

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

Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

INFORME DE TESIS

Presentado por

Heidy Xiomara Barrios Centeno

Para optar el título de  
Química Bióloga

Guatemala, Octubre del 2,006

## ÍNDICE

	Pag.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA´S)	
1. Presencia de microorganismos en alimentos	
2. Patologías más comunes relacionadas con ETA´s	7
B. Manifestaciones clínicas	8
C. Epidemiología	9
D. Principios de control microbiológico de los alimentos	12
1. Función del control microbiológico de los alimentos	13
2. Proceso de toma de muestra	
3. Microorganismos índice e indicadores	14
4. Seguridad y calidad de los productos alimentarios	
E. Productos lácteos	15
1. Industrialización	
2. Derivados directos de la leche	
F. Queso fresco	16
1. Método tradicional para la elaboración de queso fresco	
G. Técnicas de las buenas prácticas de manufactura	18
1. Materias primas	
2. Establecimientos	
3. Personal	19
4. Higiene en la elaboración	20
5. Almacenamiento y transporte de materias primas y producto final	21
6. Control de procesos en la producción	
7. Documentación	22

H. Control de calidad de la industria lechera	
1. Aplicación de los principios de HACCP	23
2. Aplicación del sistema HACCP	
3. Capacitación	27
I. Métodos de control para análisis microbiológico	28
1. Técnica de conteo en placas Petrifilm	
2. Cuantificación y aislamiento de <i>S. aureus</i> en el medio Baird-Parker	29
3. Aislamiento e identificación de <i>Salmonella</i> sp. por medio del caldo Salmocyst y el agar Rambach	
4. Valores microbiológicos de referencias para queso fresco según las normas COGUANOR y parámetros de la ICMSF	30
IV. JUSTIFICACIÓN	32
V. OBJETIVOS	33
VI. HIPÓTESIS	34
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	35
VIII. RESULTADOS	42
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
X. CONCLUSIONES	52
XI. RECOMENDACIONES	53
XII. REFERENCIAS	54
XIII. ANEXOS	58

## I. RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) se deben en su mayoría a la ingestión de alimentos y/o agua contaminada en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor. La contaminación bacteriana suele ser la de mayor frecuencia, seguida por parásitos, virus y hongos; estos microorganismos pueden estar presentes en una gran variedad de alimentos, conocidos como de alto y bajo riesgo clasificados así según su contenido de proteínas y carbohidratos. Los lácteos son considerados alimentos de alto riesgo por su alto contenido nutricional y porque en algunos países como el nuestro son elaborados de manera artesanal, es decir, no cuentan con un control de calidad que garantice su inocuidad.

El presente estudio fue realizado en el segundo trimestre del año 2,005 en la Unidad de Salud de la División de Bienestar Estudiantil Universitario de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC). El propósito fue evaluar la calidad microbiológica del proceso de elaboración del queso fresco y producto final, el cual es expendido en la Unidad de Comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. El trabajo se dividió en 3 partes: primero se realizaron visitas durante dos semanas a la unidad de comercialización y se realizó un diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco; luego se elaboró un análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP). Utilizando el diagrama de flujo como guía, se llevó a cabo un primer muestreo en cada punto crítico (PC), punto crítico de control (PCC) y producto final, con el fin de establecer la calidad microbiológica del queso fresco utilizando los recuentos de coliformes fecales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp..

Los resultados obtenidos fueron en producto final  $>10$  UFC/gr de coliformes fecales,  $>1$  UFC/gr de *E. coli* y  $>1,000$  UFC/gr de *S. aureus*, por lo que el queso fresco fue reportado como no apto para el consumo humano según los parámetros sugeridos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) para coliformes fecales ( $<10$  UFC/gr) y *E. coli* ( $<1$  UFC/gr) y por la norma COGUANOR-NGO-34-197 para *S. aureus* ( $<100$  UFC/gr) y *Salmonella* sp. (ausente).

En la segunda parte se aplicó una pasteurización rápida a la leche fresca utilizada para la elaboración del queso fresco como una medida correctiva. Luego se capacitó al operario encargado de la elaboración del queso fresco con una parte teórico-práctica sobre BPM e inocuidad de los alimentos.

En los resultados de la pasteurización rápida se observó que los recuentos microbiológicos de la leche después del tratamiento térmico en un lote tomado al azar no disminuyeron a los límites sugeridos por la norma COGUANOR NGO 34-197 y los parámetros sugeridos por la ICMSF, por lo que fue necesario aumentar la temperatura y el tiempo de calentamiento en un segundo ensayo, el cual mostró recuentos microbiológicos dentro de las normas anteriormente mencionadas.

En la tercera parte se realizó un segundo muestreo en los mismos puntos del primero, con el fin de establecer si hubo una disminución en los recuentos microbiológicos obtenidos en los PC y PCC de ambos muestreos y se verificó que los recuentos microbiológicos en producto final postintervención estuvieran dentro de los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR-NGO-34-197.

En los resultados del segundo muestreo se obtuvo recuentos microbiológicos en producto final  $<10$  UFC/gr de coliformes fecales,  $<1$  UFC/gr de *E. coli* y  $<1,000$  UFC/gr de *S. aureus*, por lo que la evaluación microbiológica postintervención de queso fresco evidenció que la aplicación de las medidas correctivas permitieron obtener recuentos microbiológicos dentro de los límites permitidos por la norma COGUANOR NGO 34-197 y los parámetros sugeridos por la ICMSF, y que el producto fuera considerado apto para el consumo humano.

## II. INTRODUCCIÓN

Las ETA's son adquiridas por la ingestión de microorganismos o de toxinas bacterianas presentes en los alimentos y son mundialmente consideradas como la primera causa de muerte en la niñez y la segunda causa para todas las edades. Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Oficina Sanitaria Panamericana (OPS) los derivados lácteos ocupan el quinto lugar entre los alimentos que frecuentemente ocasionan ETA's entre países centroamericanos como el nuestro, ya que son alimentos que por su alto contenido nutricional y bajo costo son consumidos comúnmente (1,2).

La Universidad de San Carlos cuenta con la Unidad de Salud que es la entidad encargada de mantener el control de calidad de todos los alimentos que se expenden dentro del campus y vela por la salud de los consumidores; tal es el caso del queso fresco que es producido en la unidad de comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y que actualmente no cuenta con una evaluación externa de control de calidad que garantice su consumo.

Por consiguiente el presente estudio se llevó a cabo en el tercer trimestre del 2,005 y pretendió evaluar la calidad microbiológica del queso fresco, para ello se aplicó la norma COGUANOR-NGO-34-197 como norma de referencia para *S. aureus* y *Salmonella* sp., y los parámetros sugeridos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) para coliformes fecales y *E. coli*; además se mejoró la calidad en todo el proceso de manufactura y manipulación del mismo.

Por otro lado, el queso fresco artesanal está expuesto a lo largo de su elaboración a muchos factores de contaminación, perdiendo con ello su inocuidad y pudiendo producir enfermedades al consumidor; por lo tanto, se determinó los Puntos Críticos (PC) y los Puntos Críticos de Control (PCC) del proceso de producción y se realizó un primer muestreo de cada punto detectado para determinar su calidad microbiológica actual. Luego se impartieron capacitaciones a los operarios sobre la aplicación de las BPM e inocuidad de alimentos, con el fin de que se aplicaran en el proceso de elaboración del queso fresco.

Posteriormente se llevó a cabo un segundo muestreo en los mismos puntos y en las mismas condiciones que el primero, con el fin de observar el efecto que tuvo el período de capacitación y la implementación de cambios en el proceso de elaboración, además se verificó si los recuentos microbiológicos disminuyeron significativamente en comparación con los resultados obtenidos en el primer muestreo y que cumplieran con las normas establecidas para que el producto sea apto para consumo humano.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de control microbiológico de alimentos de la Unidad de Salud de la División de Bienestar Estudiantil de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), y se utilizó films secos (petrifilm 3M) para detectar la presencia de coliformes fecales y *E. coli*, la técnica de Baird-Parker para determinar la presencia de *S. aureus* y el caldo Salmocyst y el agar Rambach para el aislamiento e identificación de *Salmonella* sp.

Finalmente con los resultados obtenidos, la Unidad de Salud realizará un control rutinario para garantizar el mantenimiento de la calidad microbiológica, por medio de auditorias y capacitaciones permanentes a los operarios de la unidad de comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's)

Las ETA's son un conjunto de enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos y/o agua contaminados en cantidades suficientes como para afectar la salud del consumidor. Los agentes contaminantes pueden ser: agentes biológicos (bacterias y/o sus toxinas, hongos, virus, parásitos), agentes químicos (plaguicidas, fertilizantes, veneno, etc.), agentes físicos (metales, vidrio, madera, etc) (1).

La contaminación bacteriana suele ser la de mayor frecuencia, el tiempo transcurrido hasta que se manifiesta la enfermedad y los síntomas varían de acuerdo al agente responsable de la contaminación. Los síntomas más frecuentes son vómitos, náuseas, diarrea y fiebre. Las bacterias causantes de enfermedad se llaman bacterias patógenas, no todas las personas tienen la misma sensibilidad frente a estas bacterias, los ancianos, las mujeres embarazadas, los niños y los enfermos son más susceptibles y en ellos los efectos pueden ser más serios (2).

Muchos microorganismos pueden propagarse en más de una forma, por lo que no siempre se tiene la certeza de que se trata de una enfermedad transmitida por alimentos. La distinción es importante para que las autoridades de salud pública establezcan cómo se está propagando una determinada enfermedad para adoptar medidas apropiadas para detenerla. Por ejemplo, las infecciones por *Escherichia coli* pueden propagarse a través de alimentos contaminados, agua de beber contaminada, piscinas contaminadas y de un niño a otro en guarderías. De la vía de propagación dependerán las medidas de control a aplicar, las cuales podrían variar entre retirar los alimentos contaminados de las tiendas, clorar una piscina o cerrar una guardería (1,2).

#### 1. Presencia de microorganismos en alimentos

Se encuentran en una gran variedad de alimentos, conocidos como alimentos de alto riesgo y bajo riesgo. Existe también la posibilidad de que los alimentos se hayan contaminado durante su producción o recolección. Otra causa de contaminación se da en el

hogar a través del uso de utensilios que fueron previamente utilizados para preparar alimentos contaminados, lo que puede llevar a la contaminación cruzada de los alimentos que se preparan. Los microorganismos presentes en los alimentos pueden ser: de origen endógeno, es decir que se encuentran en el interior de las estructuras del alimento (ej: la presencia de *Salmonella* sp. en huevos y carnes, o *Vibrio* sp. en productos marinos) y de origen exógeno, es decir, que se incorporan al alimento durante su manipulación y procesado (ej: los operarios son la fuente más importante de contaminación de alimentos con microorganismos como: *S. aureus* y *E. coli*, debido a que manipulan el producto durante todas las etapas del procesado, obtención, transformación, almacenaje, distribución, etc.). Por otro lado los utensilios, superficies, y equipos pueden contaminar los alimentos debido a una mala sanitización de los mismos (3-5).

**a. Contaminación de alimentos de alto riesgo**

Los alimentos de alto riesgo son aquellos listos para comer que, bajo condiciones favorables de temperatura, tiempo y humedad pueden favorecer el crecimiento de bacterias patógenas. Estos alimentos se caracterizan por poseer alto contenido protéico, alto porcentaje de humedad, poseer baja acidez y requerir un control estricto de la temperatura de cocción y de conservación. El riesgo que tienen estos alimentos de sufrir alteraciones o deterioro es alto, por ello se recomienda realizar el manejo cuidadoso de los mismos, durante la compra, almacenamiento y elaboración (5).

**b. Contaminación de alimentos de bajo riesgo**

Son aquellos que permanecen estables a temperatura ambiente y no se echan a perder a menos que su manipulación sea inadecuada. Este grupo comprende alimentos con bajo contenido de agua, ácidos, conservados por agregado de azúcar y sal. El riesgo de sufrir alteración o deterioros es bajo pero aún así se recomienda realizar un manejo cuidadoso de los mismos, especialmente en el almacenamiento (5).

**c. Contaminación cruzada directa**

La contaminación cruzada se produce cuando microorganismos patógenos, generalmente bacterias, son transferidos por medio de alimentos crudos, manos o utensilios a los alimentos sanos (5). De acuerdo a cómo esto suceda la contaminación cruzada se puede producir de dos formas:

- Cuando se mezclan alimentos cocidos con crudos en platos que no requieren posterior cocción (ensaladas, platos fríos, tortas con crema, postres, etc.) (5).
- Cuando hay una mala ubicación de los alimentos en el refrigerados. Los alimentos listos para comer, toman contacto con los alimentos crudos y se contaminan. También ocurre cuando los alimentos listos para comer toman contacto con el agua de deshielo de pollos, carnes y pescados crudos (5).

**d. Contaminación cruzada indirecta**

Es la producida por la transferencia de contaminantes de un alimento a otro a través de las manos, utensilios, equipos, mesas, tablas de cortar, etc. Generalmente ocurre por el empleo de utensilios sucios o por mala higiene personal de quien manipula o vende los alimentos (5).

**2. Patologías más comunes relacionadas con ETA's**

La mayoría de las ETA's son ocasionadas por las bacterias *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *E. coli* O157:H7 y por un grupo de virus llamados calicivirus. Otros microorganismos relacionados con ETA's son: *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens* (6).

**a. Enterobacterias**

Las más frecuentes son las que fermentan la lactosa. Son huéspedes normales del intestino de mamíferos, se les atribuye la contaminación fecal y se pueden desarrollar a diferentes temperaturas. Algunas especies ocasionan enfermedades gastrointestinales y compiten con bacterias lácticas para fermentar la lactosa (6).

**b. *Escherichia coli* y coliformes**

Las investigaciones microbiológicas han puesto de manifiesto que *E. coli*, procede del intestino del hombre y de los intestinos de los animales de sangre caliente; además puede sobrevivir y multiplicarse en determinados sustratos. El hallazgo de *E. coli* en algún alimento es evidencia suficiente de que no es seguro para el consumo humano ya que se puede suponer que hay enteropatógenos donde hay contaminación fecal (6).

**c. *Salmonella* sp.**

El reservorio primario para la salmonella es el tubo intestinal de muchos animales, incluyendo las aves, animales de granja y reptiles. Los humanos se infectan a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados y el agua se contamina por la introducción de heces de cualquier animal que excrete salmonella. La infección por vía alimentaria resulta de la ingestión de carne contaminada o por manos sucias, las cuales actúan como intermediarios en la transferencia de salmonella de una fuente infectada (7,8).

**d. *Staphylococcus aureus***

Es una bacteria que tiene la capacidad de crecer a altas concentraciones de sal y es productor del enzima coagulasa que es una prueba básica para su identificación. La intoxicación alimentaria estafilocócica requiere no sólo de contaminación por microorganismos, sino también de un período de 6 a 9 horas durante el cual pueda multiplicarse la bacteria y producir su toxina; esto se ve favorecido durante el enfriamiento lento después de la cocción o si el alimento se conserva a temperatura ambiente. El recalentamiento puede destruir el microorganismo pero no la toxina termorresistente que es la causante de la enfermedad (9).

**B. Manifestaciones clínicas**

El concepto de toxiinfección alimentaria (TIA) es un brote que ocurre cuando dos o más personas que compartieron un alimento desarrollan en un plazo menor a 72 horas, enfermedades gastrointestinales o neurológicas por la presencia de microorganismos o sus toxinas en el alimento (10).

Los signos característicos de una TIA por microorganismos son diarreas graves, vómitos y dolor abdominal; la ayuda diagnóstica sobresaliente en la persona es el corto período de incubación y el tiempo que transcurre entre la ingestión del alimento y la instalación de la enfermedad misma. El tiempo oscila entre 2 a 4 horas y la duración de los síntomas agudos por lo general es de menor de 24 horas, por lo que los individuos se sienten bastante debilitados por varios días. Por lo general no hay mortalidad, pero es recomendable que las personas se hospitalicen para recibir líquidos intravenosos con el objeto de restituir la pérdida de agua y electrolitos ocasionados por la diarrea y el vómito (11,12).

### **C. Epidemiología**

En todo el mundo han surgido epidemias por ETA's sobre las que no existe suficiente información para guiar las acciones de las instituciones de salud. Estas enfermedades, que en su mayoría tienen origen en deficiencias en los procesos de elaboración, almacenamiento, distribución y consumo de los alimentos, podrían ser de fácil prevención. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que sobre 1,300 millones de casos anuales de diarrea aguda en niños menores de 5 años, de los cuales mueren de 4 a 5 millones, se calcula que hasta el 70% de estos casos es provocado por alimentos contaminados, lo que da una idea de la magnitud del problema. También estima, que aunque es elevado el número de casos de ETA's notificados, estos son una pequeña fracción de lo que ocurre en la realidad; se calcula que en los países industrializados se informa menos del 10% de la cifra real. Para los países en vías de desarrollo, algunos especialistas consideran que de cien casos sólo uno es informado (13).

Entre 1,998 - 2,001, el Instituto Panamericano de Protección de Alimentos (INPPAZ) y la OPS/OMS, reportó 2,575 casos de ETA's en Centro América, clasificando los brotes según el microorganismo patógeno involucrado (Tabla 1) (14).

**TABLA 1. Brotes de ETA's en América Central según agente causal, 1,998-2,001**

<b>Agente causal</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
bacterias	60.84
virus	15.57
toxinas marinas	14.56
químicos	3.72
parásitos	3.51
toxinas vegetales	1.81

**Tomado de:** Carrera JA, Caballero TA. INPPAZ-OPS/OMS. Intoxicaciones e infecciones por alimentos. Rev. Panamá Salud Pública vol. 4, Washington March 2,001; 8:5-23. <http://intranet.inppaz.org.ar/nhp/ehome.asp>. Fecha de consulta: 19 de febrero 2,004.

Asimismo se estableció relación entre los brotes de ETA's con el alimento ingerido y el establecimiento donde se realizó el consumo. La OMS notificó que los brotes se debieron a la inadecuada manipulación de alimentos y a las malas prácticas higiénicas en el lugar del procesamiento de los mismos (Tabla 2) (14).

**TABLA 2. Brotes de ETA's en América Central según lugar de consumo, 1,998-2,001**

<b>Lugar de consumo</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
vivienda	38.1
comedores	14.3
escuelas	17.1
restaurante	6.1
unidad de salud	2.4
puestos callejeros	1.4
otros	20.5

**Tomado de:** Carrera JA, Caballero TA. INPPAZ-OPS/OMS. Intoxicaciones e infecciones por alimentos. Rev. Panamá Salud Pública vol. 4, Washington March 2,001; 18:5-23. <http://intranet.inppaz.org.ar/nhp/ehome.asp>. Fecha de consulta: 19 de febrero 2,004.

También se logró determinar los alimentos implicados con mayor frecuencia en enfermedades de transmisión alimentaria; éstos son los que comúnmente se encuentran en alto riesgo de contaminación ya sea porque están expuestos a mayor manipulación o porque sus características fisicoquímicas permiten que sean colonizados con mayor facilidad por bacterias patógenas (tabla 3) (14).

**TABLA 3. Brotes de ETA's en América Central según alimento implicado, 1,998-2,001**

<b>Alimentos identificados</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
agua	20.3
pescado	16.4
carnes rojas	14.8
mixtos	10.7
lácteos	8.7
otros	7.8
huevos/mayonesa	6.7
carnes de aves	5.7
hortalizas/legumbres	2.2
farináceos	1.8
hongos	1.6
postres	1.5
bebidas	1.3
Frutas	0.6

**Tomado de:** Carrera JA, Caballero TA. INPPAZ-OPS/OMS. Intoxicaciones e infecciones por alimentos. Rev. Panamá Salud Pública vol. 4, Washington March 2,001; 18:5-23. <http://intranet.inppaz.org.ar/nhp/ehome.asp>. Fecha de consulta: 19 de febrero 2,004.

Las estadísticas realizadas para Norteamérica estiman que cada año ocurren en los Estados Unidos 76 millones de casos de ETA's, siendo la mayoría reportes de casos leves

que causan síntomas durante sólo un día o dos. Algunos casos son más graves y la OPS/OMS estima que hay 325,000 hospitalizaciones y 5,000 muertes relacionadas con estas enfermedades cada año. Los casos más graves tienden a ocurrir entre los pacientes muy ancianos, los muy jóvenes, aquellos que tienen una enfermedad que produce la supresión del sistema inmunológico y en personas saludables expuestas a dosis muy elevada del microorganismo (15).

En Guatemala en el año de 1,993, el Ministerio de Salud Pública a través del Laboratorio Unificado de Alimentos y Medicamentos (LUCAM) y la Universidad de San Carlos de Guatemala realizaron un estudio para verificar la calidad microbiológica del queso fresco producido en fábricas artesanales y expandido en mercados cantonales del área urbana. Se recolectaron 100 muestras de queso fresco para determinar la presencia de *S. aureus* y *Salmonella* sp. basándose en las normas COGUANOR-NGO-34-197, y en parámetros canadienses para coliformes totales y fecales ya que en Guatemala éstos no están contemplados en las normas. El estudio concluyó que un 87.6 % de quesos analizados no cumplían con las normas vigentes aplicadas y que el crecimiento bacteriano estaba relacionado directamente con la forma de procesamiento y manipulación del queso (15).

#### **D. Principios de control microbiológico de los alimentos**

El empleo de las enterobacterias (coliformes y no coliformes) como microorganismos indicadores se basa en que estas bacterias son destruidas por los tratamientos de pasteurización, térmicos o clorados de aguas y alimentos con gran facilidad. Por esto, la presencia de altos valores de enterobacterias en los alimentos y aguas indica el fallo en el proceso de elaboración o de conservación que pueden acarrear riesgos para el consumidor (16,17).

### **1. Función del control microbiológico de los alimentos**

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino que simplemente es una inspección que permite valorar la carga de microorganismos. Puesto que el control microbiológico es un proceso analítico, es necesario seguir una serie de criterios sobre la toma de muestras y el análisis microbiológico de los productos finales (18,19). En este sentido, es necesario considerar :

- La distribución desigual de los microorganismos en los alimentos, lo que hace necesario seguir un esquema de toma de muestras para obtener resultados representativos (18,19).
- El número de criterios utilizados a la hora de juzgar la calidad microbiológica de los alimentos debe limitarse al mínimo necesario para así poder aumentar el número de análisis (18,19).
- Los criterios de análisis aplicados han de ser específicos de cada alimento porque son diferentes los microorganismos patógenos y alterantes de cada tipo de alimento (18,19).

## **2. Proceso de toma de muestras**

Un protocolo de análisis de alimentos correcto debe considerar:

- La heterogeneidad de la presencia de microorganismos en los alimentos (18,19).
- El proceso de transporte de las muestras del sitio de recolección al laboratorio evitando la multiplicación de los microorganismos presentes o la inactivación de algún microorganismo (18,19).
- Es necesario detectar bacterias que suponen entre  $10^{-4}$  y  $10^{-7}$  de la flora normal del alimento (18,19).
- Los tratamientos tecnológicos pueden producir daños subletales en los microorganismos que en esas condiciones, deben ser sometidos rigurosamente a medios selectivos y es necesaria la utilización de medios de recuperación (18,19).
- En cualquier caso, es necesario realizar una evaluación sistemática de los medios de cultivo para prevenir la variabilidad debida a pequeños errores en la preparación de los medios de cultivo (18,19).

El planteamiento del muestreo del alimento es diferente si se trata de un muestreo único (caso de una muestra que llega por primera o única vez al centro de control microbiológico) del muestreo repetido. Cuando hay que hacer un muestreo único del alimento hay que considerar que los datos de mayor importancia los proporcionan las normas de elaboración y conservación del alimento. Ningún muestreo único puede dar una garantía total de calidad microbiológica del alimento y, como norma general, es conveniente analizar un número de muestras equivalente al 1% si el lote es grande y al 10% si es pequeño. En el caso de un muestreo repetido, un sistema basado en el análisis de 10 muestras al azar y rechazo del lote cuando se detecte una defectuosa, obligará al fabricante a establecer medidas de seguridad suficientes para proteger adecuadamente al consumidor (18,19).

### **3. Microorganismos índice e indicadores**

Microorganismo índice es aquel cuya presencia alerta de la posible presencia de un microorganismo patógeno relacionado con él. (Ej.: *E. coli* índice de *S. typhi*). Mientras que microorganismo indicador es aquel cuyo número indica un tratamiento inadecuado o una contaminación posterior del alimento analizado (19).

Un microorganismo dado puede actuar como índice e indicador simultáneamente, incluso en un mismo alimento. A pesar de que actualmente es posible detectar casi cualquier tipo de microorganismo patógeno, se siguen llevando a cabo análisis de microorganismo determinados como marcadores por razones de economía, rapidez y sensibilidad (19). Los principales marcadores son: *E. coli*, y estreptococos del grupo D de Lancefield.

### **4. Seguridad y calidad de los productos alimentarios**

Se entiende por calidad el conjunto de características de un producto o servicio que satisface los deseos explícitos o implícitos del consumidor, con el fin de garantizar que los alimentos lleguen a los consumidores en buen estado y fresco. Las prácticas de elaboración adecuadas garantizan una calidad y una higiene constantes. El procedimiento basado en el análisis de los riesgos a través de los aspectos de seguridad alimentaria, son importantes, ya que se concentra en la prevención de errores en el proceso de elaboración, lo que elimina

por adelantado todo posible riesgo de contaminación. Además los fabricantes cumplen las normas de control de calidad de la Organización Internacional de Normalización (ISO) (20).

## **E. Productos lácteos**

Se define como la secreción láctea magra, fresca y limpia, que se obtiene del ordeño de una o más vacas sanas y bien alimentadas, estrictamente controlados para ofrecer un producto de excelente calidad. La leche debe contener no menos de un 3% de grasa de leche y no menos del 8.25% en sólidos no grasos. La leche como alimento proporciona no sólo calorías, sino también sales minerales, proteínas, carbohidratos y vitaminas. Las sales minerales, principalmente el calcio y el fósforo, juegan un papel importantísimo en el desarrollo y crecimiento de los niños (21).

### **1. Industrialización**

La leche tiene una infinidad de formas de industrialización, especialmente porque se ha desarrollado mucha tecnología, en cuanto a maquinaria y procesos se refiere; probablemente debido a que es un producto de mucha aceptación a nivel de consumidores en todo el mundo. De la leche se pueden obtener derivados directos, también se debe tener presente que la leche se puede usar como ingrediente importante en la elaboración de muchos otros productos alimenticios (22).

### **2. Derivados directos de la leche**

- queso y sus variedades
- leche fluida pasteurizada
- leche fluida pasteurizada UHT
- leche descremada
- leche en polvo
- yogurt
- leche cultivada
- natilla
- crema dulce

- helados
- bebidas
- dulce de leche
- mantequilla (22).

## **F. Queso fresco**

Es el producto lácteo sin madurar o madurado, obtenido por la coagulación, enzimática y/o ácida de leche, suero de leche, crema o cualquier combinación de los mismos, después de drenar el suero formado, con o sin aplicación de calor, y con o sin la adición de otros ingredientes y aditivos alimentarios (23).

La clasificación más general del queso los divide en queso madurado y queso no madurado. El queso no madurado es el que está listo para su consumo inmediatamente después de su fabricación; el queso madurado es el que no está listo para su consumo inmediatamente después de su fabricación sino que debe mantenerse durante determinado tiempo a una temperatura y condiciones específicas, con el objeto de permitir que bacterias, mohos o enzimas, produzcan transformaciones del queso fresco que den al producto final, el sabor, la textura, y la apariencia, propios de la clase de queso de que se trate (23).

### **1. Método tradicional para la elaboración de queso fresco**

Aunque la procedencia de la leche puede ser de diferentes especies animales, como oveja, cabra y búfalo, la mayor parte de los quesos que se consumen actualmente proceden de la leche de vaca. Un requisito para la elaboración de quesos es obtener leche de buena calidad sanitaria y fisicoquímica. También es necesario que el proceso de ordeñamiento y todas las manipulaciones posteriores sean efectuadas en condiciones de higiene adecuadas. La leche debe ser pasteurizada, es decir, sometida a tratamiento térmico que garantice la destrucción de las bacterias causantes de enfermedad. Una excepción a lo anterior es el queso añejo, en el cual se permite la utilización de leche “bronca” o cruda, siempre y cuando el producto sea vendido 100 días después de su fabricación. La razón de lo anterior es que el añejamiento destruye los organismos generadores de enfermedades, que pudieran estar presentes en la leche sin pasteurizar (23).

**a. Cuajado de la leche**

Una vez obtenida la leche, el siguiente paso es el cuajado o coagulación de la misma. Para lograrlo se puede recurrir a dos métodos: mediante microorganismos o a través de la adición de enzimas de origen animal (cuajo o fermento). Lo más común es hacerlo por medio del agregado del cuajo (23).

Al añadir el cuajo (en polvo, tabletas o líquido), la principal proteína de la leche (caseína), se separa del suero o fracción líquida de la misma. A este fenómeno, conocido como precipitación, se debe la formación de la cuajada o coágulo inicial (23).

Una vez bien mezclado el cuajo, es preciso que la leche quede en perfecto reposo. De lo contrario la coagulación se inicia mientras la leche todavía está en movimiento, lo cual provoca que el queso sea muy quebradizo. Si la adición del cuajo no es uniforme, en la leche, se obtienen quesos con porciones muy duras en su pasta. Mientras mayor es la acidez de la cuajada, ésta se hace más elástica hasta el punto en que el cuajo puede estirarse considerablemente. Si se calienta puede alargarse en filamentos gruesos. Esta es la característica típica de los quesos asaderos y del que se produce en Italia (Mozarella), el cual es también de alta elasticidad (23).

**b. Desuerado**

En toda clase de quesos, los coágulos que componen la cuajada, sufren un fenómeno de sinéresis (encogimiento) a partir de la expulsión del suero retenido en el mismo. Esta pérdida de agua da mayor firmeza a la cuajada. La combinación de la formación de la cuajada y el desuerado constituyen procesos de deshidratación o desecación de la leche que impide la proliferación inicial de bacterias y favorece la conservación del producto. La eliminación de humedad durante el proceso determina y condiciona la consistencia final del queso, su contenido de lactosa y por lo tanto de ácido láctico, con sus posteriores repercusiones fisicoquímicas y microbiológicas (23).

Los quesos no madurados (caracterizados por su alta humedad), se obtienen a partir de cuajadas muy poco desueradas y es por esta razón que son muy vulnerables a la acción

de las bacterias, hongos y levaduras que pueden originar tanto la descomposición del queso, como producir efectos dañinos en la salud del consumidor (23).

**c. Salado**

Salvo muy raras excepciones a todas las variedades de queso se le añade sal en alguna de las etapas de su elaboración. Los métodos más frecuentes de aplicación consisten en poner el queso fresco en una salmuera fuerte o en frotar su superficie con sal seca. La concentración de este ingrediente en el producto depende de la sal en la salmuera, el tiempo y temperatura de exposición, la relación de la superficie con el volumen del queso, así como su contenido de humedad. La sal influye en el sabor del queso, elimina suero de la cuajada y contribuye a regular la humedad y la acidez. También ejerce un control sobre el crecimiento de los microorganismos indeseables, pues regula la microbiota del queso (23).

La cuajada, una vez salada, constituye el queso en bruto. Ya desuerado se presenta como una masa blanquecina, insípida y semiconsciente. A excepción de los quesos frescos, las distintas variedades son sometidas a un proceso de maduración, en el que adquieren el sabor, olor y otras características propias de estos productos (23).

**G. Técnicas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)**

**1. Materias primas**

Las materias primas deben ser almacenadas en condiciones apropiadas que aseguren la protección contra contaminantes. El depósito debe estar alejado de los productos terminados, para impedir la contaminación cruzada. Además, deben tenerse en cuenta las condiciones óptimas de almacenamiento como temperatura, humedad, ventilación e iluminación (25).

**2. Establecimientos**

Dentro de estos parámetros hay que tener en cuenta dos situaciones, la estructura y la higiene:

- **Estructura**

El establecimiento no debe estar ubicado en zonas que se inundan, que contengan olores objetables, humo, polvo, gases, luz y radiación que pueden afectar la calidad del producto que elaboran. Las vías de tránsito interno deben tener una superficie pavimentada para permitir la circulación de camiones, transportes internos y contenedores (25).

En los edificios e instalaciones, las estructuras deben ser sólidas y sanitariamente adecuadas, y el material no debe transmitir sustancias indeseables. Las aberturas deben impedir la entrada de animales domésticos, insectos, roedores, moscas y contaminantes del medio ambiente como humo, polvo, vapor. Asimismo, deben existir tabiques o separaciones entre cada clase de productos para impedir la contaminación de un producto con otro o contaminación cruzada, para ello el espacio debe ser amplio y los empleados deben tener presente que la operación se realiza en cada sección, para impedir la contaminación cruzada. Además, debe tener un diseño que permita realizar eficazmente las operaciones de limpieza y desinfección. El agua utilizada debe ser potable, ser provista a presión adecuada y a la temperatura necesaria. Asimismo, tiene que existir un desagüe adecuado (25).

Los equipos y los utensilios para la manipulación de alimentos deben ser de un material que no transmita sustancias tóxicas, olores ni sabores. Las superficies de trabajo no deben tener hoyos, ni grietas. Se recomienda evitar el uso de maderas y de productos que puedan corroerse. La pauta principal consiste en garantizar que las operaciones se realicen higiénicamente desde la llegada de la materia prima hasta obtener el producto terminado (25).

### **3. Personal**

Se recomienda que todas las personas que manipulen alimentos reciban capacitación sobre BPM, la cual es responsabilidad de la empresa y debe ser adecuada y continua. Debe controlarse el estado de salud y la aparición de posibles enfermedades contagiosas entre los manipuladores. Por esto, las personas que están en contacto con los alimentos deben someterse a exámenes médicos, no solamente previamente al ingreso, sino periódicamente.

Cualquier persona que perciba síntomas de enfermedad tiene que comunicarlo inmediatamente a su superior (25,26).

Por otra parte, ninguna persona que sufra una herida puede manipular alimentos o superficies en contacto con alimentos hasta su recuperación. Es indispensable el lavado de manos de manera frecuente y minuciosa con un agente de limpieza autorizado, con agua potable y con cepillo. Debe realizarse antes de iniciar el trabajo, inmediatamente después de haber hecho uso de los retretes, después de haber manipulado material contaminado y todas las veces que las manos se vuelvan un factor contaminante. Debe haber indicadores que obliguen a lavarse las manos y un control que garantice el cumplimiento. Todo el personal que esté de servicio en la zona de manipulación debe mantener la higiene personal, debe llevar ropa protectora, calzado adecuado y cubrecabeza. Todos deben ser lavables o descartables. No debe trabajarse con anillos, colgantes, relojes y pulseras durante la manipulación de materias primas y alimentos (26,27).

La higiene también involucra conductas que puedan dar lugar a la contaminación, tales como comer, fumar, ensalivar u otras prácticas antihigiénicas. Asimismo, se recomienda no dejar la ropa en el área de producción ya que son fuertes contaminantes (25,26).

#### **4. Higiene en la elaboración**

Durante la elaboración de un alimento hay que tener en cuenta varios aspectos para lograr una higiene correcta y un alimento de buena calidad. Las materias primas utilizadas no deben contener parásitos, microorganismos o sustancias tóxicas, descompuestas o extrañas. Todas las materias primas deben ser inspeccionadas antes de utilizarlas, en caso necesario debe realizarse un ensayo de laboratorio que cumpla con las normas requeridas. Y como se mencionó anteriormente, deben almacenarse en lugares que mantengan las condiciones que eviten su deterioro o contaminación (27).

Los manipuladores u operarios deben lavarse las manos frecuentemente, ya que pueden provocar alguna contaminación en la materia prima o durante el proceso de

elaboración. Si se sospecha de alguna contaminación, se debe aislar el producto y lavar adecuadamente todos los equipos y los utensilios que hayan tomado contacto con el mismo (26,27).

El agua utilizada debe ser potable y debe haber un sistema independiente de distribución de agua recirculada que pueda identificarse fácilmente. La elaboración o el procesado debe ser llevado a cabo por empleados capacitados y supervisados por personal técnico. Los recipientes deben tratarse adecuadamente para evitar su contaminación y deben respetarse los métodos de conservación (27).

El material destinado al envasado y empaque debe estar de preferencia estéril y no debe permitir la migración de sustancias tóxicas. Debe inspeccionarse siempre con el objetivo de tener la seguridad de que se encuentra en buen estado. En la zona de envasado sólo deben permanecer los envases o recipientes necesarios. Deben mantenerse documentos y registros de los procesos de elaboración, producción y distribución y conservarlo durante un período superior a la duración mínima del alimento (27).

## **5. Almacenamiento y transporte de materias primas y producto final**

Durante el almacenamiento debe realizarse una inspección periódica del producto terminado, revisando la temperatura de almacenamiento para evitar la descomposición y el posible crecimiento de microorganismos. La materia prima no debe ser almacenada junto con el producto terminado para evitar algún tipo de contaminación cruzada. Los vehículos de transporte deben estar autorizados por un organismo competente y recibir un tratamiento higiénico similar al que se da al establecimiento. Los alimentos refrigerados o congelados deben tener un transporte equipado especialmente, que cuente con medios para verificar la humedad y la temperatura adecuada (27,28).

## **6. Control de procesos en la producción**

Para tener un resultado óptimo en las BPM son necesarios ciertos controles que aseguren el cumplimiento de los procedimientos y los criterios para lograr la calidad esperada en un alimento, garantizar la inocuidad y la genuinidad de los alimentos (28).

Los controles sirven para detectar la presencia de contaminantes físicos, químicos y/o microbiológicos. Para verificar que los controles se lleven a cabo correctamente, deben realizarse análisis que monitoreen si los parámetros indicadores de los procesos y productos reflejan su estado real. Por ejemplo se pueden realizar controles de residuos de pesticidas, detector de metales y controlar tiempos y temperaturas. Lo importante es que estos controles deben tener, al menos, un encargado (29).

## **7. Documentación**

La documentación es un aspecto básico, debido a que tiene el propósito de definir los procedimientos y los controles. Además, permite un fácil y rápido rastreo de productos ante la investigación de productos defectuosos. El sistema de documentación deberá permitir diferenciar números de lotes, siguiendo la historia de los alimentos desde la utilización de insumos hasta el producto terminado, incluyendo el transporte y la distribución (29).

## **H. Control de calidad en la industria lechera**

A través de los años, el hombre se ha obsesionado y preocupado por mantener la salubridad y los adecuados caracteres organolépticos de los alimentos recolectados o procesados. En el siglo anterior se registró un cambio de importancia en la prosecución de estos objetivos a partir de los descubrimientos de Appert y Pasteur, quienes lograron diseñar los primeros métodos de reducción de patógenos y aumento de la conservación de los alimentos. Posteriormente se observó la industrialización de los procesos de elaboración, aplicando los principios básicos descubiertos por los investigadores antes mencionados, más el agregado de “nuevas” tecnologías, tales como la congelación, refrigeración, deshidratación controlada, envasado aséptico, etc. Como consecuencia de ello, la industria, los centros de investigación y los organismos estatales se vieron impulsados a desarrollar diversos estándares que pudieran definir la clasificación, denominación y condiciones de seguridad que deben presentar los alimentos en sus diferentes presentaciones (30).

El resultado de estos trabajos fue reflejado en leyes locales, códigos de práctica, reglas y otros documentos, los cuales en algunos casos no cubrían las particularidades de cada caso y no ofrecían la garantía suficiente sobre las condiciones de seguridad que el alimento pudiese requerir (30).

Para resolver este dilema, el Dr. Howard Bauman de la Pillsbury Company en forma conjunta con la Agencia de Aeronavegación Espacial de los EE.UU. (NASA) y los Laboratorios de la US Army en Natick, desarrollaron un sistema de calidad que garantiza la inocuidad de los alimentos desde las primeras etapas de fabricación, actuando en forma preventiva, el cual se denominó “Sistemas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control” (HACCP o Hazard Analysis of Critical Control Points en su sigla inglesa) (30).

### **1. Aplicación de los principios del HACCP**

La implementación de un sistema HACCP en cualquier etapa de la producción de alimentos requiere del empeño y el compromiso fundamental de la dirección de la empresa. Cuando se identifiquen y analicen los peligros, se deben efectuar las operaciones posteriores para elaborar y aplicar un sistema HACCP; en el cual se deberán tener en cuenta las repercusiones de: materias primas e ingredientes, prácticas de manufactura, importancia del control de los peligros, probable uso que tendrá el producto elaborado, grupos vulnerables de consumidores y datos epidemiológicos relativos a la inocuidad de los alimentos. La finalidad del sistema HACCP es lograr que el control se centre en los puntos críticos de control. Por esta razón, es imprescindible que dicho control sea absolutamente efectivo (30).

### **2. Aplicación del sistema HACCP**

La aplicación de los principios del sistema HACCP consta de una serie de operaciones ordenadas en una secuencia lógica. Éstos establecen los requisitos mínimos para su aplicación (30). El sistema de Análisis de Riesgos e identificación de Puntos Críticos de Control (HACCP) está basado en los siguientes principios:

**a. Realizar un análisis de riesgos (Hazard Analysis)**

Ello implica la identificación de los posibles peligros asociados con la producción de alimentos en todas las fases (incluyendo el método de preparación y tipo de consumidor), la evaluación de la probabilidad de que los mismos se produzcan y el establecimiento de las medidas preventivas para su control (Anexo 1) (31).

El análisis de los peligros asociados a la materia prima y a cada fase del proceso debe incluir la presencia probable de peligros tales como la supervivencia y/o proliferación de los microorganismos involucrados, la producción y/o persistencia de toxinas, productos químicos y agentes físicos en los alimentos, así como también las condiciones que pudieran dar origen a los peligros mencionados. En este análisis se debe determinar la probabilidad de ocurrencia de peligros asociados a las materias primas y/o fases del proceso mediante los conocimientos previos y las observaciones del método de preparación y consumo (Anexo 1,2) (31).

**b. Determinar los puntos críticos de control (PCC)**

La determinación de los Puntos Críticos de Control (PCC) en el proceso de elaboración puede en muchas ocasiones, verse facilitada por la aplicación de una secuencia lógica de decisiones que deben permitir identificar si la fase o materia prima constituye un PCC. En tal sentido se deberán tomar en cuenta todos los puntos relevantes en el análisis de peligros, que razonablemente se pudiera prever que se presentarán durante el proceso (31).

La aplicación de una secuencia de decisiones debe realizarse de manera flexible, considerando si la operación está destinada a la producción, a la elaboración, al almacenamiento, a la distribución o a otro fin. Tal secuencia de decisiones, denominada usualmente “*árbol de decisiones*”, debe utilizarse como guía en la determinación de los PCC, pero puede suceder que no deba ser aplicada a todas las situaciones, permitiéndose también la utilización de otros enfoques (Anexo 3, 4). En todos los casos es muy importante impartir capacitación para la determinación de los PCC (31).

En el caso de llegar a determinar la existencia de un riesgo en una fase o materia prima en la que el control es estrictamente necesario para mantener la inocuidad y no existe medida preventiva que pueda adoptarse, se debe entonces realizar una modificación en la especificación de la materia prima, en el diseño del producto y/o en el proceso de elaboración, a modo de incluir una medida preventiva (31).

**c. Establecer los límites críticos para cada PCC**

La importancia que tiene la especificación de los límites críticos radica fundamentalmente en permitir efectividad en el control de cada punto crítico. No se requiere establecer dichos límites en el caso de aquellos peligros que, luego de aplicar el principio 2, no se constituyen en un PCC. Por otra parte, debe diferenciarse un Punto de Control (PC) de un Punto Crítico de Control (PCC), ya que los primeros, a pesar de poseer también límites críticos, se relacionan con la calidad y no con la seguridad. En determinados casos puede requerirse especificar más de un límite crítico para una misma fase u operación del proceso de elaboración (por ejemplo la relación tiempo / temperatura durante la pasteurización) (31).

Los límites críticos están constituidos generalmente por parámetros medibles. Entre los criterios usualmente aplicados se pueden mencionar las mediciones de temperatura, tiempo, porcentaje de humedad, pH, contenido de agua, cloro disponible, así como también ciertas evaluaciones subjetivas tales como el aspecto y la textura del alimento. Es fundamental tener claro que los límites críticos establecen la diferencia en cada PCC, entre productos seguros y peligrosos (31).

**d. Establecer un sistema de monitoreo que asegure el control de los PCC**

El sistema de monitoreo debe asegurar para cada PCC que sus límites críticos no sean excedidos. Por esta razón, los procedimientos adoptados deben ser capaces de detectar cualquier pérdida del control en el PCC. Es necesario entonces, que el equipo HACCP determine los criterios mediante el establecimiento de acciones específicas de monitoreo, así como también la frecuencia del método, lugar del monitoreo y la

designación de un responsable directo. Esta persona, con conocimientos y competencia para aplicar las medidas correctivas en caso que fuere necesario, debe evaluar los datos obtenidos a partir del sistema de vigilancia. La información debe ser debidamente documentada y, junto con los registros obtenidos a partir del sistema de vigilancia, firmadas por la persona responsable de dicho sistema así como también por aquellas personas encargadas de las evaluaciones (31).

Los procedimientos de vigilancia establecidos deben permitir un rápido flujo de la información generada ya que usualmente son aplicados a procesos continuos de elaboración que no permiten la realización de análisis prolongados. Por tal motivo, preferentemente se adoptan las mediciones de parámetros físicos y/o químicos que permiten la aplicación inmediata de las medidas correctivas, quedando reservados los ensayos microbiológicos para aquellos PCC que así lo requieran (por ejemplo el análisis de *Salmonella* en leche en polvo para mezcla en seco). En el caso que el monitoreo no fuera continuo, su grado y/o frecuencia debe ser suficientes como para asegurar que el PCC esté bajo control (31).

**e. Establecer las acciones correctivas**

A cada PCC se le debe asignar en el plan de HACCP, una o más acciones que permitan la rectificación en el caso de producirse alguna desviación fuera de los límites críticos establecidos, asegurando que el PCC vuelva a estar bajo control. Dichas acciones correctivas debe aplicarse cuando el sistema de monitoreo indique una tendencia hacia la desviación de un PCC, tratando de restablecer el control antes de que dicha desviación comprometa la inocuidad del alimento (31).

También deben tomarse acciones en relación con el destino que se dará al producto elaborado y que resultó afectado, cuando el proceso estaba fuera de control. La totalidad de los procedimientos adoptados en relación a las desviaciones y al destino del producto deberán documentarse en los registros del sistema HACCP (31).

**f. Establecer procedimientos de verificación**

Se deben establecer los procedimientos adecuados que permitan verificar el correcto funcionamiento del sistema HACCP implementado, con una frecuencia de verificación suficiente para validar a dicho sistema. Para ello se pueden utilizar métodos, procedimientos y ensayos de verificación y comprobación, entre los cuales se incluye el muestreo aleatorio y el análisis correspondiente (31). Entre las actividades de verificación que podrían llevarse a cabo se pueden mencionar:

- evaluación del sistema HACCP y de sus registros
- evaluación de las desviaciones y del destino del producto
- operaciones que confirmen que los PCC estén bajo control (31).

**g. Establecer un sistema de documentación**

Para la aplicación del HACCP es fundamental contar con un sistema de registros eficiente y preciso. Esto debe incluir documentación sobre los procedimientos el HACCP en todas las fases, los cuales deberían formar parte de un manual. Debe documentarse la totalidad de los procedimientos y para ello se debe contar con los registros de las desviaciones, de PCC (referidos a inocuidad del producto, ingredientes, elaboración, envasado, almacenamiento y distribución), así como también cualquier modificación introducida en el sistema HACCP ya implementado. El concepto de este principio es básicamente poder demostrar, a través de los registros, que el HACCP está funcionando bajo control y que se ha realizado una acción correctiva cuando se ha producido alguna desviación. Dicho concepto, globalmente implica la fabricación de productos seguros (31).

**3. Capacitación**

La aplicación eficaz de los principios del HACCP requiere como elemento esencial la capacitación del personal de las industrias y de los organismos gubernamentales vinculados a la fiscalización y auditoría de los procesos de elaboración de alimentos; así como todas aquellas personas que se desempeñan en el ámbito académico. Esta capacitación deberá estar orientada a los principios y a la aplicación misma de los sistemas HACCP (32,33).

La cooperación entre productores primarios, industrias, grupos comerciales, organizaciones de consumidores y autoridades competentes es de máxima importancia. Deberá ofrecerse oportunidad para la capacitación conjunta del personal de la industria y de los organismos oficiales de control, con el fin de fomentar y mantener un diálogo permanente y crear un clima de comprensión para la aplicación práctica del sistema HACCP. En el ámbito industrial debe formularse instrucciones y procedimientos de trabajo que definan las tareas del personal responsable de la operación asociada a cada PCC, quienes deben ser identificados (34).

## **I. Métodos de control para análisis microbiológico**

### **1. Técnica de conteo en placas Petrifilm**

La técnica de petrifilm 3M ayudan a maximizar la productividad e incrementar la eficiencia en el laboratorio. Esta técnica hace más eficiente y simple el proceso de muestreo microbiológico, ya que es más sencilla que la técnica del número más probable (NMP), reduce las horas requeridas para realizar el muestreo microbiológico (de 24 hrs a 48 hrs de incubación), aumenta su productividad, y proporciona resultados consistentes y fáciles de interpretar utilizando las normas estándares para tal técnica. También juega un papel importante en los procesos de alimentos ya que ayuda a verificar la inocuidad en los puntos críticos de control (PCC) y puntos de control (PC), incluyendo líneas de producción, equipo y evaluación ambiental (35).

#### **a. Cuantificación de *E. coli* a través de films secos (petrifilm 3M)**

Las placas petrifilm 3M para recuento de *E. coli* constituyen un sistema listo para usarse, contiene los elementos nutritivos del medio bilis rojo violeta (VRB), un agente gelificante, un indicador de actividad de glucuronidasa y un indicador químico. Está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno sobre la cual se encuentra el medio de cultivo conteniendo nutrientes del medio VRB, el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucurónido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría (área donde crecen los microorganismos). Se complementa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricloruro de trifetil tetrazolio (ó TTC) que sirve como indicador (35-37).

## **2. Cuantificación y aislamiento de *S. aureus* en el medio Baird- Parker**

El crecimiento de *S. aureus* en comidas presenta un peligro potencial para la salud, debido a que algunas cepas producen enterotoxinas, las que dependiendo de su concentración e inmunidad del individuo causan intoxicación alimenticia al ser ingeridas. La determinación de *S. aureus* en el laboratorio es por enumeración, ya que se necesita de un mínimo de  $10^6$  células de una cepa toxigénica para que la toxina presente ocasiones trastornos gastrointestinales en el humano (38).

### **a. Fundamento del método**

Es un medio de alta especificidad diagnóstica y selectividad para el aislamiento y recuento de estafilococos coagulasa positivo en alimentos. El medio preparado y completo contiene cloruro de litio y telurito de potasio para inhibir el desarrollo de la flora microbiana acompañante, mientras que el piruvato de sodio y la glicina estimulan selectivamente el crecimiento de estafilococos. El agregado de yema de huevo permite visualizar colonias convexas de color negro rodeado de una zona transparente debido a la lipólisis y proteólisis. Las mismas deben ser confirmadas por la prueba de coagulasa (39).

Existen varios factores que afectan el aislamiento y enumeración de *S. aureus* tales como el estado físico del alimento y la competencia de otros microorganismos. Los medios con demasiada sal no se utilizan para el aislamiento de *S. aureus* en alimentos, ya que pueden inhibir su crecimiento (40).

## **3. Aislamiento e identificación de *Salmonella* sp. por medio del caldo Salmocyst y el agar Rambach**

Debido a que el procedimiento convencional para la determinación y el aislamiento de *Salmonella* sp. requiere de tres a seis días para obtener un resultado de ausencia o presencia, se han descrito otros procedimientos para simplificar la técnica y reducir el tiempo para obtener resultados. Entre estos métodos se hallan el uso de caldo Salmocyst y el agar Rambach como método rápido de detección de *Salmonella* sp., puede reducir el tiempo total de análisis a solamente 48 horas (41).

El caldo base Salmocyst de pre-enriquecimiento que emplea esta metodología contiene únicamente nutrientes, electrolitos y sustancias reguladoras del pH y en él se efectúa un pre-enriquecimiento rápido de 6 a 8 horas para posteriormente agregar un suplemento que proporciona selectividad al caldo para luego incubar de 18 a 22 horas más (41).

Posterior a esto, se utiliza agar Rambach como medio sólido selectivo. Este medio ha sido formulado para distinguir *Salmonella* sp. de otras enterobacterias debido a la capacidad de las primeras de producir ácido a partir de propileno-glicol y debido a la capacidad de las últimas de producir la  $\beta$ -galactosidasa (41).

**a. Ventajas del método caldo Salmocyst y agar Rambach**

Al comparar este método con uno de los métodos convencionales en muestras de carnes crudas contaminadas artificialmente se demostró que ambos métodos eran capaces de detectar al menos 0.4 UFC/ gr. de *S. enteritidis*. Sin embargo, en alimentos contaminados naturalmente, incluyendo carnes de res, pollo, cerdo y caballo, el método rápido mostró una sensibilidad más alta (97.9%) que el métodos convencional (81.2%) (42).

**4. Valores microbiológicos de referencia para queso fresco según las normas COGUANOR y parámetros de la ICMSF**

COGUANOR cuenta con la norma NGO 34 197 que tiene por objeto establecer las características y especificaciones que deben cumplir los quesos no madurados, producidos en el país o de origen extranjero; actualmente sólo se contemplan parámetros microbiológicos para *Staphylococcus aureus* por gramo y *Salmonella* en 25 gramos (Tabla 5) (28).

**TABLA 5. Características microbiológicas del queso fresco**

<b>Microorganismos</b>	<b>n</b>	<b>c</b>	<b>m</b>	<b>M</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> , por gr	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella</i> sp., en 25 gr	5	0	0	0

n = número de muestras que debe analizarse; c = número de muestras que se permite que tenga un recuento mayor que m pero no mayor que M; m = recuento mínimo recomendado; M = recuento máximo permitido.

**Tomado de:** Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) NGO-34-197, Ministerio de Economía, Guatemala C.A., 1,999.

Los parámetros microbiológicos para coliformes totales y fecales en queso fresco están normados por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF), los cuales ya se utilizan en Cuba; dichos parámetros serán utilizados para la clasificación microbiológica del queso fresco (Tabla 6) (28).

**TABLA 6. Parámetros microbiológicos para queso fresco sugeridos por la ICMSF**

<b>Microorganismo</b>	<b>Unidades Formadoras de Colonias (UFC)</b>
coliformes fecales	menor a 10
<i>Escherichia coli</i>	ausente

**Tomado de:** Parámetros sugeridos por la Comisión internacional de especificaciones para alimentos (ICMSF). Ed. Tabella, Cuba 2,000.

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Actualmente estudiantes y operarios de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, procesan artesanalmente derivados lácteos entre los que se encuentra el queso fresco; la unidad de comercialización de dicha facultad se encarga de expender el queso a consumidores que trabajan o estudian en el campus universitario sin embargo, aunque es un producto comercial con alta demanda no es sometido a evaluación microbiológica previo a llegar a su destino final que es el consumidor.

Debido a que las patologías asociadas a transmisión alimentaria son muy comunes y son producidas por la ingestión de microorganismos o de toxinas bacterianas presentes en los alimentos, este trabajo va dirigido a evaluar y mejorar la calidad microbiológica del queso fresco producido en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Realizar dos acciones concretas, determinar el número de coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp., y verificar el proceso de elaboración y distribución del queso fresco para mejorar su calidad, con esto se pretende proteger la salud del consumidor, proporcionándoles alimentos inocuos, sanos, completos y evitar intoxicaciones alimentarias en la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Con los resultados obtenidos se persigue apoyar a otras instituciones, empresas, etc., para que adopten las medidas y precauciones en la elaboración de dicho producto.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Establecer la calidad microbiológica de los quesos frescos, elaborados artesanalmente y expendidos por la Unidad de Comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### B. Específicos

1. Realizar y aplicar un análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP), en todo el proceso de elaboración del queso fresco artesanal, desde la materia prima hasta el producto final.
2. Establecer por medio de análisis microbiológico las acciones correctivas para cumplir el cometido, que el queso fresco sea apto para consumo humano.
3. Elaborar e implementar un programa de calidad, basado en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), de uso continuo en la elaboración y manipulación del queso fresco artesanal que garantice el consumo del producto.
4. Capacitar a operarios encargados de la elaboración del queso fresco artesanal, en lo referente a manipulación de los alimentos.

## **VI. HIPÓTESIS**

Los recuentos microbiológicos de las muestras de queso fresco analizadas postintervención, disminuirán con respecto a los recuentos microbiológicos de las muestras preintervención, y estarán dentro de los recuentos máximos permitidos según la norma COGUANOR-NGO-34-197 vigentes y parámetros sugeridos por la Comisión internacional de especificaciones para alimentos ICMSF.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo de trabajo

El universo del estudio comprendió dos lotes de queso fresco producido en la unidad de comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### Muestras

Queso fresco que se recolectó aleatoriamente; comprendiendo un total de 20 muestras de las cuales, 10 se recolectaron en fase preintervención y las restantes 10 en fase postintervención.

### B. Recursos humanos

Tesista: Br. Heidy Xiomara Barrios Centeno.

Asesora: Licda. Brenda López de Quevedo.

### C. Recursos institucionales

- Sección de Control Microbiológico de Alimentos, Unidad de Salud-Bienestar Estudiantil-Dirección General de Docencia-, edificio T-8 Facultad de Agronomía, 3<sup>er</sup> nivel, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Unidad de Comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

### D. Recursos materiales

#### 1. Equipo

incubadora bacteriológica a  $32 \pm 1$  °C

refrigeradora  $4$  °C  $\pm$   $2$  °C

cámara de Québec

campana de seguridad con flujo laminar

balanza semianalítica (2,000 g de capacidad, sensibilidad de 0.1 g)

asas bacteriológicas

mechero Bunsen

cucharas estériles

espátulas

## 2. **Cristalería**

pipetas graduadas estériles de 1 y 10 cc

varilla de vidrio en forma de gancho

cajas de petri

erlenmeyers

tubos de rosca para cultivo

## 3. **Medios de cultivo**

placa petrifilm 3M de Coliformes y *E. coli*

agar Baird-Parker

agar Rambach

agua peptonada al 0.1 % estéril

caldo Salmocyst de pre-enriquecimiento (CSP)

caldo infusión cerebro corazón (BHI)

caldo tripticasa soya con 10 % NaCl + 1 % de piruvato de sodio

plasma de conejo con EDTA

emulsión de yema de huevo-telurito al 10 %

## 4. **Reactivos**

antisuero somático (O) polivalente de *Salmonella*

antisuero flagelar (H) polivalente de *Salmonella*

## E. **Metodología**

### 1. **Elaboración del diagrama de flujo del queso fresco**

Se realizaron visitas permanentes por dos semanas de 7:00 a.m. a 10:00 a.m. a la unidad de comercialización de la Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia, y se propuso un diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco (Anexo 5).

## **2. Implementación de HACCP**

Se realizó un Sistema de Análisis de Riesgos e Identificación de Puntos Críticos de Control (HACCP) como ya se mencionó en los antecedentes, por medio del diagrama de producción del queso fresco propuesto (Anexo 6).

## **3. Recolección de muestras**

### **a. Primera recolección**

Se realizó un muestreo aleatorio durante una semana de todo el proceso de producción del queso fresco sin acciones correctivas. Se recolectaron muestras de cada punto de control (PC) y punto crítico de control (PCC) del proceso, incluyendo producto final (Anexo 5). Las muestras se trasladaron y procesaron en la sección de Control Microbiológico de Alimentos, Unidad de Salud-Bienestar Estudiantil- Dirección General de Docencia-, edificio T-8 Facultad de Agronomía, 3<sup>er</sup> nivel, USAC.

## **4. Procesamiento de la primera recolección de muestras**

### **a. Recuento de coliformes fecales y *E. coli* (38)**

Se realizó la técnica de cuantificación de coliformes y *E. coli* utilizando placas petrifilm 3M procediendo de la siguiente manera:

- Se pesó 25 gr de muestra en una balanza analítica.
- Luego se agregó 90 cc de agua peptonada como diluyente al frasco Manson.
- Se mezcló y se homogenizó la muestra durante 2 minutos.
- Se realizó la dilución 1: 10 de la muestra.
- Se colocó la placa petrifilm en una superficie plana, y se levantó el film superior para la inoculación de 1 cc muestra, evitando que se introdujera burbujas de aire.
- Se esparció con el aplicador la muestra a lo largo de la placa petrifilm por un minuto.
- Se incubó las placas petrifilm en posición cara arriba, a  $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 hrs.

- Posteriormente se observó si hubo crecimiento de colonias con un viraje de la placa a un color azul violeta y producción de gas a su alrededor, el cual indicó la presencia de *E. coli*, y las colonias de color rosado intenso sin producción de gas fueron un indicador de coliformes fecales .
- Se contaron las placas en la cámara de Québec, para obtener los recuentos de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/gr).

**b. Cuantificación de *S. aureus* (40)**

Se realizó la cuantificación de *S. aureus* utilizando el método de Baird-Parker de la siguiente manera:

- Se preparó el medio de agar Baird-Parker.
- Luego se preparó una dilución 1:10 de la muestra que se analizó, se midió 10 cc y se agregó 90 cc de agua peptonada al 0.1 % y se homogenizó.
- Se realizaron las diluciones adecuadas (1:10, 1:100 y 1:1000) de acuerdo al producto que se analizó..
- Se esparció 1 cc de cada dilución en 3 cajas de agar Baird-Parker.
- Se homogenizó el inóculo sembrado en la superficie del medio con una varilla de vidrio en forma de gancho.
- Se dejó que el inóculo se absorbiera en el agar y se incubó a 35 °C por 48 horas.
- Así mismo se seleccionaron y cuantificaron las cajas que contenían entre 20-200 colonias típicas de *S. aureus*. Las colonias presentaron morfología circular, convexa y húmeda, un diámetro de 2-3 mm y de color negro rodeadas de un halo opaco y estéril, a su vez, rodeado de una zona clara la cuál se debió a la precipitación de la yema de huevo.
- Luego se seleccionó una o más colonias de cada tipo y se realizó una coloración de Gram confirmándose la presencia de coco Gram positivo agrupados en racimos.
- Se sembró cada colonia sospechosa en un vial que contenía 0.3 cc caldo tripticosa soya (CTS).
- Se incubó a 35 °C por 24 horas.

- Se adicionó 0.5 cc de plasma de conejo al crecimiento obtenido en CTS.
  - Se mezcló e incubó a 35 °C durante 4-6 horas.
  - Se observó la formación de un coágulo completo y firme que no se movía al invertir el tubo confirmándose como prueba positiva (++++) y se reportaron las UFC/gr.
- c. Aislamiento e identificación de *Salmonella* sp. utilizando caldo Salmocyst y agar Rambach (42)**

Se realizó el aislamiento e identificación de *Salmonella* sp. utilizando caldo Salmocyst y agar Rambach como se describe a continuación:

- Se pesó 25 gr. del alimento a analizar y se añadió 225 ml de caldo Salmocyst de pre-enriquecimiento (CSP).
- Se homogenizó cada muestra y se incubó a 35-36 °C por 6 horas.
- Luego se realizó el enriquecimiento selectivo con 10 ml de caldo CSP al cual se le añadió una tableta suplementaria y se incubó por 18 horas a  $35 \pm 1$  °C.
- Se estirió una asada de caldo de cultivo en una placa de agar Rambach y se incubó a  $35 \pm 1$  °C por 24 horas.

## **5. Establecer las acciones correctivas y dar capacitación al personal**

Se establecieron las acciones correctivas y se capacitó al personal de la siguiente forma:

- Se implementó una pasteurización rápida de la leche fresca por medio de ensayo y error hasta obtener la temperatura y tiempo adecuados para reducir la presencia de microorganismos a niveles aceptable según parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR NOG-34-197 y mantener las características organolépticas del producto (Anexo 6 y 7).
- Se establecieron las acciones correctivas en los pasos del proceso considerados como puntos críticos de control (PCC) y de los que se observaron un elevado recuento microbiológico de acuerdo con los parámetros y normas utilizados (Anexo 7).

- Se capacitó al operario de la unidad de comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia sobre buenas prácticas de manufactura (BPM) e inocuidad de alimentos por medio de recursos audiovisuales y una parte práctica en la planta de proceso.
- Se supervisó el proceso de producción verificando las aplicaciones de las acciones correctivas que se implementaron para mejorar la calidad microbiológica, también se resolvieron las dudas y complicaciones que surgieron al momento de poner en práctica las acciones correctivas.

## **6. Recolección de muestras**

### **a. Segunda recolección**

Se procedió a la segunda recolección de muestras con el método implementado, se realizó un muestreo aleatorio en la semana de todo el proceso de producción del queso fresco con las acciones correctivas. Las muestras se obtuvieron de cada punto de control (PC) y punto crítico de control (PCC) del proceso, incluyendo producto terminado en los mismos puntos del primer muestreo bajo las mismas condiciones (Anexo 8).

## **7. Procedimiento de la segunda recolección de muestras**

Para el procesamiento de las muestras se utilizaron las mismas metodologías que en primera recolección de muestras.

## **8. Evaluación de resultados**

Los resultados se evaluaron de la siguiente manera:

- Se compararon los resultados de los PC y PCC en el primer y segundo muestreo para ver si hubo una disminución en los recuentos microbiológicos de coliformes fecales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.
- Se observó que los recuentos microbiológicos en producto final del primer muestreo no cumplían con los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR NGO-34-197, mientras que los recuentos microbiológicos en

producto final del segundo muestreo, estuvieron dentro de los límites permitidos por estas normas, observándose así una disminución entre los dos muestreos.

- Los resultados del primer y segundo muestreo se reportaron por medio de un certificado de calidad, que se le entregó a la unidad de comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

## **F. Diseño estadístico**

### **1. Muestreo y diseño del muestreo**

Se realizó un muestreo piloto por conveniencia preintervención y postintervención, con un número inicial de 20 muestras de queso fresco, seleccionando una muestra por punto de control y punto crítico de control del proceso de un lote seleccionado aleatoriamente.

Para afinar el proceso de pasteurización implementado se realizaron replicas ensayo-error hasta que los recuentos microbiológicos se redujeron a los límites aceptados por los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR NGO-34-197.

### **2. Análisis de resultados**

Se llevó a cabo un análisis descriptivo tanto, del primero como del segundo conteo microbiológico de coliformes fecales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp., del primer y segundo muestreo y se verificó si cumplían o no con los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR-NGO-34-197.

## VIII. RESULTADOS

El trabajo se dividió en tres partes: en la primera se realizaron visitas a la Unidad de Comercialización para realizar un diagrama de flujo del proceso (Anexo 5), del cual se realizó un HACCP (Anexo 6,7) que permitió observar el conocimiento y aplicación de las BPM por parte del operario durante el proceso de elaboración. Con el diagrama de flujo, se llevó a cabo un primer muestreo en cada PC, PCC y producto final en 2 lotes diferentes de queso fresco, para determinar el estado microbiológico del queso y de todo su proceso de elaboración (Anexo 5).

La segunda parte consistió en poner en práctica una pasteurización rápida como una acción correctiva. En esta parte se realizaron dos ensayos, el primero consistió en calentar la leche a 72.5 °C durante 15 segundos, sometiéndola un shock térmico durante 5 minutos para bajarla a una temperatura de 4 a 6 °C. El shock térmico se realizó vertiendo la leche pasteurizada en un tanque de acero inoxidable a 4 °C; esta temperatura se alcanzó debido a que el tanque estuvo sumergido en agua con hielo. En el segundo ensayo, se calentó la leche a una temperatura mayor, siendo de 82 °C durante 4 minutos, y se sometió a un shock térmico de la misma forma que el primer ensayo. Los recuentos microbiológicos fueron similares a los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR-NGO-34-197 (Anexo 9).

Asimismo se realizó una capacitación teórico-práctica al operario sobre BPM e inocuidad de los alimentos. La parte teórica se realizó por medio recursos audiovisuales impartiendo aspectos de: higiene personal, control de enfermedades, higiene en el área de procesamiento, almacenamiento de productos lácteos, identificación de áreas, limpieza y desinfección.

La parte práctica se llevó a cabo durante el proceso de elaboración del queso con el fin de observar la aplicación correcta de las BPM y corregir errores de la misma. Los aspectos evaluados en la parte teórica fueron: lavado de manos, limpieza y desinfección del área de trabajo y utensilios, así como la aplicación correcta de desinfectantes y almacenamiento de dichos productos.

En la tercera parte se realizó un segundo muestreo en los mismos puntos del primero, con el fin de establecer si hubo una disminución en los recuentos microbiológicos obtenidos en los PC y PCC de ambos muestreos; también se verificó que los recuentos microbiológicos en producto final cumplieran con los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR-NGO-34-197 (Anexo 8).

En la Tabla 7, se observa la disminución de los recuento microbiológicos obtenidos durante el segundo muestreo con respecto al primero en recepción de la leche y leche colada. Asimismo se observa que no hubo crecimiento microbiológico en los demás puntos muestreados, a excepción del proceso de molido.

**Tabla 7. Recuentos microbiológicos obtenidos pre y postintervención en el proceso de elaboración de queso fresco (N = 20 )**

punto de muestreo (PC y PCC)	identificación	Recuentos microbiológicos (UFC/mL)	
		lote preintervención	lote postintervención
1. recepción de leche (PC)	coliformes fecales	900	600
	<i>E. coli</i>	<1	<1
	<i>S. aureus</i>	780,000	110,000
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
2. leche colada (PCC)	coliformes fecales	1,000	800
	<i>E. coli</i>	200	100
	<i>S. aureus</i>	640,000	280,000
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
3. leche después del tratamiento térmico (PCC)	coliformes fecales	1,000	<10
	<i>E. coli</i>	300	<1
	<i>S. aureus</i>	870,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
4. leche descremada (PC)	coliformes fecales	1,100	<10
	<i>E. coli</i>	100	<1
	<i>S. aureus</i>	980,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
5. mezclado (PC)	coliformes fecales	1,200	<10
	<i>E. coli</i>	200	<1
	<i>S. aureus</i>	890,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente

**Fuente:** Resultados del primer y segundo muestreo del proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU

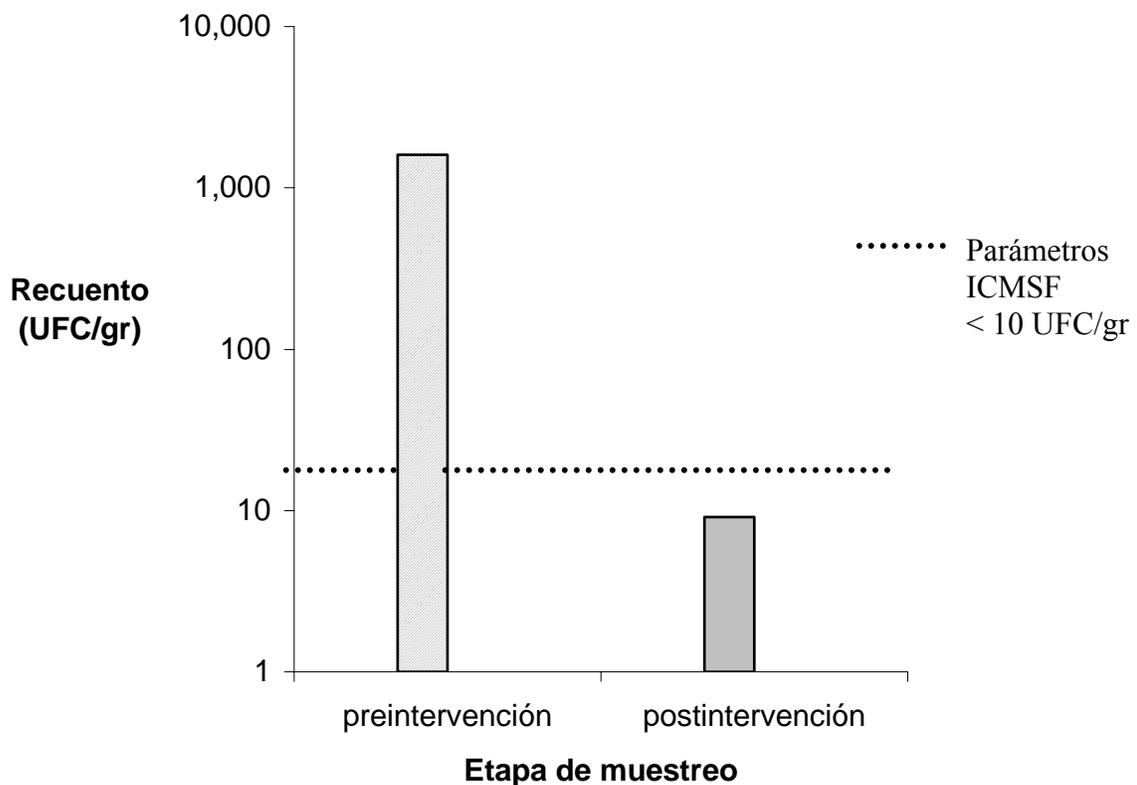
## Continuación ...

punto de muestreo (PC y PCC)	identificación	Recuentos microbiológicos (UFC/gr)	
		lote preintervención	lote postintervención
6. cuajo y corte (PC)	coliformes fecales	1,400	<10
	<i>E. coli</i>	300	<1
	<i>S. aureus</i>	940,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
7. separación de suero (PC)	coliformes fecales	1,300	<10
	<i>E. coli</i>	400	<1
	<i>S. aureus</i>	920,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
8. proceso de molido (PC)	coliformes fecales	1,500	60
	<i>E. coli</i>	300	<1
	<i>S. aureus</i>	950,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
9. salado (PC)	coliformes fecales	1,300	<10
	<i>E. coli</i>	400	<1
	<i>S. aureus</i>	910,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente
10. producto final (PC)	coliformes fecales	1,600	<10
	<i>E. coli</i>	400	<1
	<i>S. aureus</i>	980,000	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente

**Fuente:** Resultados del primer y segundo muestreo del proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU

En la gráfica 1, se muestra la disminución del recuento de coliformes fecales en producto final postintervención (<10 UFC/gr) con respecto al preintervención (1,600 UFC/gr), observándose que los postintervención se mantienen dentro de los parámetros permitidos por la ICMSF (<10 UFC/gr).

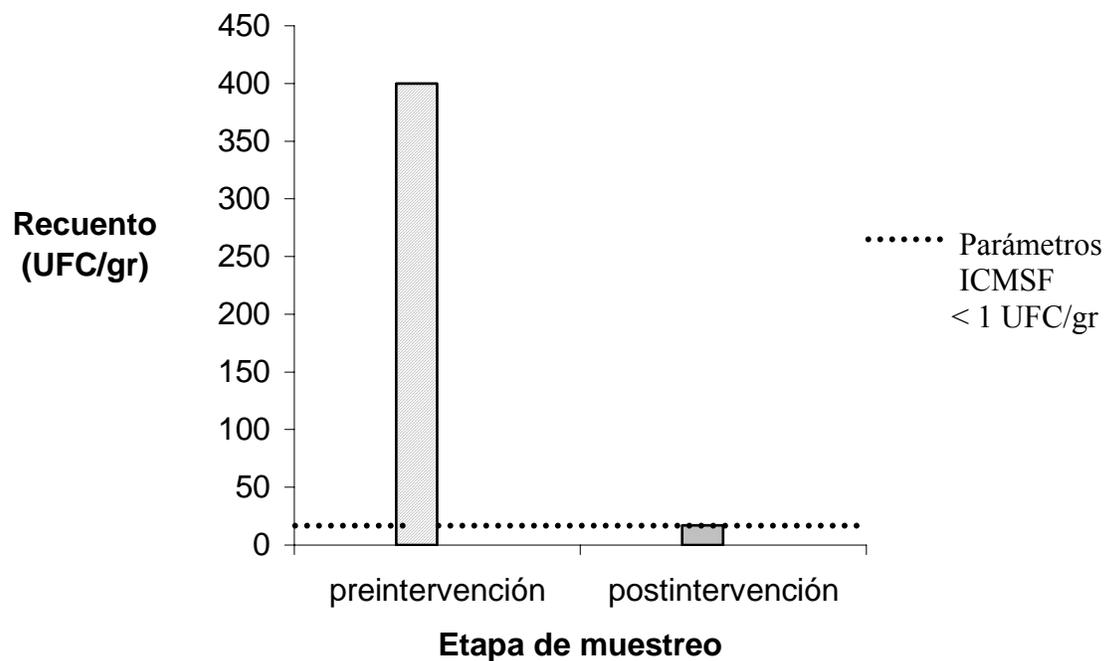
**Gráfica 1. Recuento de coliformes fecales pre y postintervención en producto final**



**Fuente:** Resultados del primer y segundo muestreo del proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU

En la gráfica 2, se muestra la disminución del recuento de *E. coli* en producto final postintervención (<1 UFC/gr), con respecto al preintervención (400 UFC/gr), manteniéndose dentro de los parámetros permitidos por la ICMSF (<1 UFC/gr).

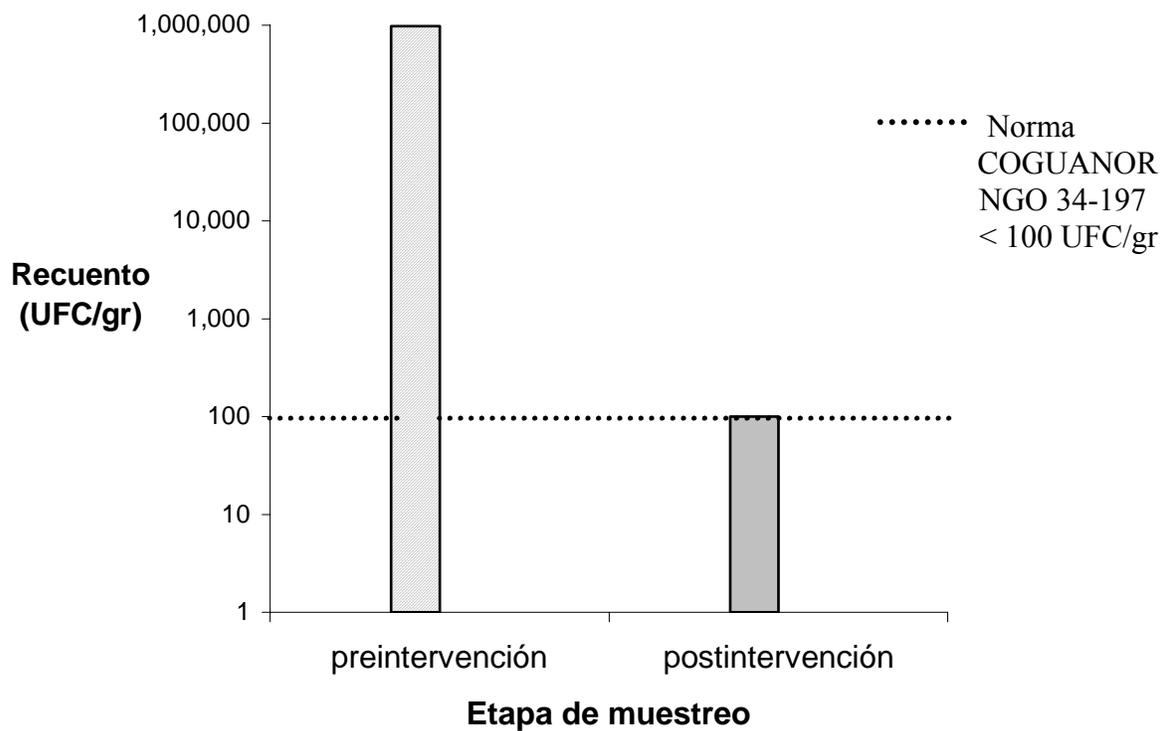
**Gráfica 2. Recuento de *E. coli* pre y postintervención en producto final**



**Fuente:** Resultados del primer y segundo muestreo del proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU

En la gráfica 3, se muestra la disminución del recuento de *S. aureus* en producto final postintervención (<100 UFC/gr), con respecto al preintervención (980,000 UFC/gr), manteniéndose dentro de los límites permitidos por la norma COGUANOR NGO 34-197 (<100 UFC/gr).

**Gráfica 3. Recuento de *S. aureus* pre y postintervención en producto final**



**Fuente:** Resultados del primer y segundo muestreo del proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La elaboración del diagrama de flujo para el proceso de queso fresco en la Unidad Comercialización, se realizó debido a que no se contaba con un sistema de análisis que permitiera detectar fallas y corregirlas durante la elaboración del mismo. En base a este diagrama se implementó el análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP).

Dentro del HACCP se detectaron tres puntos críticos de control (PCC): el primero fue el colado de la leche, que es un paso crítico ya que la leche al momento que se recolectó y transportó hacia la planta se pudo contaminar de agentes físicos como: vidrios, metales, madera, paja, insectos, etc., por lo que se debió realizar correctamente este paso para eliminar cualquier tipo de contaminación física en la leche.

El segundo PCC en el proceso, fue la pasteurización, ya que con este paso se elimina la presencia de posibles patógenos y bacterias indicadoras de contaminación fecal.

El tercer PCC fueron las buenas prácticas de manufactura (BPM), ya que aplicándolas se asegura que el operario no contamine la materia prima y el producto por una inadecuada manipulación.

La evaluación microbiológica de los PC permitió verificar que las acciones correctivas fueran aplicadas correctamente durante la elaboración del queso fresco.

En la primera parte, los recuentos microbiológicos de coliformes fecales, *E. coli* y *S. aureus*, obtenidos durante el primer muestreo estuvieron elevados en todos los puntos del proceso incluyendo producto final, a excepción de *Salmonella* sp. la cual no se aisló en ningún punto del proceso (Tabla 7).

En la recepción de la leche se obtuvo recuentos microbiológicos preintervención de 900 UFC/mL de coliformes fecales y 780,000 UFC/mL de *S. aureus* (Tabla 7). Esto puede explicarse por que en el establo no se cuenta con una adecuada desinfección de los ordeñadores automáticos, el transporte de la leche hacia la planta no se realiza en recipientes herméticos, ni a temperatura de refrigeración para prevenir el posible crecimiento de microorganismos. Además este es el único punto en donde no hubo presencia de *E. coli*; la causa de esto podría atribuirse a que no existe manipulación directa del operario ya que el ordeño no se realiza manualmente (25).

Los recuentos preintervención de 1,000 UFC/mL de coliformes fecales, 200 UFC/mL de *E. coli* y 640,000 UFC/mL de *S. aureus* en el colado de la leche, puede atribuirse a una inadecuada desinfección del colador al momento de realizar este paso y de los recipientes utilizados para el transporte de la leche. En este punto hubo manipulación directa del operario con la leche, lo cual podría explicar la presencia de *E. coli*.

Los recuentos obtenidos de coliformes fecales (1,000 UFC/mL), *E. coli* (300 UFC/mL) y *S. aureus* (870,000 UFC/mL) después del calentamiento de la leche a 36 °C, probablemente se debió a que el calentamiento al que es sometida la leche en este paso, no se realiza con el propósito de eliminar la presencia de microorganismos, si no de llevar la leche a una temperatura que facilite el descremado de la misma. Esta temperatura pudo favorecer la sobrevivencia y crecimiento de los microorganismos presentes en el queso fresco (Tabla 7) (19).

En la leche descremada los recuentos elevados pueden atribuirse a la inadecuada limpieza y desinfección de la descremadora. En los puntos del mezclado, cuajo y corte y separación del suero los recuentos estuvieron elevados probablemente porque los utensilios no estaban debidamente desinfectados y no son de un material que permita su fácil desinfección, además en la separación del suero existe una manipulación directa con el producto por parte del operario, ya que el corte del cuajo se realiza con las manos y el operario no realizaba un correcto lavado de manos (Tabla 7) (25).

En el proceso de molido los recuentos elevados se explican a que no se hizo una correcta desinfección de las partes del molino y que el producto molido se recolectó en recipientes no adecuados; en el salado, la sal utilizada fue almacenada en recipientes sucios y fue manipulada directamente con las manos (Tabla 7).

El producto final mostró recuentos microbiológicos fuera de los límites de las normas de referencia (>10 UFC/gr de coliformes fecales; >1,000 UFC/gr de *S. aureus*; >1 UFC/ml de *E. coli*) por lo que el queso fresco fue reportado como no apto para el consumo humano (Tabla 7).

Por lo tanto en la parte práctica de la capacitación, se enseñó el procedimiento correcto de lavado de manos, limpieza y desinfección de áreas de trabajo y utensilios, así como el uso correcto de desinfectantes y se le hizo énfasis a la higiene personal y la responsabilidad de mantener un alimento inocuo. Además se llevaron a cabo mejoras en el área de trabajo tales como: identificación correcta de áreas y estantes, áreas de almacenamiento de producto, control de temperaturas de refrigeradores y enfriadores, se sellaron las ventanas y puertas con plástico y se introdujo el uso de pediluvio, uniforme y el uso de utensilios de acero inoxidable.

Asimismo, para lograr que permanentemente se continúe con este proceso se capacitó al operario de acuerdo a las deficiencias observadas en el momento de manipular o procesar un alimento, ya que en la supervisión visual que se le realizó, el operario no cumplió con los parámetros de BPM.

En la segunda parte, se implementó una pasteurización rápida en el proceso debido a que en la actualidad no es permitida la venta de derivados lácteos a base de leche no pasteurizada, riesgo que representa para el consumidor adquirir diversas enfermedades por ETA's. El primer ensayo de pasteurización se llevó a cabo a una temperatura de 72°C durante 15 segundos. Los recuentos microbiológicos obtenidos no disminuyeron a valores cercanos a los parámetros de la ICMSF y la norma COGUANOR NGO 34-197, por lo que se llevó a cabo un segundo ensayo con una temperatura de 82 °C durante 4 minutos, la cuál mostró su efectividad ya que los recuentos microbiológicos que se obtuvieron con esta pasteurización disminuyeron notablemente, y no alteró las características organolépticas del queso fresco (Anexo 9).

En la tercera etapa, los recuentos microbiológicos obtenidos en el segundo muestreo en los puntos recepción de la leche y leche colada mostraron disminución con respecto al primer muestreo, debido a que en esta parte se almacenó la leche fresca inmediatamente después de que fue traída de los establos, evitando el aumento de microorganismos desde el período en que fue recolectada la leche hasta su procesamiento (Tabla 7).

La pasteurización rápida implementada en el proceso evitó el crecimiento de microorganismos en los PC y PCC a excepción del proceso de molido. En el proceso de molido se observó un recuento microbiológico de coliformes fecales de 60 UFC/gr. Esto puede atribuirse a que la forma del molino no permitió una adecuada desinfección, por lo que se le sugirió al operario que al terminar de usar el molino lo deje desinfectado hasta el siguiente día de trabajo (Tabla 7).

El salado no presentó crecimiento bacteriano, por lo que se asumió que este paso eliminó la carga bacteriana presente en el proceso de molido, ya que la sal es un preservante natural en los alimentos y evitó la sobrevivencia de los coliformes fecales, ya que estos microorganismos son intolerantes a concentraciones altas de sal (Tabla 7) (17).

Por último los recuentos microbiológicos obtenidos en el producto final disminuyeron con respecto a los recuentos microbiológicos de las muestras preintervención y se encontraron dentro de los parámetros y la norma de referencia, haciendo del queso fresco un producto apto para el consumo humano (Tabla 7). Esto se explica por la implementación de la pasteurización rápida en el proceso (82°C), la aplicación correcta de las BPM y las mejoras en el área de trabajo (Gráfica 1-3). Asimismo los resultados obtenidos permiten comprobar la hipótesis planteada en el trabajo.

Con los resultados obtenidos se establece un precedente para que se continúe trabajando con los estándares de calidad sugeridos.

## **X. CONCLUSIONES**

1. La elaboración de un diagrama de flujo, permitió la elaboración y aplicación de un análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP) en el proceso de elaboración del queso fresco.
2. La pasteurización que se implementó durante el proceso de elaboración del queso fresco (82°C/4min) permitió disminuir los recuentos microbiológicos en producto final a límites aceptables por los parámetros sugeridos por la ICMSF y la norma COGUANOR NGO-34-197.
3. La capacitación del operario permitió que se aplicaran correctamente las BPM, mejorando así el proceso y la calidad del queso fresco.
4. La evaluación microbiológica postintervención del queso fresco, evidenció que las acciones correctivas implementadas en el proceso fueron efectivas por los que se consideró al queso fresco elaborado en la Unidad de Comercialización como un producto apto para el consumo humano.
5. La aplicación de las acciones correctivas en el proceso del queso permitieron obtener un producto apto para el consumo humano, según los parámetros de la ICMSF y la norma COGUANOR NGO-34-197.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Cada seis meses, impartir capacitaciones sobre BPM a los operarios involucrados en el proceso de elaboración de queso fresco y realizar una evaluación teórico-práctica en cada capacitación.
2. Llevar a cabo visitas a la Unidad de Comercialización para verificar el cumplimiento correcto de BPM, y realizar monitoreos microbiológicos de sus productos lácteos.
3. Mejorar las instalaciones físicas del área de trabajo, así como introducir el uso de utensilios y mesas de acero inoxidable.
4. Implementar un HACCP en cada producto lácteo elaborado en la Unidad de comercialización.
5. Educar a artesanos para que apliquen el método de pasteurización rápida con el fin de elaborar productos inocuos y aptos para el consumo humano.
6. Difundir los resultados de este estudio entre artesanos que elaboran el queso fresco de manera artesanal, como una mediada para aplicar esta metodología y así disminuir los brotes de ETA's.

## XI. REFERENCIAS

1. Brawde A. Medical microbiology and infectious diseases international textbook of medicine. Vol. II. 3Th ed. USA: Saunders Co., 1,991. p.45-63.
2. Hobbs B. “Higiene y Toxicología de los Alimentos”, Ed 3<sup>a</sup>, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza , España, 1997. p.98-110.
3. Potter N. La Ciencia de los Alimentos. HARLA, México, 1era Edición, 1,983. p.156-165.
4. Thatcher FS, Clarck, DC. Microorganism of food I; their significance and methods of enumeration Canada: Toronro Press, 1987. p.256-270.
5. Larrañaga I, Carballo J, Rodríguez, M, Fernández J. Control e Higiene de los Alimentos. Grado Superior. Mc Graw Hill/ Interamericana de España, S.A. 1,999. p.325-330.
6. Fracier WC, Westnoff DC. Microbiología de los Alimentos. Tercera Edición, Editorial Española Acribia, S.A. 1,985. p.352-354.
7. Guzmán LE. Enterobacterias y Patógenos de los alimentos, Argentina. 2,002. Disponible en: <http://www.alimentosnet.com.ar/trabajos/mel/3tecnologia.htm>. Fecha de consulta: 13/03/2004.
8. Theater NP. Bacterias peligrosas de alimentos, España 2,002. Disponible en: <http://www.minnie.uab.es/veteri/21264/t3.pdf>. Fecha de consulta: 01/04/2004.
9. Arriaga L. Contaminación de alimentos por bacterias por manipulación inadecuada. Argentina 2,003. Disponible: Fecha de consulta: 01/04/2004.
10. Martinez E. Subcommittee on Microbiological Criteria, An evaluation of the Role of Microbiological Criteria for Foods and Food ingredients. Washington: National Academy Press.p.85- 436.
11. Feachmen R, Wiley J. Sanitation and disease; Health Aspects o Excreta and Wastewater Management. New York 1,983. p.501.
12. Baron EJ, Fiengold SM, Bailey S. Diagnostic microbiology. 8<sup>th</sup> ed. USA: Mosby Co., 1,990. p.125-150.
13. Moffet H. Clinical Microbiology. J.B. Lippincott Company, USA 1,995. p.150-154.

14. Sección de Microbiología de Alimentos. Anuales del laboratorio, cuaderno de resultados No. 9 LUCAM. 1,998-02.p.25-29.
15. Carrera JA. Caballero TA. INPPAZ OPS/OMS Por la equidad en Alimentos inocuos. Panamá 2,001. Disponible en: <http://intranet.inppaz.org.ar/nhp/ehome.asp>. Fecha de consulta: 20/04/2004
16. Duarte C. CDC Emerging Infectious Diseases Journal. Panamá 2,003. Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/outbreak/>. Fecha de consulta: 11/04/2004.
17. Board RG. Introducción a la Microbiología Moderna de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1,998. p.245-256.
18. Ramírez PL. Principios de la ingeniería de alimentos. España 2,002. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos11/bacte/bacte.shtml>. Fecha de consulta: 15/03/2004.
19. Sección de Microbiología de Alimentos. Anuales del laboratorio; cuaderno de resultados No. 7. LUCAM. 2,000-01. p.63-70.
20. Melgar M. American Journal of Clinical Nutrition, Argentina 2,002. Disponible en : <http://www.nutrifon.com.ar>. Fecha de consulta: 15/03/2004
21. Alais CH. Ciencia de la Leche. Editorial Continental. 5ta Edición. México DF, 1,984. p.46-50.
22. Amato J. Ciencia y Tecnología de la Leche. Principios y Aplicaciones. Editorial Acribia. Zaragoza, España 1,991. p.103-104.
23. Compaire C. Quesos: tecnología y control de calidad. Madrid: Publicaciones de Extensión. Argentina 1,986. p.493.
24. Ministerio de Economía . Comisión Guatemalteca de Normas. Norma NGO 34 197. Catálogo 1,994. p.5-8.
25. ICMSF. El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos: su aplicación en la industria de alimentos. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España 1991.p.112-115.
26. FDA 21 CFR: 110 Current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Packing or Holding Human Food. 2,002. Disponible en: <http://vm.cfsan.fda.gov>. Fecha de consulta: 02/04/2004.
27. COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS 2 al 7 de julio de 2,002. Disponible en: <http://www.fao.org>. Fecha de consulta: 02/04/2004.

28. Romero C. Higiene en la industria alimentaria. Panamá 2,003. Disponible en: <http://members.tripod.com.htm>. Fecha de Consulta:02/04/2004.
29. Velez B. Procesos y producciones en la industria alimentaria. Colombia 2,001. Disponible en: <http://www.aldia.cl/sistema/tablas/listar.asp?r=2045>. Fecha de consulta: 05/04/2004
30. Castillo R. Determinación en Crema y Quesos no madurados de Coliformes y *Sataphylococcus aureus*, basándose en las Normas COGUANOR vigentes, Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1,996. (p.5-12) 53p.
31. Landa L. Garantía de calidad. Brasil 2,003. Disponible en: <http://www.fao.org/es/ESN/foodquality-es.stm>. Fecha de consulta: 22/04/2004
32. SENASA. Manual para la aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) en la Industria Lechera. Argentina. 1,999. p.10-15. Disponible en: <http://members.tripod.com.ve/tecnología/microteo.htm>. Fecha de consulta: 16/04/2004.
33. D'Aoust JY. Manufacture of diary products from unpasteurized milk; a safety assessment. J Food Prot. USA 1990.p.606-610.
34. ICAITI. Buenas Prácticas de Manufactura, Guatemala. Doc. Tec. 1,997.p.5-11.
35. Silbenagel KM, Lindberg KG. Journal of AOAC International, 3M Petrifilm *Enterobacteriaceae* Count Plate Meted for Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Selected Foods: Collaborative Study. USA 2,003. Disponible en: <http://www.aldia.cl/sistema/tablas/listar.asp>. Fecha de consulta: 07/04/2004
36. Blom M. *et al.* Evaluation of Statens Serum Institut Enteric Médium for Detection of Enteric Pathogens. Journal of Clinical Microbiology, ASM. 1,993.p.37-39.
37. Gross RJ. Revisiones sobre ciencia y tecnología de los alimentos. trad. Zaragoza: Acribia, S.A. Vol 2, vol 1.1,992.p.11-13.
38. Ordóñez JA. Microorganismo de los Alimentos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. 2da ed., trad Zaragoza: Acribia, S.A. Vols. 2 vol. 2 1,999. p.117-123.
39. Lachica V. Accelerated procedure for enumeration and identification of food-borne *Staphylococcus aureus*. Appl Env Microbiol 1,980. p.17-19.

40. Carias A. Medios de aislamiento y cultivo para *S. aureus*. España 2,000. Disponible en: <http://www.mercanet.cnp.go.cr.staphylo/toxigenic.htm>. Fecha de consulta: 7/04/2004.
41. Power D, McCuen P. Manual of BBI of laboratory procedures. 6<sup>th</sup> ed. USA: Becton Dickinson, 1,988.p.99-115.
42. Kuhn H. Evaluation of Rambach Agar for Detection of *Salmonella* Subspecies I to VI. Appl. Environ. Microbiol. ASM. 1,994.p.749-751.
43. Arévalo H. Determinación de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. En carne y vegetales crudos empleados como materia prima en las cafeterías de la Ciudad Universitaria. Guatemala Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia).2,002.(p.26-40) 108p.

**XIII. ANEXOS**

<b>Título</b>	<b>No. Anexos</b>
Caracterización de peligro	1
Modelo de plantilla para volcar el flujograma del proceso	2
Modelo de árbol de decisiones	3
Modelo de plantilla para la aplicación del árbol de decisiones	4
Diagrama de flujo de queso fresco propuesto para la Unidad de Comercialización	5
Análisis de riesgos -Queso fresco fabricada artesanalmente-	6
Plan HACCP de queso fresco de tipo artesanal	7
Diagrama de flujo de queso fresco propuesto para la Unidad de Comercialización	8
Resultados de los ensayos de la pasteurización en 2 lotes producidos de queso fresco	9

## Anexo 1

### CARACTERIZACION DE PELIGROS

#### CRITERIOS PARA LA IDENTIFICACION DE PELIGROS

El equipo HACCP deberá considerar cuáles son los peligros potenciales para cada etapa del proceso, pudiéndose basar para ello en conocimientos, experiencias, base de datos, antecedentes epidemiológicos, legislación, programas de vigilancia sanitaria.

TIPOS DE PELIGROS *		
<b>MICROBIOLÓGICOS</b> Bacterias patógenas Virus Parásitos Protozoarios Hongos (micotoxinas)	<b>QUÍMICOS</b> Productos de limpieza Pesticidas Alérgenos Metales pesados Nitritos Hormonas Antibióticos Componentes no poliméricos de los envases (migrados al alimento)	<b>FÍSICOS</b> Vidrios Metales Piedras Maderas Plásticos Hilos Plagas

\* La lista se da a modo de ejemplo, no pretendiendo ser exhaustiva.

En cada etapa del proceso se debe realizar una lista de los peligros que pueden aparecer teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- 1- Materias primas: leche cruda e ingredientes.
  - Que peligros están asociados o presentes.
  - Estos peligros son un problema para el proceso/producto.
- 2- Diseño de planta y equipo:
  - Posibilidad de contaminación cruzada.
  - Existe una etapa (espera) donde los peligros microbiológicos pueden aumentar hasta niveles peligrosos.
  - Se puede limpiar el equipo adecuadamente.
  - Pueden los equipos/planta introducir peligros.

- 3- Factores intrínsecos:
  - Pueden las características del producto (leche cruda, semielaborados, producto final) favorecer o aumentar los peligros. Tener en cuenta: pH y  $a_w$ .
  - En productos formulados se aumenta la probabilidad de supervivencia de microorganismos.
  
- 4- Diseño del proceso:
  - Condiciones del proceso.
  - Peligro de recontaminaciones.
  - Presencia de materiales extraños.
  
- 5- Diseño de instalaciones:
  - Peligros por falta de delimitación de zonas.
  - Peligros por aire (filtros).
  - Peligros por plagas.
  
- 6- Envasado:
  - Tipo de envasamiento (abierto/cerrado).
  - Materiales que se utilizan.
  - Se favorece algún riesgo microbiológico (aerobio/anaerobio).
  - Se favorecen otros peligros (insectos, vidrios, plásticos).
  - Es hermético el cierre de envases.
  
- 7- Personal:
  - Buenas Prácticas de Higiene.
  - Entrenamiento del personal.
  - Existen controles de salud.
  
- 8- Distribución:
  - Riesgos por almacenamiento inadecuado.
  - El manipuleo del consumidor lo convierte en peligroso.
  
- 9- Uso del producto por el consumidor:
  - Será consumido tal cual o sufrirá un tratamiento previo.
  - Será consumido por grupos de mayor riesgo (niños, ancianos).

Es necesario listar para cada etapa del proceso de un producto los peligros identificados ya sea que hayan ocurrido o sean potenciales, y establecer para cada uno las medidas preventivas necesarias para impedir o minimizar su ocurrencia.

## Anexo 2

## Modelo de Planilla para volcar el Flujograma del Proceso

<b><u>FLUJOGRAMA</u></b>	
<b><u>SUS MATERIAS PRIMAS, SUS INGREDIENTES,</u></b>	
<b><u>SUS PRODUCTOS INTERMEDIOS</u></b>	
<b><u>Y SUS ETAPAS DE FABRICACION</u></b>	
<b><u>CON DESCRIPCION DE PELIGROS POTENCIALES</u></b>	
MATERIAS PRIMAS/ INGREDIENTES o PRODUCTOS INTERMEDIOS o ETAPA DE FABRICACION	DESCRIPCION DE POSIBLE PELIGRO POTENCIAL

## Anexo 3

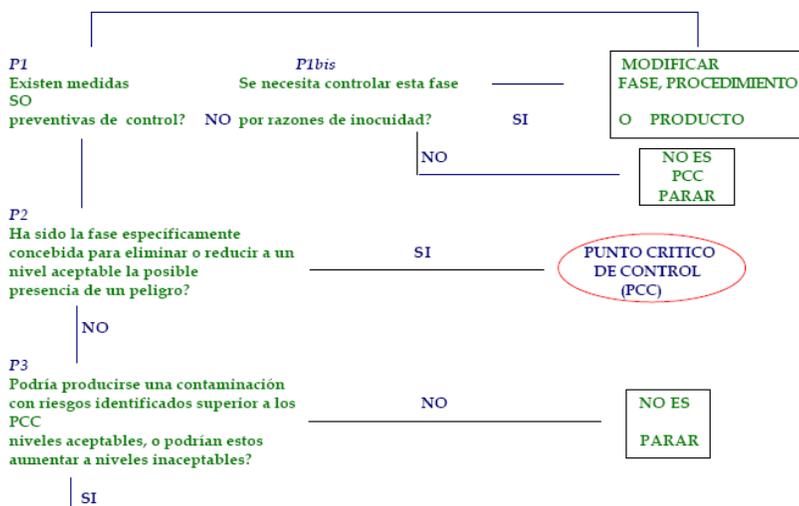
<b>Modelo de Arbol de Decisiones</b>
--------------------------------------

Una vez identificados los ingredientes, materias primas y etapas del proceso con sus peligros potenciales asociados, aplicaremos a cada una de ellas y para cada uno de los peligros considerados, una secuencia lógica de decisiones, usualmente denominada "Arbol de Decisiones" (*Principio 2* - capítulo 2, ítem 7, página 12).

El uso del mismo nos permite, en aquellos casos donde es aplicable, decidir si estamos frente a un PCC o no, o bien, si es necesario efectuar alguna modificación en el proceso o producto.

Este árbol de decisiones, no es otra cosa más que una serie de preguntas que deben ser contestadas en orden sucesivo hasta arribar a una conclusión.

Existen varios modelos de árboles de decisión, entre lo cuales hemos seleccionado el siguiente:



(Continuación)

*P4*

Se eliminarán los peligros identificados  
o se reducirá su posible presencia  
a un nivel aceptable en una fase posterior?

NO

PUNTO CRITICO  
DE CONTROL  
(PCC)

SI

NO ES PCC  
PARAR

Por ejemplo, para una determinada fase de proceso y para un peligro dado comenzamos por formular la pregunta *P1*. Si contestamos SI, debemos pasar a la pregunta *P2*. Si la respuesta a esta pregunta es NO, debemos pasar a la pregunta *P3* y si la respuesta a la misma es SI pasamos a la pregunta *P4*. Si a esta última pregunta contestamos NO, entonces estamos frente a un PCC.

Por el contrario, si a la pregunta *P1* hubiésemos contestado NO, entonces pasamos a la pregunta *P1bis*, y si la respuesta a esta última pregunta es SI, nos encontramos frente a la necesidad de modificar el proceso o producto.

Cabe destacar que cuando nos enfrentamos a la modificación de una fase de proceso o del producto, el resultado de esta modificación debe ser la confirmación de un PCC o bien la eliminación del peligro.

En el Anexo IV, se ofrece un modelo de planilla para la aplicación del árbol de decisiones.

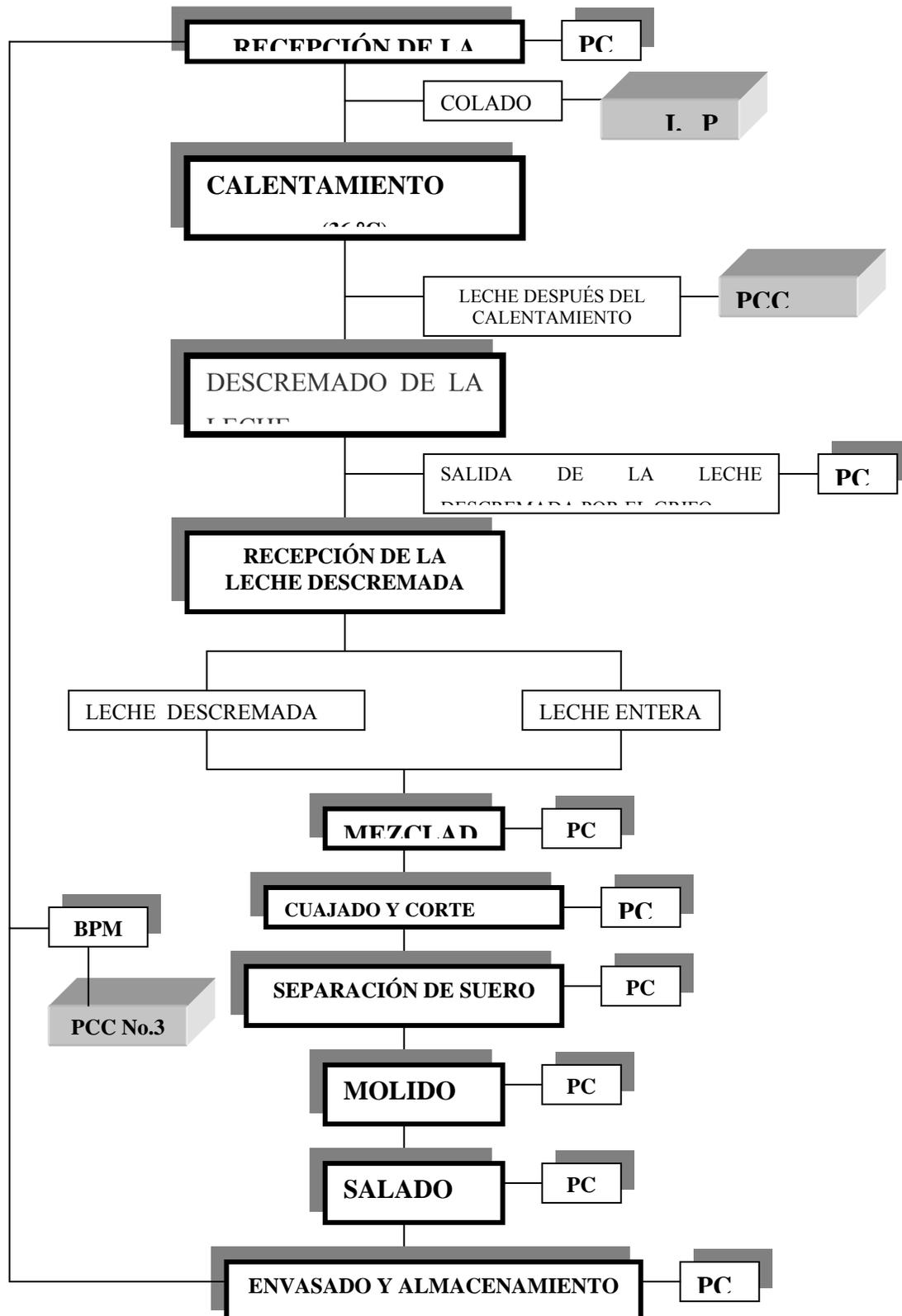
## Anexo 4

Modelo de Planilla para la aplicación del Arbol de Decisiones			
Materia prima o ingrediente o etapa de fabricación y su(s) posibles peligro(s) potenciales	P1. Existen medidas preventivas de control?	P1bis. Se necesita controlar esta fase por razones de inocuidad?	P2. Ha sido la fase específicamente concebida para eliminar o reducir a un nivel aceptable la posible presencia de un peligro?
	NO	Ir a P1.bis ↙	NO ES PCC
			SI - modificar la fase, proceso o producto y volver a P.1
	SI	Ir a P2. ↙↙↙↙↙	SI ↙ PCC
			NO Ir a P3. ↙↙
	NO	Ir a P1.bis ↙	NO ES PCC
			SI - modificar la fase, proceso o producto y volver a P.1
	SI	Ir a P2. ↙↙↙↙↙	SI ↙ PCC
			NO Ir a P3. ↙↙
	NO	Ir a P1.bis ↙	NO ES PCC
			SI - modificar la fase proceso o producto y volver a P.1
	SI	Ir a P2. ↙↙↙↙↙	SI ↙ PCC
			NO Ir a P3. ↙↙

(continuación)

P3. Podría producirse una contaminación con riesgos identificados superior a los niveles aceptables, o podrían estos aumentar a niveles inaceptables?	P4. Se eliminarán los peligros identificados o se reducirá su posible presencia a un nivel aceptable en una fase posterior?
Notas sobre sus decisiones:	
_____ NO ES PCC	
SI    Ir a P4.    <<<<<<<<	SI    NO ES PCC NO    << PCC
Notas sobre sus decisiones:	
_____ NO ES PCC	
SI    Ir a P4.    <<<<<<<<	SI    NO ES PCC NO    << PCC
Notas sobre sus decisiones:	
_____ NO ES PCC	
SI    Ir a P4.    <<<<<<<<	SI    NO ES PCC NO    << PCC

**Anexo 5**  
**DIAGRAMA DE FLUJO DE QUESO FRESCO (PREINTERVENCIÓN)**  
 (Elaborada en la Unidad de Comercialización)



## ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE

Pasos del proceso	Tipo de riesgo de contaminación	¿Puede ocurrir este tipo de contaminación en el proceso?	Bases	Si la respuesta es Si en la columna 3, que medidas se tomarán para prevenir, eliminar o reducir el riesgo a niveles aceptables	Punto crítico de control
Recepción de la leche cruda	<b>Biológicos:</b> Coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp	Si	Estos microorganismos pueden estar presentes o introducirse en la leche cruda durante el ordeño.	Tratamiento térmico (pasteurización) preelaboración del queso. Mantener la leche almacenada a temperatura de refrigeración mientras	PCC No. 1
	<b>Físicos:</b> Vidrios, metales, pasto, paja, tierra, etc.	Si	Estos objetos pueden introducirse a leche durante el ordeño de las vacas en los establos.	no se este usando. Colando la leche cruda, utilizando un tamiz que no permita el paso de estos objetos.	
	<b>Químicos- Ninguno</b>				
Tratamiento Térmico (Pasteurización)	<b>Biológicos:</b> Coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp	Si	Estos microorganismos pueden estar presentes en la leche cruda ya sea por manipulación del operario o adquiridos por la ubre de la vaca.	Verificar que se alcance la temperatura a 72.6°C durante 15 segundos y luego someter la leche a un shock térmico en un baño de hielo hasta alcanzar los 10 °C.	PCC No. 2

**Anexo 6**  
**ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE**

Pasos del proceso	Tipo de riesgo de contaminación	¿Puede ocurrir este tipo de contaminación en el proceso?	Bases	Si la respuesta es Si en la columna 3, que medidas se tomarán para prevenir , eliminar o reducir el riesgo a niveles aceptables	Punto crítico de control
Tratamiento Térmico (Pasteurización)	<b>Físicos:</b> Vidrios, metales, pasto, paja, tierra, etc.  <b>Químicos-Ninguno</b>	<b>No</b>	La leche fue colada antes de ser sometida al tratamiento térmico.		
Descremado de la leche	<b>Biológicos:</b> Coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp  <b>Físicos-Ninguno</b>  <b>Químicos:</b> Residuos de cloro	<b>Si</b>	Puede existir una recontaminación de la leche por una mala desinfección de las piezas de la descremadora.  Se utilizará las concentraciones de cloro en ppm, adecuadas para utensilios y se eliminará con abundante agua.	Antes de empezar el proceso de descremado, todas las piezas de la descremadora serán desinfectadas con cloro y esterilizadas.	<b>PCC No.3</b>

## ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE

Pasos del proceso	Tipo de riesgo de contaminación	¿Puede ocurrir este tipo de contaminación en el proceso?	Bases	Si la respuesta es Si en la columna 3, que medidas se tomarán para prevenir , eliminar o reducir el riesgo a niveles aceptables	Punto crítico de control
Recepción de la leche descremada	<b>Biológicos:</b> Coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp	No Si	La leche este pueda estar contaminada por contaminación debido a que el recipiente no fue desinfectado previamente.	Todos los utensilios deben ser desinfectados previo al proceso de elaboración del queso.	PCC No. 3  PCC No. 2
	<b>Físicos-Ninguno</b>				
	<b>Químicos:</b> Residuos de cloro  <b>Físicos-Ninguno</b>  <b>Químicos-Ninguno</b>	No	Se utilizará las concentraciones de cloro en ppm, adecuadas para utensilios y se eliminará con abundante agua.		

## ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE

## **ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE**

## ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE

Pasos del proceso	Tipo de riesgo de contaminación	¿Puede ocurrir este tipo de contaminación en el proceso?	Bases	Si la respuesta es Si en la columna 3, que medidas se tomarán para prevenir , eliminar o reducir el riesgo a niveles aceptables	Punto crítico de control
Separación del suero	<b>Biológico:</b> Contaminación con Coliformes fecales, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp	<b>Si</b>	Si la separación del suero se hace con el uso de un cucharón de madera, las manos de las personas que lo utilizan no se lavan con agua y jabón antes de usarlo, se puede contaminar el suero con bacterias. Si se utiliza un cucharón de plástico, este puede ser contaminado si no se desinfecta adecuadamente.	Se utilizará una espátula de acero inoxidable o uno de plástico que se desinfecta y se lava con agua y jabón antes de ser utilizada. Se utilizará un cucharón de plástico que se desinfecta y se lava con agua y jabón antes de ser utilizado.	<b>PCC No.3</b>
			contaminaría toda la leche.	fresco.	
	<b>Físico-Ninguno</b>  <b>Químicos-Ninguno</b> Residuos de color	<b>No</b> <b>No</b>	Se utilizará las concentraciones de cloro en ppm, adecuadas para utensilios y se eliminará con abundante agua.		



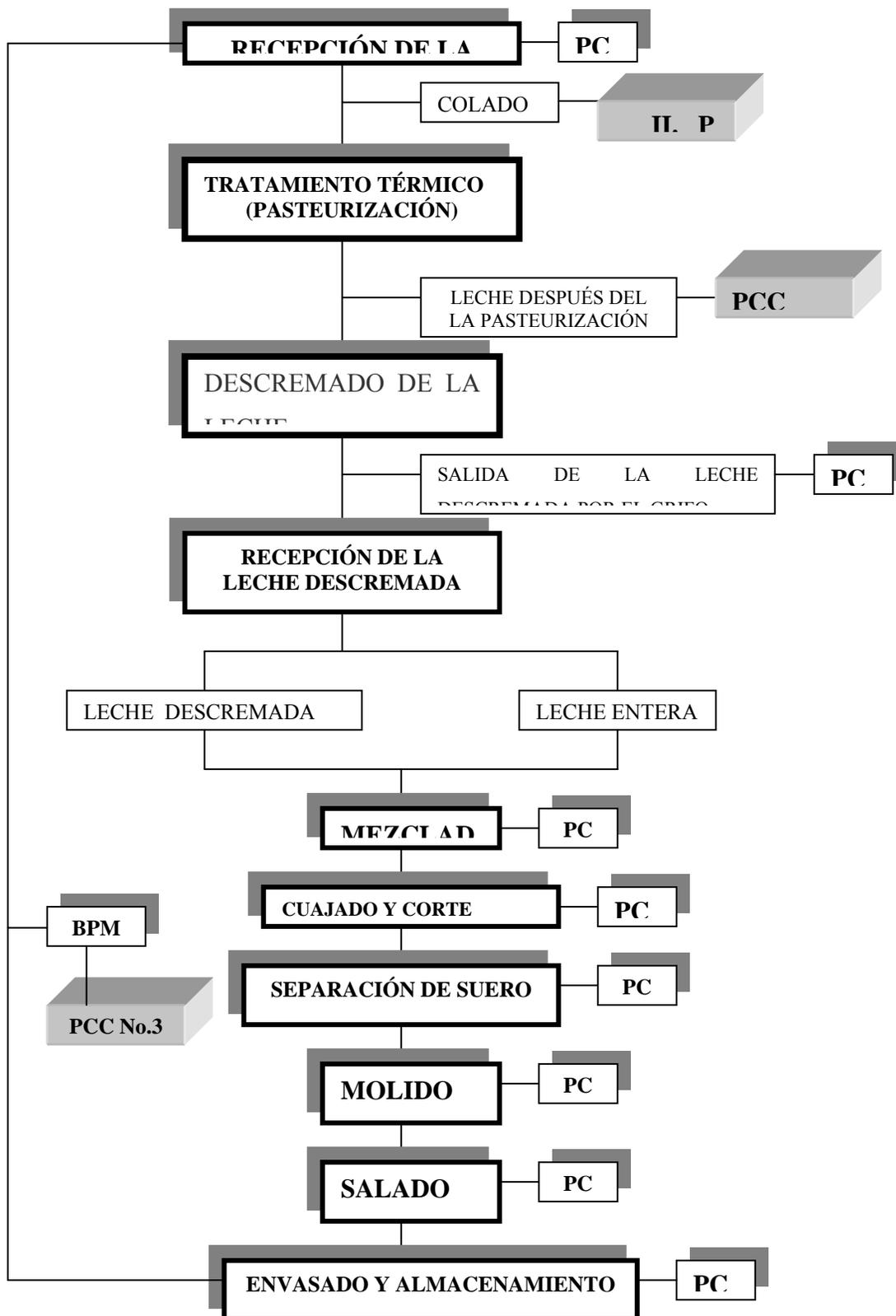
**ANÁLISIS DE RIESGOS – QUESO FRESCO FABRICADO ARTESANALMENTE**

<b>Pasos del proceso</b>	<b>Tipo de riesgo de contaminación</b>	<b>¿Puede ocurrir este tipo de contaminación en el proceso?</b>	<b>Bases</b>	<b>Si la respuesta es Si en la columna 3, que medidas se tomarán para prevenir , eliminar o reducir el riesgo a niveles aceptables</b>	<b>Punto crítico de control</b>
Salado	<p><b>Biológico:</b> Contaminación con Coliformes fecales, <i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella</i> spp</p> <p><b>Físico-Ninguno</b></p> <p><b>Químicos-Ninguno</b></p>	<b>Si</b>	Si el salado se hace con las manos se puede contaminar directamente el cuajo además se debe recordar que algunos microorganismo son halófilos y la sal que sal que se utiliza puede contaminar el cuajo.	El salado se debe realizar con guantes nuevos de nylon para evitar cambiar las características organolépticas por el látex, además la sal a utilizar debe estar en un recipiente limpio y hermético.	<b>PCC No.3</b>





**Anexo 8**  
**DIAGRAMA DE FLUJO DE QUESO FRESCO (POSTINTERVENCIÓN)**  
 (Elaborada en la Unidad de Comercialización)



**Tabla 1. Resultados de los ensayos de la pasteurización en 2 lotes producidos de queso fresco**

punto de muestreo (PC y PCC)	identificación	Recuentos microbiológicos (UFC/ml)	
		pasteurización 72.5 °C /15 segundos	pasteurización 82 °C /4 minutos
leche después del tratamiento térmico (PCC)	coliformes fecales	2,000	<10
	<i>E. coli</i>	200	<1
	<i>S. aureus</i>	790,00	<100
	<i>Salmonella</i> sp.	ausente	ausente

**Fuente:** Resultados del muestreo ensayo-error, pasteurización rápida usada en el proceso de elaboración de queso fresco, procesados en el Laboratorio de Control de Alimentos de la Unidad de Salud/BEU