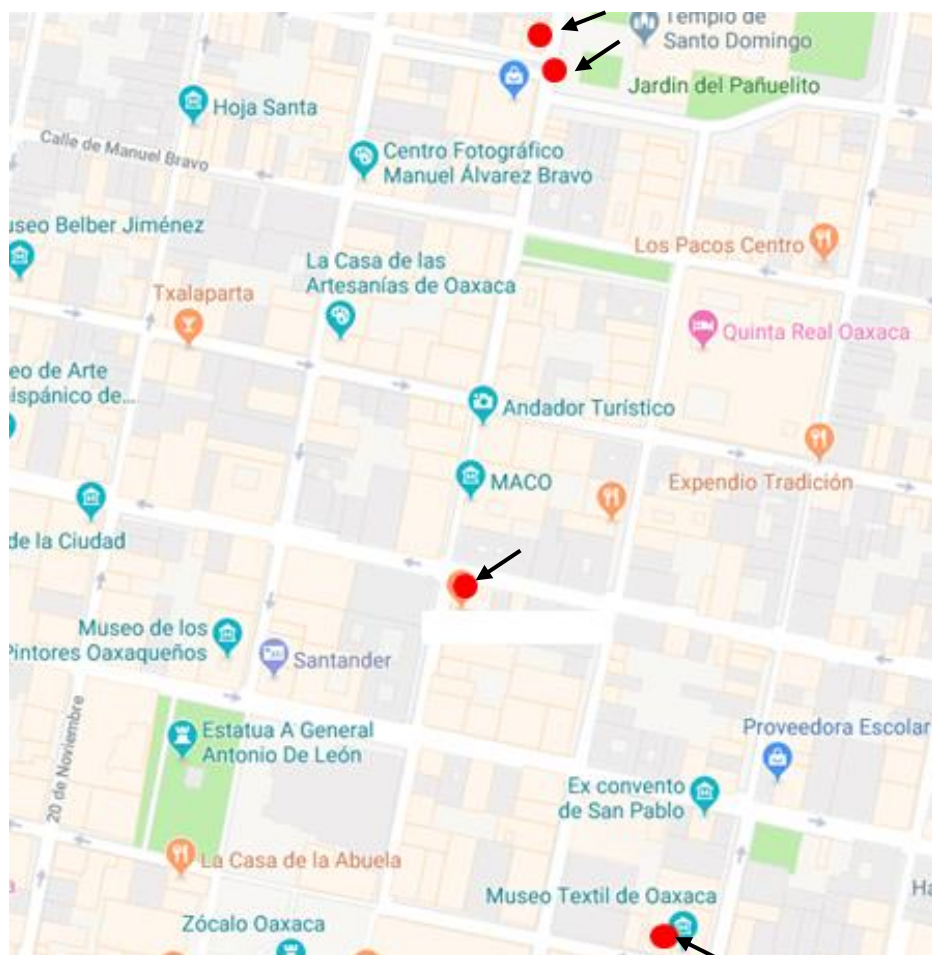


Figura 3 Mapa correspondiente al Centro de la Ciudad de Oaxaca (Google Maps).

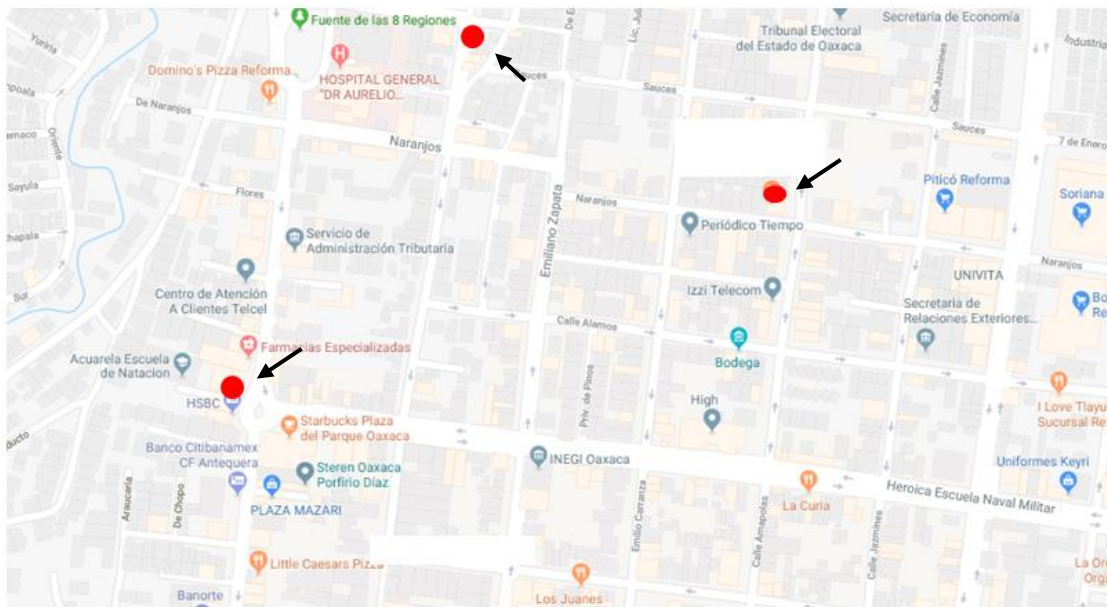


Figura 4 Mapa correspondiente a la Colonia Reforma (Google Maps).

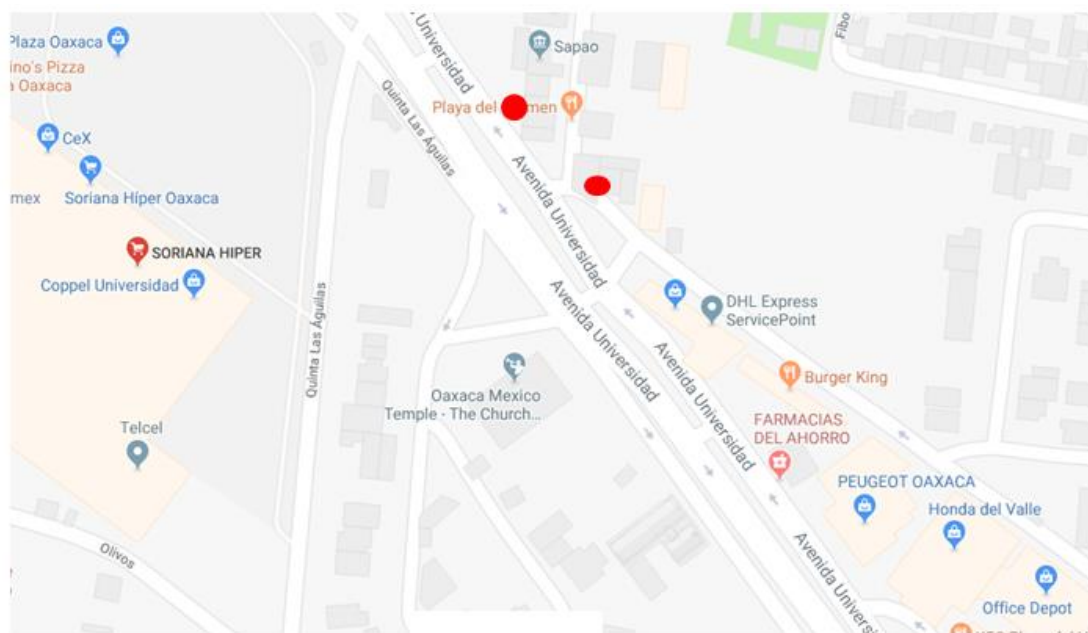


Figura 5 Mapa correspondiente a Plaza del valle (Google Maps).

3.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

A continuación, se describen los resultados de los análisis microbiológicos realizados en 3 cafeterías ubicadas en el centro histórico, plaza del valle y colonia reforma de las cuales se tomaron 3 sucursales de cada una de las cafeterías dando un total de 27 muestras.

3.3.1. Capuchino

En la tabla 5 se pueden observar los resultados obtenidos de la muestra de capuchino en las 9 sucursales. Al analizarse se observó que de acuerdo a la norma mexicana NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína; de las cuales por lo menos 4 cafeterías cumplen con el requerimiento de acuerdo a *Mesofilos Aerobios* las cuales fueron A-1, A-3, B-2 y C-2. Conforme a Coliformes totales las cafeterías B-1, B-2, C-2 y C-3 cumplen con las normas, en cuanto a Coliformes fecales la única sucursal que cumple con la norma es la sucursal A-2. Así mismo se vio que en todas las cafeterías no hubo presencia de *Salmonella*, sin embargo, en una si hubo presencia de *E. coli* la cual fue la cafetería A-1. De la NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos; por lo menos 4 cafeterías cumplen con esta norma en mohos y levaduras las cuales son A1, A2, A3 Y B3 y para *Staphylococcus* las sucursales que cumplen son A1, A2, A3 Y B2

Tabla 5 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.

Capuchino										Valor de referencia	
Cafetería Análisis	A			B			C			Limite máximo	Norma
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
<i>Mesofilos aerobios (UFC/g)</i>	12	275	13	416	0	250	3,373	1,583	2,500	50	NOM-218- SSA1-2011
<i>Coliformes totales (NMP/gr)</i>	46	15	40	2.8	0.3	21	15	<0.03	7.5	10	NOM-218- SSA1-2011
<i>Coliformes fecales (NMP/gr)</i>	9.3	<0.03	0.7	0.7	0.7	24	7.5	0.3	12	n.a	NOM-218- SSA1-2011
<i>Moho y levadura (UFC/g)</i>	0	0	1.1	566	37	320	2,373	877	1,200	50	NOM-243- SSA1-2010
<i>Staphylococcus aureus (UFC/g)</i>	0	0	0	53	0	10	370	105	210	< 10	NOM-243- SSA1-2010
<i>Salmonella</i>	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	AUSENTE	NOM-218- SSA1-2011
<i>E.coli</i>	+	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	NOM-218- SSA1-2011

3.3.2. Frappe

En la tabla 6 se puede observar los resultados obtenidos de la muestra de Frappe en las 9 sucursales. Al analizar los resultados se observaron que de acuerdo a la norma mexicana NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína, por lo menos 2 cafeterías cumplen con lo establecido de acuerdo a *Mesofilos Aerobios* las cuales fueron A-3 y B-2. Conforme a Coliformes totales la cafetería A-2, A-3 B-2, C-2 y C-3 cumplen con las normas, en Coliformes fecales ninguna cafetería cumple con la normativa. Así mismo se vio que en todas las sucursales no hubo presencia de *Salmonella*, sin embargo, en una si hubo presencia de *E. coli* la cual fue la cafetería A-1. De la NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche,

fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos; solamente 1 cafetería cumple con esta norma en mohos y levaduras la cual es A2 y para *Staphylococcus* 3 sucursales cumplen con los límites permitidos los cuales son A1, A3 Y B2

Tabla 6 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.

Frappe										Valor de referencia	
Cafetería Análisis	A			B			C			Límite máximo	Norma
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
<i>Mesofilos aerobios</i> (UFC/g)	136	1040	38	817	385	420	43,900	2,600	3,500	50	NOM-218-SSA1-2011
Coliformes totales (NMP/gr)	>110	7.5	12	>110	0.3	12	>110	1.1	6.4	10	NOM-218-SSA1-2011
Coliformes fecales (NMP/gr)	21	0.7	15	>110	1.1	15	110	1.1	15	n.a	NOM-218-SSA1-2011
Moho y levadura (UFC/g)	410	0	230	433	453	420	2500	2,045	2,300	50	NOM-243-SSA1-2010
<i>staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	0	24	10	87	0	15	293	16	150	< 10	NOM-243-SSA1-2010
<i>Salmonella</i>	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	AUSENTE	NOM-218-SSA1-2011
<i>E.coli</i>	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	n.a	NOM-218-SSA1-2011

3.3.3. Moka

En la tabla 7 se puede observar los resultados obtenidos de la muestra de Moka en las 9 sucursales. Al analizar los resultados se observaron que de acuerdo a la norma mexicana NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para

prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína solo una cafetería cumple con lo establecido de acuerdo a *Mesofilos Aerobios* el cual fue A-1. Conforme a Coliformes totales la cafetería B-2, B-3 y C-2 cumplen con las normas, en Coliformes fecales la cafetería B-1 y B-3 cumple con la normativa. Así mismo se vio que en todas las sucursales no hubo presencia de *Salmonella* y *E.coli*. De la NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos; por lo menos 5 cafeterías cumplen con esta norma en mohos y levaduras las cuales son A1, A2, A3, B2 y B3 y para staphylococcus las sucursales que cumplen son A1, A2, A3, B2 y B3

Tabla 7 Resultados de tres cafeterías en tres sucursales.

Moka										Valor de referencia	
Cafetería Análisis	A			B			C			Límite máximo	Norma
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
<i>Mesofilos aerobios</i> (UFC/g)	44	270	120	430	370	25	2933	6,250	3,400	50	NOM-218-SSA1-2011
Coliformes totales (NMP/gr)	46	21	15	46	0.7	0.4	110	0.3	21	10	NOM-218-SSA1-2011
Coliformes fecales (NMP/g)	24	0.7	21	<0.03	1.1	<0.03	46	1.1	46	n.a	NOM-218-SSA1-2011
Moho y levadura (UFC/gr)	30	0	10	1043	0	0	7067	2,447	2,300	50	NOM-243-SSA1-2010
<i>staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	0	10	3	113	6	0	2000	205	1,300	< 10	NOM-243-SSA1-2010
<i>Salmonella</i>	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	AUSENTE	NOM-218-SSA1-2011
<i>E.coli</i>	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a	NOM-218-SSA1-2011

En la tabla 8 se presentan el total de muestras de las 9 cafeterías que no cumplen con la NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína en los productos, en la cual se puede observar que en total de todas las muestras se encontró entre un 88.88 y un 100 por ciento de Coliformes fecales como se muestra en el Gráfico 1, así mismo se observó un porcentaje del 66 al 77 por ciento de Mesófilos Aerobios, aunque *E. Coli* solo se encontró en dos muestras de las 27 en total; y de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos de todas las muestras se encontró de un 11 a un 55 por ciento de mohos y levaduras, y de un 33 a 55 por ciento de *Staphylococos*.

Tabla 8 Casos de incumplimiento de la norma NOM-218-SSA1-2011 en los productos estudiados

		No cumplen con la norma NOM-218-SSA1-2011				No cumplen con la norma NOM-243-SSA1-2010	
Producto	Num. De muestras	<i>Mesofilos Aerobios</i>	Coliformes totales	Coliformes Fecales	<i>E. Coli</i>	Mohos y Levaduras	<i>staphylococcus aureus</i>
Capuchino	9	6	5	8	1	4	4
Frappe	9	7	4	9	1	1	3
Moka	9	7	6	9	0	5	5

Muestras que no cumplen con la norma NOM-218-SSA1-2011

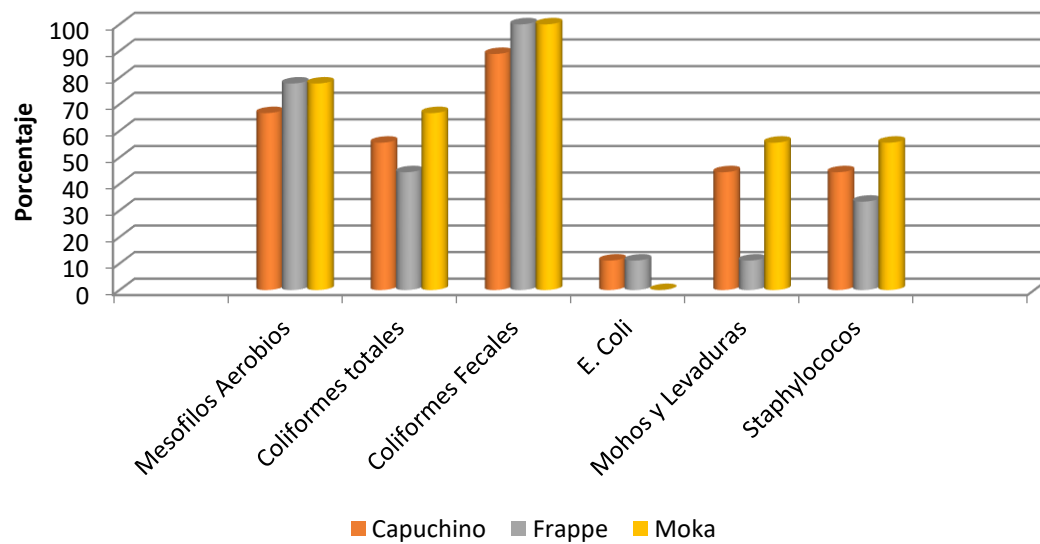


Gráfico 1 Porcentaje de muestras que no cumplen con la norma NOM-218-SSA1-2011.

4 CONCLUSIONES

Los análisis microbiológicos realizados a 27 muestras de 9 diferentes cafeterías ubicadas en el centro de la ciudad, Col. Reforma y Plaza del valle corresponden a 3 franquicias que cuentan con renombre en la Ciudad de Oaxaca, de las cuales 1 muestra de capuchino no rebasó los límites establecidos por la norma.

.

REFERENCIAS

- Agricultura, O. d. (2016). *Manual para Manipuladores de Alimentos*. Washington, D.C.: Douglas Rosa de Carvalho.
- Álvarez, S. (31 de Agosto de 2012). *Slide Share*. Recuperado el 11 de Febrero de 2018, de Contaminacion de los alimentos: <https://es.slideshare.net/silviaalvarez120882/contaminacin-de-los-alimentos>
- Black, R. B. (1982). *Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. J. Epidemiol.*
- Caballero, A. E. (2008). *Higiene de los alimentos*. La Habana: Ec.med.
- Camacho, I. M. (1 de Septiembre de 2014). *SlideShare*. Recuperado el 11 de Febrero de 2018, de Tipos de contaminación en Alimentos: <https://es.slideshare.net/mabepacaju/tipos-de-contaminacin-en-alimentos>
- Campuzano, S. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. 82-83.
- COFEPRIS. (2015). *Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (cofepris)*. Recuperado el 24 de Septiembre de 2018, de Higiene en Alimentos: Una práctica cotidiana.: www.cofepris.gob.mx
- Doyle, M. (2001). Indicator Microorganisms and Microbiological. En *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers* (págs. 71-78). USA: ASM.
- Elika. (2016). *Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria*. Recuperado el 2018 de Febrero de 11, de http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo9/6.Tipos%20de%20contaminaci%C3%B3n%20alimentaria.pdf

- Ferg, G. D. (2015). Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria. *Organizacion mundial de la salud*, 1-2.
- Fernández, E. E. (1981). *Microbiología Sanitaria. Egua y Alimentos*. Universidad Autónoma de Gualadajara.
- Fernandez, E. E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. universidad Autonoma de Queretaro.
- Frazier W.C. (1993). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza España: Acribia 4ta. edición.
- Frazier, W. (2003). *Microbiología de los alimentos*. España: ACRIBIA, S.A. .
- Garcinuño, M. R. (2007). *Contaminación de los alimentos* . Departamento de Ciencias Analíticas.
- Gonzalez, B. (30 de Abril de 2018). *Revista Enfasis Alimentación*. Obtenido de <http://www.alimentacion.enfasis.com/notas/12815-contaminantes-alimentos>
- Hernández, D. F. (2012). *La calidad de la atencion a la salud en México a través de sus instituciones*. México, d.f: Secretaría de Salud.
- I.C.M.S.F. (1991). *Microorganismos de los alimentos. Vol. 1*. Zaragoza España: Acribia.
- Jay. (2000). *Indicadores de la calidad e inocuidad Microbiana de los alimentos. Microbiología de los alimentos*. Zaragoza España.
- LEI. (2004). *Laboratorios De especialidades Inmunologicas*. Recuperado el 11 de Febrero de 2018, de Microbiología: <http://www.lei.com.mx/nuestros-servicios/microbiologia>
- López, d. M. (2000). *Higiene, Inspección y control de los alimentos*. Departamento de Bromatología y Tecnología de los Aliemntos . universidad de Córdoba.
- Martínez, R. M. (2013). Contaminación de los alimentos durante los. 51.

- MINSALUD. (19 de Enero de 2018). *Ministerio de Salud*. Obtenido de Calidad e inocuidad de alimentos: <https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/inocuidad-alimentos.aspx>
- NIH. (Julio de 2014). *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*. Recuperado el 17 de Febrero de 2018
- OMS. (Octubre de 2017). Recuperado el 11 de Febrero de 2018, de Organizacion Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
- Pelczar, M. R. (1982). *Microbiologia* . Mac Graw-Hill.
- PRESCAL. (2000). *Manipulacion de alimentos* . Junta de Andalucia.
- SAGARPA. (2013). La inocuidad de los alimentos en Mexico. *Claridades Agropecuarias*, 28-37.
- Toledo, D. J. (2005). *Manual de Practicas de Microbiologia de Alimentos*. Oaxaca .
- USDA. (2017). Hongos en los Alimentos: ¿Son Peligrosos? . *Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos*, 1.

Anexo I. Preparación de Medio de cultivo

Preparación medio de cultivo para Mesofilos Aerobias.

Medio de cultivo: Agar triptona-extracto de levadura (agar cuenta estándar), se suspendieron 2.35 g de polvo en 100 ml de agua en un matraz Erlenmeyer del doble de capacidad, se esterilizò en autoclave a 121 °C, durante 15 min., se vació de 15 a 20 ml del medio en cajas Petri dejando enfriar.

Preparación medio de cultivo para Mohos y Levaduras

Acido tartárico al 10 %: Se diluyo 100 g de ácido tartárico y se disolvió a un litro de agua destilada, esterilizando a 121°C durante 15 min.

Agar papa-dextrosa: Se disolvió 35 g del medio en un litro de agua destilada, calentado con agitación frecuente hasta punto de ebullición durante 1 min para disolver por completo, se esterilizo a 121°C durante 15 min, enfriando a baño de agua a 45 °C, acidificando un pH de 3.5 con ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1.4 ml de ácido tartárico por 100 ml de medio), se vació de 15 a 20 ml de medio en cajas Petri dejando enfriar.

Preparación medio de cultivo para *Salmonella*.

Solución verde brillante: Se diluyo 0.1 g de verde brillante en 100 ml de agua destilada estéril.

Solución de yodo-yoduro: Se disolvió 6 g de cristal de yodo y 6 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua destilada.

Caldo tetratonato: Se diluyo 13.0 g del medio deshidratado en 1 litro de agua destilada, calentando hasta ebullición en recipientes estéril, antes de su uso se

agregó 2 ml de solución de yodo-yoduro y 1 ml de solución de verde brillante al 0.1% por cada 100 ml de caldo.

Agar triple azúcares y hierro: Se suspendió 59.4 g de medio deshidratado en 1 litro de agua, calentando con agitación constante y se hirvió durante 1 min hasta dilución, distribuyendo en volumen de 3 ml en tubos de 13x100 mm y esterilizar a 121°C durante 15 minutos, inclinando los tubos de manera que el medio de cultivo alcanzo una altura de 3 cm y una profundidad de 4 cm.

Preparación medio de cultivo para *Staphylococos Aureus*.

Telurito de potasio: Se diluyo 1 g de telurito en 100 ml de agua destilada y se esterilizo a 121 °C en 15 min.

Solución salina isotónica: Se disolvió 0.85 g de cloruro de sodio en 100 ml de agua y esterilizo a 121°C por 15 min.

Emulsión de yema de huevo: Se lavó con jabón los huevos y limpiaron con alcohol, se abrió los huevos en condición estéril y se vació en un separador de claras estéril, transfiriendo las yemas a una probeta hasta un volumen de 60 ml y completar a 90 ml con solución isotónica, vertiendo la emulsión a un Erlenmeyer y con perlas de vidrio estéril se agito fuertemente para formar la emulsión.

Medio Baird-Parker: Se diluyo 6.3 g de medio deshidratado en 95 ml de agua, en un matraz de 250 ml, Calentándolo con agitación constante y hervir durante 1 min., se esterilizándolo a 121°C durante 15 min, dejando enfriar a 45°C., se agregó 1 ml de telurito de potasio, 5 ml de emulsión de yema de huevo y se mezcló. Colocando de 15 a 20 ml de medio en cajas Petri y enfriar.

Preparación medio de cultivo para Coliformes totales y fecales.

Caldo Lactosado: Se suspende 13 g de medio en 1 litro de agua destilada, agitando hasta completar la dilución del polvo, vaciando en tubos, tapar y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Caldo EC: Se diluyo 37 g del medio en un litro de agua destilada, calentando ligeramente para disolver el medio por completo, vaciando en tubos, tapar y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Agar EMB-L: Se disolvió 36 g de medio en un litro de agua destilada, mezclando perfectamente y calentando con agitación frecuente hasta hervir durante 1 min., esterilizando a 121°C a 15 min., dejando enfriar a 45 °C, colocando de 15 a 20 ml de medio en cajas Petri y enfriar.