



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“EVALUACIÓN HIGIÉNICO – SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 1 UBICADA EN LA PARROQUIA QUÍMIAG DEL CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO”

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: CRISTINA ALEXANDRA PILAMUNGA ANDRADE

TUTORA: DRA. ANA ALBUJA

Riobamba-Ecuador

2017

©2017, CRISTINA ALEXANDRA PILAMUNGA ANDRADE

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN HIGIÉNICO – SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 1 UBICADA EN LA PARROQUIA QUÍMIAG DEL CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO”, de responsabilidad de la señorita Cristina Alexandra Pilamunga Andrade, ha sido minuciosamente revisado por los miembros del tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Ana Albuja

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Ing. Paola Arguello. M.sc

**MIEMBRO DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Cristina Alexandra Pilamunga Andrade, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

CRISTINA ALEXANDRA PILAMUNGA ANDRADE

AGRADECIMIENTO

A cada uno de los seres que me acompañaron y me acompañaran en este gran caminar.

Cristina

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	XI
SUMMARY	XII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	2
1.1 Antecedentes de la investigación	2
1.2 Leche y leche cruda.....	4
1.2.1 Definición.....	4
1.2.2 Composición química de la leche cruda	4
1.2.3 Valor nutricional.....	5
1.2.4 Flora microbiana de la leche cruda.....	6
1.2.4.1 Microorganismos presentes en la leche cruda.....	6
1.2.5 Fuentes de contaminación de la leche	9
1.2.5.1 Contaminantes químicos	9
1.2.5.2 Contaminantes biológicos.....	10
1.2.6 Calidad de la leche.....	11
1.2.6.1 Control de Calidad de la leche	12
1.3 Derivados lácteos	15
1.4 Queso	16
1.4.1 Definición.....	16
1.4.2 Clasificación de los quesos	17
1.5 Queso fresco.....	18
1.5.1 Definición.....	18
1.5.2 Clasificación del queso fresco	18
1.5.3 Composición química del queso fresco.....	18
1.5.4 Composición nutricional.....	19
1.5.5 Procedimiento de elaboración del queso fresco	19
1.5.5.1 Recepción de la leche.....	19
1.5.5.2 Filtración	20
1.5.5.3 Enfriamiento:	20
1.5.5.4 Pasteurización:	20
1.5.5.5 Inoculación de cultivos iniciadores:	20
1.5.5.6 Adición de aditivos y sales	20

1.5.5.7	Coagulación.....	20
1.5.5.8	Corte de la cuajada:.....	21
1.5.5.9	Moldeado y prensado.....	21
1.5.5.10	Salado:	21
1.5.5.11	Empaque y etiquetado.....	21
1.5.6	Calidad del queso fresco.....	21
1.5.6.1	Calidad higiénico sanitaria del queso fresco.....	22
1.5.7	Control de calidad del queso	23
1.5.7.1	Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados.....	23
1.5.8	Microorganismos indicadores de la calidad del queso fresco.....	23
1.5.8.1	Bacterias Aerobios mesófilos.....	23
1.5.8.2	Coliformes totales	24
1.5.8.3	Escherichia coli.....	24
1.5.8.4	Staphylococcus aureus.....	25
1.5.8.5	Listeria monocytogenes	25
1.5.8.6	Salmonella.....	25
1.6	Quesera artesanal	26
1.7	Practicas Correctas de Higiene (PCH)	27

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	29
2.1.	Lugar de la investigación	29
2.2.	Factores de estudio.....	29
2.2.1	Población	29
2.2.2	Muestra	29
2.3	Materiales, Equipos y Reactivos	29
2.3.1	Materia prima	29
2.3.2	Análisis físicos.....	30
2.3.3	Análisis microbiológicos.....	30
2.4	Métodos.....	31
2.4.1	Levantamiento de la línea base.....	31
2.4.2	Verificación de Prácticas Correctas de Higiene.....	32
2.4.3	Toma y transporte de muestras.....	32
2.4.3.1	Muestreo de leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera	32
2.4.3.2	Muestreo de queso.....	33
2.4.3.3	Muestreo de superficies vivas e inertes.....	33
2.4.3.4	Muestreo del ambiente	34

2.4.3.5	<i>Muestreo de manipuladores</i>	34
2.4.4	<i>Análisis físico-químicos de la leche cruda</i>	34
2.4.4.1.	<i>Acidez titulable</i>	35
2.4.4.2.	<i>Densidad relativa</i>	35
2.4.4.3.	<i>Determinación de antibióticos</i>	35
2.4.5	<i>Análisis microbiológicos</i>	36
2.4.5.1	<i>Preparación de la diluciones</i>	36
2.4.5.2	<i>Recuento de microorganismo</i>	38
2.	<i>Superficies irregulares:</i>	38

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
3.1	Verificación del cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene (PCH)	42
3.2	Análisis físico químico de la leche cruda y suero	45
3.3	Evaluación microbiológica de materia prima, subproducto y producto terminado....	46
3.4	Recuento microbiológico de superficies regulares e irregulares de equipos y utensilios	52
3.5	Análisis microbiológicos de las manos del personal manipulador.....	56
3.6	Análisis microbiológico del ambiente.....	57
	CONCLUSIONES	59
	RECOMENDACIONES	60

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Composición de la leche cruda.....	4
Tabla 2-1:	Parámetros físico-químicos de la leche cruda	13
Tabla 3-1:	Criterios microbiológicos de la leche cruda, según la NTE INEN 9.....	15
Tabla 4-1:	Requisitos microbiológicos de la leche pasteurizada, según a la NTE INEN 10	15
Tabla 5-1:	Clasificación de los quesos según la dureza, la cantidad de grasa y la maduración	17
Tabla 6-1:	Composición del queso fresco.....	18
Tabla 7-1:	Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados.....	23
Tabla 1-2:	Diluciones de trabajo empleadas en las muestras.....	37
Tabla 2-2:	Temperatura y tiempo óptimos para el desarrollo microbiano en las placas Petrifilm	40
Tabla 1-3:	Cumplimiento de las PCH en la quesera artesanal Cod.Q 1.....	42
Tabla 2-3:	Resultados del análisis físico químico de la leche cruda y suero*	45
Tabla 3-3:	Resultados del análisis microbiológico para leche cruda y pasteurizada*	46
Tabla 4-3:	Resultados del análisis microbiológico para suero, queso, salmuera*	49
Tabla 5-3:	Resultados del análisis microbiológico para suero, queso, salmuera*	50
Tabla 6-3:	Flora microbiana de superficies regulares	52
Tabla 7-3:	Resultados del análisis microbiológico de superficies irregulares.	53
Tabla 8-3:	Resultados del análisis microbiológico de las manos del personal manipulador	56
Tabla 9-3:	Flora microbiana en el ambiente	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2:	Técnica de hisopado de superficies.....	34
Figura 2-2:	Procedimiento para la determinación de antibióticos	36
Figura 3-2:	Tiras reactivas para la determinación de antibióticos	36

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la quesera artesanal Cod.Q 1 ubicada en la parroquia Químiag, Riobamba–Chimborazo, mediante la determinación del porcentaje de cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene (PCH), a través de una lista de control basada en la resolución ARCSA-DE-057-2015-GGG para establecimientos procesadores de alimentos categorizados como artesanales y el análisis microbiológico de: leche cruda y pasteurizada, suero lácteo, salmuera, queso fresco, superficies vivas e inertes y ambiente. El muestreo se realizó durante tres días aleatorios. Para los análisis microbiológicos se utilizó placas Petrifilm 3M específicas para cada microorganismo, mientras que para Aerobios mesófilos se utilizó cajas con plate count agar (PCA). Las muestras de leche cruda y suero lácteo fueron sometidas al análisis de acidez titulable, densidad relativa y antibióticos, siguiendo las pautas metodológicas descritas por la norma del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). Como resultado se obtuvo el 72% de incumplimiento en los artículos que conforman la normativa técnica (PCH). En lo que corresponde al recuento microbiológico se cuantificó en queso fresco: Aerobios mesófilos, 6,57 Log UFC/g; *Staphylococcus aureus*, 4,10 Log UFC/g; Enterobacterias, 4,89 Log UFC/g; *Escherichia coli*, 3,93 Log UFC/g; Coliformes totales, 4,16 Log UFC/g y en el resto de muestras los valores encontrados sobrepasan la referencia de la normativa, a excepción de suero y leche pasteurizada. Concluyendo que los quesos frescos producidos en la quesera artesanal Cod.Q 1 son de una deficiente calidad microbiológica como resultado de la falta de higiene y desinfección durante las fases de elaboración del producto, se recomienda a las autoridades de vigilancia sanitaria, que lleven a cabo programas de capacitación en las queseras artesanales de la zona.

PALABRAS CLAVES: <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <BIOQUÍMICA>, <QUESERA ARTESANAL>, <CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA>, <PCH>, <AEROBIO MESÓFILO>, <*Staphylococcus aureus*>, <*Escherichia coli*>, <ENTEROBACTERIAS>, <COLIFORMES TOTALES>.

SUMMARY

The objective of the present research was to evaluate the hygienic and sanitary quality at home-made cheese maker Cod.Q 1 located in Químiag parish. Riobamba-Chimborazo through determining the percentage of compliance of Good Hygiene Practices (GHP) by means of a check list based on resolution ARCSA-DE-057-2015-GGG for food processors implementation categorized as a home-made product and microbiological analysis as: raw milk and pasteurized, and whey, brine, fresh cheese, surfaces of living and dead and environment. The sampling was carried out for three days randomized. For the microbiological analysis 3M Petrifilm plates were used specific to each microorganism, whereas for mesophilic aerobes some Plate count agar (PCA), were used. The samples of raw milk and whey were submitted to an analysis of titratable acidity, relative density, and antibiotics, following the methodological guidelines described by Ecuadorian National Standards Institute (INEN). As a result 72% for noncompliance in the articles composed by the (GHP) technical standard was obtained. Regarding to microbiological counts was quantified in fresh cheese: Mesophilic aerobic, 6,57 Log CFU/g; *Staphylococcus aureus*, 4,10 Log CFU/g; Enterobacteria, 4,89 Log CFU/g; *Escherichia coli*, 3,93 Log CFU/g; Total coliforms, 4,16 Log CFU/g and the rest of samplings the values found exceed the reference standard, except for whey and pasteurized milk. It is concluded that the fresh cheeses produced at the home-made cheese maker Cod.Q 1 were of poor are of poor microbiological quality by the lack of hygiene and disinfection during the stages of product elaboration. It is recommended to implement training at home-made cheese maker in the area by the health control authorities.

KEY WORDS: <MEDICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY>, <BIOCHEMISTRY>, <HOME-MADE CHEESE MAKER>, <HYGIENE-SANITATION>, <PCH>, <MESOPHILIC AEROBES>, <*Staphylococcus aureus*>, <*Escherichia coli*>, <ENTEROBACTERIA>, <TOTAL COLIFORMS>.

INTRODUCCIÓN

En Ecuador, como en otros países en desarrollo, a la par con la economía del estado existe una economía informal vinculada a la utilización de recursos genéticos locales, entre cuyas actividades se encuentra la venta de alimentos artesanalmente elaborados en la vía pública, plazas o mercado populares de las ciudades (Reséndiz et al., 2012: p.255).

El queso fresco de producción artesanal ha constituido, durante décadas, una de las bases de la alimentación de la población ecuatoriana al ser un alimento de alto valor nutritivo y alimenticio. Dicha actividad de manufactura se realiza en áreas rurales, donde las condiciones higiénico-sanitarias han carecido del seguimiento y control requeridos para asegurar la obtención de productos de calidad comercial. La composición química, el grado de hidratación de este tipo de productos además las prácticas sanitarias deficientes de expendio y comercialización, son factores que van a favorecer el desarrollo de patógenos. Por esta razón su consumo se le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicaciones e infecciones transmitidas por alimentos (Arguello et., 2015: p.66).

La falta de calidad e inocuidad en los productos alimenticios que son elaborados en condiciones inadecuadas, no solo conlleva a problemas de salud pública, sino que también se puede producir un impacto socioeconómico, ya que la actividad laboral puede verse reducida si se presenta un brote de enfermedades en los consumidores. Estos alimentos pueden presentar bajo tiempo de vida útil afectando considerablemente a los productores al no tener un mercado adecuado donde comercializarlos, teniendo así que competir con los que si cumplen con alimentos que son seguros para el consumidor (Celis y Juárez, 2008, pp.17-18).

En función a lo anterior, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la quesera artesanal Cod.Q 1 ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo; para ello se planteó determinar el cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene (PCH), a través de listas de control y realizar un análisis microbiológico de los equipos, superficies, materiales, materia prima, producto terminado, ambiente y personal manipulador en la producción del queso artesanal.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes de la investigación

El Ecuador, mensualmente se consumen 1,36 millones de kilos de queso de todas las variedades, lo cual representa un mercado de \$7,03 millones por mes. El consumo promedio por hogar alcanza las 2,5 unidades de 500 gramos; para ello una familia destina en promedio \$6,5 por mes. El 81,5% del mercado de quesos corresponde a la variedad del fresco, que contempla el queso de mesa, de comida, el amasado, el criollo, entre otros. El 10,3% del gasto mensual corresponde al queso mozzarella, el 4,3% a las variedades de maduros y semi maduros, y el restante 3,8% a otras variedades (Jaramillo, 2015).

A la hora de elegir un queso, las preferencias de los ecuatorianos son muy variadas; sin embargo, la calidad (37,5%) en donde se agrupan principalmente el sabor, lo saludable del producto y su precio (21,1%), son los factores decisivos para los consumidores, quienes en su mayoría, prefieren adquirirlo en un supermercado (40,2%), en una tienda de barrio (29,8%) o en el mercado (20%). El mercado ecuatoriano de quesos es bastante complejo; más de 300 marcas compiten para incrementar su participación de mercado; no obstante, de entre ellas, existen exitosas empresas que lideran el mercado, con muchos años de tradición y presencia en el mercado (Jaramillo, 2015).

De acuerdo a Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología en un estudio sobre la Aplicación de la técnica de separación inmunomagnética para el aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de leche. Manifiesta que en el caso de la leche y sus derivados, los problemas relacionados con la transmisión de enfermedades infecciosas son menores cuando la población consume los productos pasteurizados o sometidos a algún procedimiento térmico. Sin embargo, en Venezuela, especialmente en las áreas rurales, donde prevalecen condiciones socioeconómicas precarias y existe una ausencia de hábitos de higiene, la población consume en su mayoría leche y productos lácteos sin ningún tipo de tratamiento térmico, por lo que el riesgo de contraer infecciones microbianas es alto (Andrade, 2004, p.23).

En la zona de Colonia, Uruguay, se realizó la "Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura" estableciendo que los quesos artesanales de este estudio *Staphylococcus* coagulasa positiva fue con mayor frecuencia el microorganismo causante de

muestras no aptas para consumo, además de ocho de los establecimientos estudiados presentaron agua no apta para su utilización en el tambo y quesería artesanal (Sandoval, 2012, pp.5-8).

Sandra Villavicencio de la Universidad Técnica de Ambato en su investigación realizada sobre “La Relación entre la ausencia de tratamiento Térmico de la leche con la contaminación Microbiológica del queso fresco en el Cantón Pillaro”, determina que la producción de queso fresco acorde a las Normas sanitarias puede traer muchos beneficios para las empresas artesanales, ya que les daría acceso a mejores mercados y a la obtención de registros sanitarios que respalden sus productos. El equipo utilizado en las industrias artesanales productoras de queso es sencillo, lo que no les permite obtener adecuados rendimientos, ni garantiza la inocuidad del producto. Contribuye a las limitaciones de servicios básicos que existen en los lugares en donde se efectúa el procesamiento de la leche (Villavicencio, 2007. p.80).

En las parroquias rurales de Licto, Pungalá, Quimiag, San Luis, Punín y San Juan, pertenecientes al cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, se realizó el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico de los quesos frescos artesanales. Los resultados obtenidos del análisis sensorial fueron adecuadas ya que los quesos fueron tomados al finalizar la producción, no así los recuentos microbiológicos que están fuera de los límites normativos, se identificó Enterobacterias y Coliformes que revelan la insuficiente sanitización de las superficies donde se elabora queso fresco, las altas cargas de Coliformes totales evidencian la contaminación del producto, ya sea por la materia prima utilizada o por fallas en el proceso de elaboración o comercialización antes de la venta al consumidor y el elevado recuento de Enterobacterias evidencia malas condiciones sanitarias de las prácticas de producción, esto se debe a razones multifactoriales como falta de estandarización en el esquema tecnológico, manejo inadecuado en el transporte y condiciones higiénico-sanitarias deficientes en su producción y comercialización (ausencia de cadena de frío) (Castillo, 2003, p.63).

Según Carrillo (2005, pp.81-82), en la evaluación de la calidad sanitaria de quesos amasados elaborados artesanalmente en el cantón Tulcán, se concluye que, este tipo de quesos no presentan una calidad sanitaria adecuada para el consumo humano, debido al elevado recuento microbiológicos de *Escherichia coli*, Coliformes totales y *Staphylococcus aureus*.

1.2 Leche y leche cruda

1.2.1 Definición

Leche

“ Producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo” (NTE INEN 0009:2012)

Leche cruda

“Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre (no más de 40°C)” (NTE INEN 0009:2012)

Según la NORMA ANDINA NA 0063:2009, se define como leche cruda al *“producto de la secreción normal de las glándulas mamarias, obtenida a partir del ordeño íntegro e higiénico de vacas sanas, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro y libre de materias extrañas a su naturaleza, destinado al consumo en su forma natural o elaboración ulterior”.*

Leche pasteurizada

“Es la leche cruda homogenizada o no, que ha sido sometida a un proceso térmico que garantice la destrucción total de los microorganismos patógenos y la casi totalidad de los microorganismos banales (saprofitos) sin alterar sensiblemente las características fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas de la misma” (NTE INEN 0010:2012)

1.2.2 Composición química de la leche cruda

Los componentes presentan diversas variaciones en función a factores: fisiológicos (desarrollo durante el ciclo de lactancia), alimentarios (composición nutricional de la ración y el nivel energético), climáticos (estaciones, temperatura), genéticos (raza), incluyendo al sistema de ordeño (Alais, 2003, p.448).

Tabla 1-1 Composición de la leche cruda

Componentes	Valor en porcentaje
Agua	87 %
Proteína	3.5 %
Caseína	2.7 %
Lípidos	3.5 – 4 %
Lípidos simples	3.5 %
Fosfolípidos	0.05%
Sustancias liposolubles insaponificables	0.05%
Carbohidratos	5.1 %
Lactosa	4.9 %
Sales minerales	0.7 %

Fuente: Pascual, 2000. (Leche y derivados)
Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

1.2.3 Valor nutricional

La leche es una fuente importante de diversos componentes esenciales, energía alimentaria, proteínas de alta digestibilidad y valor biológico, grasas, glúcidos, minerales, su ingesta satisface las necesidades nutricionales requeridas por los seres humanos (FAO, 2016).

La proteína presente en la leche ejerce un rol importante en la complementariedad con proteínas de distintos alimentos, específicamente la lisina aminoácido esencial, que, al ingerir leche y alimentos bajos en este aminoácido, incrementa el valor biológico del total de la proteína ingerida. El grupo de los carbohidratos proporciona una cuarta parte del total de la energía del alimento, en este grupo sobresale la lactosa, glúcido que ayuda a la absorción del calcio, contribuyendo también en el neonato al desarrollo de la biota intestinal (Aranceta y Sella, 2005: p.19).

Dentro de la composición de la grasa láctea se encuentran los ácidos grasos del tipo ácidos grasos poliinsaturados en una proporción del 4%, especialmente el ácido linoleico y linolénico, siendo estos ácidos conjuntamente con el ácido araquidónico los precursores de las prostaglandinas, en un 21% los ácidos grasos monoinsaturados principalmente el ácido oleico, ácidos que favorecen su digestibilidad y en un 75% encontramos a los ácidos grasos saturados de cadena larga, fundamentalmente los ácido mirístico, esteárico, palmítico (Gil, 2010, p.781).

La leche y sus derivados al tener una elevada cantidad de calcio entre sus minerales proporciona a la dieta el 60 – 75% calcio total, y conjuntamente con otros minerales como los citratos de potasio, magnesio, fosfatos favorecen a la estabilidad de las proteínas por medio del equilibrio iónico de la leche (Aranceta y Sella, 2005: p.22).

Las vitaminas son compuestos necesarios para el desarrollo correcto crecimiento y desarrollo de la vida, la leche muestra una amplia y completa variedad de vitaminas presentes en diferentes cantidades (Aranceta, 2005; Gil, 2010).

1.2.4 Flora microbiana de la leche cruda

La leche es una compleja mezcla de grasa, azúcares, proteínas, minerales y vitaminas, componentes primordiales de un completo alimento, que a su vez es muy sensible a múltiples contaminaciones, cuando esta se encuentra dentro de las ubres de la vaca es estimada a menudo como una secreción estéril, pero cuando entra en contacto con el ambiente externo es un gran medio de cultivo, en el que se pueden crecer, desarrollarse, diversos tipos de bacterias que poseen la capacidad de modificar sus características en dependencia del tiempo de almacenamiento y el tipo de bacteria.

Las bacterias son provenientes de diversas fuentes, que entran en contacto directo o indirecto con la leche como el pezón, los equipos lácteos del animal, línea de leche, tanque, máquina de ordeño, basura, agua de lavado, establo y sala de ordeño aire, ordeñador. Además, la microbiota de la leche está fuertemente influenciada por el sistema de gestión general de la explotación, lo que dificulta la identificación de que factor es la influencia de las bacterias. Los efectos fisicoquímicos generados por el crecimiento bacteriano son relativos, por medio del proceso de fermentación se obtendrán productos como el yogurt, kéfir, koumiss, queso, crema ácida o se genera en la leche alteraciones, crecimiento de microorganismos patógenos o formación de toxinas. La temperatura es un factor determinante para el desarrollo bacteriano (Montel et al., 2014, pp.138-140).

1.2.4.1 Microorganismos presentes en la leche cruda

La leche al ser un alimento con un alto contenido de agua, un pH próximo a la neutralidad y por su composición nutritiva, hacen de este un medio idóneo para el desarrollo de microorganismos.

1. Bacterias

Entre las bacterias más importantes en la industria láctea tenemos, las bacterias lácticas y las coliformes.

1.1 Bacterias Gram positivas

Bacterias Lácticas: Presentan una forma de cocos y bacilos con una tamaño variable y grosor de 0.5 a 0.8 μm , son anaerobios facultativos, no esporulados, carencia de catalasa y se pueden clasificar de acuerdo al proceso de fermentación en homo fermentativas y heterofermentativas generando ácido láctico en diferentes porcentajes o según la temperatura idónea de crecimientos en mesófilas (temp. incubación 20-25 °C) y termófilas (temp. incubación 40-45 °C). Entre los géneros primordiales tenemos a los *lactobacillus*, *lactococcus*, *pediococcus*, *leuconostoc*, *enterococcus*, estas bacterias tienen la capacidad de fermentar a los monosacáridos o polisacáridos transformándoles en ácidos como el láctico (principal), propiónico, cítrico, bacteriosinas, exopolisacáridos, ensilados, endulzantes no calóricos, bebidas lácteas, vitaminas, formación de aromas y sabores aceptables, maduración del queso, etc (Parra, 2010, p.102).

La importancia tecnológica que presentan éstas bacterias es que ayudan formar la textura de los productos lácteos como el queso y yogurt, de otorgando características sensoriales, aroma y sabor a la mantequilla, yogurt, entre otros; prolongan la vida útil de las sustancias, productos fabricados con sus cultivos (Parra, 2010, p.102).

Además generan beneficios terapéuticos como el conocido efecto probiótico (Galegos, 2008). **Micrococcus:** Grupo de bacterias con poca disposición para fermentar, pertenecen a la flora más abundante de la leche cruda, distinguiéndose por no ser patógenos, por lo que su importancia como factor de adulteración es escaso (Faría, 2002, p.59).

Staphylococcus: Son del tipo anaerobios facultativos, fermentadores, desde la perspectiva sanitaria son de mucha importancia provocando mastitis y enfermedades a los seres humanos. Los tipos *Staphylococcus aureus* pueden ser causantes de intoxicaciones alimentarias o el síndrome de shock tóxico (TSS) en el hombre.

Bacterias esporuladas: *Bacillus* aerobios, que generan acidificación, proteólisis y coagulación, el género *Clostridium* son anaerobios, productores de gas y algunos generadores de toxinas patógenas como el *Clostridium botulinum*. Resisten a la pasteurización debido a su producción de esporas, a temperaturas superiores a los 100°C se destruyen (Celis y Juárez, 2008, p.13).

1.2 Bacterias Gran Negativas

Enterobacterias: Bacterias huéspedes del tracto intestinal de los mamíferos, su presencia en la leche es un indicativo de contaminación fecal, tienen la capacidad de fermentar lactosa y formar gas carbónico y ácido; en los productos lácteos el grupo coliformes, es el más encontrado. Desde el punto de vista higiénico son de gran importancia por su patogenicidad como es el caso de la *E. coli*, *Yersenia s.p.*, *Shigella*, responsables de trastornos gastrointestinales y desde la parte tecnológica son bacterias generadoras de gas, heterofermentativas cualidades que alteran a la leche (Celis y Juárez, 2008, p.16).

Acromobacterias: Del tipo aerobias, capacidad enzimática escasa, saprófitas, y con la capacidad de producir viscosidad en la leche y pigmentos que van desde tonalidades amarillas, naranjas, pueden generar coloraciones anormales (Celis y Juárez, 2008, p.16).

Pseudomonas: Más de la mitad de la flora Gram negativa pertenece a éste género, se desarrollan a una actividad de agua alta, pero se inhiben a temperaturas superiores de 43°C, éstas bacterias son importantes en la industria alimenticia por las diversas capacidades que poseen, entre ellas, la resistencia a cierto tipo de detergentes y desinfectantes, producen pigmentos de color negro y fluorescencia verdosa, a temperaturas bajas pueden crecer, sintetizan sus propias vitaminas, contribuyen desfavorablemente en el sabor del alimento (Celis y Juárez, 2008, p.20).

Brucella: bacilos cortos o cocobacilos, con tamaño de 0.5 a 0.7 µm de diámetro por 0.6 a 1.5 µm de largo, aerobios, carecen de formar esporas, desarrollo lento. Las especies *B. abortus*, *B. Ovis*, *B. Melitensis* son las causales de producir brucelosis (INSHT, 2013, p.2).

2. Levaduras y Hongos: La presencia de estos microorganismos es un indicativo de escasas condiciones higiénico-sanitarias, producen enzimas lipolíticas y proteolíticas que generan deterioro en la leche y derivados. Producen fermentaciones alcohólicas gaseosas, responsables del aspecto espumoso de la leche (Celis y Juárez, 2008, p.25).

3. Virus: Son los causantes de enfermedades como la estomatitis vesicular y la fiebre aftosa, en la industria láctea los bacteriófagos son de vital importancia, infectan a bacterias generadoras de sabor y aroma causando su lisis y deteriorando las características sensoriales del producto (Celis y Juárez, 2008, p.25).

1.2.5 Fuentes de contaminación de la leche

Los microorganismos están presentes en todo lugar, en los animales, las personas, el aire, la tierra, el agua entre otras cosas. La obtención de una leche de alta calidad higiénica y sanitaria depende del esfuerzo en conjunto de todos los actores que intervienen en todas las etapas del proceso, desde la extracción de la leche hasta su almacenamiento (FAO, 2015). Estas pueden ser contaminantes químicos o biológicos.

1.2.5.1 Contaminantes químicos

El bovino directa o indirectamente se encuentra expuestos a sustancias químicas como metales pesados, policlorados, hidrocarburos aromáticos policlorados, bifenilos policlorados, a residuos farmacológicos por la ingesta de medicamentos, a toxinas o plaguicidas por el consumo de aguayo heno, a algún tipo de detergente y desinfectante que se encontraba en materiales que entraron el contacto con la leche en su procesamiento (FAO, 2015).

Plaguicidas: Grupo de sustancias empleadas para destruir, prevenir, contralar plagas, incluyendo a especies plantas y animales indeseables, vectores de enfermedades transmisibles Considerados biosidas con cierto grado de toxicidad, por lo que su uso indiscriminado, generalizado son motivo de preocupación (INSPI, 2010).

Medicamentos veterinarios: Sustancia administrada a cualquier clase de animal destinado a la generación de alimentos (leche, carne, huevos, pez, entre otros) con fines de diagnóstico, profilácticos, terapéuticos, o para alterar el comportamiento o las funciones fisiológicas, en este grupo podemos encontrar a los antiparasitarios, antiinflamatorios, promotores de crecimiento, y principalmente a los antibióticos; en la leche cruda un peligro químico es encontrar principios activos íntegros, excipientes con actividad farmacológica en el organismo (INSPI, 2010).

Contaminantes ambientales: Encontramos en este grupo a los metales pesados, bifenilos policlorados, dioxinas, furanos y a los hidrocarburos aromáticos policíclicos, compuestos procedentes de fuentes naturales o de labores antropogénicas. Las altas y persistentes concentraciones de contaminantes ambientales llegan al bovino por medio del agua, pasto, suelo contaminado e ingerido (INSHT, 2013, p.2).

Micotoxinas: Determinados mohos producen metabolitos secundarios tóxicos, sustancias de gran interés en la inocuidad de los alimentos, entre los grupos encontrados con mayor frecuencia en la leche son a las aflatoxinas, zearalenona, ergot alcaloides, fumonisinas y tricoticenos (FAO, 2015).

1.2.5.2 Contaminantes biológicos

La leche al ser un excelente medio de cultivo tiene el riesgo de contener un gran número de microorganismos entre patógenos y no patógenos que alteran la calidad de la leche, estos pueden contaminar a la leche en dos periodos: el anterior al ordeño que condiciona la calidad natural de la leche y el posterior al ordeño que provoca la alteración de la calidad original de la leche cruda.

- Contaminación inicial: la piel del pezón es el reflejo de la calidad higiénica del establo y del aseo de las ubres; el canal del pezón de la vaca es un lugar privilegiado por microorganismos de origen exógeno como *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias, Bacilos, *Streptococos spp*, *Pseudomonas* para albergarse y poder alcanzar la leche por dos vías:

Vía ascendente: microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Coliformes*, *Streptococos* se asocian a la piel de la ubre e ingresan después del ordeño a través del esfínter del pezón. Cuando las glándulas mamarias de la vaca están infectadas encontramos a los microorganismos mastíticos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas* y *Corinebacterium pyogenes* (Andrade, 2005).

Vía endógena: conocida también como interna o hematológica, es utilizada por microorganismos que pueden generar patologías sistémicas o tienen la capacidad de moverse por la sangre para infectar a las ubres por medio de los capilares mamarios, como es el caso de la Bruselosis causada en los bovinos por la especie *Brucella abortus*, Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) etc (Andrade, 2005).

- Contaminación externa: diversos factores iniciales como el ordeño, medio ambiente, limpieza del animal (ubres), higiene y salud del trabajador, limpieza de equipos, maquinas, utensilios empleados pueden ser los causales de esta contaminación provocando en la calidad de la leche natural u original alteraciones (Magariños, 2000, p.70).

Animal: la vaca por tener una temperatura de 35°C puede considerarse un reservorio de microorganismos principalmente en las zonas de las ubres, cola y flancos. Las ubres pueden contener microorganismos descendientes del estiércol en el forraje, en el pelo del animal, por lo que llevar una buena higiene de las ubres es importante (FAO, 2016).

Equipos y utensilios: los recipientes utilizados en el proceso de ordeño, filtrado deben ser lavados, desinfectados correctamente ya que pueden contener microorganismos de descomposición (Faría, 2002, p.63).

Ordeñador: es un factor determinante en el control sanitario y un medio para una contaminación cruzada debido a una relación directa e indirecta con la leche, ya que, el manipulador al ordeñar una vaca y otra y al recibir en la planta la leche, está en la capacidad de transmitir microorganismos patógenos deteriorando la calidad higiénica de la leche y más aún si éste presenta alguna infección contamina de igual forma a la leche (Carrillo, 2009).

Se ha indicado que el responsable de la presencia de microorganismo patógenos como *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Leptospiras*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, en la leche es el ordeñador (EROSKI CONSUMER, 2010).

Ambiente: para evitar o disminuir la contaminación de la leche y el contagio de enfermedades en el ganado se requiere mantener permanentemente controles en la limpieza y desinfección de las instalaciones donde se encuentra el ganado, el lugar de ordeño libre de suciedad como residuos de estiércol antes, durante y después del proceso.

Por lo que la utilización de procedimientos estandarizados de sanitización (POES) que especifiquen como, cuando, donde hacer, que utilizar, el responsable, los materiales en cada etapa de ordeño ayudara a garantizar la calidad del producto (EROSKI CONSUMER, 2016)

Agua: para la limpieza de las ubres del animal, los equipos, utensilios, el personal se requiere agua de calidad, la utilización de agua contaminada puede acarrear peligros para la salud por contener microorganismos patógenos para el consumidos (Magariños, 2000, p.72)

Almacenamiento y transporte: para la conservación de leche recién salida del ordeño, los factores como tiempo y temperatura asumen relevancia, es recomendable que después del ordeño dentro de las 2 primeras horas enfriar la leche a 4°C, y al momento de transportar la leche hacerla conservando la cadena de frío para evitar la excesiva proliferación de microorganismos, puesto que al centro de acopio la carga microbiana de la leche debe estar en un rango entre 500 a 10000 UFC x ml^{-1} (Sánchez, 2010).

1.2.6 Calidad de la leche

La leche al igual que otros productos o insumos debe ajustarse a especificaciones ya establecidas para verificar su calidad, como son los requisitos organolépticos, composición físico química y parámetros microbiológicos, aspectos bien definidos por la normativa nacional vigente. El valor nutricional que presenta le leche es incuestionable por la presencia de proteínas, sólidos totales y grasa por lo que hay precautelar que los componentes no sufran degradaciones físico químicas

por efecto de la fermentación, lipólisis, etc ya que afectan a los procesos tecnológicos y a la calidad final de los productos lácteos. La leche desde el momento que es ordeñada, está sometida a múltiples factores contaminación y desarrollo de microorganismos (banales y patógenos), contaminación con sustancias químicas, partículas de suciedad, cambios en sus características organolépticas, factores que de manera conjunta o aislada inciden de manera negativa en la calidad original, calidad higiénica o en la composición afectando a la salud de la población (FAO, 2016).

1.2.6.1 Control de Calidad de la leche

La calidad de todos los derivados de lácteos (queso, yogurt, mantequilla) depende directamente del producto original (leche). Ésta a su vez, se deriva de las condiciones higiénico sanitarias de los animales y el trato, del lugar de producción, almacenamiento, envasado o de su transporte (EROSKI CONSUMER, 2012).

- **Requisitos organolépticos**

Según la NTE INEN 9: Leche cruda. Requisitos, la leche debe presentar:

- Color blanco opalescente o levemente amarillo, esto por los glóbulos de grasa en suspensión presentes en la leche, siendo ésta característica un indicador principal de calidad.
- Olor debe ser lácteo característico, suave, debido a la existencia de compuestos químicos orgánicos (aldehídos y cetonas).
- Sabor es ligeramente dulce, por la presencia de azúcares.
- Aspecto homogéneo, libre de sustancias extrañas como: residuos, sedimento, conservantes, neutralizantes, colorantes, antibióticos, detergentes, sangre; debe tener un bajo contenido de bacterias, y tener una composición nutricional y acidez dentro de los parámetros normales.

- **Requisitos físico-químicos**

La leche para poder ser procesada debe cumplir con las determinaciones que indican en la tabla 2.1

Tabla 2-1 Parámetros físico-químicos de la leche cruda

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.
Densidad relativa: a 15 oC A 20 °C	-	1,029 1,028	1,033 1,032
Materia grasa	% (fracción de masa)	3	-
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-
Punto de congelación (punto crioscópico)	oC oH	-0,536 -0,555	-0,512 -0,53
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-
Ensayo de reductasa (azul de metileno)	h	3	-
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen		
Presencia de conservantes	-	Negativo	
Presencia de neutralizantes	-	Negativo	
Presencia de adulterantes	-	Negativo	
Grasas vegetales	-	Negativo	
Suero de Leche	-	Negativo	
Prueba de Brucelosis	-	Negativo	
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS	ug/l	-	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2

Fuente: NTE INEN 9:2012. (Leche cruda, Requisitos)

Acidez titulable: Los parámetros normales de acidez están expresados convencionalmente como porcentaje de ácido láctico que van entre 0,13% - 0,17%, la leche tiene una acidez natural por la presencia en su composición de sustancias minerales, CO₂ disuelto, proteínas, ácidos orgánicos, iones fosfatos y la acidez desarrollada debido a alteraciones en la leche por acción bacteriana durante su formación o almacenamiento, procesos como la fermentación de la lactosa por acción de microbiana aumentan la acidez. Parámetros menores al 0.13% puede deberse a una leche proveniente de vacas con mastitis, es aguada, neutralizada con alcalinizantes. Los valores que indique la acidez evidencia la calidad higiénico sanitaria de la leche (Rojas, 2003, p.6)

Densidad relativa: Propiedad física de la leche que está asociada con la combinación de las densidades de sus diferentes componentes agua, proteína, grasa, lactosa, minerales, por lo que

valor de la densidad varía en dependencia de la composición química y otros factores añadidos, La leche tiene una densidad de 1,028 – 1,032 a una temperatura de 20°C de acuerdo a la NTE INEN 9; valores de la densidad fuera de los límites indican adulteración por adición de agua a la leche (disminución) o por eliminación de la grasa láctea o descremado (aumento). Para establecer la densidad, se utiliza dos métodos el lactodensímetro y el picnómetro (NTE INEN 0009:2012).

Residuos de medicamentos veterinarios: Se conoce como medicamentos veterinarios a sustancia administrada a cualquier clase de animal destinado a la generación de alimentos (leche, carne, huevos, pez, entre otros) con fines de diagnóstico, profilácticos, terapéuticos, o para alterar el comportamiento o las funciones fisiológicas, en este grupo tiene mayor relevancia los residuos de antibióticos empleados para el tratamiento de procesos infecciosos como la mastitis, la vía de administración implicada directamente en la presencia de residuos es en la glándula mamaria; en la leche cruda un peligro químico es encontrar a los principios activos íntegros o a los excipientes con actividad farmacológica en el organismo, ya que en el consumidor puede generar reacciones alérgicas, resistencia a los antibióticos y en casos excepcionales reacciones de tipo carcinogénicas cuando el consumo es prolongado, además de intervenir directamente en el desarrollo de cultivos indicadores empleados en la elaboración de queso y productos fermentados. Los antibióticos utilizados con elevada frecuencia son de tipo betalactámicos específicamente la penicilina, medicamento de uso obligatorio en diversas patologías infecciosas; tetraciclinas; sulfas; oxitetraciclinas: aminoglucósidos dentro del cual está la neomicina; macrólidos particularmente la eritromicina (Boggio, 2010, p.3).

- **Requisitos microbiológicos**

Antes de procesar a la leche cruda, debe someterse y cumplir los controles microbiológicos establecidos en la NTE INEN 9: Leche cruda. Requisitos (Tabla 3-1).

Tabla 3-1 Criterios microbiológicos de la leche cruda, según la NTE INEN 9

Requisitos	Límite máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos REP, UFC/cm ³	1,5 x 10 ⁶	NTE INEN 1529:5
Recuento de células somáticas/cm ³	7,0 x 10 ⁵	AOAC-978.26

Fuente: NTE INEN 9:2012. (Leche cruda, Requisitos)

La leche pasteurizada, de acuerdo a la NTE INEN 10, debe cumplir los siguientes requerimientos microbiológicos, Tabla 4-1.

Tabla 4-1 Requisitos microbiológicos de la leche pasteurizada, según a la NTE INEN 10

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismo mesófilos, UFC/cm ³	5	30000	50000	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de coliformes, UFC/cm ³	5	<1	10	1	AOAC 991.14
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	0	.	0	ISO 11290-1
Detección de <i>Salmonella</i> /25g	5	0	.	.	NTE INEN 1529-15
Recuento de <i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	.	0	AOAC 991.14

Fuente: NTE INEN 10:2012. (Leche pasteurizada, Requisitos)

1.3 Derivados lácteos

Alrededor del mundo aproximadamente 150 millones de familias se dedican al proceso de producción de la leche, en países en desarrollo, los pequeños productores son los que proveen leche a la industria láctea de su país, siendo la fuente de ingreso económico (FAO, 2016).

Tomando como materia prima la leche se puede elaborar diversos productos como:

Leche líquida: abarca productos como la leche pasteurizada, desnatada, normalizada, reconstituida, enriquecida y leche de larga conservación.

Leches fermentadas: encontramos productos como el yogur, dahi, ergo, ayron, kéfir, kumis, lavan, tarag y kurut, que se obtiene de la fermentación de la leche por acción de microorganismos específicos.

Quesos: en el mercado se encuentra diversas variedades de queso entre duros, semiduros, semiblando y blando, esto debido a las diferentes variedades de leche y su composición, a los procedimientos aplicados en la elaboración, y a los microorganismos aplicados.

Mantequilla y mantequilla clarificada (ghee): productos grasos obtenidos a partir de la leche; del batido de la nata se genera la mantequilla y eliminando el agua de la mantequilla obtenemos el ghee.

Leche condensada: para su elaboración se suprime parcialmente el agua de la leche entera o desnatada previo tratamiento térmico y posterior concentración.

Leche en polvo: leche totalmente deshidratada, con un contenido de agua inferior o igual al 5%.

Nata: se consigue a través de los procesos de centrifugación o descremado de la leche, en el mercado encontramos la nata recombinada, reconstituida, preparada, líquida pre envasada, montada o batida, fermentada, acidificada y nata envasada a presión.

Sueros: líquido obtenido después de la separación de la cuajada durante el proceso de elaboración del queso, encontramos en diversas presentaciones como bebidas a base de suero o suero fermentado, pasta de suero, suero en polvo (CODEX ALIMENTARIUS, 2001).

1.4 Queso

1.4.1 Definición

“Es un producto lácteo obtenido mediante coagulación con cuajo u otras enzimas coagulantes apropiadas” (NTE INEN 0062:1974).

Según la norma NTE INEN 1528:2012 y CODEX STAN 283-1978 coinciden al describir al queso como *“ producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante:*

a) Coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche descremada, leche parcialmente descremada, crema, crema de suero o leche, de mantequilla o de cualquier combinación de estos

ingredientes, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los ingredientes lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso; y/o

b) Técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el apartado a)" (NTE INEN 1528:2012).

1.4.2 Clasificación de los quesos

La NTE INEN 62: Quesos. Clasificación y designación, clasifica a los quesos según la dureza, la cantidad de grasa y la maduración, así tenemos:

Tabla 5-1 Clasificación de los quesos según la dureza, la cantidad de grasa y la maduración

De acuerdo a la dureza	
Clasificación	Porcentaje de humedad sin materia grasa
Duros	igual o menor a 55%
Semiduros	mayor de 55% y menor a 65%
Blandos	igual o mayor que 65%
De acuerdo a la materia grasa contenida en el queso	
Clasificación	Porcentaje de grasa en el extracto seco
Ricos en grasa	igual o mayor a 60%
Extragrasos	menor que 60% y mayor o igual a 45%
Semigrasos	menor a 45% y mayor o igual de 25%
Pobres en grasa	menor a 25% y mayor a 10%
Desnatados	igual o menor a 10%.
De acuerdo a la maduración	
Clasificación	Características
Maduros	Para el consumo deben mantenerse un determinado tiempo a temperatura y condiciones específicas para se generen

Sin madurar	las variaciones físicas y bioquímicas características del producto. Después del procesamiento está apto para el consumo
-------------	--

Fuente: NTE INEN 0062:74. (Quesos. Clasificación y designaciones)

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

1.5 Queso fresco

1.5.1 Definición

“Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco”. NTE INEN 1528:2012, se caracteriza de acuerdo a la norma mexicana NOM-121.SSA1.1994 por un alto contenido de humedad, sabor suave y con un periodo de vida de aparados corto, debiendo por lo general ser refrigerado.

1.5.2 Clasificación del queso fresco

Según la NTE INEN 1528: Norma general para quesos frescos no madurados, los quesos se clasifican por su composición y características físicas.

- Dependiendo del contenido de humedad en el queso, tenemos: duros, semiduro, semiblando, blando.

- De acuerdo al contenido de materia grasa: Ricos en grasa, graso, bajo en grasa, magro.

1.5.3 Composición química del queso fresco

El queso contiene de una forma concentrada la mayoría de los compuestos de la leche, exceptuando la lactosa, esto debiéndose a la pérdida de agua que se genera en las diferentes etapas de elaboración.

Tabla 6-1 Composición del queso fresco

Componentes	Valor en porcentaje
Humedad	60 %

Grasa	19%
Proteína	17-21 %
Carbohidratos	2%
Sales minerales	2 %

Fuente: NTE INEN
0062:74
Realizado por:
Cristina Pilamunga,
2017

1.5.4 Composición nutricional

El queso brinda un importante aporte de nutrientes casi los mismo de la leche, en general se destaca el contenido de proteínas de elevado valor biológico que no se ve alterado por los procesos tecnológicos utilizados en la elaboración del producto, el queso es una importante fuente de minerales como calcio de fácil asimilación, el fosforo y cinc, la biodisponibilidad de éstos al igual que de las proteínas no se ven afectados por los procesos de fabricación del queso. El contenido de grasa en el queso está ligada a la elaboración con la nata y del tipo de leche utilizada, por lo que el valor calórico incrementa (Alais, 2003, p.463).

La presencia de vitaminas liposolubles A y D y las vitaminas hidrosolubles en especial las del grupo B (riboflavina y niacina) en el queso es variado, dependiendo de la pérdida en el suero y de la utilización por parte de los microorganismos (EROSKI CONSUMER, 2009).

1.5.5 Procedimiento de elaboración del queso fresco

Las etapas de elaboración de queso son bastante simples y clásicas, pero involucran procesos físicos y químicos complejos que son los responsables de las características organolépticas, nutricionales del queso.

Es un proceso de concentración, de la proteína caseína que se coagula por efecto enzimático (cuajo) y otro coagulante de clase ácida generalmente el ácido láctico; a continuación, describimos el proceso (Gil, 2010, p.800).

1.5.5.1 Recepción de la leche

Cuando la leche proveniente de camiones, tanques este en la sala de recepción se lleva a cabo las pruebas necesarias para asegurar la calidad de la leche en los aspectos: organolépticos, físico-químicos, microbiológicos, todos descritos en la NTE INEN 9: Leche cruda. Requisitos.

1.5.5.2 Filtración: se filtra para retirar las partículas de tamaño variado que han caído en la leche por el ordeño o transporte.

1.5.5.3 Enfriamiento: la leche se ubica en un tanque frío para mantenerla a temperaturas menores a 10°C previo la pasteurización (ITDG, 1998, p.13).

Elaboración del queso fresco.

1.5.5.4 Pasteurización: tratamiento térmico a 68°C por 15 min o a 63°C durante 30 min, así aseguramos la eliminación de todos los microorganismos patógenos y la mayoría de los microorganismos banales, facilitando el desarrollo normal del cultivo láctico, es recomendable respetar la temperatura y los tiempos establecidos, ya que periodos largos pueden afectar a los componentes, reduciendo la capacidad de coagulación de la leche e induciendo que las proteínas se precipiten. Las temperaturas de la leche descienden entre los 38-42°C, agitar regularmente, verificando la temperatura (Hernández et al., 2003, p.76).

1.5.5.5 Inoculación de cultivos iniciadores: tras el proceso de pasteurización la leche pierde un porcentaje alto de bacterias lácticas por lo que es necesario sustituirlas añadiendo fermentos lácticos 500mL/100 litros de leche, generalmente con un tiempo de maduración de 5 a 10 min. La principal acción de las bacterias añadidas es fermentar la lactosa para producir ácido láctico, este ácido favorece a la formación y el desuerado de la cuajada, disminuye el pH a 5.0-5.2 evitando el desarrollo de microorganismos, confiere el sabor ácido. Una vez las bacterias lácticas (fermento) han madurado la leche, se incorpora el cuajo (Hernández et al., 2003, p.76).

Los fermentos lácticos se clasifican en 2 grupos dependiendo de su temperatura de crecimiento: mesófilos a 20-30°C (*Leuconostoc. spp* *Diacetylactis* y *Streptococcus lactis*, sbsp.) y termófilos a 37-45°C (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis* *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*) (Gil, 2010, pp.801-802).

1.5.5.6 Adición de aditivos y sales: se destaca el cloruro de calcio cuya función es generar tiempos constantes de coagulación y una firmeza eficaz en el coagulo.

1.5.5.7 Coagulación: a temperaturas adecuadas se adiciona el cuajo, el cuajo al ser una enzima (generalmente quimosina) provoca que las micelas de caseína se desestabilizan, se aglomeran y formen un gel de consistencia blanda al que denominamos cuajada, en el que queda atrapada los componentes de la leche. Este proceso se lo realiza a una temperatura de 32°C por 30 min; la

coagulación tiene lugar gracias a la acción de las bacterias lácticas (coagulación ácida) y por la adición de enzimas cuajo (coagulación enzimática), que gracias a modificaciones físicas y químicas formaron el coágulo. (Hernández et al., 2003, p.76)

1.5.5.8 Corte de la cuajada: transcurrido el tiempo, se corta lentamente el coagulo con la lira de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo, con la finalidad de ayudar a la eliminación de lactosuero, dejar reposar alrededor de 5 minutos. Se remueve la cuajada con ayuda de agitadores mientras se calienta gradualmente, dando lugar a la separación de lactosuero de la cuajada proceso conocido como desuerado o sinéresis, transcurrido un tiempo se drena un alto porcentaje de lactosuero. (Hernández et al., 2003, p.76)

1.5.5.9 Moldeado y prensado: situar a la cuajada en los moldes para queso rectangular y redondo con su respectiva malla, llevarlos a la prensadora. Retirar los lienzos y el molde del queso, proceder a perfilarlos cortando los bordes del queso que se han escapado por los costados del molde.

1.5.5.10 Salado: trasladar al queso perfilado a la salmuera mezcla de agua y sal en grano donde permanece por un tiempo determinado, tiene como función esta etapa proporcionar el sabor al producto, ser un método de conservación, colaborar en la formación de la corteza y completar la expulsión de lactosuero. El salado puede hacerse ya se por seco o sumergiéndole al producto a baños de salmuera. (Pascual y Calderón, 2000: pp.117-119)

Transportar al cuarto frío al queso donde permanece por un día a 4 °C.

1.5.5.11 Empaque y etiquetado del queso: colocar al queso en fundas de polietileno esterilizadas transparentes, llevar manualmente a la máquina selladora.

1.5.5.12 Almacenamiento: el queso es almacenado dentro del cuarto frío a temperaturas de 4°C hasta su distribución (Pascual y Calderón, 2000: p.200).

1.5.6 Calidad del queso fresco

Se define a calidad, a un conjunto de características y propiedades de un producto que le confiere la aptitud de satisfacer los requerimientos, establecidos o implícitos del consumidos.

Para obtener un queso de calidad es indispensable emplear leche de la misma categoría, que cumpla todas las especificaciones organolépticas, físico-químicas y microbiológicas establecidas por la normativa nacional, además que todas las etapas en la elaboración del queso se realicen con las mejores condiciones de higiene del personal manipulador (Toro, 2005, p.58).

En la NTE INEN1528:2012 Norma general para quesos frescos no madurados, establece que, al momento de analizar los quesos, la leche a utilizar debe dar ausencia de microorganismos patógenos conjuntamente con sus metabolitos y toxinas.

1.5.6.1 Calidad higiénico sanitaria del queso fresco

Es el nivel de higiene por el cual se obtiene y elabora el queso, se relaciona directamente con la presencia de microorganismos, los cuales deben mantenerse dentro de los límites establecidos.

Generar un queso de calidad higiénica es complejo de obtener, ya que depende de una leche cruda de calidad higiénico sanitaria satisfactoria (estados sanitarios y la higiene del animal, proceso de ordeño y condiciones de limpieza de los equipos de ordeño), de la limpieza, cuidado y control en cada etapa de procesamiento (equipos y utensilios), de la higiene de los manipuladores (Casado y García, 2001: p.12).

La calidad sanitaria del queso se clasifica en dos factores fundamentales:

* La mínima presencia de microorganismos

* Ausencia de agentes/sustancias extrañas al queso que pongan en riesgo los componentes del producto y más aún la salud del consumidor

Se puede decir que la calidad higiénica integra la salud pública desde la perspectiva de carencia de microorganismos, olores y sabores extraños, suciedades, antibióticos y restos de sustancias químicas (Casado y García, 2001: p.12).

La importancia sanitaria del queso radica en que el queso puede ser para el hombre, un medio de transmisión de enfermedades, producidas por microorganismos patógenos o sus toxinas, siendo un medio de contaminación importante las vacas enfermas (mastitis), ordeñadores, manipuladores de leche en el proceso de elaboración del queso, medio ambiente sucio y un deficiente ventilado, equipos y utensilios utilizados en la cadena de producción) (OMS, 2016).

Una calidad sanitaria satisfactoria hace referencia a la no presencia de microorganismos patógenos tales como Coliformes totales, *Listeria monocytogenes*, Coliformes fecales,

Salmonella, *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis*, entre otros, microorganismos asociados a intoxicaciones o infecciones alimentarias (Casado y García, 2001: p.12).

1.5.7 Control de calidad del queso

1.5.7.1 Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados

La norma NTE INEN 1528:2012, señala los requisitos microbiológicos del queso, en el cual

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Enterobacterias, UFC/g	5	2 x 10 ²	10 ³	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	5	ausencia	.		ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25 g	5	ausencia	.	0	NTE INEN 1529-15

afirma que no deben estar presentes microorganismos peligrosos sus correspondientes metabolitos y toxinas.

Tabla 7-1 Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados

Fuente: NTE INEN 1528:2012. Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos

1.5.8 Microorganismos indicadores de la calidad del queso fresco

La industria alimentaria y en especial la láctea, considera a un grupo de microorganismos como indicadores ya que su presencia, en un número determinado en el queso indica que el alimento estaba expuesto a factores que permitieron el ingreso a organismos patológicos o la multiplicación/desarrollo de especies microbiológicas toxigénicas o infecciosas (Pascual y Calderón, 2000: p.280). Además de ayudar a comprobar del grado de cumplimiento de las buenas prácticas higiénicas.

1.5.8.1 Bacterias Aerobios mesófilos

Microorganismos que crecen por la presencia de oxígeno, a una temperatura entre 20 y 45°C, el recuento de microorganismos aerobios mesófilos es un método empírico, macroscópico y empleado en la determinación del número de colonias que crecen al sembrar cierta cantidad de muestra en plagas con agar. Este requisito microbiológico muestra la calidad sanitaria del

producto además de algunas condiciones higiénicas de la leche cruda como materia prima, manipulación en el proceso de elaboración (Toro, 2005, p.61).

Con el recuento se puede apreciar la flora total de la muestra, pero sin determinar el tipo de germen, su patogenicidad o sus toxinas; un recuento bajo no afirma que el alimento o la muestra esté libre de patógenos o toxinas, mientras que un recuento alto no significa la presencia de microorganismos patógenos; el significado de su presencia es diverso:

- Excesiva contaminación en la materia prima
- Probabilidad de la presencia de patógenos

Indicador de descomposición de un producto, con un recuento de $10^6 - 10^7$ bacterias/ ml o g del alimento (Pascual y Calderón, 2000: p.281).

1.5.8.2 Coliformes totales

Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos. Se caracterizan por fermentar la lactosa generando gas y ácido en un periodo de incubación de 24 horas a 32°C. Un alto porcentaje de éstas bacterias excluyendo *E. coli* se encuentran en aguas naturales y en aguas residuales, otras se encuentran en el tracto digestivo como flora normal en los humanos y animales, tiene la capacidad de proliferarse tanto en el suelo como en medios acuáticos (Andino, 2001).

Este grupo de bacterias actúan como indicadores del grado de higiene de la muestra que se analiza (NTE INEN 1529-9, 1990), según Jay (2002, p.34) en los derivados lácteos la presencia de Coliformes no refleja una contaminación fecal sino muestra de manera general la higiene de la instalación industrial.

1.5.8.3 Escherichia coli

Conocida también como *E. coli*, bacilo gram negativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, son anaerobios facultativos, comensales. Habita normalmente en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente, un gran número de cepas de *Escherichia coli* son inocuas, pero algunas producen una toxina conocida como Shiga que es termoresistente causante de intoxicaciones alimentarias (OMS, 2016).

La presencia de ésta bacteria en alimentos evidencia una contaminación directa o indirecta de origen fecal, refleja la falta de medidas de control higiénicas en la cadena alimentaria, es decir

desde el sector de la producción agropecuaria en fincas, granjas, ranchos hasta el proceso de elaboración, manipulación del producto (Perez y Bucio, 2010: p. 1211).

1.5.8.4 *Staphylococcus aureus*

Cocos Gram positivos de la familia Staphylococcaceae, se encuentra presente en el aire, suelo, derivados lácteos, además de la piel, fosas nasales, boca, tracto intestinal de los seres humanos, produce una toxina termoestable capaz de generar una infección bacteriana en el consumidor. En la industria alimentaria este germen muestra contaminación a partir de los manipuladores, de la materia prima, además del escaso proceso de limpieza y desinfección de materiales, utensilios, equipos que entran en contacto con el producto y el deficiente control de la temperatura en las etapas del proceso (EROSKI CONSUMER, 2012).

1.5.8.5 *Listeria monocytogenes*

Bacilo gram positivo, oxidasa negativo, catalasa positivo sin colonias pigmentadas. Agente causal de la Listeriosis humana, una enfermedad atípica transmitida por los alimentos siendo uno de los patógenos más peligrosos para la industria alimentaria (EROSKI CONSUMER, 2012).

Su hábitat es muy extendido en la naturaleza y ha sido encontrado en el suelo, el polvo, los productos alimenticios para los humanos tanto de origen animal como vegetal, alimento, agua y alcantarillado y puede ser transportado por casi cualquier especie animal, incluyendo seres humanos asintomáticos. La *Listeria* spp. más comúnmente tienen acceso a la leche de la ubre de las vacas durante el ordeño, es más probable que los animales se colonicen a través del consumo del organismo en pasto o pienso y, en particular, ensilaje. Al igual que con los contaminantes entéricos, *Listeria* spp. puede ganar la entrada a la leche por una contaminación fecal de la ubre (Pérez y Bucio, 2010: p. 1210).

1.5.8.6 *Salmonella*

Salmonella es una bacteria Gram negativa, no esporádica, negativa a la oxidasa y catalasa negativa sin producir colonias pigmentadas. Es uno de los patógenos más frecuentes en la industria alimentaria. Los estudios sobre este microorganismo datan de hasta 100 años y han sido el agente causante de varios brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos, particularmente en los productos lácteos. La mayoría de las especies son patógenas (ITDG, 1998).

El hábitat primario de *Salmonella*, es el tracto intestinal de animales y humanos. La intoxicación alimentaria por *Salmonella* resulta de la ingestión de alimentos que contienen cepas apropiadas

de este género en números significativos. La leche cruda es un vehículo importante para este microorganismo, su presencia causa enfermedades por medio de la infección. Se multiplican en el intestino delgado, colonizando y posteriormente invadiendo los tejidos intestinales, produciendo una enterotoxina y causando una reacción inflamatoria y diarrea (Perez y Bucio, 2010: p. 1211).

1.6 Quesera artesanal

Las queseras artesanales son establecimientos que elaboran quesos con leche proveniente de un plantel propio, y donde la elaboración lleva implícita mucho trabajo manual, generalmente con un proceso discontinuo no de elaboración y poco volumen de materia prima (Aburto y Girón, 2007: pp. 12-15).

Se entiende por queso artesanal aquel realizado en forma exclusiva con leche cruda, pasteurizada o termizada producida en el predio. En su elaboración, al contrario que en los industriales, no se trata de ahorrar mano de obra para abaratar costes, casi siempre en detrimento de la calidad, sino de emplearla juiciosamente para elaborar productos de alto valor añadido donde los conceptos de territorio, ganado y gente deben pasar a formar parte del marketing del producto. El queso fresco de producción artesanal ha constituido, durante décadas, una de las bases de la alimentación de la población ecuatoriana. En el Ecuador, el 35% de la leche generada es destinada a la industria quesera artesanal. Dicha actividad de manufactura se realiza en áreas rurales, donde las condiciones higiénico-sanitarias han carecido del seguimiento y control requeridos para asegurar la obtención de productos de calidad comercial. La composición química y el grado de hidratación de este tipo de productos, son factores que van a propiciar el desarrollo de patógenos de importancia sanitaria por su impacto en la salud pública (Arguello et., 2015: p.64).

Desde el año 2015 la Agencia Nacional de Regulación, Vigilancia y Control Sanitario, ha comenzado a implementar una normativa técnica sanitaria sobre Prácticas Correctas de Higiene para establecimientos procesadores de alimentos categorizados como Artesanales y Organizaciones del Sistema de Economía Popular y Solidaria; establece los requisitos para la obtención del registro sanitario de los alimentos procesados, el permiso de funcionamiento así como las prácticas correctas de higiene en los procesos de producción, elaboración, envasado, almacenamiento, distribución, transporte y comercialización de alimentos nacionales para consumo humano a fin de proteger la salud de la población, garantizando la higiene de los alimentos (ARCSA, 2015).

1.7 Prácticas Correctas de Higiene (PCH)

Constituyen en sí mismas un conjunto de medidas de control que previene, eliminan o reducen a niveles muy altos aceptables un elevado número de peligros microbiológicos, químicos o físicos que pueden afectar la salud de los consumidores. Las PCH son aplicadas a las microempresas categorizados como artesanales.

Dentro de estas prácticas tenemos los siguientes requisitos, según dictamina la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria - ARCSA de la resolución 057-2015-GGG:

- Ubicación del establecimiento: El establecimiento debe ubicarse lejos de fuentes de contaminación, no debe estar en un entorno adverso para el proceso de elaboración.
- La construcción y la disposición de las instalaciones: Dependiendo de la naturaleza del producto, las operaciones y los riesgos asociados al proceso; los locales, equipos e instalaciones deben estar ubicados, diseñados y construidos a fin de garantizar que la contaminación sea se reduzca al mínimo.
- Las estructuras internas y el mobiliario: Las estructuras dentro de las instalaciones de producción deben ser de fácil limpieza, desinfección y mantenimiento.
- Los equipos, recipientes y utensilios: Las superficies de trabajo que entran en contacto directo con los alimentos deben ser sólidas, duraderas y fáciles de limpiar, desinfectar y mantener; deben ser de material liso, no absorbente y no tóxico.
- Los servicios:
 - Servicios Higiénicos: Deben estar ubicados de manera tal que mantengan independencia de las otras áreas de la planta, sin tener contacto directo con las áreas de proceso y designados para hombres y mujeres.
 - Área de Limpieza: El suministro de agua potable debe ser el suficiente para lograr la limpieza adecuada de las instalaciones, equipos, utensilios.
 - Control de la Temperatura: Dependiendo de las operaciones que se realicen en la planta procesadora, las instalaciones deben disponer de las facilidades para llevar a cabo los

procesos de calentamiento, cocción, enfriamiento, refrigeración y congelación de alimentos, almacenamiento de alimentos refrigerados o congelados, monitoreo de la temperatura de los alimentos y cuando sea necesario, el control de la humedad, temperatura del ambiente, o cualquier otra condición especial a fin de asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos según sea el caso.

- **Calidad del aire y ventilación:** Se debe disponer de medios adecuados de ventilación natural o mecánica de tal forma que se pueda reducir al mínimo la contaminación generada durante el proceso de elaboración de los alimentos.

- **Requisitos relativos a las materias primas:** Se debe rechazar un producto si está contaminado con parásitos, microorganismos indeseables, plaguicidas, medicamentos veterinarios, sustancias tóxicas, materia descompuesta o extraña, que no se pueden eliminar o reducir a un nivel aceptable durante el proceso de elaboración y para el control de las materias primas se debe contar con las especificaciones de las mismas de acuerdo con la naturaleza del producto.

- **Contaminación cruzada:** Los patógenos pueden ser transferidos a un alimento, ya sea por contacto directo con superficies contaminadas o por los manipuladores de alimentos, superficies de contacto o el aire, por lo tanto, debe mantenerse condiciones de seguridad preventivas.

- **Higiene del personal:**
 - **Estado de Salud:** Se debe asegurar que el personal que padezca o sea portador de alguna enfermedad que pueda transmitirse a los alimentos, no tengan acceso a ninguna de las áreas de manipulación de alimentos.

 - **Aseo Personal:** El personal debe cuidar de su aseo personal, utilizar vestimenta limpia y para ser usada exclusivamente en el área de producción de alimentos, de preferencia debe ser de color claro.

 - **Comportamiento Personal:** El personal que manipula alimentos debe evitar prácticas como fumar, escupir, comer, estornudar, agarrarse el cabello o el rostro para evitar la contaminación de los alimentos.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de la investigación

Quesera artesanal Cod.Q1 ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. La investigación se efectuó en el Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos y el Laboratorio de Bioquímica y Bromatología de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.

2.2. Factores de estudio

2.2.1 Población

Quesera artesanal ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, dicha quesera cuenta con tres trabajadores, recolecta a diario aproximadamente 2700 litros de leche con una producción diaria de 400 unidades de queso fresco.

2.2.2 Muestra

Muestras de: leche cruda, leche pasteurizada, salmuera, suero, superficies de utensilios (mesa centro y esquina, moldes, lira, agitador, mallas, baldes, gavetas, termómetro, envases), superficies de equipos (marmita base y pared, prensa base y plancha) manipuladores y ambiente de la quesera artesanal Cod.Q1 ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. Los procesos de muestreo se realizaron en tres días diferentes.

2.3 Materiales, Equipos y Reactivos

2.3.1 Materia prima

Proporcionada por la quesera artesanal cod. Q1:

1. Leche cruda
2. Leche pasteurizada

3. Queso fresco
4. Suero
5. Salmuera

2.3.2 *Análisis físicos*

- A. Materiales
 - Matraz de Erlenmeyer 100 ml
 - Bureta graduada
 - Soporte universal
 - Probeta 100 ml, 250 ml
 - Pipeta de 100 μ l
 - Gradilla
- B. Reactivos
 - Agua destilada
 - Hidróxido de Sodio 0,1 N
 - Fenolftaleína al 1%
 - Kit de detección de antibióticos
- C. Equipos
 - Balanza analítica
 - Lactodensímetro
 - Estufa

2.3.3 *Análisis microbiológicos*

- A. Materiales
 - Cooler
 - Cajas Petri
 - Tubos de ensayo estériles
 - Hisopos estériles
 - Gradilla
 - Asa de inoculación
 - Placas porta y cubre objetos
 - Puntas azules estériles
 - Micro pipeta 1000 μ l
 - Dispensor para placas Petrifilm

- Probeta 500 ml
 - Matraz de Erlenmeyer 500 ml
 - Lámpara de alcohol
 - Algodón
 - Frascos plásticos estériles 250 ml
 - Pipetas volumétricas 1ml y 10 ml
- B. Reactivos
- Agua destilada
 - Alcohol antiséptico
 - Alcohol potable
 - Aceite de inmersión
 - Kit para tinción de Gram Hucker (Iugol, acetona, safranina y cristal violeta)
- C. Medios de cultivo
- Agua peptonada 0.1%
 - Agar manitol salado
 - Agar estándar métodos
 - Agar sabouraud con cloranfenicol
 - Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento de Enterobacteriaceae
 - Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento de *Staphylococcus aureus*
 - Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes
- D. Equipos
- Autoclave
 - Estufa bacteriológica
 - Refrigerador
 - Cámara de flujo laminar
 - Microscopio
 - Reverbero

2.4 Métodos

2.4.1 Levantamiento de la línea base

Tras las visitas técnicas del Ministerio de Industrias y Productividad Zona 3 a las instalaciones de la quesera artesanal Cod.Q 1, encuentra un alto grado de incumplimiento en la aplicación de los requisitos de las buenas prácticas de manufactura para alimentos procesados.

La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) bajo la resolución ARCSA-DE-057-2015-GGG expide la “ *Normativa Técnica Sanitaria sobre Prácticas Correctas de Higiene (PCH) para establecimientos procesadores de alimentos categorizados como artesanales y organizaciones del sistema de economía popular y solidaria*”, bajo esta normativa se evaluará la calidad higiénica de la quesera (ARCSA, 2015).

2.4.2 Verificación de Prácticas Correctas de Higiene

Con base en la normativa técnica sanitaria expedida por el ARCSA sobre las PCH se diseñó un check list adaptado a la investigación (Anexo C), el cual se empleó para la verificación del cumplimiento de las PCH en la quesera tipo artesanal. La quesera Cod.Q 1 fue inspeccionada durante del estudio.

2.4.3 Toma y transporte de muestras

En la quesera artesanal Cod.Q 1 se recolectaron y transportaron muestras al azar de leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera, queso recién elaborado, bajo la NTE INEN 0004: Leche y productos lácteos. Muestreo, además de efectuar un hisopado de superficies y de manos a los manipuladores. El cronograma de visitas para la toma de muestras se realizó en tres momentos, un día por semana.

2.4.3.1 Muestreo de leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera

Para la toma de leche cruda se acudió a la quesera Cod.Q1 a las 7:00 am, recogiendo del tanque de recepción 500 ml de leche en frascos estériles correctamente identificados y transportados al cooler que contiene gel refrigerante.

Se recogió 150 ml de salmuera en frascos estériles identificados apropiadamente. Transcurrido el proceso de pasteurización se tomó 500 ml de leche de la marmita en frascos estériles correctamente etiquetados; cuando ha ocurrido el proceso de sinéresis se coge 250 ml de suero en frascos estériles y se lleva al cooler junto con las demás muestras para ser transportadas al Laboratorio de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos, al llegar al laboratorio, las muestras fueron colocadas en la cámara de flujo laminar para ser analizadas.

En las muestras de leche cruda y leche pasteurizada se realizó el recuento de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, Enterobacterias, *E. coli*., Para la muestra de suero se determinó Aerobios mesófilos, *S.*

aureus, Enterobacterias, Coliformes totales, *E. coli*. Y en el caso de las muestras de salmuera se analizó la presencia de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, Coliformes totales y *E. coli*.

2.4.3.2 Muestreo de queso

Tras finalizar el proceso de elaboración del queso se tomó aleatoriamente 2 quesos frescos con sus respectivos empaques, se los colocó en el cooler para ser trasladados al laboratorio para sus respectivos análisis microbiológicos. En las muestras de queso se determinará la presencia de microorganismos de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, Enterobacterias, Coliformes totales y *E. coli*.

2.4.3.3 Muestreo de superficies vivas e inertes

Se conoce por superficies vivas a las partes externas del cuerpo del ser humano que entran en contacto directo con los equipos, utensilios y alimentos durante su elaboración o consumo; superficies inertes son todas las partes externas y/o internas de los equipos y utensilios que están en contacto con los alimentos.

De los equipos y utensilios presentes en la quesera se escogieron las superficies inertes que mayor contacto con el producto final tenían durante el proceso de elaboración, como es el caso de :marmita base y pared, mesa centro y esquina, moldes (cuadrado y redondo), prensa base y plancha, lira, agitador, mallas*, baldes*, gavetas*, termómetro, envases* (*: utensilios de los cuales se tomó por duplicado las muestras).

Para determinar la presencia y el recuento de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, Coliformes y *E. coli*, se empleó la técnica de muestreo por hisopado.

Procedimiento

Situar la plantilla en la superficie que se va a muestrear, abrir cuidadosamente la funda estéril que contiene los hisopos, tomarlos por la parte apical. Frotar con el hisopo el área seleccionada formando un ángulo de 30°, como lo indica la Figura 1-2 en superficies irregulares se debe procurar que el hisopo muestree suficiente superficie. Romper la parte apical que entró en contacto con las manos del analista y colocar en los 5ml de agua peptonada contenidos en el tubo. Los tubos con las muestras se colocan en una gradilla la misma que es situada en un cooler a una temperatura no mayor a los 10°C (SANIPES, 2007, p.9).

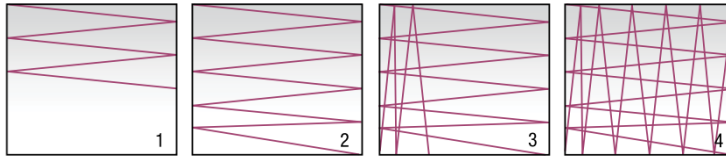


Figura 1-2: Técnica de hisopado de superficies

Fuente: (Ministerio de Salud del Perú, 2007, p.68), Consideraciones específicas:
operaciones en campo

Como superficies vivas se tomaron muestras de las manos de los operarios, para determinar la presencia de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, mohos y levaduras.

Procedimiento

Con ayuda de un hisopo estéril se cubre toda el área de la mano del manipulador posteriormente se sitúa el hisopo en el tubo con solución diluyente.

2.4.3.4 Muestreo del ambiente

Se empleó el método de sedimentación en placa para la toma de muestra de aire en la parte inicial y final del área de recepción, zona de producción, cuarto frío y servicios higiénicos.

Procedimiento

Destapar la placa Petri que contiene agar PCA, colocar en el área seleccionada por un tiempo de 30 minutos y proceder a tapar. Transportar al cooler hasta el laboratorio para ser procesada la muestra. Por medio de este método de sedimentación en placa se conoció el recuento de Aerobios mesófilos (ISPCH, 2011).

2.4.3.5 Muestreo de manipuladores

Hisopado de Manos

Procedimiento descrito en el muestreo de superficies vivas.

2.4.4 Análisis físico-químicos de la leche cruda

Se realizaron a las muestras de leche cruda y suero.

2.4.4.1. Acidez titulable

El porcentaje de ácido láctico se determinó según la NTE INEN 0013: Leche. Determinación de la acidez titulable, bajo el método de titulación ácido-base.

Procedimiento

Homogenizar la muestra de leche, pesar 20 g de muestra y colocar en el matraz Erlenmeyer, diluir la muestra contenida en el matraz con 40 ml de agua destilada y adicionar 2 gotas de solución de fenolftaleína. Agitar cuidadosamente el matraz y titular con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N contenida en la bureta hasta obtener una coloración rosada persistente durante 30 segundos. Leer el volumen de la solución utilizada, en la bureta. La acidez titulable de las muestras se calculó con la siguiente fórmula:

$$A = 0,090 \frac{V \times N}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

A= acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico.

V= volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cm³.

N= normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m= masa del matraz Erlenmeyer vacío, en g.

ml= masa del matraz Erlenmeyer con la leche, en g.

2.4.4.2. Densidad relativa

La densidad se determinó en base a la NTE INEN 0011: Leche. Determinación de la densidad relativa

Procedimiento

Agitar suavemente la muestra hasta que se homogenice, inclinar la probeta para verter la leche llenándola completamente, evitando la conformación de espuma, introducir en la probeta cuidadosamente el lactodensímetro con un leve movimiento de rotación, evitando el roce con las paredes de la probeta. Esperar que el lactodensímetro esté en reposo y proceder a la lectura.

2.4.4.3. Determinación de antibióticos

Procedimiento

Retirar del kit tri sensor para determinación de antibióticos un pocillo, la tira reactiva y la tabla de resultados para comprobación del mismo. Con ayuda de una pipeta coger 200 μ l de leche cruda, adicionar al pocillo y mezclar. Incubar a 40°C por 3 min. posterior a ese tiempo sumergir la tira reactiva en el pocillo que contiene la muestra y dejar reposar por 3 min, retirar la tira (TRISENSOR, 2016).

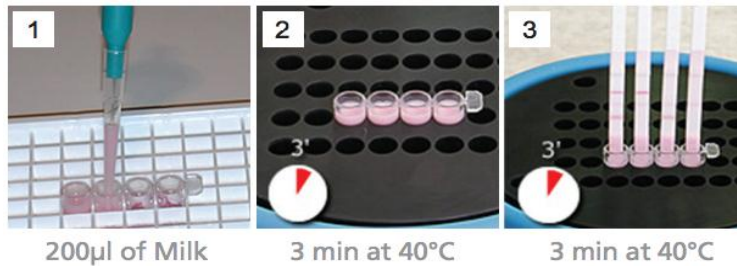


Figura 2-2: Procedimiento para la determinación de antibióticos
Fuente: (TRISENSOR, 2016). Description of the tets

Interpretación

1. Comparar los colores del área reactiva con la tabla de resultados del kit.

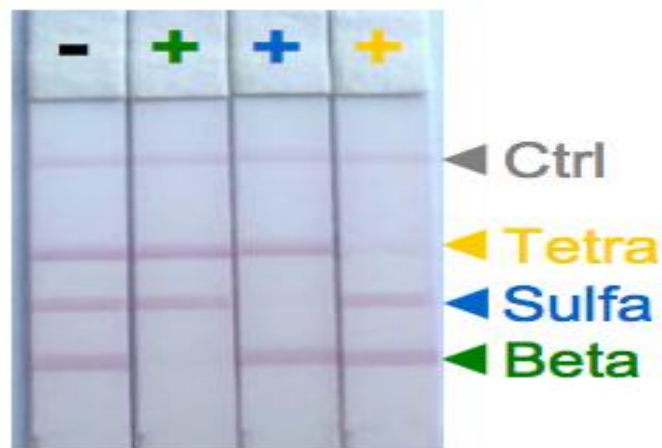


Figura 3-2: Tiras reactivas para la determinación de antibióticos

Fuente: (TRISENSOR, 2016). Description of the tets

2.4.5 Análisis microbiológicos

2.4.5.1 Preparación de las diluciones

- Preparación de diluciones leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera

Procedimiento

Agitar suave y constantemente alrededor de 25 veces por 7 segundos el envase que contiene la *muestra hasta que se homogenice. Transferir 1 ml de *muestra a un tubo de ensayo estéril conjuntamente con 9 ml de agua de peptona, obteniendo una dilución 1:10, mezclar por 30 seg. Colocar con una pipeta estéril 1 ml de la dilución 1:10 en un tubo que contenga 9 ml de agua de peptona y homogenizar, resultando la dilución 1:100. Tomar 1 ml de la segunda dilución y poner en otro tubo adicionando 9 ml de agua de peptona, generándose la dilución 1:1000. De la mezcla anterior incorporar 1 ml a un nuevo tubo de ensayo que contenga 9 ml de agua de peptona, mezclar, obteniéndose la dilución 1: 10000.

Tabla 1-2: Diluciones de trabajo empleadas en las muestras

Muestra	Dilución
Leche cruda	1:100000 o 1^{-5}
Leche pasteurizada	1:100 o 1^{-2}
Salmuera	1:1000 o 1^{-3}
Suero	1:10000 o 1^{-4}

Realizado por: Cristina Pilamunga

* Muestra: leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera.

- Preparación de diluciones del queso

Procedimiento

Del queso fresco pesar 10 g y colocar en un matraz erlenmeyer esterilizado con 90 ml de agua de peptona, agitar el envase hasta su homogenización, dilución 1:10. Transferir 1 ml de muestra a un tubo de ensayo estéril conjuntamente con 9 ml de agua de peptona, obteniendo una dilución 1:100. Colocar con una pipeta estéril 1 ml de la dilución 1:100 en un tubo que contenga 9 ml de agua de peptona y homogenizar, resultando la dilución 1:1000. Tomar 1 ml de la dilución anterior y poner en otro tubo adicionando 9 ml de agua de peptona, generándose la dilución 1:10000 con la cual se va a trabajar (NTE INEN 1529-2, 1999).

- Preparación de la muestra de superficies inertes

Las muestras de superficies se siembran de forma directa sin hacer diluciones en sus correspondientes medios de cultivo (Aerobios mesófilos en agar PCA; *S. aureus*, *E. coli* y Coliformes totales en sus respectivas placas Petrifilm).

- Preparación de la muestra manipuladores

Para la determinación de mohos y levaduras, la muestra se siembra en agar sabouraud con cloranfenicol, va a ser directa sin hacer diluciones, mientras que para Aerobios mesófilos se siembra en Agar PCA y para el recuento de *S. aureus* en placas Petrifilm se siembra 1 ml de la muestra en placa Petrifilm.

2.4.5.2 Recuento de microorganismo

- Recuento de microorganismos pertenecientes a tomas de superficies (ISPCH, 2011).

1. Superficies regulares:

$$\frac{\text{número de colonias contadas (UFC)*factor de dilución*volumen solución diluyente(ml)}}{\text{área de la superficie muestreada (cm}^2\text{)}} = \frac{\text{UFC}}{\text{cm}^2}$$

2. Superficies irregulares:

$$\text{Número de colonias contadas (UFC)*factor de dilución*volumen solución diluyente(ml)} = \frac{\text{UFC}}{\text{superficies muestreas}}$$

- Determinación de las unidades formadoras de colonias por m³ (UFC/m³) del ambiente (Borrego y Molina, 2010:pp.1-2).

Concluida la incubación durante el tiempo indicado, se pasó a realizar el conteo de las colonias de bacterias, después se determinó cuánta población existe de estos microorganismos en un m³ del ambiente analizado, para ello se utilizó la ecuación de Omeliansky.

$$N = 5a \times 10^4(bt)^{-1}$$

Donde

N: UFC/m³ de aire en el ambiente interno; a: número de colonia por placa Petri; b: radio de la placa Petri al cuadrado por π (cm²) y t = tiempo de exposición en minutos.

- Determinación de aerobios mesófilos en Agar para Métodos Estándar (PCA).

Procedimiento:

Preparación del Agar para Métodos Estándar (PCA), calcular los gramos de medio de cultivo deshidratado a utilizar (23,5/L), pesar y disolver en agua destilada, llegar a ebullición por 2 min y esterilizar con ayuda del autoclave a 15 psi por 15 min, dejar enfriar a 45°C aproximadamente.

Siembra

Colocar 1 ml de la dilución 1:10 en una caja Petri, verter 15 a 20 ml de medio de cultivo, mezclar suavemente y esperar que se solidifique. Incubar las cajas a 30°C por 48 horas

Recuento

Observar y contar las colonias que han desarrollado, proceder a multiplicar por el factor de dilución (Prats, 2005, p.105).

- Determinación de mohos y levaduras en Agar sabouraud con cloranfenicol

Procedimiento

Preparación del Agar sabouraud con cloranfenicol, suspender 65 g de medio de cultivo en un litro agua destilada, llevar a ebullición por 2 min para disolverlo en su totalidad, esterilizar con autoclave a 121°C por 15 min y enfriar a 45°C aproximadamente. Verter entre 15 a 20 ml de medio en cajas Petri estériles, esperar a que se solidifique.

Siembra

Colocar una gota o 0.005 ml de inóculo (muestra de manipuladores) en la parte central de la placa Petri que contiene el medio de cultivo. Extender el inóculo con la espátula de Drigalski con movimientos de adelante hacia atrás mientras se gira la caja, tapar (Negroni, 2009, p.557). Incubar las cajas a 25°C por 5 días

Recuento

Observar y contar la unidad propagadora (UP) de mohos y levaduras que se han desarrollado, para el recuento utilizar la fórmula de superficies vivas (Prats, 2005, p.108).

- Recuento de bacterias Coliformes totales, *Escherichia coli*, Enterobacterias y *Staphylococcus aureus* por la técnica de Petrifilm según 3M

Se utilizaron los métodos oficiales para el respectivo recuento de los microorganismos, estos son: *E. coli*/Coliformes es la AOAC 991.14, para *Staphylococcus aureus* AOAC 2003.07, para Enterobacterias AFNOR método validado 3M 01/0609/97.

Procedimiento

Identificar correctamente la placa Petrifilm y colocarla en una superficie plana. Levantar la película semitransparente superior, con la micro pipeta colocada en posición perpendicular colocar 1mL de muestra en la parte central de la lámina inferior de la placa Petrifilm. Dejar caer la lámina superior con cuidado en la inferior, evitando la formación de burbujas posterior con ayuda del dispersor presionar suavemente el área circular de la placa para distribuir de muestra. Levantar el difusor y esperar 1 min. Colocar las placas Petrifilm en la incubadora con la lámina superior hacia arriba, en la Tabla 2-2 se indica el tiempo y la temperatura de incubación para cada microorganismo.

Tabla 2-2: Temperatura y tiempo óptimos para el desarrollo microbiano en las placas Petrifilm

Microorganismo	Temperatura	Tiempo
<i>Staphylococcus aureus</i>	37°C ± 1°C	24 horas ± 2 h
<i>E. coli</i>	35°C ± 1°C	48 horas ± 2 h
Coliformes	35°C ± 1°C	24 horas ± 2 h
Enterobacterias	35°C ± 1°C	24 horas ± 2 h

Realizado por: Cristina Pilamunga

Recuento

Para el conteo de las colonias se debe tener como referencia la guía de interpretación para cada microorganismo. Realizar los cálculos necesarios y emitir los resultados en Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL).

- Verificación de *Staphylococcus aureus* por fermentación en manitol salado

Preparación del agar manitol salado

Realizar los cálculos necesarios para conocer los gramos de medio de cultivo deshidratado a utilizar (111.02g/L). Pesar la cantidad de medio requerido, disolver en un erlenmeyer con agua destilada.

Agitar suavemente y calentar el medio hasta su ebullición por aproximadamente 2 min. Esterilizar en el autoclave y dejar que la temperatura del medio alcance los 45°C. Colocar aproximadamente 15 ml en cajas Petri y esperar a que el medio de cultivo se solifique.

Siembra

A las placas Petrifilm para el recuento de *S. aureus*, tomar una colonia de color rojo-violeta de la lámina superior utilizando una tasa de platino previamente estéril, colocar el asa en la superficie del medio y con cuidado sembrar por estría. Tapar la placa e invertirla. Incubar a una temperatura de 35°C± 1°C por 24h± 2 horas. Observar el desarrollo bacteriano e interpretación de resultados. Los *Staphylococcus aureus* generan colonias de tonalidad amarillo además de una zona circundante de la misma tonalidad (NTE INEN 1529-14, 1998).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Verificación del cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene (PCH)

En base a la normativa técnica sanitaria sobre las PCH expedida por el ARCSA bajo resolución ARCSA-DE-057-2015-GGG se diseñó a una lista de verificación, la cual se aplicó a la quesera artesanal Cod.Q 1 obteniéndose el porcentaje de cumplimiento e incumplimiento de los 19 artículos que describe la norma. La Tabla 10-3 muestra los resultados de cumplimiento de las PCH.

Tabla 1-3: Cumplimiento de las PCH en la quesera artesanal Cod.Q 1

Artículos	% Cumplimiento	% No cumplimiento
Condiciones mínimas básicas y localización (Art.4)	0	100
Diseño y construcción (Art. 5)	16.67	83.33
Estructura interna y mobiliario (Art. 6)	21.43	78,57
Equipos, recipientes y utensilios (Art. 7)	50.00	50.00
Control de equipos (Art. 8)	0	100
Recipientes para Residuos y Sustancias No Comestibles (Art. 9)	0	100
Los servicios (Art. 10)	12.00	88.00
Requisitos relativos a las materias primas (Art.11)	0	100
Contaminación cruzada (Art. 12)	66.67	33.33
Higiene del personal (Art.13)	50.00	50.00
Capacitación (Art. 14)	66.67	33.33
Control de las operaciones (Art. 15)	0	100
Procedimientos y Métodos de Limpieza (Art. 16)	0	100
Almacenamiento (Art. 17)	60	40
Empaque (Art. 18)	0	100
Control de plagas (Art. 19)	0	100
Transporte (Art. 20)	33.33	66.67
Documentación y registros (Art. 21)	0	100
Del registro sanitario (Capítulo V) (Art. 24, 25)	50.00	50.00
Total	28.00	72.00

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

En la Tabla 1-3, se observa los resultados globales del cumplimiento de las PCH de la quesera Cod.Q 1. Se obtuvo el 28% de cumplimiento de los artículos que conforman la normativa técnica mientras que el incumpliendo es del 72%.

En los artículos relacionados a la capacitación, los conocimientos y responsabilidad del manipulador dentro de la quesera, el estado físico de los equipos, materiales y utensilios, la quesera Cod.Q 1 obtiene mayor porcentaje de cumplimiento. Esto probablemente se debe a que los trabajadores de la quesera Cod.Q 1 tienen experiencia laboral en otras queseras aledañas por lo que utilizan los materiales de la quesera como es debido.

En artículos afines a la idoneidad e higiene en las instalaciones (áreas de trabajo), estado de las equipos, materiales y utensilios, documentación, el porcentaje de incumplimiento es alto por lo que la quesera no garantiza la calidad e inocuidad de todos sus procesos, iniciando por la recolección de la materia prima, elaboración del queso, su almacenamiento y distribución. A esto podemos sumar la falta de interés de los propietarios por mejorar las instalaciones de la quesera debido al elevado costo económico requerido, pero también el escaso conocimiento sobre las normativas que regulan la industria alimentaria ya que en su mayoría son emprendimientos familiares.

Los resultados de cada artículo evaluado en la lista de verificación de las PCH se indican en la Tabla 1-3, los porcentajes de cumplimiento están entre 0 y un máximo del 66.67% en capacitación y contaminación cruzada mientras que de incumplimiento llegan al 100% en la mayoría de los artículos.

En artículos como condiciones mínimas básicas y localización; control de equipos; recipientes para residuos y sustancias no comestibles; requisitos relativos a las materias primas; control de las operaciones; procedimientos y métodos de limpieza; empaque; control de plagas; documentación y registro se obtuvo un resultado del 100% de incumplimiento. Este porcentaje alto puede deberse a que la quesera está rodeada de animales de corral, ubicada en la vía pública, carece de sistemas antiplagas que controlen el ingreso de algún tipo de animales o por la acción del viento la entrada de microorganismos patógeno, sumando a ello la falta de control en la higiene total de las instalaciones como de los equipos y utensilios. Para Coste (2005, pp.28-35) todos los factores descritos aumentan el riesgo de adquirir significativamente en los consumidores toxiinfecciones alimentarias, no ayuda a crear una imagen del producto de calidad y eleva la posibilidad de que se desarrolle una contaminación cruzada; la calidad y seguridad final depende de estos factores (Gimferrer, 2011).

El artículo de servicios engloba principalmente el tipo y abastecimiento de agua el no cumplimiento es del 88%, en la quesera el agua es no potable siendo procedente de un ojo de

agua, se emplea en los servicios higiénicos, en los procesos de limpieza y desinfección de utensilios, equipos además en la higiene de los manipuladores.

El agua no potable contiene una alta cantidad de contaminantes y microorganismos patógenos que pueden llegar al producto final, incorporándose a éste en cualquier etapa del proceso alterando la calidad del queso y desfavoreciendo la salud del comprador (García, 2012, pp.245-250).

Valenzuela (2012, pp.9-11) evaluó la calidad microbiológica de 42 pozos del sector rural de Pelchuquín, provincia de Valdivia, Chile, encontrando la presencia de coliformes, evidenciando una posible contaminación fecal por lo que es imprescindible la potabilización de la misma.

Para la obtención de alimentos saludables, el diseño, construcción, tamaño de las áreas va a influenciar directamente en la seguridad del alimento, una distribución y separación correcta entre las áreas evita posibles contaminaciones, pero además organiza mejor el trabajo (SICALAB, 2015, p.4). En la quesera los artículos relacionados al diseño y construcción; estructura interna y mobiliario tienen porcentajes de incumplimiento del 78,57 al 83.33%. lo cual indica que las condiciones requeridas por las PCH no son las adecuadas.

Los manipuladores en el sector alimentario son agentes activos en toda la cadena alimentaria, jugando un rol determinante en la salubridad y seguridad de los productos finales. El manipulador puede transmitir microorganismos patógenos al producto, pero si lleva una correcta higiene, su comportamiento y manipulación son adecuados la posible contaminación puede ser evitada. En la evaluación de este artículo a la quesera se obtuvo un porcentaje del incumplimiento del 50% pues los trabajadores conocen brevemente sobre la higiene y comportamiento, pero falta formación específica en el tema (OMS, 2016). por lo que en el artículo referente a capacitaciones hay un 33.33% de incumplimiento.

Los equipos, recipientes y utensilios empleados en la quesera mostraron escasa limpieza y desinfección además recipientes como baldes, gavetas presentaron desgaste (rayones) en su interior factores que aumentan el riesgo de proliferación de microorganismos además de una contaminación cruzada (Gimferrer, 2011).

Con respecto al almacenamiento del producto final este se realiza en el cuarto frío pero la higiene del lugar no es la adecuada. El transporte de materia prima y producto terminado no se realiza en cadena de frío además el balde del vehículo que transporta no tiene cubierta por lo que el producto es transportado al intemperie en sus respectivos baldes para la leche y gavetas para el queso, todas

estos factores pueden influenciar a una contaminación de diversa naturaleza y al crecimiento de microorganismos (EROSKI CONSUMER, 2008).

No existe ningún tipo de registro de procesos, control de equipos o temperaturas en la quesera evidenciando el incumplimiento de las normativas y la incapacidad de poder generar trazabilidad del producto (Hernández et al., 2009: pp.15-18).

3.2 Análisis físico químico de la leche cruda y suero

Tabla 2-3: Resultados del análisis físico químico de la leche cruda y suero*

Muestras	Acidez (% de ácido láctico)	Índices permisibles		Densidad relativa a 20 °C (g/mL)	Índices permisibles		Antibióticos
		mín	máx		mín	máx	
Leche Cruda	0,21 ± 0,04	0,13	0,17	1,0299 ± 0,04	1,029	1,032	Negativo
Suero	0,11 ± 0,02	0,07	0,12	1,0267 ± 0,03	1,023	1,026	No Aplica

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

*: Valores promedio de tres repeticiones

La Tabla 2-3 presenta los resultados del análisis físico-químico de la leche cruda receptada en la quesera los días de muestreo y el suero obtenido tras de proceso de pasteurización. Los índices máximos permisibles para leche cruda son tomados de la NTE INEN 0009:2015 mientras que para suero de leche liquido pasteurizado dulce de norma mexicana NMX-F-721-COFOCALEC-2012.

La valor acidez titulable fue de 0,21% que al comparar con los valores establecidos en la normativa sobrepasa los límites, esto puede reflejar el deficiente sistema de ordeño manual, el inadecuado transporte de la leche en vehículos sin sistemas de refrigeración, la escasa higiene del tanque de almacenamiento a esto sumado que los microorganismos elevan su población cada 30 min y en la quesera Cod.Q 1 la leche en el tanque de almacenamiento para ser procesada espera aproximadamente 2 horas a que lleguen todos los productores; los mismos factores descritos son concluidos por Brousett et al., (2015: p.170) al analizar la calidad fisicoquímica y toxicológica de leche cruda en el Puno, Perú, reportando valores entre 0,172 y el 0,199 %.

Otro componente de análisis es la densidad relativa a 20°C, los valores obtenidos en el estudio no rebasan los límites establecidos por la normativa ecuatoriana, esto probablemente se debe a las exigencias que presenta el mercado (quesera Cod.Q 1) a los productores sobre la no adulteración de la leche por adición de agua, esta evidencia sugiere que existe cierto conocimiento empírico

por parte de los compradores en el sentido de que al agregar agua baja el rendimiento del queso evidenciando una pérdida en las ganancias. Bernal et al., (2007: pp.401-404) encontró resultados similares en densidad relativa a los obtenidos en este estudio en zonas ubicadas al norte y centro del Estado de México, México, con actividad productora y expendedora de leche a pequeñas y grandes empresas lácteas, de igual manera explica que por exigencias del mercado se necesita alcanzar leches de calidad.

El resultado de acidez titulable en el suero dulce analizado al comparar con la normativa ecuatoriana, se encuentra dentro de los parámetros de referencia por lo que se puede considerar un suero de calidad microbiológica aceptable. Un valor similar de acidez (12% de ácido láctico) reportó Monsalve y González (2005: p.545) al evaluar las características fisicoquímicas del suero utilizado en la elaboración del queso Ricotta en el estado de Carabobo, Venezuela.

Se puede observar que el valor de densidad en el suero también se encuentra dentro de los límites permisibles en la normativa por lo que se podría afirmar que no hay adición de agua en la leche, resultados similares encuentra Brito et al., (2015: pp. 262-263) al analizar la densidad relativa en un suero de leche empleado como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental.

El resultado de la prueba de antibióticos a la que fue sometida la leche cruda resulto negativo para las tres tomas, esto demuestra que el bovino carece de enfermedades infecciosas, encontrándose en buenas condiciones de salud.

3.3 Evaluación microbiológica de materia prima, subproducto y producto terminado

Con el propósito de conocer la calidad e inocuidad del queso fresco y detectar microorganismos que podrían causar algún tipo de enfermedades en el consumidor se realizaron análisis microbiológicos pertinentes para identificar su presencia; los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 3-3, 4-3 y 5-3.

Tabla 3-3: Resultados del análisis microbiológico para leche cruda y pasteurizada*

Muestra	Aerobios mesófilos		<i>Staphylococcus aureus</i>		Enterobacterias	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Leche cruda**	7,08± 0,05	6,18	4,72± 0,12	N.E	5± 0	N.E
Leche pasteurizada**	2,18± 0,08	4,70	0	N.E	0	N.E

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

*: Valores promedio de tres repeticiones; **: Log UFC/mL

En la tabla 3-3 se muestra los resultados del análisis microbiológico a los que se sometieron la leche cruda receptada en el quesero y la leche pasteurizada obtenida tras del proceso térmico (pasteurización).

Los valores de referencia para aerobios mesófilos fueron tomados de la norma INEN 9:2012 para leche cruda, de la norma INEN 10:2012 para leche pasteurizada, mientras que para *Staphylococcus aureus* y Enterobacterias no se ha encontrado valores establecidos de carácter oficial.

La concentración de Aerobios mesófilos es un indicativo de la higiene del producto en este caso de la leche cruda, al comparar el valor obtenido con los establecidos en la norma no hay cumplimiento, debido a la elevada presencia de este tipo de microorganismos que bien, pueden ser parte de la flora autóctona de la leche o ser microorganismos adheridos en el ambiente exterior del tipo patógenos o no.

Es probable que estos altos recuentos se deban a una contaminación del tipo interna (engloba una contaminación por vía ascendente, vía descendente) y externa (Brousett et al., 2015: pp.165-176). Diversos microorganismos como Coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* entre otros se asocia a la piel de la ubre e ingresan después del ordeño através del esfínter del pezón mientras que por vía endógena o descendente es utilizada por microorganismos que tienen la capacidad de generar patologías sistémicas o tienen la capacidad de moverse por la sangre para infectar a las ubres por medio de los capilares mamarios, como es el caso de la Bruselosis causada en los bovinos por la especie *Brucella abortus*, Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) etc.

Múltiples factores interactúan en la contaminación por el medio externo, como las deficientes prácticas del ordeño, ausencia en la limpieza del animal (ubres), falta de higiene del manipulador y utensilios empleados sumando a ello la exposición a largos periodos de tiempo de la leche hasta que sea transportada a la quesera sin refrigeración por lo que normalmente la leche llega a temperatura ambiente. Similares datos (7,39 Log UFC/ml) fueron encontrados por Brousett et al., (2015, pp.165-176) al evaluar la calidad microbiológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno –Perú, Voken et al., (2003, p.262) al valorar los cambios en las características microbiológicas del queso serrano a través de las épocas estacionarias del año durante la fabricación, obtuvo recuentos de 5,70 Log UFC/ml en leche cruda afirmando que una época fría hay un descenso en el crecimiento microbiano.

Recuentos de *Staphylococcus aureus* similares fueron encontrados por Loncarevic et al., (2014, pp.344-350) y Tarekgne et al., (2015, pp.573-574) al analizar el crecimiento y producción de enterotoxinas de *Staphylococcus* en la leche cruda. Se ha propuesto que la alta incidencia de S.

aureus podría ser debido a la contaminación del medio ambiente con desechos de animales infectados, a que la leche es procedente de una vaca que padece mastitis (Delbes et al., 2006: p. 2162), a la falta de prácticas higiénicas en los ordeñadores y en los materiales empleados durante el ordeño. La presencia de *S. aureus* en los alimentos está relacionado con la presencia de la enterotoxina, una vez que la enterotoxina se produce, se mantendrá estructuralmente estable y biológicamente activo, ya que es termoestable, resistente a pH bajo, la congelación, y la acción de diferentes enzimas. La pasteurización normal no desnaturaliza la toxina (Tarekgne et al., 2015, p.575).

Las Enterobacterias estuvieron presentes en la leche cruda a niveles de 5 log UFC/ml, similar a los datos reportados para leches utilizadas en la elaboración de quesos artesanales en Sao Jorge, Portugal y en la región de Trentino, Italia (Kongo et al., 2008; Franciosi et al., 2011) y significativamente mayores que los reportados para quesos artesanales (Maifreni et al., 2013: pp.124-126). La presencia de Enterobacterias en la leche cruda es inevitable, debido a la posible contaminación por la falta de procedimientos adecuados de limpieza y desinfección durante el proceso de ordeño, a largos periodos de tiempo empleados durante la recolección y el suministro de leche y a un carente proceso de refrigeración, que al actuar en conjunto podrían aumentar significativamente la carga de estas bacterias en la leche.

La concentración de aerobios mesófilos en leche pasteurizada se encuentra dentro de las especificaciones de la normativa nacional, la microbiota presente en esta leche consiste principalmente de bacterias termoduricas y esporas, su concentración depende de la población microbiana de la leche cruda y de la eficacia del proceso de pasteurización, estos resultados coinciden con el 1,5 Log UFC/ml obtenidos por Varga (2007, pp.487-492) al analizar microbiológicamente la calidad de diversos productos entre ellos la leche pasteurizada expedida en tiendas situadas en la zona occidental de Hungría.

También se analizó microorganismos como *Staphylococcus aureus* y Enterobacterias sin haber tenido crecimiento, evidenciándose un proceso de pasteurización eficaz.

Tabla 4-3: Resultados del análisis microbiológico para suero, queso, salmuera*

Muestra	Aerobios mesófilos		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Suero**	4,78± 0,18	5	0	2
Queso***	6,57 ± 0,06	N.E	4,10± 0,09	2
Salmuera**	5,62± 0,12	N.E	0	N.E

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

N.E: No encontrado; *: Valores promedio de tres repeticiones; **: Log UFC/MI; ***: Log UFC/g.

Los recuentos de los grupos microbianos investigados durante la fabricación del queso fresco se muestran en la Tabla 4-3. Los valores de referencia para el suero lácteo fueron tomados de la NTE INEN 2594:2011, mientras que para queso fresco de la NTE INEN 1528:2012.

El valor de aerobios mesófilos el suero lácteo se encuentra dentro de los límites permisibles establecidos por la normativa nacional, siendo similares a los encontrados por Monsalve et al., (2005, pp.545-548) y Vega (2012, p.115) al realizar los respectivos análisis de calidad para elaborar productos a base de suero lácteo, los datos revelan que se ha obtenido un subproducto de calidad microbiológica aceptable. El valor *Staphylococcus aureus*, se ha comparado con la normativa encontrándose dentro de los límites permitidos datos que reflejan que el tratamiento térmico otorgado a la leche cruda fue satisfactorio.

Los recuentos de Aerobios mesófilos en el queso fresco son altos podrían reflejar la falta de higiene y desinfección durante el proceso de elaboración del producto, englobando desde la calidad microbiológica de la materia prima, el proceso de pasteurización, la manipulación del producto, los equipos y utensilios empleados y el almacenamiento. Según Kongo et al., (2008, p.989) el recuento alto de este tipo de microorganismos en queseras artesanales probablemente se debe a las corrientes de aire que ingresan a la quesera por falta de barreras de protección y que podrían contener microorganismos que por sedimentación posan en las superficies de los materiales de trabajo sumando a ello la falta de ventilación adecuada en el área de trabajo.

El valor microbiano elevado está asociado con procesos de fermentación anormales o un deterioro prematuro del producto afectando directamente la calidad e inocuidad del queso. Se debe tener presente que entre la carga microbiana detectada puede encontrarse diversas especies patógenas y toxinas.

Al comparar los recuentos de *Staphylococcus aureus* en queso fresco con los valores de la norma, sobrepasan lo estipulado. El valor de 4,10 Log UFC/ml tiene relación con el de Tarekgne et al., (2015, pp.573-574) y Delbes et al., (2012, pp.2165-2166) quienes analizaron varios productos lácteos incluyendo quesos frescos en la región de Tigray, Etiopía y en el Macizo Central, Francia concluyendo que la leche cruda es la principal fuente de contaminación del producto lácteo final ya que existe la probabilidad de un deficiente proceso de pasteurización.

Sin embargo, los seres humanos y los animales superiores son los principales vehículos de contaminación de los productos alimenticios por *S. aureus*, debido a su presencia en los conductos nasales y la garganta, así como en el cabello y la piel de los individuos (incluso saludables). Por lo tanto, los manipuladores de alimentos durante la fabricación de queso pueden ser una fuente importante de contaminación. Otros factores de contaminación es la escasa higiene y desinfección de equipos y materiales empleados además del insalubre almacenamiento del queso (Kongo et al., 2008: p.990).

Los riesgos asociados con la presencia de *S. aureus* en los alimentos están esencialmente relacionados con la ingestión de enterotoxina previamente liberada por este organismo, la misma que puede desembocar en una intoxicación de tipo alimentaria; El consumo de 100 ng de enterotoxinas estafilocócicas producido por cepas enterotoxigénicas causa una intoxicación alimentaria por estafilococos (SFP) (Hennekinne et al., 2011). Ésta cantidad de toxina se produce cuando la población enterotoxigénica de *S. aureus* es mayor de 5 log CFU/ml (Food and Drug Administration, 2012; IESR, 2001). En el presente estudio las concentraciones del queso no contenían el 5 log 10 CFU/ml de *S. aureus*, pero implica que había una alta probabilidad de producción de enterotoxinas .

Tabla 5-3: Resultados del análisis microbiológico para suero, queso, salmuera*

Muestra	Enterobacterias		Coliformes totales		<i>E. coli</i>	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Suero**	0	N.E	0	2	0	Ausencia
Queso***	3,89± 0,10	3,00	4,16 ± 0,10	2,70	3,93 ± 0,14	1,00
Salmuera**	-	-	4,49 ± 0,05	N.E	3,08 ± 0,08	N.E

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

N.E: No encontrado; *: Valores promedio de tres repeticiones; **: Log UFC/mL; ***: Log UFC/g.

Los recuentos de las poblaciones microbianas presentes en el suero, queso y salmuera de las muestras recolectadas en la quesera Cod.Q 1 se presentan en la Tabla 5-3. Los resultados de Enterobacterias, Coliformes totales y *E. coli* para el suero lácteo al compararse con los valores

estipulados por la normativa nos indican un estado higiénico aceptable del subproducto, al no desarrollar crecimientos de microorganismos contaminantes. Valores iguales a los obtenidos en el estudio encuentra Brito et al., (2015, pp.573-574) durante el proceso de elaboración de una bebida a base de suero lácteo.

El valor de Coliformes totales en el queso sobrepasa del límite establecido en la NTON 03 065-05 para quesos. En los quesos frescos artesanales se han reportado altos recuentos de Coliformes totales como los descritos por Trmcic (2016), Martins (2017) y Vásquez (2012); La pasteurización de la leche en la elaboración del queso es el proceso más importante para determinar la calidad microbiológica del producto, a pesar de que las bacterias coliformes se consideran termolábiles no sobreviven a la pasteurización, pero se encontró un valor de 4,16 log UFC/g en la investigación. Este hallazgo sugiere que los Coliformes totales presentes en queso elaborado a partir de leche pasteurizada tiene menos probabilidades de originarse a partir de la leche cruda, siendo la fuente más probable la contaminación post-pasteurización. Factores como la deficiente calidad microbiológica del agua empleada en la quesera, las escasas condiciones higiénicas durante el proceso de moldeo, prensado, salmuera, envasado y almacenamiento y una inadecuada desinfección de equipos y utensilios empleados pueden ocasionar tal contaminación.

Se determinó la presencia de *E. Coli* en las muestras de queso con concentraciones de 3,93 UFC/g que sobrepasan los valores estipulados en la norma oficial; *E. coli* se considera un representante del medio intestinal de los seres humanos y animales de sangre caliente, por lo que es un buen indicador de contaminación fecal del producto. Estos resultados sugieren una pésima calidad higiénica del personal manipulador durante la elaboración del queso y la utilización de agua previamente contaminada con esta bacteria. *E. coli* son organismos comensales generalmente inofensivos pero algunas cepas son reconocidas por la producción de toxina Shiga o verotoxigénicas responsables de provocar problemas gastrointestinales graves al consumidor.

Diversos estudios que reportan una alta prevalencia de *E. coli* en quesos artesanales (Vásquez, 2012; Trmcic, 2016; Espié, 2006) no recomiendan el consumo por la probabilidad de la toxina shiga en el producto exponiendo la salud del consumidor.

La presencia de Enterobacterias también se detectó en las muestras de queso, obteniendo recuentos superiores a los especificados por la normativa. Los quesos se realizaron partir de leche pasteurizada por lo que es probable que algunas Enterobacterias presentes sean termoduricas y otras estén presentes a causa del agua empleada en la quesera, por la falta de higiene en los utensilios y materiales empleados después del proceso de pasterización, del personal manipulador

y el insalubre almacenamiento del producto, la presencia de ésta bacteria refleja la calidad higiénica del producto.

3.4 Recuento microbiológico de superficies regulares e irregulares de equipos y utensilios

Tabla 6-3: Flora microbiana de superficies regulares

Microorganismos / Superficies	Aerobios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
	UFC/cm ²			
Marmita Base	1,20 x 10 ²	10	16,4	0
	90	12	15	0
	1,05 x 10 ²	11,6	18	0
Marmita Pared	1,80 x 10 ²	17	28,6	0
	1,52 x 10 ²	14	52	1,4
	1,68 x 10 ²	15,4	42	0,6
Mesa Centro	5,80 x 10 ²	38	26,6	0
	7,08 x 10 ²	48	45	0
	6,44 x 10 ²	30	58	0
Mesa Esquina	2,00 x 10 ⁴	2,00 x 10 ²	4,10 x 10 ²	1,2
	2,00 x 10 ⁴	2,60 x 10 ²	2,76 x 10 ²	1,6
	2,00 x 10 ⁴	3,06 x 10 ²	3,66 x 10 ²	1,2
Moldes	1,39 x 10 ³	64	1,26 x 10 ²	0
	1,12 x 10 ³	90	94	0
	1,03 x 10 ³	1,16 x 10 ²	80	0,4
Prensa Base	2,00 x 10 ⁴	2,60 x 10 ³	1,28 x 10 ³	0
	2,00 x 10 ⁴	1,71 x 10 ³	1,70 x 10 ³	0
	2,00 x 10 ⁴	1,90 x 10 ³	1,84 x 10 ³	0
Prensa Plancha	2,00 x 10 ⁴	8,00 x 10 ²	8,00 x 10 ²	0
	2,00 x 10 ⁴	1,12 x 10 ³	1,12 x 10 ³	0
	2,00 x 10 ⁴	9,60 x 10 ²	1,03 x 10 ³	0
Mallas	2,00 x 10 ⁴	1,60 x 10 ³	48	0,6
	2,00 x 10 ⁴	1,00 x 10 ³	36	0,4
	2,00 x 10 ⁴	1,30 x 10 ³	40	1
Balde	5,86 x 10 ²	1,22 x 10 ³	38	0
	4,20 x 10 ²	1,10 x 10 ³	34	0
	5,00 x 10 ²	8,00 x 10 ²	44	0
Gavetas	1,29 x 10 ²	1,64 x 10 ²	1,82 x 10 ³	0,8
	1,17 x 10 ²	2,20 x 10 ²	1,56 x 10 ³	1,6
	1,45 x 10 ²	1,20 x 10 ²	1,31 x 10 ³	0,6
Fundas	46	18	0	0

	68	24	0	0
	56	10	0	0

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

Tabla 7-3: Resultados del análisis microbiológico de superficies irregulares.

Microorganismos / Superficies	Aerobios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
	UFC/superficie			
Lira	2,00 x 10 ⁴	3,00 x 10 ³	2,35 x 10 ³	0,6
	2,00 x 10 ⁴	2,25 x 10 ³	2,05 x 10 ³	0
	2,00 x 10 ⁴	2,64 x 10 ³	2,50 x 10 ³	0
Agitador	5,00 x 10 ⁵	1,9 x 10 ³	3,10 x 10 ²	0,8
	5,00 x 10 ⁵	1,6 x 10 ³	2,25 x 10 ²	0
	5,00 x 10 ⁵	2,25 x 10 ³	1,50 x 10 ²	0
Termómetro	5,00 x 10 ⁵	1,25 x 10 ⁴	4,60 x 10 ²	0
	5,00 x 10 ⁵	1,17 x 10 ⁴	8,00 x 10 ²	0,2
	5,00 x 10 ⁵	1,25 x 10 ⁴	6,30 x 10 ²	0

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

En el marco de este estudio se tomaron muestras de las superficies de equipos y utensilios empleados en la cadena de producción 14 horas después del proceso de elaboración del queso fresco para analizar el potencial de las superficies como fuente de microorganismos Aerobios mesófilos, *S. aureus*, Coliformes y *E. coli*, los resultados se muestran en las Tabla 6-3 y 7-3.

Los valores de referencia fueron tomados de la norma NOM-093-SSA1:1994 para prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos, en la cual el límite permisible en superficies regulares e irregulares de: Aerobios mesófilos < 400 UFC/cm²; Coliformes totales < 200 UFC/cm². De la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas se tomó el indicativo de Ausencia/cm² para *E. coli* (MINSA, 2007). Mientras que para *Staphylococcus aureus* no se ha encontrado valores establecidos de carácter oficial.

Aerobios mesófilos en las superficies de equipos y utensilios de trabajo

El recuento de aerobios mesófilos en agar PCA fue un determinante para evaluar la carga bacteriana en las superficies siendo un indicador de contaminación.

Los niveles de recuento variaron de 46 a 5×10^5 UFC/superficie, teniendo las superficies irregulares la mayor carga microbiana, sobrepasando los límites establecidos por la norma, probablemente se deba a la forma misma del utensilio que dificulta la limpieza, pero también al contacto directo con el manipulador. La presencia de aerobios mesófilos en todas las superficies puede verse influenciada al ingreso de microorganismos por acción del corrientes de aire, a la entrada de personas particulares sin una vestimenta adecuada, al no empleo de guantes, mascarilla, gorro del personal manipulador, al uso de agua entubada y el deficiente proceso de limpieza y desinfección de los materiales empleados, además posiblemente la presencia de este tipo de microorganismos en las concentraciones descritas se debe al empleo de un inadecuado sanitizante.

Con el recuento se puede apreciar la flora total, pero sin determinar el tipo de microorganismo, su patogenicidad o sus toxinas; un recuento bajo no afirma que el alimento o la muestra esté libre de patógenos o toxinas, mientras que un recuento alto no significa la presencia de microorganismos patógenos.

***Staphylococcus aureus* en las superficies de equipos y utensilios de trabajo**

S. aureus es ubicuo en el medio ambiente por lo se puede encontrar en el aire, el agua, los seres humanos y animales, el que esté presente en las superficies es inevitable ya que todas están en contacto directo con los manipuladores quienes son portadores principales asintomáticos.

La patogenicidad de transmisión alimentaria del *S. aureus* se asocia con la capacidad de algunas cepas para producir enterotoxinas y a la adhesión y formación de biopelículas ya que promueven la colonización de ambientes alimentarios. De hecho, las biopelículas formadas en las superficies de procesamiento de alimentos mejoran la tolerancia a los desinfectantes, lo que aumenta el riesgo de contaminación cruzada de los alimentos (KÜmmel et al., 2016: pp.1615-1616).

Gutiérrez et al., (2012, pp.8549–8552) al analizar la incidencia de *S. aureus* en superficies de la industria alimentara (lácteos, carne y mariscos) describe que un determinado porcentaje de cepas aisladas de *S. aureus* tenían la capacidad de producir enterotoxinas, de resistir a los antimicrobianos en especial a los antibióticos betalactámicos, además están en la capacidad potencial para formar biofilms, que pueden permitir que se adhieran a las diferentes superficies en contacto con alimentos lo que ayudaría a mejorar la colonización y persistencia de esta bacteria, probablemente debido a una aplicación insatisfactoria de los desinfectantes contra las células del biofilm-asociado.

En las todas zonas de trabajo muestreadas, el recuento de *S. aureus* mostró crecimiento (Tabla 15-3, Tabla 16-3) en superficies de balde, mallas, prensa base, lira, agitador y termómetro la concentración es mayor, estos datos reflejan el deficiente proceso de limpieza y desinfección de las instalaciones y manipuladores, que la contaminación de los alimentos se da en las diferentes etapas del proceso de elaboración del queso y probablemente entre la concentración de *S. aureus* obtenida diversas cepas tenga las características de las aisladas por Gutiérrez et al., (2012, pp.8549–8552) poniendo en riesgo la inocuidad del producto y la ineficacia de las desinfectantes empleados.

Coliformes totales y *E. coli* en las superficies de equipos y utensilios de trabajo

Como se muestra en la Tabla 6-3 y 7-3, las bacterias Coliformes totales están presente en todas las superficies muestreadas con recuentos entre 15 y $2,50 \times 10^3$ UFC/superficie que al comparar con la norma NOM-093-SSA1:1994 los muestras de: mesa esquina, prensa base, lira, agitador, termómetro sobrepasan lo estipulado mientras que el recuento representativo de *E. coli* se da en superficies de la mesa esquina, mallas, gaveta evidenciando el no crecimiento en las demás superficies.

El recuento de Coliformes totales en superficies evidencia que en todos los procesos de producción que se realiza en la quesera, el material empleado puede contaminar al suero, cuajada, queso a granel, esta contaminación puede deberse al empleo del agua no potable para todos las etapas requeridas, a un ambiente contaminado, al contacto directo entre manipuladores y personas propietarias de la leche efectuándose una posible contaminación cruzada por la falta de higiene; la funda no presenta crecimiento probablemente porque no estaba en contacto con las demás superficies o con el manipulador pues para su uso, se las obtiene de una estantería no localizada en el área de producción.

La presencia de *E. coli* de las superficies de los implementos utilizados representa una contaminación directa o indirecta de tipo fecal, esta se pudo realizar por medio de la deficiente higiene del manipular, o posiblemente su presencia se deba a la capacidad de la cepa para formar biopelículas como describe el estudio de Van Houdt et al., (2012, p.627) al evaluar el papel de la superficie celular bacterianas en la formación de biofilm de *Escherichia coli*, el cual describe que un condiciones ambientales adecuadas y con interacciones heterogéneas entre microorganismos (bacterias, hongos y protozoos) la formación de biopelículas es un hecho.

En el presente estudio se encontró bacterias de la familia Enterobacteriaceae similares a los reportados por Vanegas et al., (2009, pp.1679-1682), la presencia de microorganismos en

superficies constituye reservorios que al entrar en contacto con los alimentos aumentan la flora inicial, acelerando el deterioro del producto final, evidenciándose pérdidas en las ganancias (Navia et al., 2010: p.123).

3.5 Análisis microbiológicos de las manos del personal manipulador

Tabla 8-3: Resultados del análisis microbiológico de las manos del personal manipulador

Microorganismos / Manipuladores	Aerobios mesófilos		<i>Staphylococcus aureus</i>		Mohos y Levaduras	
	Log UFC/manos	Índice permisible	Log UFC/manos	Índice permisible	Log UFC/manos	Índice permisible
Manipulador 1	5,7 ± 0,00	< 3,48	2,18 ± 0,09	< 2	4,03 ± 0,07	Ausencia
Manipulador 2	4,30 ± 0,08		1,98 ± 0,07		3,44 ± 0,11	
Manipulador 3	4,06 ± 0,04		2,07 ± 0,09		4,03 ± 0,09	

Realizado por: Cristina Pilamunga, 2017

Como se observa en la Tabla 8-3, el análisis microbiológico indica la presencia de Aerobios mesófilos, *S. aureus*, y Mohos y levaduras en los tres manipuladores que laboran en la quesera. Los valores de referencia para Aerobios mesófilos fueron tomados de la norma NOM-093-SSA1:1994, de la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas para *Staphylococcus aureus* y Mohos y Levaduras (MINSa, 2007).

Al comparar el recuento de aerobios mesófilos con el establecido en la norma no hay cumplimiento, esto puede estar ligado al contacto permanente del manipulador con agua contaminada, con superficies de trabajo higiénicamente deficientes, defectuoso proceso de lavado y desinfectado. Dentro de recuento existe la probabilidad de la presencia de microorganismos patógenos que pueden ser transferidos al alimento durante todas las etapas de en las que se manipule el producto (Calderón, 2005, p.103).

La cuantificación de *Staphylococcus aureus*, se ha comparado con la guía encontrándose fuera de los límites permitidos. La presencia de *S. aureus* en los manipuladores es inevitable, debido a una inadecuada higiene, como lavado de sus manos o incorrecto uso de la vestimenta de trabajo (mascarilla), a una posible contaminación ambiental por la falta de procedimientos adecuados de limpieza y desinfección. Los datos obtenidos concuerdan son los reportados en un análisis en Chile por Figueroa et al., (2002, pp.859-864) donde el recuento de *S. aures* en las superficies de las manipuladores fue del 34%, diversos autores concluyen que la presencia de este microorganismo es frecuente pero no todas las cepas presentes son enterotoxigénicas, por lo que el despido de trabajadores no es justificable (Rola et al., 2016: pp.69-72).

Se puede observar un recuento elevado de mohos y levaduras, incumpliendo los parámetros específicos de la guía, su presencia probablemente se deba al contacto físico del manipulador con materias primas o superficies contaminadas, escasa higiene del manipulador. El riesgo asociado con la presencia de estos microorganismos en las manos de los manipuladores está relacionado con una contaminación al producto final (aumenta su deterioro) y con ello la producción de micotoxinas, mismas que pueden generar efectos tóxicos en los seres humanos (Soriano, 2007, pp.15-16).

3.6 Análisis microbiológico del ambiente

Tabla 9-3: Flora microbiana en el ambiente

Área	Aerobios mesófilos			
	Log UFC/m ³			
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Log X y DE
Recepción Inicio	6,63	6,63	6,63	6,63 ± 0
Recepción final	6,63	6,63	6,63	6,63 ± 0
Producción inicio	6,63	6,63	6,63	6,63 ± 0
Producción final	4,45	4,32	4,49	4,42 ± 0,09
Cuarto Frío	2,86	2,78	2,75	2,80 ± 0,06
S.S.H.H	6,63	6,63	6,63	6,63 ± 0

Realizado por: Cristina Pilamunga. 2017

En la Tabla 9-3 se presenta la flora microbiana presente en las áreas muestreadas de la quesera Cod.Q 1 determinadas durante los días de muestreo. En la zona de recepción, en la parte inicial del área de producción y en el baño, los valores del recuento de aerobios mesófilos es de 6,63 Log mientras que para el cuarto frío y la parte final del área de producción el recuento oscila entre 2,80 y 4,42 Log. No existe ninguna normativa nacional o internacional que nos permita determinar la calidad microbiana en el ambiente. Diversos autores como Roussel et al., (2012, pp.3-5) establecen niveles de concentración microbiana en los cuales recuentos de 2,23 – 2,75 Log UFC/m³ nos muestra una contaminación moderada, 2,75 - 3Log UFC/m³ contaminación alta, valores mayores a 3 Log UFC/m³ contaminación muy alta. Omeliansky plantea una escala de concentraciones microbianas en el ambiente, 2,70 – 2,88 Log UFC/m³ es un indicativo de poca contaminación, ligera contaminación 2,89 – 3 Log UFC/m³, ambiente contaminado de 3 – 3,18 Log UFC/m³, concentraciones microbianas mayores a 3,18 Log UFC/m³ es de un ambiente altamente contaminado (Borrego y Molina, 2010: pp.7-8).

De acuerdo con la escala propuesta por Omeliansky y Roussel, la calidad microbiológica del ambiente en la zona de recepción, área de producción, cuarto frío y baño, puede tener una

contaminación microbiológica muy alta, sin embargo, no se conoce el tipo de bacteria, patogenicidad o toxinas.

La alta carga microbiana en la quesera puede deberse a la deficiente estructura mobiliaria de la quesera, las ventanas conjuntamente con las puertas permanecen abiertas, se carece de cortinas de plástico o de algún impedimento físico que evite la entrada de animales o polvo del ambiente externo, además los visitantes a la quesera no ingresan con ningún tipo de vestimenta protectora o alguna actividad que garantice su higiene personal. En la parte externa, la quesera se encuentra rodeada de animales domésticos provenientes de las viviendas adjuntas y ésta ubicada en la vía principal en la cual el movimiento vehicular y de animales de pastoreo es relativamente alta. El polvo puede contener esporas bacterianas y células que conjuntamente con las ya presentes en el aire aumentan la carga microbiana que ingresa a la quesera por acción de viento.

Según la escala planteada por Omeliansky el cuarto frío tiene una ligera carga microbiana, es probable que factores como el deficiente control de la temperatura, la entrada al cuarto de corrientes de aire calientes por consecuencia de la lenta y poco organizada forma de almacenamiento, la falta de control en la limpieza de los contenedores y el personal que ingresan al área conjuntamente con la falta de higiene y sanitación del cuarto frío, hayan influenciado en la presencia de microorganismos.

CONCLUSIONES

La evaluación de las PCH en la quesera artesanal Cod.Q 1 revela el 28% cumplimiento; las causas son varias destacándose la falta de control gubernamental, desconocimiento del reglamento, la administración ineficiente y escasa capacitación.

Los resultados microbiológicos evidencian que, aunque el proceso térmico de pasteurización es efectivo para destruir la carga microbiana de la leche cruda, factores como el agua no potable, el ambiente, las superficies, las escasas prácticas de fabricación, así como los deficientes procedimientos de higiene y saneamiento en la planta, inciden directamente en la contaminación del producto final.

El suero lácteo cumple con los requerimientos físico-químico y microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2594 para suero de leche líquido, siendo apto para la utilización en formulaciones de bebidas, u otros procesos tecnológicos.

Los análisis microbiológicos determinaron que las superficies vivas e inertes aumentan el riesgo de una contaminación en las diferentes etapas de elaboración del queso por el deficiente proceso de limpieza y desinfección en la quesera, además el desgaste físico que presentaban.

El queso fresco presenta un recuento de Aerobios mesófilos de 6,57 Log UFC/g, así como un alto grado de contaminación por Enterobacterias de 4,89 Log UFC/g y *S. aureus* de 4,10 Log UFC/g, datos que exceden los parámetros de la norma NTE INEN 1528:2012 para quesos frescos no maduros, por lo tanto, dicho producto puede constituir un riesgo potencial para la salud del consumidor.

RECOMENDACIONES

Se recomienda a las autoridades de vigilancia sanitaria pertinentes, que lleven a cabo programas de capacitación en las queseras artesanales para que se establezca procedimientos de limpieza y desinfección durante todas las fases de elaboración del queso.

Se recomienda realizar el estudio de las bacterias aerobias mesófilas encontradas en la leche pasteurizada y suero para identificarlas como patógenas o como flora microbiana propia del producto.

Se recomienda completar el estudio con el análisis microbiológico de *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*, según los requisitos de la normativa NTE INEN 1528: Norma general para quesos frescos no madurados.

Se recomienda a las autoridades competentes dar mayor seguimiento a los lugares de comercialización de los quesos frescos incluyendo su transporte y almacenamiento para evitar riesgos en la salud del consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

ABURTO, Martín, & GIRÓN, Jenitzio. *Evaluación higiénico-sanitarias de queseras artesanales en el municipio de Camoapa.* [en línea] (Tesis pregrado) Universidad Nacional Agraria sede Camoapa, Facultad de Salud Pública, Veterinaria. Camoapa-Nicaragua. 2007. pp. 12-15. [Consulta: 14 Enero 2017]. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/TESIS/TNQ02J61.PDF>

AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA. *Resolución ARCSA-DE-057-2015-GGG* [en línea]. [Consulta: 26 Enero 2017]. Disponible en: http://www.controlsanitario.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/12/Resolucion_ARCSA-DE-067-2015-GGG.pdf.

ALAIS, C. *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera.* Barcelona-España: Reverté S.A., 2003, pp. 446-464.

ANDINO, C. *Total de bacterias coliformes* [en línea]. Prevalencia y fuentes de contaminación. [Consulta: 31 Enero 2017]. Disponible en: http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwq/docs_microbiologicos/Indicadores%20PDF/bacterias%20coliformes.pdf.

ANDRADE, Carlos. *Fuentes de contaminación de la leche cruda* [en línea]. [Consulta: 15 Diciembre de 2016]. Disponible en: <https://agroindustriacurc.files.wordpress.com/2011/09/fuentes-de-contaminacion3b3n-de-la-leche-cruda.pdf>.

ARANCETA, Javier; & SELLA, Luis. *Leche, lácteos y salud.* Madrid-España: Médica Panamericana 2005, pp. 13-19.

ARGUELLO, Paola; et al., “Calidad microbiológica de los quesos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba (Ecuador)”. *Perspectiva*, vol. 16, nº 2 (2015), pp. 65-74.

BOGGIO, Juan. “Presencia de antimicrobianos en leche”. *Organización Veterinaria Regional Argentina*, vol. 23, n° 5 (2010), pp. 1-3.

BRITO, Hannibal; et al. . “Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental”. *European Scientific Journal* [en línea], 2015, (Ecuador) 11(26), pp. 257-268. [Consulta: 26 Diciembre 2016]. ISSN 1857- 7431. Disponible en: <http://eujournal.org/index.php/esj/article/viewFile/6245/6014>

BROUSETT, Magaly; et al. “Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno –Perú”. *Revista SciELO* [en línea], 2015, (Perú) 6(3), pp. 165-176. [Consulta: 4 Febrero 2017]. ISSN 0004-0622. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172015000300003&script=sci_arttext

CALDERÓN, Gloria. Enfermedades Transmitidas por Alimentos en El Salvador [En línea]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [Consulta: 19 Enero 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s/i0480s03.pdf>.

CARRILLO, José; et al. “Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia”. *Revista SciELO*, vol.11 no.1, (2009),(Colombia) pp.77-83.

CASADO, Pedro; GARCIA, Juan. “La calidad higienica de la leche”. *Revista SciELO*, vol. 32, n° 6 (2001), pp. 12-17.

CASTILLO, Glenda. Prevalencia de bacterias patógenas *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, en quesos frescos elaborados artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba [en línea] (Tesis pregrado) ESPOCH, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013. pp. 32-69.

CELIS, Mauricio; JUAREZ, Daniel. *Microbiología de la Leche* [en línea]. Microbiota. [Consulta: 2 diciembre 2016]. Disponible en: http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem_fi_qui_micrb_09/microbiologia_leche.pdf.

CODEX ALIMENTARIUS. *Leche y Productos Lácteos* [en línea]. [Consulta: 8 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-home/es/>

CODEX STAN 283-1978 *Norma general del Codex para el Queso*

COSTE, E. *Análisis sensorial del queso*. Zamora, España: UNIV, 2005, pp. 2-10

DELBES, Celine; et al. “Staphylococcus aureus Growth and Enterotoxin Production during the Manufacture of Uncooked, Semihard Cheese from Cows’ Raw Milk”. *Journal of Food Protection*, vol. 69, nº 9 (2006), pp. 2161-2167.

EROSKI CONSUMER. *Alimentos seguros* [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 7 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2008/04/24/176432.php>.

EROSKI CONSUMER. *Control de la leche cruda* [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 29 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2012/04/18/208790.php>.

EROSKI CONSUMER. *El queso fresco* [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 3 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>.

EROSKI CONSUMER. *Fuentes de contaminación de la leche*. [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 28 Diciembre 2016]. Disponible en:

<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2016/02/25/223373.php>.

EROSKI CONSUMER. *Microbiología de la leche cruda* [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 27 Diciembre 2016]. Disponible en: <https://eroski.consumer.files.wordpress.com/2010/07/material-micro-leche.doc>.

EROSKI CONSUMER. *Staphylococcus aureus*, el patógeno de los manipuladores [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 1 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2003/11/22/9514.php>.

FARÍA, José; et al. “Aislamiento de bacterias gram positivas de leche cruda con residuos de antimicrobianos”. *Revista SciELO* [en línea], 2002, (Venezuela) 52(1), pp. 82-91. [Consulta: 28 Enero 2017]. ISSN 0004-0622. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000100010

FRANCIOSI, Elena. “Changes in psychrotrophic microbial populations during milk creaming to produce Grana Trentino cheese”. *Food Microbiology* [en línea], 2011, (Italy) 28, pp. 43-51. [Consulta: 3 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010002145>

GALEGOS, Edison. *Microbiología de la leche cruda* [en línea]. [Consulta: 29 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/catedras/leche/microbiologia.pdf>.

GARCÍA, María. *Higiene general en la industria alimentaria*. Santiago de Chile-Chile: IC editorial, 2012. pp. 105-120.

GIL, A. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos* [en línea]. 2da edición. Madrid-España: Panamericana, 2010. [Consulta 26 Enero 2017]. Disponible en

https://books.google.com.ec/books?id=hcwBJ0FNvqYC&pg=PT50&dq=valor+nutricional+del+queso+fresco&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi9_eSu6O_RAhXiz1QKHYqvD1gQ6AEIJjAA#v=onepage&q=valor%20nutricional%20del%20queso%20fresco&f=false

GIMFERRER, Natália. *Pautas de higiene en la industria alimentaria* [en línea]. Seguridad alimentaria. [Consulta: 11 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2011/04/11/199867.php>.

GUTIÉRREZ, Diana; et al. “Incidence of Staphylococcus aureus and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces”. *Applied Environmental Microbiology* [en línea], 2002, (España) 78(24), pp. 8547–8554. [Consulta: 7 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://aem.asm.org/content/78/24/8547.full>

HERNÁNDEZ, Alicia; et al. *Microbiología Industrial*. San José - Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia, 2003, pp. 76-77.

HERNÁNDEZ, Oscar; et al. *Guía para la aplicación del sistema de trazabilidad en la empresa agroalimentaria*. Alcalá-España: Palermo, p. 15.

NTE INEN 0009:2012 *Leche cruda. Requisitos*

NTE INEN 0010:2012 *Leche pasteurizada. Requisitos*

NTE INEN 0011:1984 *Leche. Determinación de la densidad relativa*

NTE INEN 0013:1984 *Leche. Determinación de la acidez titulable*

NTE INEN 1528:2012 *Norma General para Quesos frescos no madurados. Requisitos*

NTE INEN 1529-2:1999 *Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico*

NTE INEN 1529-5:2006 *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos Aeróbios Mesófilos. REP*

NTE INEN 1529-9:1990 *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la presencia o ausencia de coniformes (utilizando medio líquido)*

NTE INEN 1529-14:1998 *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN.

Identificación de riesgos químicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia [en línea]. [Consulta: 15 Diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-peligros-quimicos-en-leche.pdf>.

INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. Brucella spp.

[en línea]. [Consulta: 8 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Brucella%20spp.pdf>.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE. Procedimiento muestreo microbiológico de

aire [en línea]. [Consulta: 28 Diciembre 2016]. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2011/01/Muestreo%20Microbiol%C3%B3gico%20de%20Aire.pdf

INTERMEDIATE TECHNOLOGY DEVELOPMENT GROUP. Procesamiento de lácteos.

Lima-Perú: ITDG, 1998, pp. 11-13.

JAY, James. *Microbiología Moderna de los Alimentos*. Zaragoza-España: Acribia, 2002. pp. 615-617.

JARAMILLO, Carla. Estudio de factibilidad para la creación de un nuevo producto en la línea de lácteos de la Empresa Toni S.A. [en línea] (Tesis pregrado) Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas, Carrera de administración de empresas. Guayaquil-Ecuador. 2015. pp. 20-36. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/4840/1/T-UCSG-PRE-ECO-MD-ADM-35.pdf>

KONGO, Marcelino; et al. “Monitoring and Identification of Bacteria Associated with Safety Concerns in the Manufacture of Saño Jorge, a Portuguese Traditional Cheese from Raw Cow’s Milk”. *Journal of Food Protection*, vol. 71, n° 5 (2008), pp. 986-992.

KÜMMEL, Judith; et al. “Staphylococcus aureus Entrance into the Dairy Chain: Tracking S. aureus from Dairy Cow to Cheese”. *PubMed* [en línea], 2006, (Austria) 7(1603), pp. 1615-1616. [Consulta: 1 Diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5061776/>

LONCAREVIC, S; et al. “Diversity of Staphylococcus aureus enterotoxin types within single samples of raw milk and raw milk products”. *PubMed* [en línea], 2005, (Norway) 98, pp. 344–350. [Consulta: 3 Noviembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15659189>

MAGARIÑOS, Haroldo. *Producción higiénica de la leche cruda*. Valdivia-Chile: Producción y Servicios Incorporados S.A., 2000. [Consulta: 7 Enero 2017]. Disponible en: <http://portal.oas.org/LinkClick.aspx?fileticket=wlyuTwR3IEc%3D>

MAIFRENI, Michela; et al. “Identification of the Enterobacteriaceae in Montasio cheese and assessment of their amino acid decarboxylase activity”. *Journal of Dairy Research*, vol. 80, (2013), pp. 122-127.

MARTINS, Luana; et al. “Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and -independent methods”. *Food Microbiology*, vol. 65, (2015), pp. 160-169.

MOLINA, José; & ESLAVA, Carlos. *Escherichia coli* [en línea]. Departamento de Microbiología y Parasitología - UNAM. [Consulta: 1 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>.

MONTEL, Marie; et al. “Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits”. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 177, (2014), (France) pp. 136-154.

MONSALVE, Jorge; et al. “Elaboración de un queso tipo ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida”. *Redalyc* [en línea], 2005, (España) 15(6), pp. 543-550. [Consulta: 12 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95915609>

NAVIA, Paola; et al. “Biofilms in the food industry”. *Research in Microbiology*, vol. 8, nº 2 (2010), pp. 119-128.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. *Composición de la leche* [en línea]. Producción y productos lácteos [Consulta: 3 Febrero 2017]. Disponible en: http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/composicion-de-la-leche/es/#.WMhX_2NzNE5.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. *Contaminantes de la leche* [en línea]. Departamento de Agricultura. [Consulta: 28 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/W1604S/w1604s04.htm>.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. *Calidad y evaluación* [en línea]. Producción y productos lácteos. [Consulta: 29 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/calidad-y-evaluacion/es/#.WMh0WmNzNE5>.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. *Producción lechera* [en línea]. Producción y productos lácteos. [Consulta: 29 Diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.WMh8P2NzNE5>.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Escherichia coli* [en línea]. [Consulta: 1 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. 2016. *Higiene personal* [en línea]. [Consulta: 4 Febrero 2017]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10823%3A2015-higiene-personal&catid=7677%3AAbpabpm&lang=es.

PARRA, Ricardo. “Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos”. *Revista SciELO* [en línea], 2010, (Colombia) vol. 8 (1), pp. 93-103. [Consulta: 15 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

PASCUAL, María; & CALDERÓN, Vicente. *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Madrid-España: Díaz de Santos, 2000. pp. 117-281.

PÉREZ, Fabricio; & BUCIO, Ana. “Microbial safety of raw milk cheeses traditionally made at a pH below 4.7 and with other hurdles limiting pathogens growth”. *Curent Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* [en línea], 2010, (México), pp. 1208-1211. [Consulta: 12 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.formatex.info/microbiology2/1205-1216.pdf>

ROJAS, Marco. *Introducción al control de calidad de la leche cruda* [en línea]. Departamento de Producción e Industria Animal - UNAM. [Consulta: 13 Febrero 2017]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/materialdeapoyoparapruebasdeplataforma_1693.pdf

ROLA, Jolanta; et al. “Occurrence of Staphylococcus aureus on Farms with Small Scale Production of Raw Milk Cheeses in Poland”. *Toxins*, vol. 8, n° 3 (2016), pp. 62-78.

ROUSSEL, S. “Microbiological evaluation of ten French archives and link to occupational symptoms”. *PubMed* [en línea], 2012, (France), pp. 3-5. [Consulta: 28 Enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22429323>

SÁNCHEZ, Baldomero. *Calidad de la leche cruda* [en línea]. [Consulta: 28 Diciembre 2016]. Disponible en: http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf.

SANDOVAL, Luigi. “Obtenido de Aplicación de la técnica de separación inmunomagnética para el aislamiento de Escherichia coli O157:H7 en muestras de leche”. *Revista SciELO* [en línea], 2010, (Venezuela) 24 (1-2), pp5-8. [Consulta: 28 Diciembre 2016]. Disponible en: http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100009

SICALAB. *Importancia de la higiene en la industria alimenticia* [en línea]. *Servicio Integral de Control Alimentario*. [Consulta: 9 de Febrero de 2017]. Disponible en: <http://sicalab.com/formacion/lessons/modulo-ii-importancia-de-la-higiene/>.

SORIANO, Miguel. *Micotoxinas en alimentos* [en línea]. Valencia-España: Diaz de Santos, 2007. [Consulta: 7 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788087.pdf>

TAREKGNE, Enquebaher; et al. “Staphylococcus aureus and other Staphylococcus species in milk and milk products from Tigray region, Northern Ethiopia”. *African Journal of Food Science* [en línea], 2015, (Ethiopia) 12(9), pp. 567-576. [Consulta: 10 Noviembre 2016]. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/journal/AJFS/article-full-text-pdf/8BF146B56510>

TORO, Daniel. *Manual para la introducción al laboratorio de microbiología.* Manizales-Colombia: Universidad de Caldas, 2005, pp. 58-66.

TRISENSOR. *Test detecting antibiotics: lactams, sulfamides and tetracyclines* [en línea]. [Consulta: 8 Febrero 2017]. Disponible en: [http://www.noackgroup.com/Live/publish/templates/Resources/4/PS_PRODUCTGROUPS/\\$D_VDR_01_06/Poster%20TRISENSOR_v5.pdf](http://www.noackgroup.com/Live/publish/templates/Resources/4/PS_PRODUCTGROUPS/$D_VDR_01_06/Poster%20TRISENSOR_v5.pdf).

VALENZUELA, Eduardo; et al. “Calidad microbiológica del agua de un área agrícola-ganadera del centro sur de Chile y su posible implicancia en la salud humana”. *Revista SciELO* [en línea], 2012, (Chile), 29(6), pp. 9-11. [Consulta: 2 Diciembre 2016]. ISSN 0716-1018. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182012000700007

VAN HOUDT, Rob; & MICHIELS, Chris. “Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation”. *Research in Microbiology* [en línea], 2005, (Venezuela) 156 (5-6), pp. 626–633. [Consulta: 4 Diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15950122>

VANEGAS, María; et al. “Resistencia a antibioticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos”. *Revista MVZ Córdoba* [en línea], 2009, (España) 14(2), pp. 1677-1683. [Consulta: 28 Enero 2017]. ISSN 0122-0268. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S012202682009000200003&lng=es&nrm=iso

VARGA, Lászlo. “Microbiological quality of commercial dairy products”. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology.* [en línea], 2007, (Hungary), pp. 487 492. [Consulta: 9 Enero 2017]. Disponible en: <http://real.mtak.hu/6206/1/1176392.pdf>

VÁSQUEZ, Nubia; et al. “Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara, Venezuela”. *Revista SciELO* [en

línea], 20012, (Venezuela) 30(1), pp. 217-223. [Consulta: 9 Enero 2017].. Disponible:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692012000300001

VILLAVICENCIO, Sandra. Relación entre la ausencia de tratamiento Térmico de la leche con la contaminación Microbiológica del queso fresco en el cantón Píllaro. [en línea]. (Tesis) UTA, Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 2007. pp. 78-80.

ANEXOS

ANEXO A: Hoja de recolección de datos de la quesera artesanal Cod.Q 1



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA



EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 1 UBICADA EN LA PARROQUIA QUIMIAG DEL CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
Quesera artesanal Cod.Q 1

1. Ubicación Parroquia: Químiag Sector: Balcashi Calles: S/N			
2. Instalaciones			
Área de recepción de la materia prima		Si	
Laboratorio de análisis		No	
Pediluvio		No	
Área de producción		Si	
Cuarto frío		Si	
S.S.H.H		Si	
3. Equipos:			
1 Olla pasteurizadora		1 Prensa	
1 Marmita		1 Equipo de descremación	
2 Mesas de acero inoxidable grandes			
4. Utensilios:			
Molde de acero inoxidable cuadrado (queso)		Mallas	
Molde plástico redondo grande y pequeño (queso)		Lira	
Cedazos de plástico		Telas	
		Agitador	
5. S.S.H.H #: 1	6. Número de personal #: 3 Días laborables: Lunes a Sábado	7. Número de proveedores Pequeños proveedores: 50	8. Litros recolectados diarios 2700 Litros aproximadamente
9. Recipiente que transporta la leche los proveedores Baldes plásticos, botes para transporte de leche			
10. Análisis que realizan a la materia prima (leche) No se realizan ningún tipo de análisis.			
11. Tratamiento térmico de la materia prima			
Si	x	No	
Temperatura	90°C	Tiempo	30 min
12. Cuajada:		13. Salmuera:	
Temperatura	58°C	Temperatura	
Tiempo	20 min	Tiempo	30 min
14. Insumos:			

Nombre Sal en grano Cuajo	Marca		
15. Productos lácteos que elaboran			
Queso	Si	Yogurt	Otros
Tipos de quesos:	Día		
Queso fresco (cuadrado, redondo, mini)	350 unidades.		
16. Notificación sanitaria			
Queso	No	Otros Yogurt Mantequilla Crema de leche	No
17. Presenta número de lote:			
Si		No	x
18. Devolución de Producto:			
Si		No	x
Porque:			
19. ¿En que transportan el producto elaborado?			
Dentro del área de producción: planchas de acero inoxidable (pequeñas)			
Comercialización: gavetas de plástico.			
20. Ubicación de los SSHH			
A las afueras del área de producción.			
21. Uniformes de los manipuladores:			
Gorro	x	Mascarilla	
Guantes		Botas	x
Delantal	x	Otros	
Cofia	x		
22. Señalética:			
Cumple		No cumple	x
23. Limpieza y desinfección de equipos:			
Si	x	No	
Con que frecuencia Piso, equipos, piso, utensilios: todos los días al acabar la producción, con detergente y agua			
24. Registro de la producción diaria:			
Si		No	x
25. ¿Donde adquieren las fundas?			
Latacunga			
26. Lugar de distribución del producto			
Mercados y tiendas de las ciudades de Riobamba, Milagro y Guayaquil			

ANEXO B: Prueba de diagnóstico efectuada a los manipuladores que laboran en la quesera



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA



EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.1
UBICADA EN LA PARROQUIA QUIMIAG DEL CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE
CHIMBORAZO.

Prueba diagnóstico

1. Si uno de los manipuladores padece o es portador de una enfermedad (Señale las respuestas correcta):

- a. Podrá manipular los alimentos sin ningún riesgo
- b. Deberá usar guantes
- c. No deberá manipular los productos alimenticios
- d. No deberá informar

2. Higiene Personal: ¿Cómo debe ser el aseo de las manos? (Subraye la respuesta correcta):

a. Agua y jabón.

b. Solo jabón

c. Solo agua



3. ¿Con que frecuencia se lava las manos? (Subraye la respuesta correcta):

- a. Antes y después de incorporarse a su puesto de trabajo
- b. Después de ir al baño
- c. Después de comer

4. ¿ Que deberá realizar el manipulador en caso de corte de las manos ? (Subraye las respuestas correcta):
- a. Podrá manipular los alimentos sin ningún riesgo
 - b. Curarse la herida y seguir manipulando los alimentos
 - c. Colocarse guantes y seguir trabajando
5. ¿Cómo debe ser la vestimenta de los manipulares para la elaboración del producto? (Subraye las respuestas correcta):
- a. Gorro
 - b. Mascarilla
 - c. Guantes
 - d. Delantal plástico impermeable
 - e. Botas de caucho.
 - f. Mandil
6. Los manipuladores de alimentos deben llevar el pelo recogido con gorro o redecilla porque (Subraye las respuestas correcta):
- a. Es más cómodo para trabajar
 - b. Diferencia a los trabajadores de los jefes
 - c. El pelo pueden contaminar los alimentos
7. ¿Señale con un visto o una "X" los requisitos que el manipulador debe presentar antes de ingresar al área de producción?
- a. Uñas cortas y limpias



- b. Gorro, mascarilla, delantal impermeable y botas de caucho



c. Aretes



d. Comida



e. Usar el pediluvio



f. d. Fumar



g. Bostezar



h. Escupir



i. Anillos, pulseras, relojes u otros objetos



8. Si mantenemos una correcta higiene en el trabajo lograremos:

- a. Que los alimentos no hagan daño al comer
- b. Una cantidad mayor de alimentos
- c. Que los alimentos tengan mejor aspecto
- d. Alimentos que duren menos tiempo

9. Que utiliza para la limpieza de los equipos

- a. Agua fría
- b. Cloro
- c. Detergente.
- d. Agua caliente
- e. Lava
- f. Cepillos

ANEXO C: Lista de verificación de Prácticas Correctas de Higiene (PCH)

LISTA DE VERIFICACIÓN DE PRÁCTICAS CORRECTAS DE HIGIENE					
EMPRESA: Quesera artesanal Cod.Q 1					
FECHA DE DIAGNÓSTICO O AUDITORÍA INTERNA:					
TÉCNICO O AUDITOR LÍDER:					
N°	REQUISITOS	CUMPLE			OBSERVACIONES
		SI	NO	N/A	
REQUISITOS DE LAS INSTALACIONES					
(NORMA APLICABLE: RESOLUCIÓN ARCSA 057_2015 PARA ESTABLECIMIENTOS CATEGORIZADOS COMO ARTESANALES Y ORGANIZACIONES DEL SISTEMA DE ECONOMÍA POPULAR Y SOLIDARIA)					
Condiciones mínimas básicas y localización (Art.4)					
1	¿El establecimiento está ubicado lejos de fuentes de contaminación?		x		El establecimiento se encuentra rodeado de animales domésticos (perros, gatos, gallinas), insectos además ubicándose en la vía principal.
Diseño y construcción (Art. 5)					
2	¿Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos del ambiente exterior?		x		Carece de sistemas contra plagas físicas (ratoneras) y/o químicas.
3	¿Las superficies y materiales en especial aquellas que están en contacto directo con los alimentos son de acero inoxidable?		x		Existen materiales de madera como las bandejas de la prensa.
4	¿El diseño y distribución de las áreas permite una apropiada limpieza desinfección y mantenimiento evitando o minimizando los riesgos de contaminación y alteración?		x		No existe una adecuada distribución entre áreas
5	¿Las instalaciones son adecuadas para mantener la temperatura, humedad y condiciones requeridas por el producto? Cuarto frio		x		Carece de equipos que midan la temperatura, humedad.
6	¿Las instalaciones cuentan con pediluvio?	x			Posee una gaveta con agua que cumple la función de pediluvio

7	¿La disposición interna de las instalaciones facilita la aplicación de las PCH, evitando la contaminación de materias primas y producto final?		x		Las áreas de producción no se encuentran distribuidas.
Estructura interna y mobiliario (Art. 6)					
1. Superficies de paredes, techo, piso y drenaje					
8	¿Son de material que facilite la limpieza y no absorba o retenga agua?		x		Paredes son de cemento lo que ocasiona retención de agua, el piso está deteriorado generando la acumulación de agua por falta de drenaje.
9	¿Presentan grietas o rugosidades?	x			En el piso y ligeramente en las paredes. El techo presenta oxidación
10	¿Evitan la emisión de alguna sustancia tóxica hacia los alimentos?		x		Del techo se desprende partículas de polvo que caen directamente en el área de producción, además ingresa directamente de la vía.
11	¿Evitan la acumulación de polvo o suciedad?		x		No existe la presencia de separadores entre el ingreso a la quesera y la área de producción.
12	¿El piso cuenta con un sistema de drenaje?		x		Lo que favorece a la acumulación de agua
13	¿Los drenajes están protegidos con rejillas?		x		Se carece de éste sistema
14	¿El flujo de las operaciones sigue una sola dirección a fin de evitar contaminación cruzada?		x		Las áreas de producción se adaptan al espacio disponible a la quesera
15	¿Las tuberías y conductos no dejan caer gotas de agua resultantes de la condensación interna sobre los alimentos o superficies de contacto directo con los mismos.		x		Se necesita un sistema de ventilación
2. Ventanas, puertas y otras aberturas					

16	¿Las ventanas cuentan con protección para evitar el ingreso de plagas?	x			Las dos ventanas están cubiertas con mallas (mosquitero) y con plásticos de color azul.
17	¿Las ventanas son de fácil limpieza?	x			Son de material de vidrio
18	¿Las ventanas evitan la acumulación de suciedad?		x		Hay un espacio entre la pared y la malla que permite la acumulación de polvo en la parte interna (producción) y la ubicación externa.
19	¿Las puertas son de superficie lisa y no absorbentes?		x		Presenta puerta de aluminio con doblajes.
20	¿Las puertas son de fácil limpieza y desinfección?		x		Acumulación de polvo entre los doblajes del aluminio
21	Las puertas cuentan con cortina de plástico y de aire		x		
Equipos, recipientes y utensilios (Art. 7)					
22	Las superficies de trabajo que entran en contacto directo con los alimentos son sólidas, duraderas y fáciles de limpiar, desinfectar y mantener.	x			Son de acero inoxidable
23	¿Las superficies de trabajo son de material liso, no absorbente y no tóxico?	x			
24	¿El diseño de los equipos permite un desmontaje para facilitar la limpieza?	x			
25	¿Los utensilios y recipientes se encuentran en buen estado?		x		Las gavetas utilizadas para almacenamiento de materia final presentaban rupturas
26	¿Los utensilios y recipientes son reemplazados de acuerdo a su uso?		x		No se ha determinado el estado de los materiales
27	¿Los equipos están situados y diseñados de manera que son fáciles de limpiar, desinfectar y mantener?		x		
Control de equipos (Art. 8)					
28	¿Los equipos utilizados para aplicar tratamientos térmicos están diseñados para alcanzar y mantener las temperaturas óptimas para proteger la inocuidad y la aptitud de los alimentos? PASTEURIZADOR DE PLACAS, PASTERIZACIÓN POR LOTE (MARMITA)		x		Al equipo (marmita) se encuentra adaptado un termómetro que permite controlar a temperatura.
29	¿Los equipos cuentan con un diseño que permite vigilar y controlar las temperaturas?		x		El diseño del equipo no cuenta.

30	¿Los instrumentos de medición aseguran la eficacia de las mediciones?		x		No existe registros de la calibración de los instrumentos de mediciones
Recipientes para Residuos y Sustancias No Comestibles (Art. 9)					
31	¿La planta cuenta con recipientes para los desechos, los subproductos y las sustancias no comestibles?		x		No presentan área de depósitos de basura (basureros); el suero (subproducto) es almacenado en baldes plásticos
32	¿Los recipientes para los desechos, los subproductos y las sustancias no comestibles están identificados?		x		
33	¿Los recipientes utilizados para guardar sustancias peligrosas están identificados y se mantienen bajo estricto control, para impedir la contaminación accidental o malintencionada de los alimentos?		x		No hay identificación ni lugar preciso de la ubicación de los recipientes
Los servicios (Art. 10)					
1. Abastecimiento de agua					
34	¿Dispone de un abastecimiento suficiente y continuo de agua potable, con instalaciones apropiadas para su almacenamiento como tanques y reservorios con tapa?		x		El agua es proveniente de vertientes y continuo el abastecimiento
35	Se ha realizado análisis físico-químicos y microbiológicos del agua por lo menos una vez al año en un laboratorio acreditado por el organismo correspondiente?		x		
2. Agua no potable					
36	¿El agua no potable es empleada solo para control de incendios, producción de vapor, la refrigeración y otros fines similares donde no contaminen los alimentos?		x		Utilizan el área de producción para lavado de utensilios y salmuera
37	¿El sistema de agua no potable está separado y sin conectarse con el sistema de agua potable?		x		No hay agua potable
38	¿El sistema de agua potable y no potable se encuentra correctamente identificados?		x		
3. Hielo					
39	¿El hielo que se utiliza como ingrediente o que entra en contacto directo con el alimento se fabrica con agua potable y está protegido de la contaminación?			NA	

4. Vapor de agua				
40	¿El vapor que entra en contacto con los alimentos o con las superficies de trabajo constituyen una amenaza para la inocuidad y la aptitud de los alimentos?			NA
5. Drenaje y eliminación de residuos				
41	¿Existen instalaciones adecuadas para el drenaje y la eliminación de desechos?		x	No existe un sistema de eliminación de desechos, el suero es depositado en tanques para su posterior distribución.
42	¿Se mantiene un control constante sobre las condiciones de limpieza de los drenajes?		x	No hay presencia de documentación que confirme este proceso
43	¿La salida de desperdicios se hace cuando se está manipulando el producto?	x		
6. Servicios Higiénicos				
44	¿Existen servicios higiénicos disponibles para el personal?	x		
45	¿Las instalaciones sanitarias se encuentran fuera del área de producción?	x		
46	¿Existen servicios higiénicos separados tanto para hombres como para mujeres?		x	El servicio higiénico se encuentra unificado
47	¿Los servicios higiénicos se hallan limpios y ventilados?		x	No existe ventilación
48	¿Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados y con una funda plástica para el depósito de material usado en las instalaciones sanitarias?		x	
49	¿Cuenta con un área específica para colocar los artículos personales?		x	Los artículos personales colocan en el área de la cocina
50	¿Existen avisos alusivos al procedimiento de lavado de manos en las proximidades de los lavamanos?		x	
51	¿Existen estaciones de lavado de manos (para lavarse y desinfectarse las manos) situadas en el ingreso del área de proceso?		x	Solo existe un solo lava manos en el baño de la quesera
7. Área de limpieza				
52	¿Es suficiente el suministro de agua potable para lograr la limpieza adecuada de las instalaciones, equipos, utensilios?		x	Hay suficiente agua pero no es potable.

53	¿Se dispone de instalaciones adecuadas para la limpieza de equipos y utensilios que no generen contaminación cruzada hacia los alimentos elaborados?		x		El proceso de limpieza se realiza en la misma área de producción
8. Control de la temperatura					
54	¿Las instalaciones disponen de las facilidades para llevar a cabo los procesos de calentamiento, cocción, enfriamiento, refrigeración y almacenamiento de alimentos?		x		Todos los procesos se llevan a cabo en un mismo lugar, sin separaciones entre áreas.
9. Calidad de aire y ventilación					
55	¿Se dispone de medios adecuados de ventilación para prevenir la condensación de vapor, entrada de polvo y remoción de calor?		x		
56	¿Se evita el ingreso de aire desde un área contaminada a una limpia, y los equipos tienen un programa de limpieza adecuado?		x		
57	¿Existe un control de olores que puedan afectar aptitud del producto?			NA	
10. Iluminación					
58	¿Se dispone de iluminación natural o artificial adecuada para el desarrollo de las operaciones de manera higiénica y eficiente?		x		
59	¿Las lámparas en las áreas de producción, almacenamiento de materias primas y producto terminado cuentan con sistemas de protección para garantizar que los alimentos no se contaminen en caso de roturas?		x		
11. Instalaciones eléctricas y redes de agua					
60	¿No existen cables colgantes en el área de manipulación de alimentos?		x		Presencia de cables colgantes en las paredes, techo.
61	¿Se hallan identificadas las líneas de fluido (tuberías de agua potable, agua no potable, tuberías de vapor, tuberías de combustible)?		x		
Requisitos relativos a las materias primas (Art.11)					
62	¿Se rechaza los productos que están contaminados con insectos, parásitos, microorganismos indeseables, plaguicidas, medicamentos veterinarios, sustancias tóxicas, materia descompuesta o extraña que no se podrá reducir durante el proceso?		x		No se realizan exámenes físicos químicos a la materia prima a su ingreso.
Contaminación cruzada (Art. 12)					

63	¿Se separan a La materia prima del producto terminado?	x			
64	¿Se limpia y desinfecta las superficies, utensilios, equipos y accesorios después de procesar la leche?	x			La limpieza y desinfección se hace al final de la jornada laboral
65	¿Se protege la materia prima, producto en proceso y el producto terminado de la contaminación física y química?		x		No hay la presencia de barreras de protección
Higiene del personal (Art.13)					
1. Estado de salud					
66	¿El personal manipulador de alimentos se somete a un reconocimiento médico antes de desempeñar funciones?		x		Para los propietarios de la quesera no es necesario los exámenes de rutina médicos
67	¿Se toma las medidas preventivas para evitar que labore el personal sospechoso de padecer enfermedades infecciosas susceptibles de ser transmitida por alimentos?		x		Personal no se someten a exámenes de rutina constantemente.
2. Aseo personal					
68	¿El personal utiliza vestimenta limpia exclusivamente en el área de producción de alimentos, de preferencia debe ser de color claro?	x			
69	¿El calzado es adecuado para el proceso productivo?	x			Utilización de botas de caucho
70	¿E l personal cubre el cabello en el área de producción?	x			
71	¿El personal se lava frecuentemente las manos; antes de comenzar o cambiar cualquier operación del proceso, después de usar los baños y después de manipular materia prima o alimentos crudos?	x			
3. Comportamiento del personal					
72	¿El personal acata las normas establecidas que señalan la prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas?	x			
73	¿El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo?	x			
4. Visitantes					
74	¿Los visitantes utilizan ropa protectora y cumplen con todas las recomendaciones de higiene personal?		x		

75	¿Las personas se lavan y desinfectan las manos al ingresar a las áreas de manipulación de alimentos?		x		
76	¿Se controla el acceso del personal y de los visitantes a la planta de alimentos, para prevenir la contaminación?		x		
77	¿Existen avisos en lugares visibles referentes a la higiene, el lavado de manos y los procedimientos de producción; y se vigilar su cumplimiento?		x		
Capacitación (Art. 14)					
1. Conocimientos y las responsabilidades					
78	¿El personal conoce sus funciones y la responsabilidad de proteger los alimentos de la contaminación y el deterioro?	x			
79	¿El personal conoce como manipular el producto final en condiciones higiénicas?	x			
80	¿El personal encargado conoce como manipular productos químicos?		x		
81	¿El personal está capacitado sobre cómo realizar las operaciones durante el proceso?	x			
82	El personal conoce, según corresponda, los programas de limpieza y desinfección y de control de plagas?	x			
2. Programas de capacitación					
83	¿El personal es capacitado de manera general en los procedimientos para obtener el producto final, recepción de materia prima, manejo de registros y riesgos de contaminación?		x		El conocimiento de los trabajadores fue adquirido a través de experiencias profesionales
Control de las operaciones (Art. 15)					
84	¿Se ejecutan controles que ayuden a disminuir riesgo de contaminación microbiana durante el proceso?		x		No se utilizan registros para controlar las operaciones
Procedimientos y Métodos de Limpieza (Art. 16)					
85	¿Se emplean métodos físicos, tales como aplicación de fricción con cepillos, calor, enjuague, lavado, con flujo turbulento, limpieza por aspiración o métodos químicos como el uso de detergentes alcalis o ácidos recomendados ?		x		
86	La limpieza se realiza de manera ordenada?		x		
Almacenamiento (Art. 17)					

87	¿Se dispone de ambientes separados o independientes, para mantener la seguridad y evitar la contaminación cruzada de materia prima, productos intermedios y productos terminados?	x			Se encuentran separados la leche cruda de la pasteurizada y de la cuajada; el producto terminado es almacenado en el cuarto frío.
88	¿En función de la naturaleza del alimento los almacenes o bodegas, incluyen dispositivos de control de temperatura y humedad, así como también un plan de limpieza y control de plagas?		x		Se carece del plan de limpieza y control de plagas
89	¿Se evita el contacto del piso al producto terminado mediante uso de estanterías, paletas ?	x			Almacenamiento se da en gavetas
90	¿Existe acceso restringido a las instalaciones en donde se almacenen sustancias de limpieza y peligrosas?		x		
91	¿Se mantiene un control sobre el almacenamiento de los productos, se recomienda aplicar el sistema PEPS (primero en entrar, primero en salir)?	x			La quesera aplica este sistema pero no lleva registros de control para los productos
Empaque (Art. 18)					
92	¿El material de envasado ofrece una protección de los productos alimenticios para reducir al mínimo la contaminación, evitar daños y colocar el etiquetado correcto de acuerdo a la norma correspondiente?		x		El material utilizado para sellar el producto final puede no ofrecer la seguridad necesaria
93	¿El material de embalaje no constituye un riesgo para la inocuidad y aptitud del producto final?			NA	
Control de plagas (Art. 19)					
94	¿Se cuenta con un sistema de control de plagas?		x		
95	¿Se realizan actividades de control de roedores con agentes físicos dentro de las instalaciones de producción, envase, transporte y distribución de alimentos?		x		
Transporte (Art. 20)					
96	¿El transporte mantienen las condiciones higiénico - sanitarias y de temperatura adecuados?		x		El producto terminado es transportado en camionetas que no poseen las medidas adecuadas (cadena de frío)
97	¿Están contruidos con materiales apropiados para proteger al alimento de la contaminación y facilitan la limpieza?		x		El cajón de la camioneta es de madera y no tiene cubierta

98	¿Evita transportar alimentos junto a sustancias de limpieza, tóxicas o peligrosas?	x		Se transporta en gavetas
Documentación y registros (Art. 21)				
99	Existen registros de la producción especialmente de las etapas críticas, de los procedimientos de limpieza, de la distribución, de las condiciones de recepción y almacenamiento de materias primas y producto terminado?		x	No hay evidencias de llevar registros
DEL REGISTRO SANITARIO (CAPÍTULO V) (Art. 24, 25)				
100	¿Cuenta el producto con un registro/notificación sanitario otorgado por el organismo competente?	x		Queso fresco
101	¿Cuenta el establecimiento con responsable técnico con formación académica en el ámbito de la producción o control de calidad e inocuidad de alimentos?		x	No cuenta con el técnico responsable de esas funciones.

FUENTE: ARCSA, 2015

ANEXO D: Toma de muestras de materia prima, subproducto, producto terminado, ambiente, superficies vivas e inertes.

Leche cruda	Leche pasteurizada	Suero
		
Salmuera	Queso	Ambiente
		
Superficies inertes		
Marmita base	Marmita pared	Prensa base



Prensa plancha



Mesa centro



Mesa pared



Molde



Agitador



Malla



Lira



Gaveta



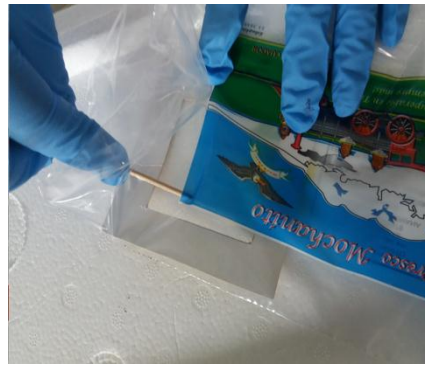
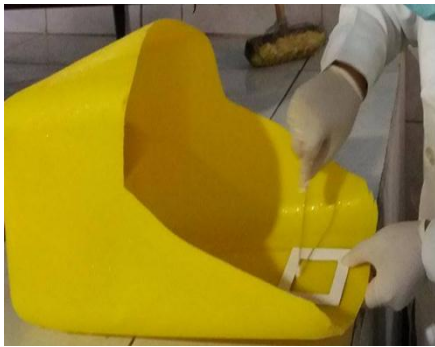
Termómetro



Balde



Envase

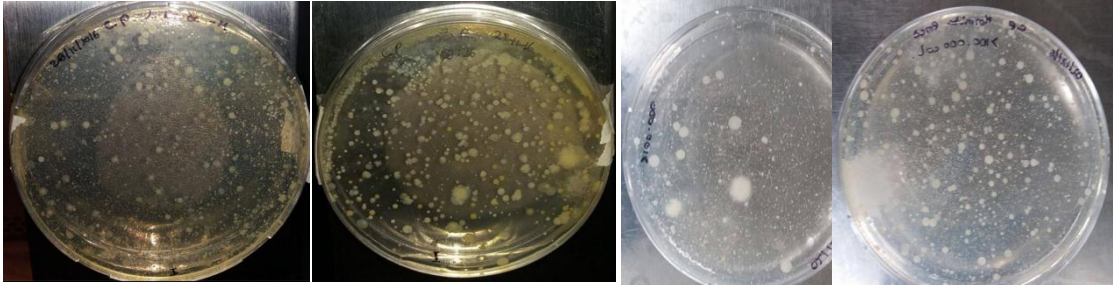


Manipulador - Superficies vivas

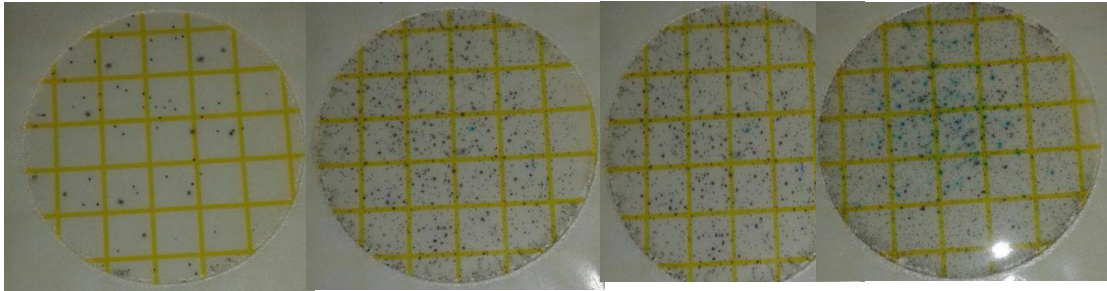


ANEXO E: Análisis microbiológico de Aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus*

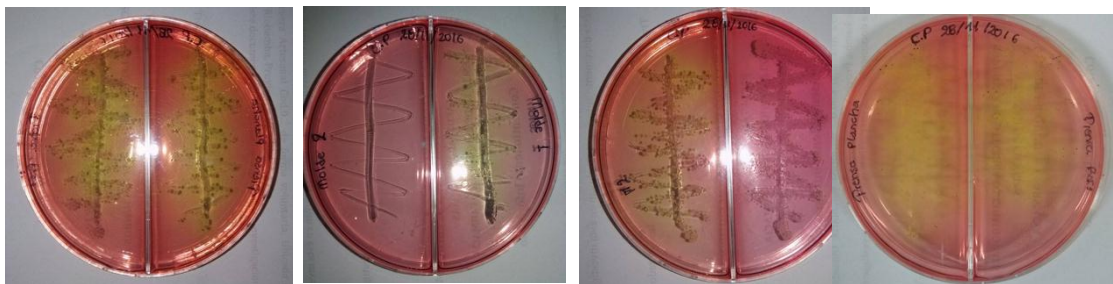
Crecimiento de Aerobios mesófilos en agar PCA



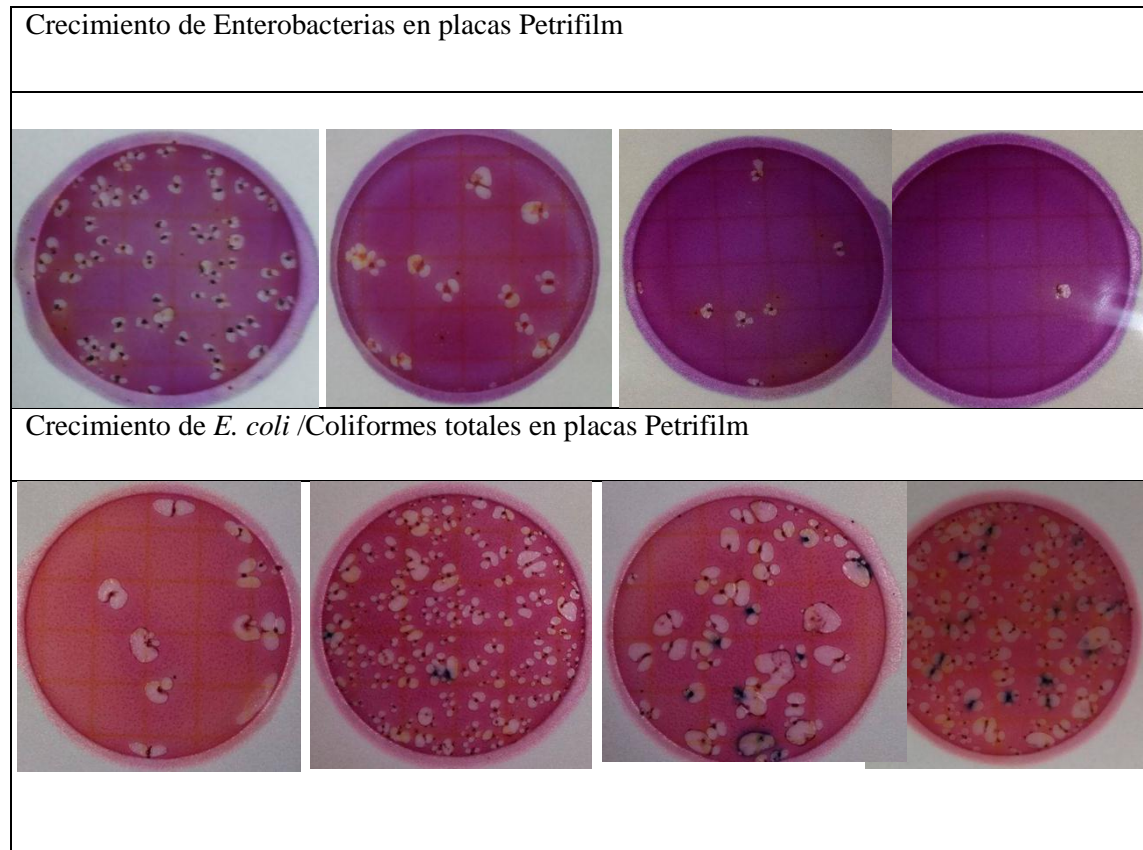
Crecimiento de *Staphylococcus aureus* en placas Petrifilm



Fermentación del manitol



ANEXO F: Análisis microbiológico de Enterobacterias, Coliformes totales/*E. coli*



ANEXO G: Análisis microbiológico de Mohos y levaduras en agar sabouraud con cloranfenicol

Crecimiento de Mohos y levaduras en agar sabouraud con cloranfenicol

