



DEPARTAMENTO DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

**“Determinación de *Listeria spp* en quesos frescos elaborados
en las fábricas artesanales del cantón San Fernando”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
“MAGÍSTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA”**

Autora: Ana Lía Cordero Maldonado

Directora: Magister. María Fernanda Rosales Medina

Cuenca, Ecuador

2015

DEDICATORIA

A mis padres Juan y Rebeca por ser el motor que me empuja a seguir adelante todos los días.

A mis 4 hermanas: Juana, María Elisa, Silvia, Priscila y a mis 13 sobrinos quienes son luz en mi vida.

A mis abuelos que aunque están en el cielo, me dejaron en la tierra un legado de trabajo y amor por lo que hacemos todos los días, ánimo, paciencia y valores de vida.

A Vinicio que me ha regalado palabras de ánimo y ha sido fuente de paz e inspiración para lograr culminar con este duro trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por regalarme el tiempo para disfrutar en éste mundo de logros como el que presento a continuación.

A mi familia por el apoyo incondicional en este camino, en especial a Sofía por su aporte intelectual y de tiempo.

A mi directora de tesis la Magister María Fernanda Rosales Medina por ser una guía y apoyo fundamental en éste trabajo, por su aporte técnico e intelectual y por su apoyo incondicional.

RESUMEN

El presente trabajo tiene por objeto la detección de *Listeria* en quesos artesanales fabricados en el Cantón San Fernando. Se tomaron 16 muestras en 5 fábricas, las cuales fueron tratadas previamente con los caldos de enriquecimiento y lysis para su posterior análisis en el equipo ANSR, el cual es un método de detección rápida de ADN de bacterias, en este caso para *Listeria* spp. Este método es una amplificación isotérmica replicando el ADN a una temperatura constante utilizando una polimerasa para amplificar exponencialmente el ADN a 56°C. De las 80 muestras analizadas, 35% de ellas dieron positivo para *Listeria* spp. 11,25% inválidas a las pruebas y el 53,75% restante resultaron negativas. Lo cual indica que existe contaminación con *Listeria* spp en los quesos debido probablemente a los ambientes contaminados, malas prácticas de manufactura, contaminación cruzada y condiciones desfavorables en el almacenamiento. Adicionalmente se planteó un Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para reducir este y varios riesgos presentes.

Palabras clave: *Listeria*, ADN, ANSR, amplificación, isotérmica, manual, quesos.

ABSTRACT

This work aims at detecting *Listeria* in artisanal cheese manufactured in the canton of San Fernando. We took 16 samples in 5 factories that were previously treated with enrichment broth and lysis for further analysis by means of ANSR, a DNA rapid bacterial detection system, which in this case was *Listeria* spp. This is an isothermal amplification technique which replicates DNA at a constant temperature using a polymerase to exponentially amplify the DNA at 56 ° C. Thirty five % of the 80 samples analyzed, tested positive for *Listeria* spp.; 11.25% were invalid tests, and the remaining 53.75% tested negative. These results indicate that there is contamination with *Listeria* spp in cheese probably due to contaminated environments, poor manufacturing practices, cross-contamination, and adverse storage conditions. In addition, we proposed a Good Manufacturing Practice Handbook aimed at reducing this and several other risks detected in the study.

Keywords: *Listeria*, DNA, ANSR, Amplification, Isothermal, Manual, Cheese.




Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Contenido	
CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	iv
ABSTRACT AND KEYWORDS	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi, vii
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	viii
INTRODUCCIÓN	1 – 4
OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS	5
CAPÍTULO I.	
MATERIALES Y MÉTODOS	6, 7
CAPÍTULO II.	
RESULTADOS	8
Resultados de Análisis de 80 muestras quesos artesanales San Fernando	9
Torta de Resultados globales	10
Torta de Resultado Fábrica 1	11
Torta de Resultado Fábrica 2	11
Torta de Resultado Fábrica 3	12
Torta de Resultado Fábrica 4	12
Torta de Resultado Fábrica 5	13
Análisis de Resultados Prueba Inválida	13
Análisis de Resultados Prueba Negativa	14
Análisis de Resultados Prueba Positiva	14
Curva de Resultados Generales Fábrica 1	15
Curva de Resultados Generales Fábrica 2	16
Curva de Resultados Generales Fábrica 3	17
Curva de Resultados Generales Fábrica 4	18
Curva de Resultados Generales Fábrica 5	19
CAPÍTULO III.	
DISCUSIÓN	20 – 21
COCLUSIÓN	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23, 24
ANEXOS.	
Anexo 1 Inventario de fábricas de quesos artesanales del cantón San Fernando	25

Anexo 2. Instrumento para muestreo de quesos	26
Anexo 3. Proceso ANSR	27
Anexo 4. Manual BPM para una fábrica de quesos artesanales	28 – 46
Anexo 5. Resultados detallados con curvas obtenidas de las 80 muestras en el análisis ANSR realizado en quesos artesanales de San Fernando	47 – 76
Anexo 6. Certificado AOAC de ANSR para Listeria spp	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Torta de Resultados globales	10
Figura 2. Torta de Resultados Fábrica 1.....	11
Figura 3. Torta de Resultados Fábrica 2.....	11
Figura 4. Torta de Resultados Fábrica 3.....	12
Figura 5. Torta de Resultados Fábrica 4.....	12
Figura 6. Torta de Resultados Fábrica 5.....	13
Figura 7. Análisis de Resultados prueba inválida	13
Figura 8. Análisis de Resultados prueba negativa.....	14
Figura 9. Análisis de Resultados prueba positiva.....	14
Figura 10. Curva de resultados generales Fábrica 1.....	15
Figura 11. Curva de resultados generales Fábrica 2.....	16
Figura 12. Curva de resultados generales Fábrica 3.....	17
Figura 13. Curva de resultados generales Fábrica 4.....	18
Figura 14. Curva de resultados generales Fábrica 5.....	19

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de análisis de Listeria spp en quesos artesanales	9
--	----------

Cordero Maldonado Ana Lía
Trabajo de Graduación
Magister. María Fernanda Rosales Medina
Julio, 2015

“Determinación de *Listeria spp* en quesos frescos elaborados en las fábricas artesanales del cantón San Fernando”

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Norma Técnica Sustitutiva de BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) para alimentos procesados (ARCSA 042-2015), de reciente vigencia (RO. 555 - 30/07/2015), las empresas que manufacturen alimentos para consumo nacional y/o de exportación están sujetas a actividades de vigilancia y control sanitario para determinar el cumplimiento de las buenas prácticas en sus establecimientos y asegurar alimentos inocuos para el consumidor.

Esta normativa sustituye al reglamento 3253 el cual enmarcaba a las BPM, pero se han realizado cambios sustanciales y ahora se conoce como norma nacional de cumplimiento obligatorio.

Las pequeñas empresas como las artesanales, se encuentran regidas por esta normativa, tienen aproximadamente hasta enero del 2016 para realizar la implementación de las BPM y la certificación por el organismo competente.

En las BPM, la inocuidad es la razón de ser de la normativa, por esto se ha visto la necesidad de determinar los tipos de contaminaciones microbianas que pudiesen estar presentes en los ambientes y en los productos que se elaboran en las fábricas de alimentos.

Los microorganismos, y en concreto las bacterias, son la principal causa de enfermedades ocasionadas por el consumo de alimentos contaminados. Se habla de cómo evitar su presencia, de sus consecuencias sanitarias y socioeconómicas, pero a menudo no se conocen lo suficiente (Evans, et al., 2004, p.86).

Al contrario de lo que se cree de las miles de bacterias que se han descubierto cerca de 200 especies son patógenas, es decir, causantes de enfermedades que afectan al ser humano, algunas de las bacterias más dañinas son causantes de enfermedades como el cólera, la salmonelosis, disentería, entre otras (Perroni, 2008, p. 39). Dentro de este grupo de microorganismos patógenos, encontramos a la *Listeria spp*, de las cuales la más patogénica es sin duda la *Listeria monocytogenes*.

La *Listeria spp* es capaz de sobrevivir en las más variadas condiciones ambientales, entre ellas el refrigerador doméstico, es por esto que representa un desafío para la industria de alimentos, sin

embargo, puede ser eliminada al someterse a un proceso de cocción adecuado o pasteurización tal como lo indica la NTE INEN 10:2012 correspondiente a leche pasteurizada. A pesar de esto existe la contaminación cruzada que se presenta a causa de una deficiente manipulación posterior. (Madigan, 2004, p. 456)

Esta bacteria produce un cuadro con síndrome febril con malestar general y diarrea, auto limitado, es posible que se vea acompañado de conjuntivitis, abscesos y lesión cutánea. Los más vulnerables son gestantes, recién nacidos e inmunosuprimidos, en estos casos pueden presentarse cuadros más graves relacionados con meningitis pues afecta a las membranas que cubren el cerebro, septicemia que implica una infección en la sangre, en el caso de afectar al corazón se denomina endocarditis y al afectar a los pulmones se conoce como neumonía, además puede ocasionar aborto y mortalidad perinatal pues las bacterias pueden atravesar la placenta e infectar al feto (Ellner, et al., 1991, p. 35).

El caso de las embarazadas representa un riesgo casi veinte veces superior a la población general de desarrollar la enfermedad conocida como *Granulomatosis Infantisepticum*, que se manifiesta por compromiso de estado general, fiebre, cefalea y mialgias, en algunos casos incluye diarrea y vómitos (Araya, et. al., 2008, p. 184).

Esta bacteria es muy probable encontrarla en quesos procesados, en ambientes poco inocuos, fábricas que no pasteuricen la leche antes de realizar la cuajada, además de que puede ser introducida por los operarios a través de algún utensilio sucio o mal desinfectado, a través de las manos, etc.

Entre las materias primas que pudiesen estar contaminadas con *Listeria*, encontramos a la leche. Y entre los principales productos elaborados con leche tenemos al queso, el mismo que el Código Alimentario Argentino (Decreto N° 111, 12.1.76 art. 605) denomina como producto fresco o madurado, que se obtiene por separación del suero de leche o de la leche reconstituida, entera, parcial o totalmente descremada, coagulada por acción del cuajo y/o enzimas específicas.

Existen varios tipos de quesos y éstos se clasifican obedeciendo a diferentes criterios tales como el proceso de elaboración, el contenido de grasa, tipo de leche, tipo de coagulación, textura. Existen algunos factores que influyen en las características finales del queso, entre ellos aparecen Factores microbiológicos (composición de la microflora asociadas/sucesivas), Factores bioquímicos (concentración y propiedades de las enzimas coagulantes), Factores físicos y fisicoquímicos (temperatura, pH, Eh y efectos osmóticos), Factores químicos (proporción de calcio retenido en la cuajada, contenido en agua y sal, composición de la atmósfera (humedad, gas carbónico, amoníaco), Factores mecánicos (corte, agitación, trituración y frotamiento), (Estrella, 2013).

De acuerdo a la norma NTE INEN 1528:2012, es de gran importancia el manejo posterior a la elaboración, es decir, que los quesos sean almacenados en recipientes asépticos y cerrados de manera hermética, cuyo material no represente una amenaza para los factores organolépticos del producto; por último, es importante que el embalaje asegure condiciones que conserven las propiedades del producto y su inocuidad en el proceso tanto de almacenamiento, como de transporte y distribución.

Cada tipo de queso contiene un valor nutricional diferente, sin embargo se puede decir vagamente que es un aporte representativo de proteína, calcio y fósforo. Además contiene vitaminas pertenecientes al grupo B, A y D.

Para lograr que éste producto se mantenga en condiciones aptas para su consumo es importante respetar las normas de BPM y existen varios aspectos que se deben tomar en cuenta para lograrlas, entre ellos esta: en lo referente a la infraestructura, ésta debe estar edificada respetando el medioambiente y de modo tal que sea de fácil limpieza, efectivo para excluir polvo, plagas y más contaminantes; debe estar dividido y señalizado en zonas que sigan el principio de flujo hacia adelante desde materias primas al proceso de transformación con el fin de evitar confusiones y contaminaciones; además de facilitar el movimiento del personal y materiales. En cuanto a lo referente a utensilios y equipos, deben ser de materiales no corrosivos y resistentes, además deben estar instalados de forma que permitan la movilización y eviten la confusión del personal; deben poseer piezas de desarmado fácil con el fin de facilitar la limpieza, también se debe tomar en cuenta que los materiales que los conformen no deben ser reactivos con los insumos utilizados para la producción. En cuanto al personal, es importante que cada trabajador esté capacitado para su función en la producción, además debe regirse a las normas de higiene, mantener un buen estado de salud, utilizar siempre el equipo de protección (guantes, delantales, mascarilla, etc.), conocer las normas de comportamiento, estas deben apoyarse mediante señalizaciones en cada espacio acorde a los requisitos del sitio. En lo referente a materias primas se deben someter a un proceso de análisis microbiológico, esto incluye el agua. En cuanto al proceso de producción, empaquetado y transporte, los principales factores son la limpieza y el orden, se debe llevar un constante registro de anomalías durante el proceso y el inmediato desarrollo y aplicación de un proceso de medidas correctivas.

Para la detección de patógenos en alimentos existen diferentes métodos aprobados por los organismos internacionales, entre estos métodos tenemos al sistema ANSR (Amplified Nucleic Single Temperature Reaction), el cual es un sistema que utiliza tecnología de reacción de amplificación única isotérmica, replicando el ADN de la bacteria presente en el alimento a una temperatura constante utilizando una polimerasa para amplificar exponencialmente el ADN a 56°C, la muestra deberá estar enriquecida a niveles detectables donde el ácido nucleico objetivo es

amplificado y su sistema emplea ondas nucleares fluorescentes para la detección en tiempo real. El sistema rápido detecta la presencia o ausencia de *Listeria spp* en tan solo 18 minutos.

En el presente trabajo se trató precisamente de detectar la presencia de *Listeria spp.*, en quesos frescos elaborados en las fábricas artesanales del Cantón San Fernando de la Provincia del Azuay-Ecuador, en donde se pueden encontrar alrededor de 25 fábricas artesanales de queso,

Para este estudio, se escogió al Cantón San Fernando ubicado en la Provincia del Azuay en el sector de la Sierra Sur del Ecuador, que se encuentra limitado al norte con la Victoria del Portete, al Sur con La Asunción, al este con Girón y al Oeste con Shaglli. Su extensión es de 140 kilómetros cuadrados, está regado por varios ríos y pequeños riachuelos que mantienen verde el lugar y permiten el sistema de silvopastoreo que se desarrolla en el lugar. Es un Cantón muy conocido por su gran producción pecuaria y según consta en el Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial (2012) del Cantón San Fernando. La producción de leche en el sector es de 750.000 litros al día, lo que otorgaría un ingreso de 262.500 dólares al día. Este cantón representa parte del atractivo turístico local, por lo que los pobladores de la zona se muestran abiertos a la producción artesanal. Los productos que se distribuyen son Queso fresco, Queso Pasteurizado y Cuajada.

Al ser estos lácteos propensos a contaminación con bacterias tales como *Listeria spp.* que representan un patógeno para la salud de los seres humanos que lo consumen, es necesario realizar controles en los que se determine la presencia de éstos patógenos y de ser posible localizar el momento de contaminación con el fin de corregirlo y crear medidas preventivas para el mismo.

Los productos lácteos se distribuyen a diversas localidades tales como Machala, Huaquillas, Naranjal, Guayaquil, Cuenca, Loja y El Oro. Se presenta una tabla de las fábricas que producen queso dentro del sector en el (ANEXO 1). De las fábricas mencionadas se seleccionan 5 para su análisis y posterior creación de un Manual de BPM que permita tecnificar el sistema de elaboración artesanal de quesos de la zona con el fin de respetar las medidas de higiene necesarias para evitar ETAS (Enfermedades de Transmisión Alimenticia) por causa de *Listeria spp* en quienes consuman el producto.

OBJETIVO GENERAL

Identificar la presencia o ausencia del microorganismo *Listeria spp* en los quesos frescos artesanales que se comercializan en el Cantón San Fernando-Azuay.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar el estado de las plantas productoras de quesos en el Cantón San Fernando-Azuay a fin de seleccionar muy bien los quesos que se analizarán y aportar al mejoramiento del proceso sanitario en su fábrica artesanal y por ende a la garantía de calidad e inocuidad de su producto.
- Recolectar muestras de quesos que se elaboran en algunas de las pequeñas fábricas del Cantón San Fernando-Azuay.
- Someter las muestras a un proceso de amplificación isotérmica de ADN y Bioluminiscencia para detectar la presencia del microorganismo *Listeria spp*.
- Analizar los resultados de las pruebas realizadas de forma estadística con el fin de indicar el porcentaje de contaminación bacteriana.
- Realizar un Manual de BPM genérico a fin de lograr la mejora de los procesos sanitarios de las plantas de quesos seleccionadas y así reducir el riesgo de contaminación de quesos con *Listeria spp*.

CAPÍTULO I. MATERIALES Y MÉTODOS

El análisis realizado para determinar la presencia o no de *Listeria spp.*, en quesos artesanales del Cantón San Fernando-Azuay, se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la empresa APRACOM S.A. en la ciudad de Cuenca, ya que facilitaron el equipo de detección ANSR (*Neogen Corporation*).

Se recolectaron 80 muestras de queso fresco, siguiendo las recomendaciones dadas por la NTE INEN 4:1984 para muestreo de leche y productos lácteos, utilizando los instrumentos que exige la norma (ANEXO 2), la toma de muestras se realizó durante los meses de febrero y marzo del 2015, en 5 de las 25 fábricas existentes en el Cantón San Fernando (provincia del Azuay), y que permitieron el acceso para toma de muestras. De las 5 fábricas se tomaron 16 muestras de un peso aproximado a 100 gramos cada una, las mismas que fueron empacadas en fundas estériles, selladas y refrigeradas en una caja térmica hasta llegar al laboratorio.

Las muestras se desmenuzaron en sus respectivas bolsas y se mezcló para luego tomar 25 gramos, los cuales se pasaron a una nueva bolsa estéril y se agregó a cada una 220 ml de caldo de enriquecimiento para *Listeria spp* y se mezcló en un homogeneizador triturador (Stomacher 400). Las muestras se colocaron en una incubadora (marca QuincyLab) a 37°C +/- 1 durante 18 a 24 horas.

Luego de transcurrido el tiempo de incubación se realizó el estudio mediante el sistema ANSR (*Neogen Corporation*), para *Listeria spp.* (ANEXO 3). Se adicionó 50uL de la muestra enriquecida en los tubos de análisis, luego se agregaron 450uL de buffer de lysis. Los tubos se transfirieron a un calefactor a 37°C y se incubaron por 10 minutos. Luego se pasan a otro calefactor a 80°C por 20 minutos. De las muestras lisadas se transfieren 50uL a tubos especiales que contienen los reactivos liofilizados y tapas, se da inicio a la lectura en el equipo a 56°C (temperatura constante) y este transfiere la información al software ANSR. Los resultados son reportados en 18 minutos y se despliegan como positivos, negativos o inválidos.

Como aporte para las fábricas de quesos artesanales del cantón San Fernando se ha elaborado un manual (ANEXO 4), basado en la norma técnica sustitutiva de Buenas Prácticas de Manufactura para alimentos procesados (ARCSA 042-2015), (RO. 555 – 30/07/2015) y la guía para empleados *ServSafe Starters* de la NATIONAL RESTAURANT ASSOCIATION SOLUTIONS, *quinta edición* (2008), en él se explican los procesos adecuados de sanidad que deben cumplir las plantas

procesadoras de alimentos, consejos para mantener una higiene personal apropiada, las fallas comunes que se presentan en la producción de alimentos y la manera recomendada para prevenir errores que podrían llevar a la contaminación del producto terminado. En el Manual de BPM se muestran algunas fotografías de instalaciones, materiales y procesos de las plantas artesanales de quesos que exponen algunas acciones apropiadas que deben cumplirse, además de equivocaciones que deben evitarse.

CAPÍTULO II. RESULTADOS

De las 80 muestras analizadas por el sistema ANSR (*Neogen Corporation*), se dieron los siguientes resultados: 35% de las muestras resultaron positivas a *Listeria spp.*, 11% fueron resultados inválidos y el 54% de las muestras resultaron negativas.

Los datos específicos de resultados obtenidos se pueden apreciar en la Tabla 1.

1. Tabla 1. de Resultados de Análisis de Listeria spp en Quesos Artesanales producidos en el Cantón San Fernando mediante el sistema ANSR.

FÁBRICAS	CUADRO DE RESULTADOS																SUB TOTALES POR FÁBRICA			SUB TOTALES POR FÁBRICA		
	MUESTRA 1 (19feb2015)	MUESTRA 2 (23feb2015)	MUESTRA 3 (26feb2015)	MUESTRA 4 (27feb2015)	MUESTRA 5 (2mar2015)	MUESTRA 6 (5mar2015)	MUESTRA 7 (6mar2015)	MUESTRA 8 (9mar2015)	MUESTRA 9 (12mar2015)	MUESTRA 10 (13mar2015)	MUESTRA 11 (16mar2015)	MUESTRA 12 (19mar2015)	MUESTRA 13 (20mar2015)	MUESTRA 14 (23mar2015)	MUESTRA 15 (26mar2015)	MUESTRA 16 (27mar2015)	POSITIVAS#	NEGATIVAS#	INVALIDAS#	POSITIVAS%	NEGATIVAS%	INVALIDAS%
FÁBRICA 1 / LOTE 1																	0	15	1	0	93,75	6,25
FÁBRICA 2 / LOTE 2																	8	6	2	50	37,5	12,5
FÁBRICA 3 / LOTE 3																	2	12	2	12,5	75	12,5
FÁBRICA 4 / LOTE 4																	8	5	3	50	31,25	18,75
FÁBRICA 5 / LOTE 5																	10	5	1	62,5	31,25	6,25
TOTAL DE MUESTRAS POSITIVAS=																28			35,00			
TOTAL DE MUESTRAS NEGATIVAS=																	43			53,75		
TOTAL DE NUESTRAS INVÁLIDAS=																		9			11,25	
INTERPRETACIÓN DE COLORES																						
POSITIVO																						
NEGATIVO																						
INVÁLIDO																						

FIGURAS DE RESULTADOS

Se estudiaron 5 fábricas nombradas como lote 1, 2, 3, 4 y 5 para efectos de identificación en el lector del equipo ANSR, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

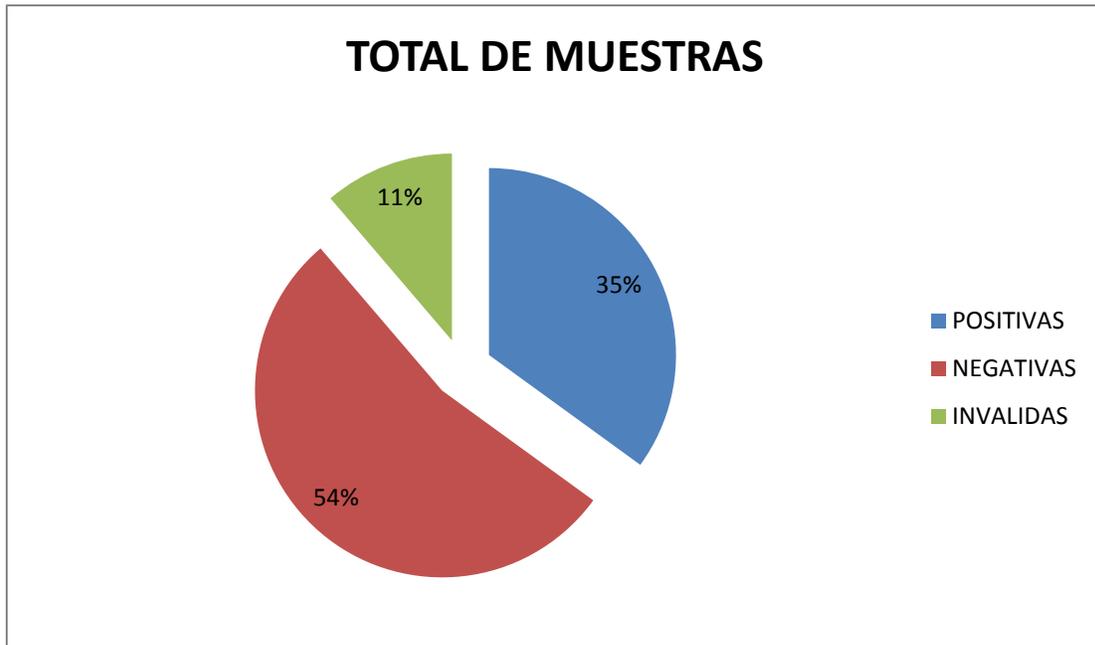


FIGURA 1. Resultados de Listeria spp. En las 80 muestras.

Las fábricas se enumeraron de la 1 a la 5, se omitieron los nombres de las mismas por pedido exclusivo de los propietarios y fue la condición para tomar las muestras.

La fábrica 5 presentó un 62,5% de muestras positivas resultando la más alta en contaminación con *Listeria spp.*, le siguen las fábricas 2 y 4 con el 50%, la fábrica 3 con el 12,5 y la fábrica 1 con el 0%.

Los detalles los observaremos a continuación:

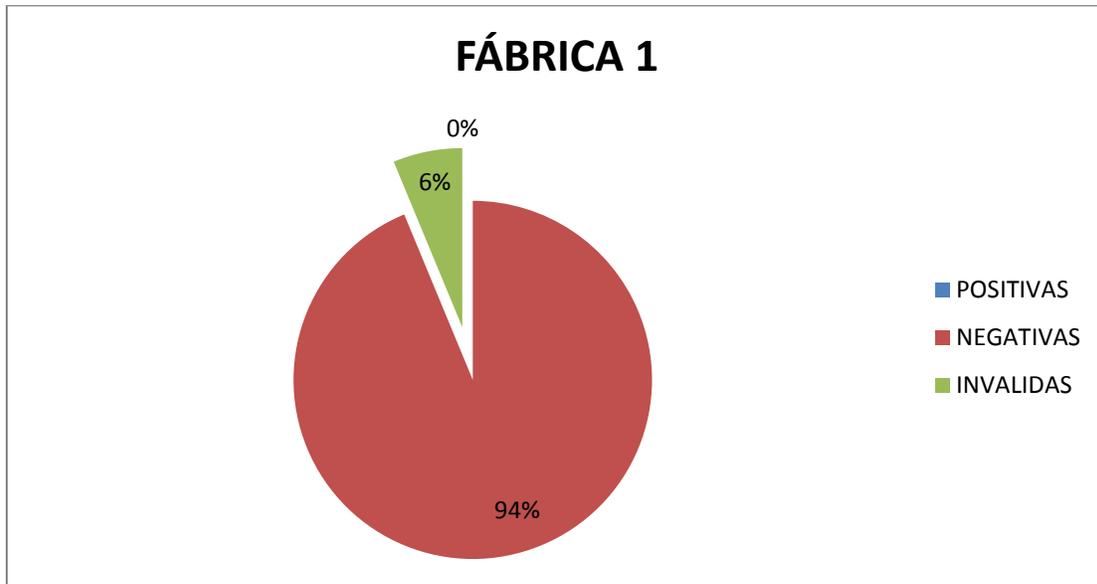


FIGURA 2. Resultados de *Listeria spp.* En las 16 Muestras de la fábrica # 1. Se observa un 0% de presencia del patógeno.

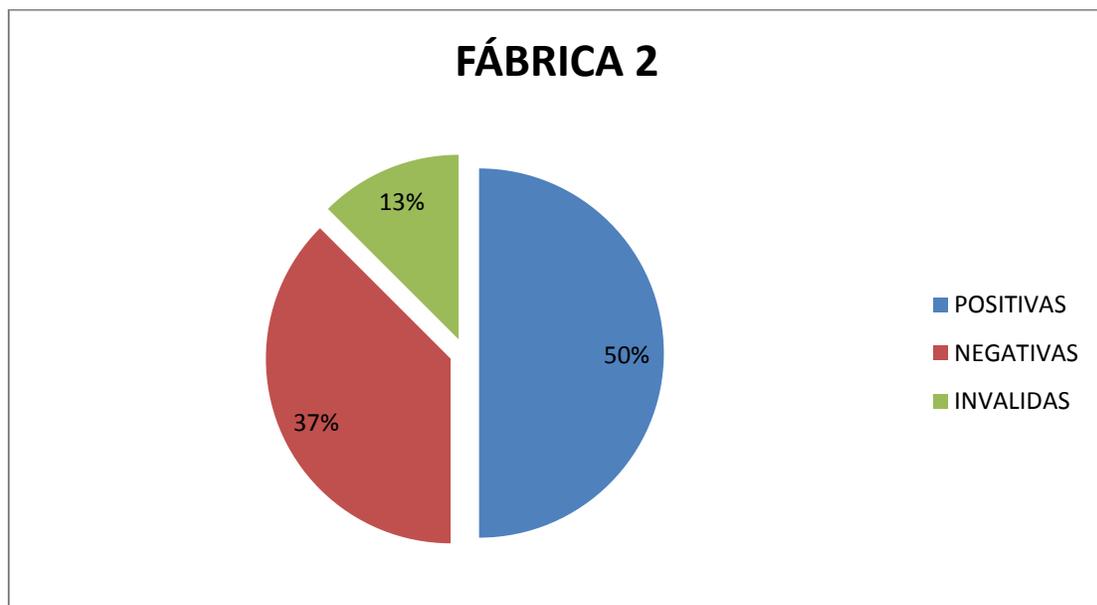


FIGURA 3. Resultados de *Listeria spp.* En las 16 Muestras de la fábrica # 2. Se observa un 50% de presencia del patógeno.

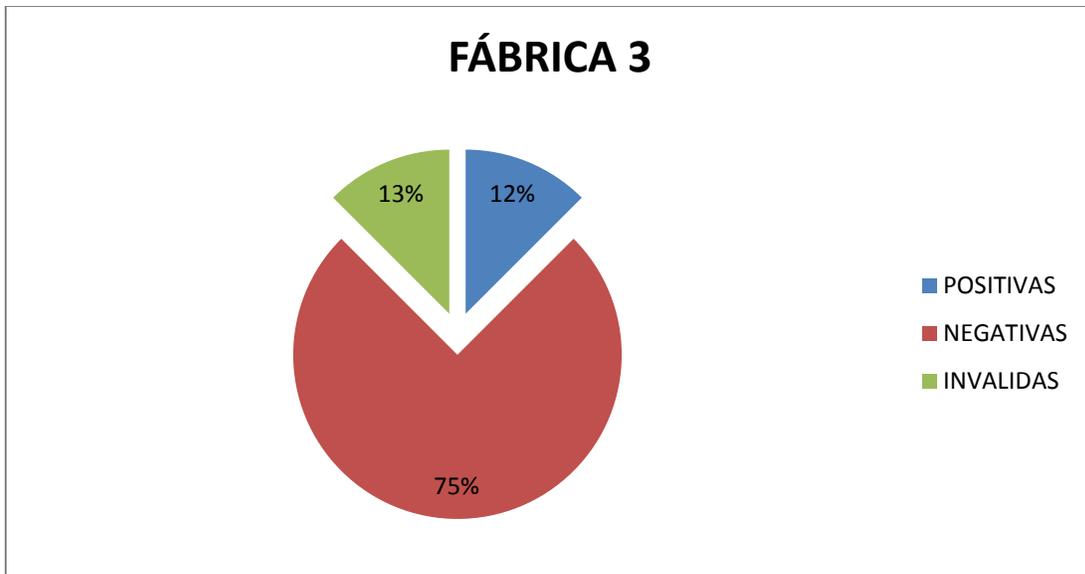


FIGURA 4. Resultados de Listeria spp. En las 16 Muestras de la fábrica # 3. Se observa un 12% de presencia del patógeno.

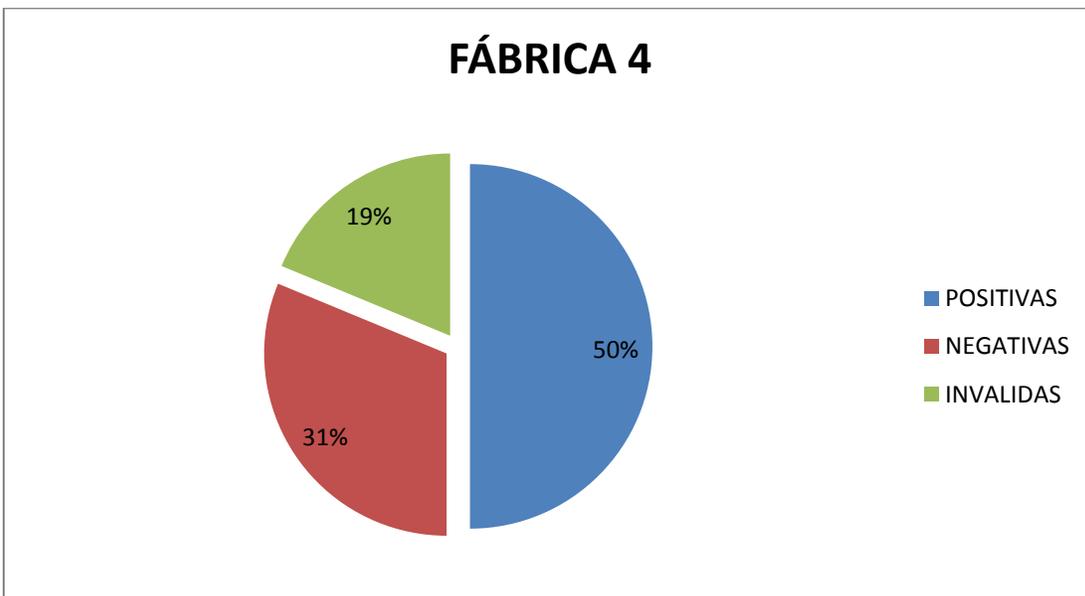


FIGURA 5. Resultados de Listeria spp. En las 16 Muestras de la fábrica # 4. Se observa un 50% de presencia del patógeno.

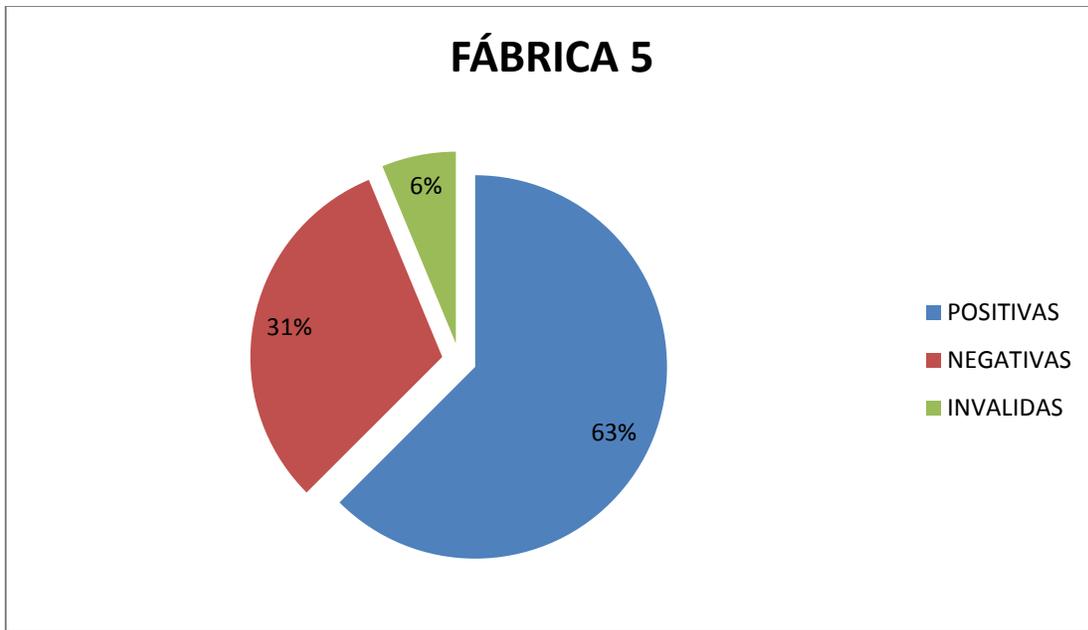


FIGURA 6. Resultados de Listeria spp. En las 16 Muestras de la fábrica # 5. Se observa un 63% de presencia del patógeno.

A continuación podemos observar en las figuras 7, 8 y 9, como el software ANSR, da una respuesta a través de curvas de comportamiento de la muestra frente al control.

Las muestras inválidas se pueden reconocer cuando las líneas de prueba (amarilla) y de control (verde) se encuentran paralelas en todo el proceso de análisis o en la mayor parte del mismo.

Cuando una muestra resulta inválida indica que pudo haber fallado cualquier paso del procedimiento como por ejemplo: mala toma de la muestra, error en su medida, temperatura no registrada o mala dilución de la muestra en cualquier paso del proceso.

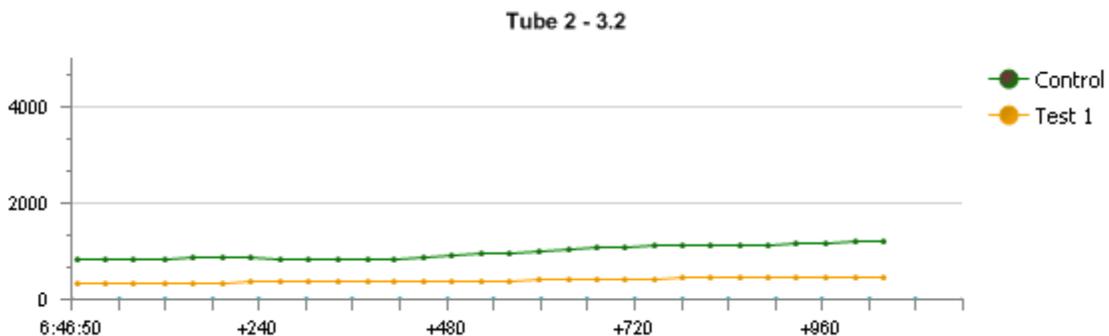


FIGURA 7. Muestra inválida

En el caso de las muestras que resultaron negativas, el software envía un gráfico como el de la figura 8, en el que se observa a la línea de control (verde) como sobrepasa la línea de prueba (amarilla), lo que indica que no hubo fluorescencia por lo tanto no hay presencia de *Listeria spp.*

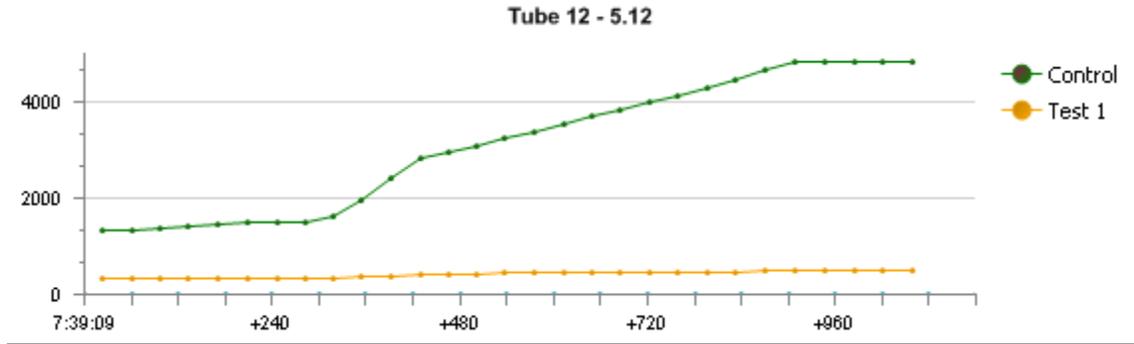


FIGURA 8. Muestra negativa

Por último cuando las muestras resultaron positivas, se observa en la figura 9 que la línea de prueba (amarilla), sobrepasa a la línea de control (verde) y lo hace precisamente en el momento en que se produce la fluorescencia y por lo tanto ha detectado el ADN de la bacteria.

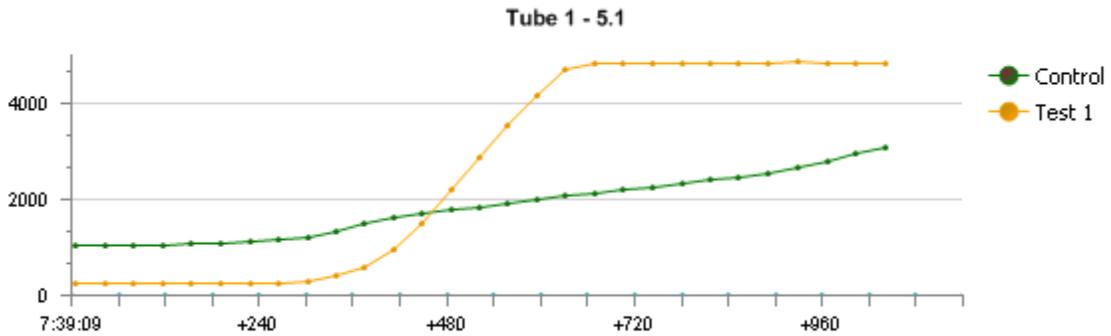


FIGURA 9. Muestra positiva

Las figuras de resultados de las 80 muestras se pueden observar en el (ANEXO 5).

Adicional a las figuras de curvas independientes de análisis ANSR (Neogen Corporation) el software nos otorga una figura de resultados totales por lote de muestras correspondientes a las 5 fábricas en el orden que se mencionó anteriormente y las podremos apreciar a continuación:

Tube Overlay - Control

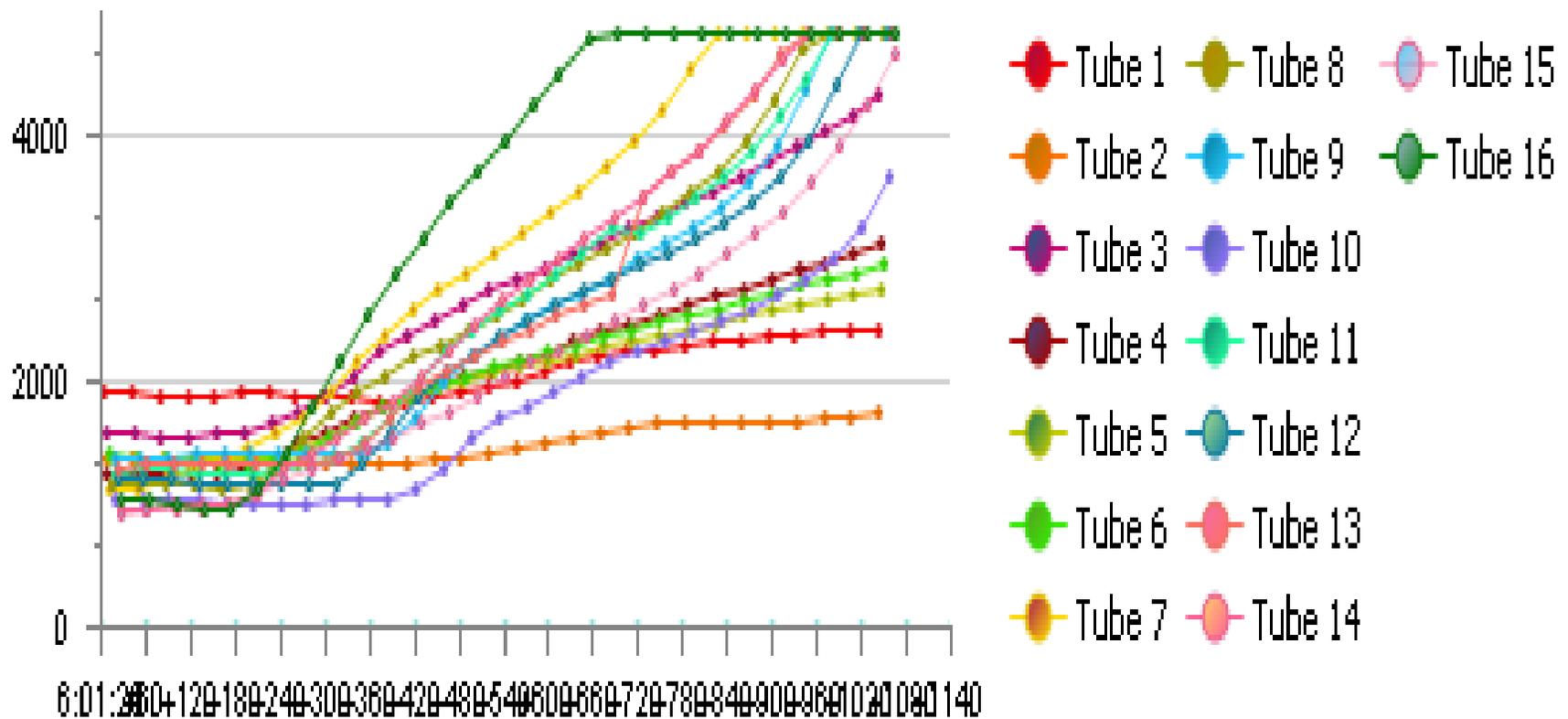


FIGURA 10. Resultados generales lote 1 (fábrica 1)

Tube Overlay - Control

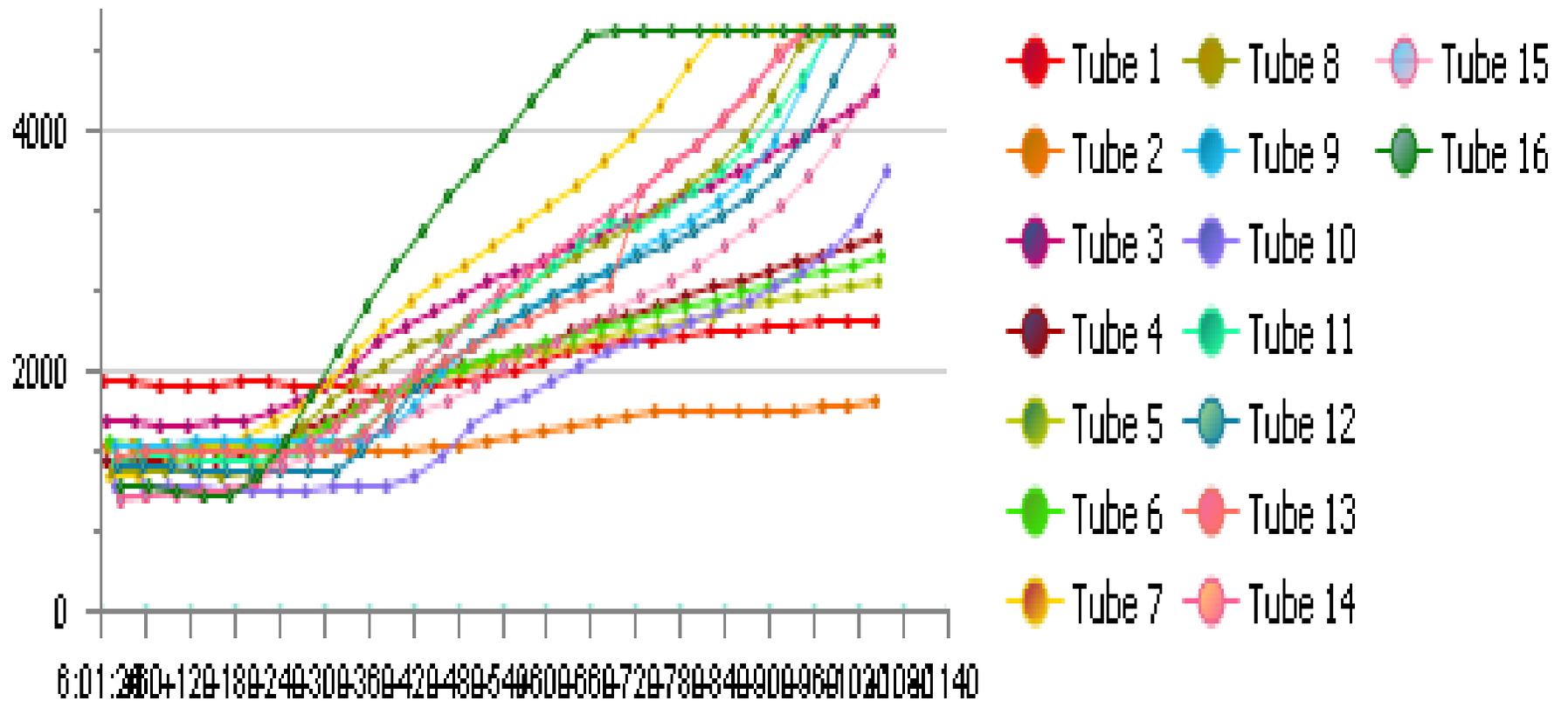


FIGURA 11. Resultados generales lote 2 (fábrica 2)

Tube Overlay - Control

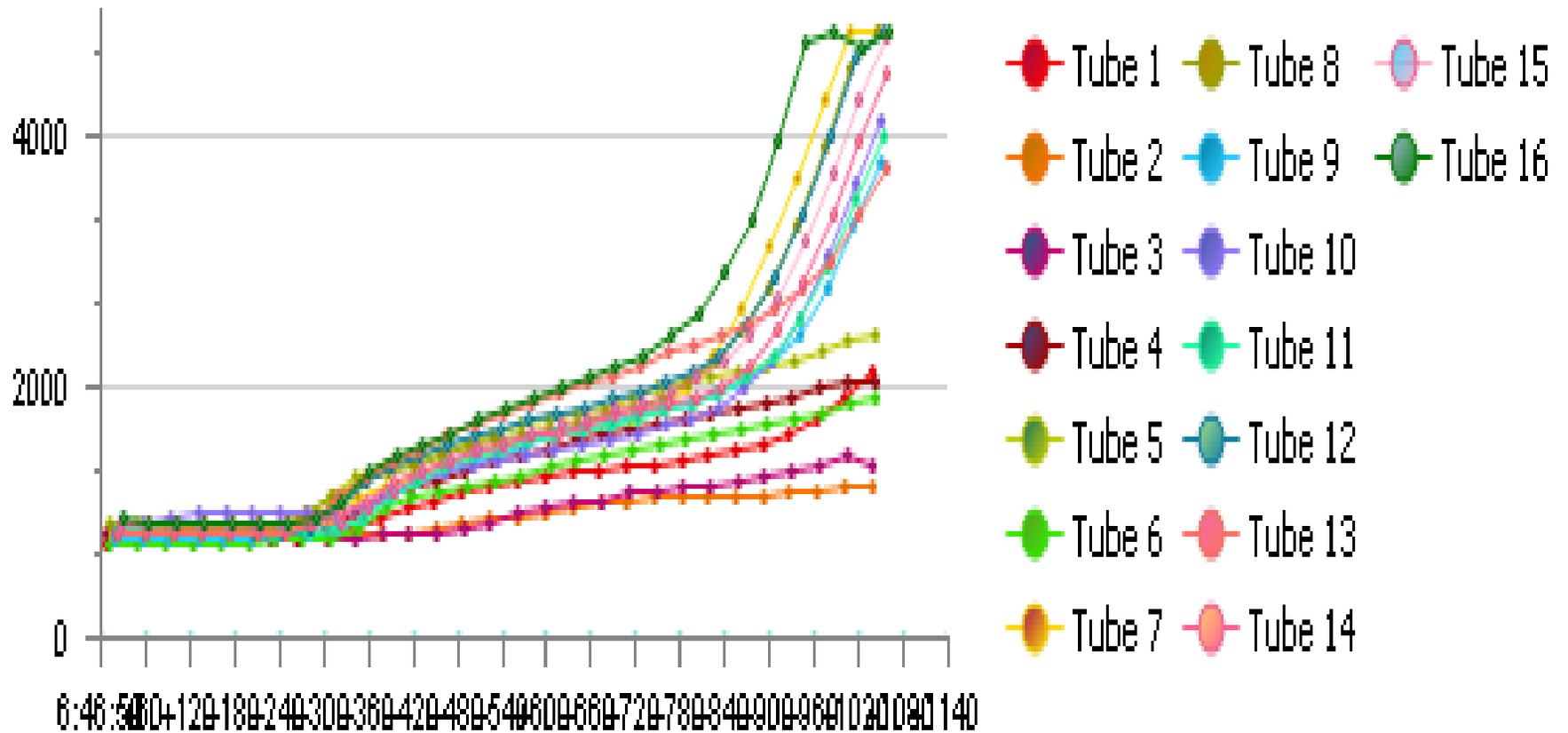


FIGURA 12. Resultados generales lote 3 (fábrica 3)

Tube Overlay - Control

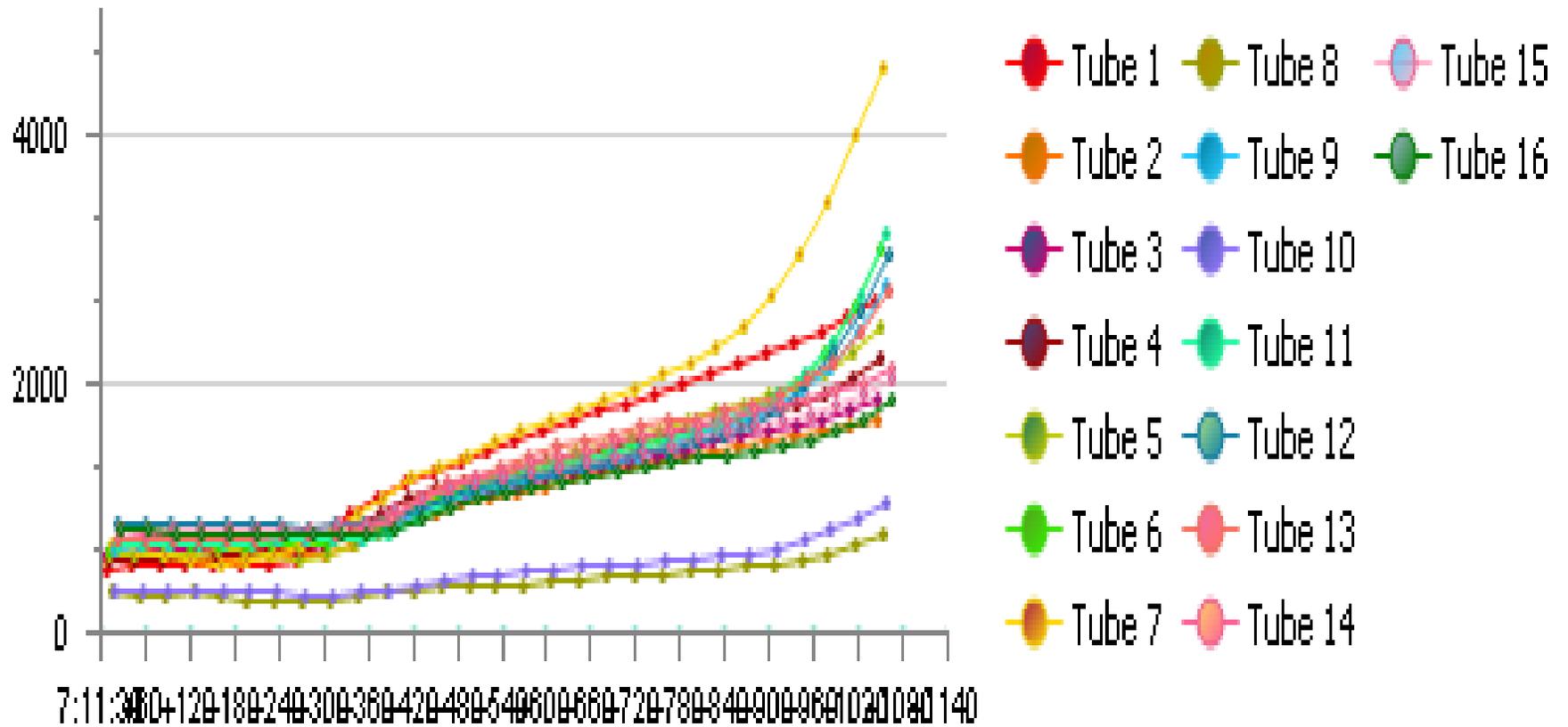


FIGURA 13. Resultados generales lote 4 (fábrica 4)

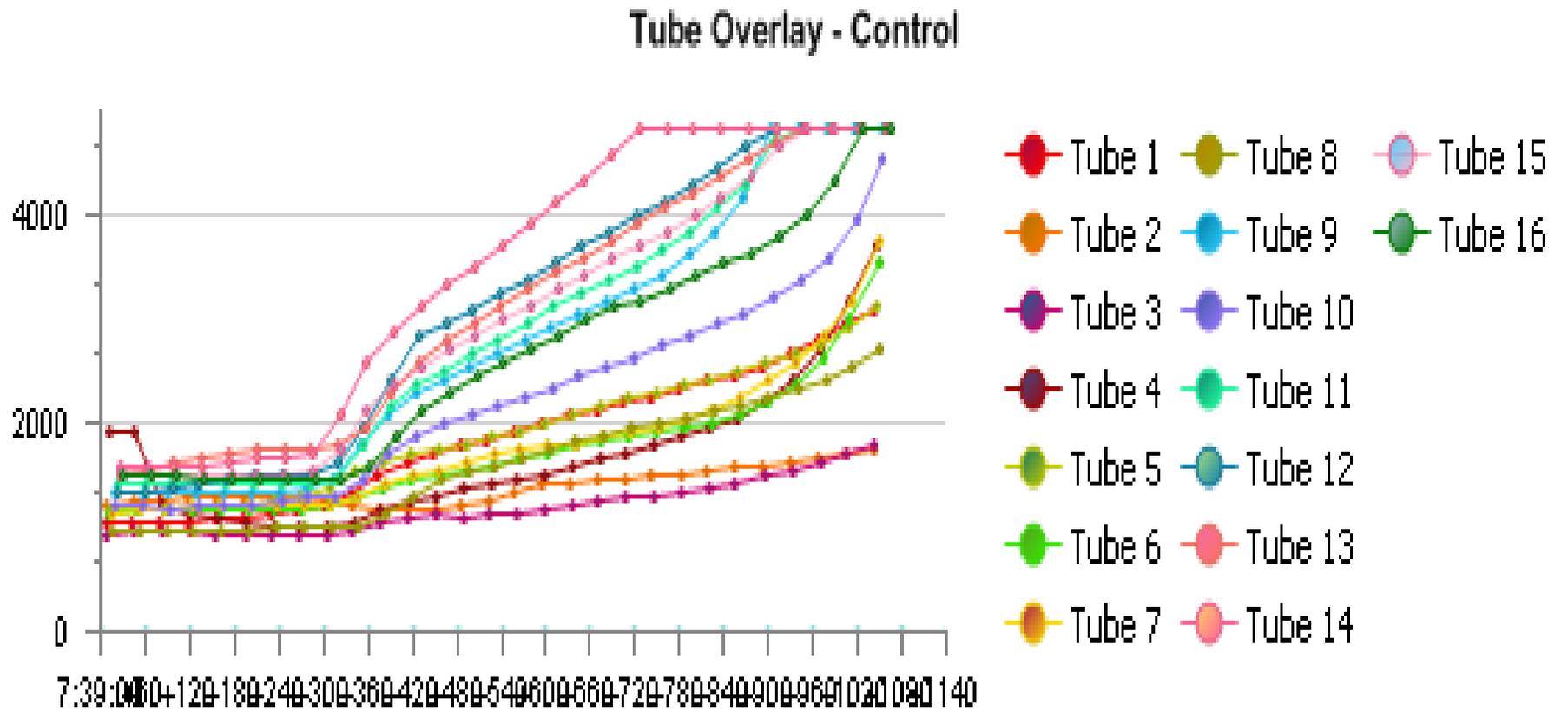


FIGURA 14. Resultados generales lote 5 (fábrica 5)

CAPÍTULO III. DISCUSIÓN

Las 80 muestras analizadas, dieron un total de 35% positivos a *Listeria* spp., lo que lleva a pensar que las buenas prácticas de manufactura en estas fábricas artesanales no se está cumpliendo adecuadamente.

Partiendo desde el manejo de su materia prima se puede observar en un estudio realizado por el *Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile* (2009), del 100% de muestras de leche analizadas para detectar la presencia o ausencia de *Listeria* se encontró que un 22% del total estuvo contaminado (Schöbitz, R et al. 2001)

Asimismo en el producto terminado en un estudio realizado en Colombia (2011), se demuestra que los quesos frescos y madurados son los grupos de alimentos más contaminados con *Listeria monocytógenes* ($p=0.009/0003$) debido, posiblemente, a deficiencias de higiene en la manipulación a lo largo de toda la cadena de producción, procedimiento, conservación y transporte, fraccionamiento y manipulación en la venta de estos productos y que, unido todo esto a la riqueza de sus componentes, al pH, y a su constante de humedad, le van a permitir su desarrollo.

Aunque en ésta investigación no se identificó los tipos de *Listeria*, existe una probabilidad alta de que se encuentre *Listeria monocytógenes* presente en las muestras de queso que resultaron positivas.

De los 23 quesos frescos con presencia de *Listeria monocytógenes* y con serotipo 4 b en su mayoría, 22 de ellos provenían de plazas de mercado y fueron elaborados en forma artesanal y posiblemente con leche sin pasteurizar, como es la costumbre de fabricación de estos quesos (Muñoz et al.2011, p.435)

En la investigación realizada por Plaza (2013), sobre “Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella*” se encontró un 47% de presencia de *Listeria* spp., en muestras de quesos artesanales, el mismo fue realizado con un método rápido aprobado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales con sus siglas en inglés (AOAC), (ANEXO 6).

De acuerdo a los estudios mencionados y al realizado en el presente trabajo se ha determinado una alta presencia de *Listeria spp* en quesos frescos artesanales. Por lo tanto de los resultados de este estudio, se recomienda: (1) la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a lo largo de toda la cadena alimentaria, motivo por el cual se adjunta el mismo, (ANEXO 4). (2) la implementación de un buen control de calidad, como es el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP), y (3) la implementación de vigilancia ambiental de *Listeria monocytogenes* en las fábricas de alimentos, como lo hacen países industrializados.

CONCLUSIÓN

Del presente estudio se puede concluir que hay presencia de *Listeria spp.*, se obtuvieron un 35% de muestras contaminadas, un 11% fueron pruebas consideradas no válidas y un 54% fueron negativas a *Listeria*. Esto lleva a determinar que la falta de higiene y buenas prácticas de manufactura en las fábricas de quesos son uno de los causantes principales de contaminación.

Partiendo desde la higiene del personal que labora en las fábricas, la selección, recepción y almacenamiento de la materia prima, problemas en los procesos térmicos de eliminación de patógenos, contaminación cruzada, manejo del producto sin elementos de protección, uso de utensilios contaminados, control deficiente en el proceso de empaquetado y temperaturas incorrectas de almacenamiento de producto terminado.

Cuando se realizó la selección de las fábricas en el cantón se pudo evaluar las condiciones en las que trabajan y debemos rescatar que fábricas como la numero 1 a pesar de sus falencias brindó un producto libre de contaminación por el cumplimiento elemental de algunas normas importantes, asimismo se puede decir que existen fábricas que se encuentran funcionando en condiciones totalmente desfavorables y que requieren de capacitación, es por ello que el Manual de BPM que se presenta en esta investigación es una guía básica para conocer algunos detalles que se deben considerar en plantas artesanales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abazúa, F., & Verónica, S. (2009). *Rev. chil. obstet. ginecol.* Recuperado el julio de 2015, de Listeria mognocytògenes: A propósito de un brote: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75262009000100001&script=sci_arttext
- Álavarez, E. (2012). *Tecología práctica de los quesos*. Cuenca: Imprenta de la Universidad de Cuenca.
- Alejandro, C. (2002). *Rev. chil. infectol.* Recuperado el julio de 2015, de BIOLOGÍA MOLECULAR EN INFECTOLOGÍA, Parte I: Desarrollo y Metodologías: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v19n1/art03.pdf>
- ARCSA. (30 de julio de 2015). *Resolución ARCSA-DE-042-2015-GGG Expídesese la Norma Técnica Sustitutiva de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados*. Recuperado el 04/09/2015 de septiembre de 2015, de <http://www.oficial.ec/resolucion-arcsa-042-2015-ggg-expidese-norma-tecnica-sustitutiva-buenas-practicas-manufactura>
- Armijos, D. (2015). Plan de Desarrollo Agro-turístico sostenible para el cantón San Fernando. Azuay, Ecuador.
- Código Alimentario Argentino*. (s.f.). Recuperado el 12 de julio de 2015, de Alimentos Lácteos: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/capitulo_viii.pdf
- De Jaime Lorén, J. M. (25 de octubre de 2011). *Eponimios Científicos*. Recuperado el 15 de julio de 2015, de Listeriosis: <https://blog.uchceu.es/eponimos-cientificos/listeriosis-genero-listeria/>
- Estrella Flores, G. A. (2013). Monitoreo de la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Gallegos, J., Arrieta, G., Máttar, S., Poutou, R., Trespacios, A., & Carrascal, A. (12 de Noviembre de 2007). *Rev. MVZ. Córdoba*. Recuperado el 15 de julio de 2015, de FRECUENCIA DE Listeria spp; EN QUESOS COLOMBIANOS COSTEÑOS: <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v12n2/v12n2a05>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1984). *NTE INEN 4*. Recuperado el julio de 2015, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0004.1984.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2012). *NTE INEN 10*. Recuperado el julio de 2015, de <ftp://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0010.2012.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2012). *NTE INEN 1528*. Recuperado el julio de 2015, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1528.2012.pdf>

- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2012). *NTE INEN 9*. Recuperado el julio de 2015, de <ftp://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0009.2008.pdf>
- Ministerio de Coordinación de la Política y Gobiernos Descentralizados. (2012). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Cantón San Fernando*. Recuperado el 20 de marzo de 2015, de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/%23recycle/PDyOTs%202014/0160000940001/PDyOT/27022013_144007_PLAN%20PDOT%20SAN%20FERNANDO.pdf
- National Restaurant Association Educational Foundation. (2008). *Serv safe starters, guía para empleados*. Chicago: Copyright Permissions.
- Neogen Corporation. (2013). *ANSR brochure en Español*. Canada.
- Schaller, A. (s.f.). *Alimentos Argentinos*. Recuperado el 12 de junio de 2015, de Quesos: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/43/cadenas/r43_09_Quesos.pdf
- Schöbitz, R., MARÍN, M., HORZELLA, M., & CARRASCO, E. (5 de octubre de 2001). *Revistas Electrónicas UACH*. Recuperado el 15 de junio de 2015, de Presencia de Listeria monocytógenes en quesos artesanales: http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0304-88022001000200004&script=sci_arttext
- Vyas, Jatin. (9 de enero de 2013). *Medline Plus*. Recuperado el 15 de julio de 2015, de <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001380.htm>

ANEXOS**Anexo 1. Inventario de fábricas de queso cantón San Fernando – provincia del Azuay**

#	PROPIETARIO	DIRECCIÓN
1	Sr. Jonathan Loja	Calle 10 de Agosto
2	Sr. José Luis Zhispón	
3	Sr. Joselito Giñin	Vía a Busa
4	Sr. Martín Gavilanes	
5	Sr. José Castro	Calle Santiago de San Fernando y Av. Municipal
6	Sr. Nelson Romero	
7	Sr. Juan Romero	
8	Sra. Carmen Pasato	
9	Sra. Nancy Azaña	
10	Sra. Digna Castro	San Carlos
11	Sr. Pedro Cárdenas	Calle Lamar – Salida vía La Asunción
12	Sr. Pedro Peña	
13	Sr. Patricio Idrovo	
14	Sr. Mesías Peña	Calle Sucre
15	Sr. Marco Quinde	Recinto de Fátima
16	Sr. Octavio Guamán	
17	Sr. Manuel Azaña	
18	Sr. Braulio Astudillo	Recinto Rosas
19	Sr. Víctor Loja	Recinto Patay
20	Sr. Emiliano Idrovo	
21	Sr. Alfonso Garzón	Recinto Balsapamba
22	Sr. Delfín Pasato	Recinto San Idrovo
23	Sr. Luis Pasato	Recinto El Carmen
24	Sr. Segundo Pasato	Recinto María Auxiliadora
25	Sr. Marcelo Quizhpi	Parroquia Chumblín

Inventario: Fábricas de Queso – San Fernando

Elaborado por: Daniela Armijos

Fecha: 09/Enero/2015

Anexo 2. Instrumentos adecuados para muestreo de quesos.

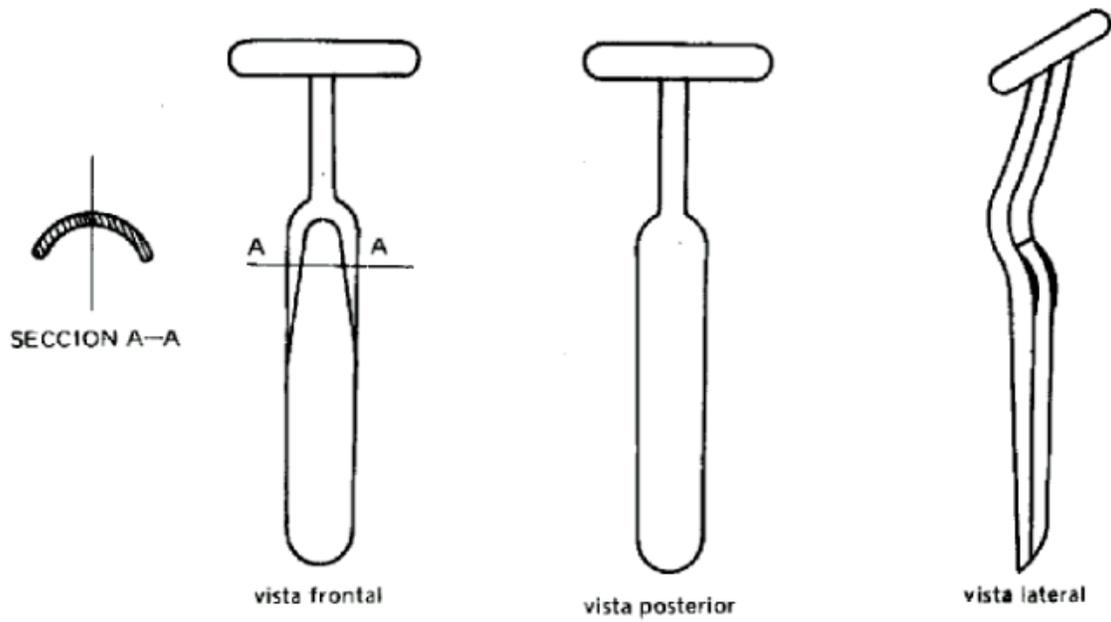


FIGURA A.4 Sacamuestras para queso

Tomado de la: NTE INEN 0004 (1984)

Anexo 3.

Proceso de análisis ANSR para listeria SPP en quesos artesanales del Cantón San Fernando – Azuay



1 Recolectar la muestra de queso en la fábrica seleccionada manteniendo la cadena de frío. Codificar cada muestra de acuerdo al número de fábrica y a la fecha de elaboración y de recolección.



2 Verificar la temperatura de recepción del queso ($\leq 4^{\circ}\text{C}$) y transportarlos en un cooler para no perder la temperatura.



3 Tomar aproximadamente 100 gramos de muestra de queso y colocarlo en bolsas ziploc, desmenuzar las muestras para lograr mezclar el queso en su totalidad.



4 Pesar 25 gramos de cada muestra desmenuzada y conservarla refrigerada en bolsas ziploc cerradas antes de realizar el estudio.



5 Preparar el medio de pre enriquecimiento mezclando 78,5 gramos del medio para listeria SPP con 1 litro de agua destilada precalentada a 30°C .



6 Colocar 220ml del medio en los 25 gramos de queso, sellar las bolsas ziploc, mezclar muy bien e incubar por 24 horas a 37°C .



7 Tomar 50 μl de cultivo enriquecido utilizando puntas estériles con filtro y colocar en los posillos.



8 Agregar 450 μl de buffer de lisis a la muestra anterior y colocar en el calentador a 37°C por 10 min.



9 Pasar los posillos con muestra a 37°C al calentador a 80°C por 20 minutos.



10 Tomar los microposillos de reacción que deben permanecer hasta el final en sus bolsas y fijarse que los reactivos liofilizados se encuentren en la parte inferior del microposillo, colocar los microposillos en el equipo ANSR que deberá estar a 56°C en el lector. Retirar las tapas y desecharlas.



11 Tomar 50 μl de muestra y colocar en los microposillos, colocar nuevas tapas y cerrar el equipo.



12 Dar click en la palabra RUN y esperar a que el equipo analice las muestras y grafique los resultados obtenidos en 18 minutos.

Anexo 4. *Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para una planta de quesos artesanales.*

Manual de BPM

para una Planta de Quesos Artesanales



Manual de BPM

Para una Planta de Quesos Artesanales



Ana Lía Cordero Maldonado

El manual ha sido elaborado de acuerdo a la Norma Técnica sustitutiva de Buenas Prácticas de Manufactura para alimentos procesados (ARCSA 042-2015), (RO. 555 - 30/07/2015) y la guía para empleados de ServSafe Starters de National Restaurant Association Solutions, Quinta Edición/2008; con el fin de brindar al lector una guía básica para lograr tener un buen manejo de su planta de elaboración de quesos.

Recopilación de Información: Ana Lía Cordero Maldonado
Diseño y Diagramación: María Eduarda Maldonado Cedeño
Fecha de Elaboración: Julio/2015

Cuenca- Ecuador

Tabla de Contenidos

Manual de BPM para una Planta de Quesos Artesanales

- Introducción
- Capítulo #1
 - Las Instalaciones
- Capítulo #2
 - Maquinaria
- Capítulo #3
 - Proveedores Calificados
 - Recepción de Materia Prima y Almacenamiento
- Capítulo #4
 - Materia Prima en buenas condiciones
- Capítulo #5
 - Personal Calificado
- Capítulo #6
 - Cuidado del Personal
- Capítulo #7
 - Temperaturas de Almacenamiento en Frío
- Capítulo #8
 - Proceso de Pasteurización
- Capítulo #9
 - Flujo de Elaboración del Queso



Introducción

En el presente Manual usted podrá aprender de manera práctica cómo se recomienda mantener sus instalaciones y cómo manejar su proceso de fabricación de queso de manera segura, partiendo desde las instalaciones, maquinaria, proveedores, materia prima, vestimenta de los trabajadores, higiene del personal, manejo de temperaturas de Pasteurización, enfriado rápido, elaboración adecuada del queso, empaquetado, sellado, almacenamiento y distribución.

Capítulo #1

Las Instalaciones

Las áreas deben estar diseñadas de manera que sean fáciles de limpiar y desinfectar.

El proceso debe ser organizado y señalizado desde el inicio hasta el final.

Los materiales no deben ser tóxicos, deben ser de grado alimenticio.

En áreas donde el alimento esté expuesto, las ventanas deben ser de material no astillable y si tienen vidrio, debe existir una película protectora que evite contaminación física en caso de rupturas.

La Iluminación debe ser adecuada y si se requiere de iluminación artificial deberá ser lo más parecida a la luz natural y estar correctamente protegida en caso de rupturas.

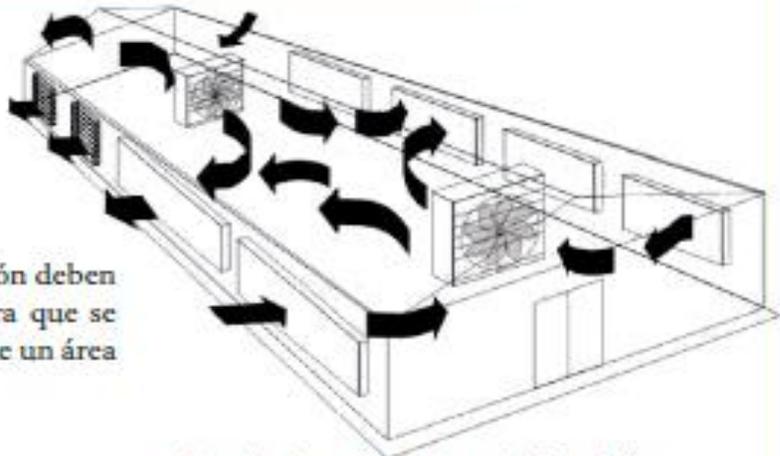


Cordero, A. (2015). *Las Instalaciones*. Recuperado de: http://www.instrumex.com/instrumex/vp81/sp/laspararas_inper-mobles



Cordero, A. (2015). *Las Instalaciones*. Recuperado de: http://www.instrumex.com/instrumex/vp81/sp/laspararas_inper-mobles

La uniones entre paredes y pisos, paredes y techos; deben ser cóncavas para facilitar su limpieza y evitar formar ángulos rectos donde se puedan acumular bacterias.



Los sistemas de ventilación deben estar ubicados de manera que se evite el paso del aire desde un área contaminada.

Cordero, A. (2015). *Las instalaciones*. Recuperado de: <http://1.bp.blogspot.com/-C5A7yEDFWQ8U/UR3lpbFNYI/AAAAAAAAA474/7d1d72y96CA/61600/ventilacion-de-galpones-ventilacion-interna.gif>

Debe existir un mecanismo de control de temperatura y humedad.

Se deberá contar con un sistema de agua potable.

Si existen tuberías de agua no potable deberán estar señalizadas.



AGUA NO POTABLE

AGUA POTABLE

Cordero, A. (2015). *Las instalaciones*. Recuperado de: <http://www.proyectos.com/realizacion-agart-ial/660-sc-al-04-pre-agua-no-potable-p213.html>

Cordero, A. (2015). *Las instalaciones*. Recuperado de: <http://portal.en/26-obligacion>

Se debe tener tachos específicos para cada tipo de desecho y con tapa, de manera que se logre mantener un sistema correcto de recolección, almacenamiento, protección y eliminación de basuras.



Cordero, A. (2015). *Las instalaciones*. Recuperado de: <http://sistema.gub.ve/sistema-waste-collection-system/>

Capítulo #2

Maquinaria

La maquinaria que estará en contacto con los alimentos no debe ser tóxica ni otorgar a los productos olores o colores distintos, no deben estar cubiertos de pinturas desprendibles.

Deben ser desarmables para facilitar su limpieza y desinfección.

Se debe dar mantenimiento a los equipos de manera regular y cambiar o colocar aceites cada que sea necesario, cuidando que estos sean de grado alimenticio.



Cordero, A. (2015). *Las Instalaciones*. Recuperado de: <http://www.inmexluz.com/inmexluz/vpl3/sp/laempesa-imprescindibleenla>



Fotografía de Ana Lía Cordero, San Fernando, Azuay, (2015). *Fábrica de Quesos #1*

Capítulo #3

Proveedores Calificados

Recepción de Materia Prima

Almacenamiento

Proveedores Calificados



Cordero, A. (2015). *Proveedores Calificados*. Recuperado de http://agrotecnologia.com/notes/temas/temas_proveedores_bajar_cotas_de_produccion_de_leche

Los proveedores de materias primas deben ser confiables.

Se realiza un estudio de los proveedores de la zona y se revisa que sean calificados dentro de los procesos regulares tanto de crianza de las vacas como de recolección, transporte y mantenimiento de la leche.

Solicitar al proveedor un documento que lo acredite como proveedor de leche.



Cordero, A. (2015). *Recepción de Materia Prima*. Recuperado de <http://www.buywagold.es/el-servicio-de-entrega-a-domicilio-de-las-tiendas-online-y-sus-garantias/>

Recepción de Materia Prima y Almacenamiento

El receptor de materia prima deberá revisar que la leche llegue en perfecto estado de refrigeración tomando la temperatura de mínimo 4°C y conservarla dentro del frigorífico en todo momento.

Capítulo #5

Personal Calificado

Personal Calificado

El personal de una planta productora de quesos deberá estar capacitado para el cargo y tener estudios además de experiencia relacionada con el tema que va a tratar más adelante.

Capacitar a los trabajadores de manera regular a fin de lograr actualizar conocimientos y por ende mejorar el proceso de elaboración del producto comercializado.



Cordero, A. (2015). *Personal Calificado*. Recuperado de: <http://www.civ.mx/medicina/como-est-ificar-el-trabajador/>

Capítulo #6

Cuidado del Personal

Cuidado del Personal

Obligaciones de la empresa con el personal

Se deben crear diferentes programas que incluyan normas y precauciones a tomar cuando se trabaja con alimentos.

El personal deberá hacerse una revisión médica antes de empezar a trabajar y cumplir con ciertas normas de higiene específicas para el manejo de los alimentos.



El personal no debe laborar si se encuentra enfermo.

Fotografía de Ana Lia Cordero, Cuzco, 2015. Laboratorio de Microbiología AFRACOM S.A.

Acciones correctas e incorrectas del personal

El trabajador no debe tener uñas largas ni pintadas.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

El trabajador debe tener las uñas cortas y limpias.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

El trabajador no debe usar joyas como aretes, relojes, anillos.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

El trabajador no debe utilizar maquillaje excesivo.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

El trabajador no debe estar con el cabello suelto.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

Vestimenta adecuada del personal

El personal debe contar con el uniforme adecuado y completo para la labor asignada: (delantales, botas, guantes, gorros, mascarillas, mallas para el cabello) preferiblemente lavables o desechables.



Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuzco, 2015. Laboratorio de Microbiología AFRACOM S.A.

Correcto lavado de manos



Mojar sus manos en agua lo más caliente que pueda soportar.

Aplice suficiente jabón para hacer abundante espuma.



Frotarse las manos y entre los dedos por 10 a 15 segundos aproximadamente.



Limpíese entre las uñas.



Adicionalmente limpie su dedo pulgar.



Frotarse bien las manos y antebrazos.

Enjuague sus manos bajo un chorro de agua caliente.

Secarse las manos y antebrazos.



Utilice una toalla de papel desechable.

Uso de antisépticos para manos



Finalmente utilice un gel desinfectante para finalizar la limpieza de sus manos.

**El uso de gel desinfectante no reemplaza el lavado de manos.*

Cordero, A. (2015). *Cuidado del Personal*. Recuperado de: <http://www.taringa.net/post/salud-bienestar/996084/Proceso-de-un-buen-lavado-de-manos.html>

Cuándo lavarse las manos



Luego de Fumar.

Cordero, A. (2015). *Cuidado del Personal*. Recuperado de: <http://telemotivo.com.do/salud-publica-prohibe-fumar-en-hospitales-y-sus-periferias/>



Luego de ir al baño.

Cordero, A. (2015). *Cuidado del Personal*. Recuperado de: <http://picant.com/253266916-artes-de-de-carga.html>



Luego de estornudar, toser o utilizar un pañuelo de papel.

Cordero, A. (2015). *Cuidado del Personal*. Recuperado de: <http://www.planetacurioso.com/2013/07/16/sabias-que-el-sentido-que-hacemos-al-estornudar-es-un-habito-cultural-adquirido/>

Manual de BPM para una Planta de Quesos Artesanales



Cordero, A. (2015). *Cuidado de Personas*. Recuperado de: <http://www.lavor.com.ar/ctuidadaron/desde-octubre-pasado-ya-hubo-7-minos-con-sub-en-cordoba>

Antes y después de tocar carne, aves y mariscos.



Cordero, A. (2015). *Cuidado de Personas*. Recuperado de: <http://www.marcbeteta.com/higiene-2/higiene-con-la-basura/>

Luego de Sacar la basura.



Cordero, A. (2015). *Cuidado de Personas*. Recuperado de: <http://prensa.pe/suplementos/hazlo-tu-mismo/como-preparar-agua-de-lavanda-en-5-simples-pasos>

Luego de manejar productos químicos que afectan a la seguridad de los alimentos.



Cordero, A. (2015). *Cuidado de Personas*. Recuperado de: <http://www.blogdefarmacia.com/la-importancia-de-lavarse-las-manos-luego-de-usar-dinero-en-cieches/>

Luego de tocar dinero.

Capítulo #7

Temperaturas de Almacenamiento en Frio

Los alimentos de alto riesgo como son la leche y productos lácteos deben someterse a un proceso térmico que elimine la flora patógena existente.



Cordero, A. (2015). *Temperaturas de Almacenamiento en Frio*. Recuperado de <http://definicion.de/termometro/>



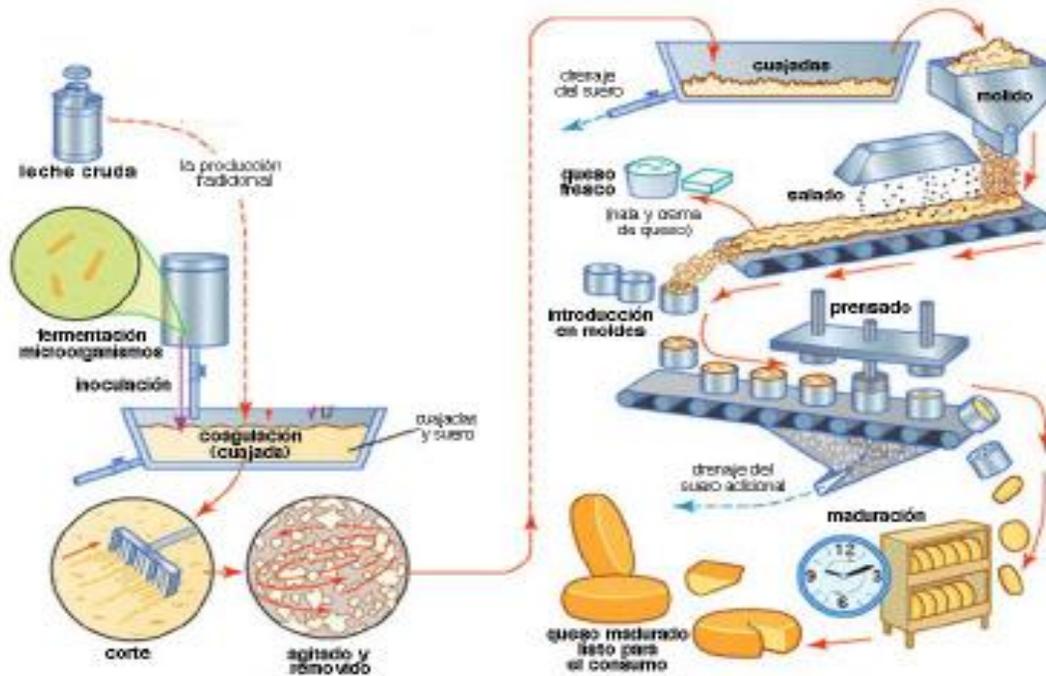
Fotografía de Ana Lía Cordero, Cuenca, 2015. Laboratorio de Microbiología APRACOM S.A.

Es importante que la temperatura se reduzca rápidamente luego del tratamiento térmico con la finalidad de conservar el producto de 2°C a 4°C.

Capítulo #8

Proceso de Pasteurización

El proceso de pasteurización por el que pasa la leche es importante y debe realizarse de manera correcta ya que si no cumple con el proceso adecuado el producto final requerido (queso) resultará contaminado.



Cordero, A. (2015). *Proceso de Pasteurización*. Recuperado de: http://farmacia9.blogspot.com/2011/10/01_art1.html

Capítulo #9

Flujo de Elaboración del Queso

Se debe tomar en cuenta el proceso desde la selección de proveedores de MP (materia prima), recepción de MP y elaboración del producto final.



Cordero, A. (2015). *Flujo y Elaboración de Queso*. Recuperado de: <http://elmatractor.com/tracoeleccionado.es/content/15-em%9C3%AADo-asegurado>

Se debe incluir el cuidado del abuso del tiempo (se recomienda menos de 2 horas) a temperaturas de entre 5 y 65°C, se recomienda enfriar rápidamente a menos de 4°C en el proceso de empaquetado, sellado, almacenamiento posterior y distribución.



Cordero, A. (2015). *Flujo y Elaboración de Queso*. Recuperado de: <http://www.elmatractor.com/tracoeleccionado.es/content/15-em%9C3%AADo-asegurado>



Cordero, A. (2015). *Flujo y Elaboración de Queso*. Recuperado de: <http://www.appo.com.ar/index.php/servicios/losServicios>

Anexo 5. Figuras de resultados de las 80 muestras analizadas.

Test Detail

Test Type:	ANS-R Listeria	Algorithm:	FN Listeria 20130814
Set	56.0°C	Start Time:	11/04/2015
Instrument ID:	DF37E3-15		
File Name:	LISTERIA.json		

Test Fields

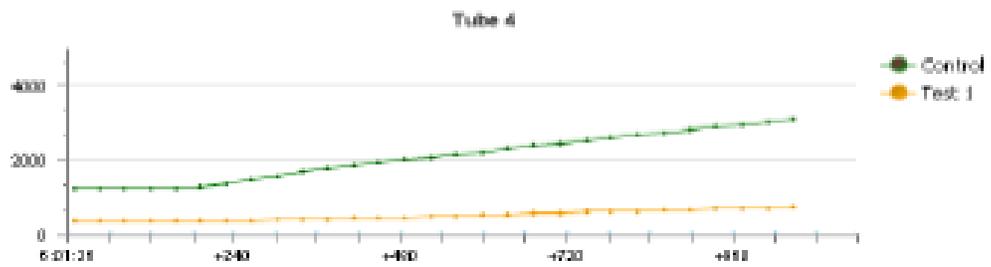
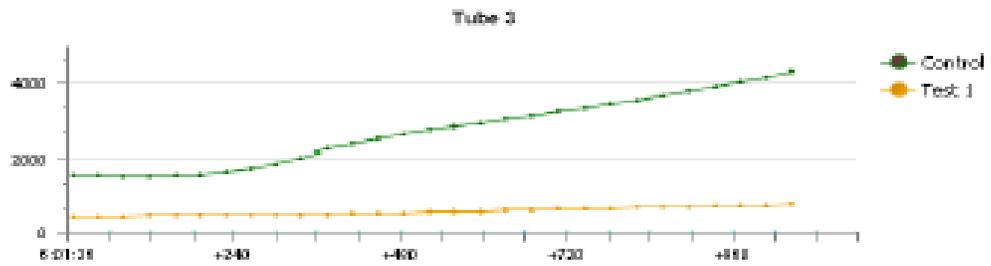
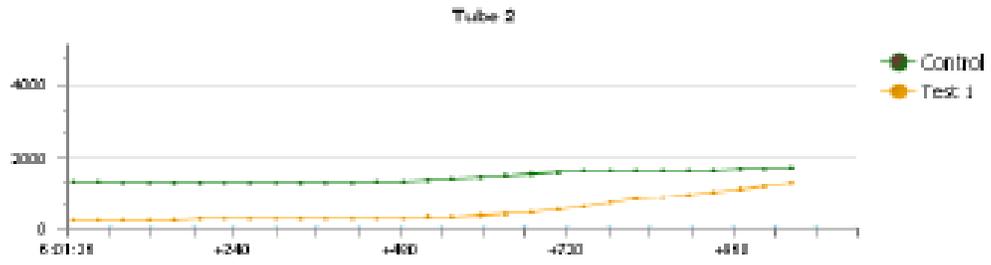
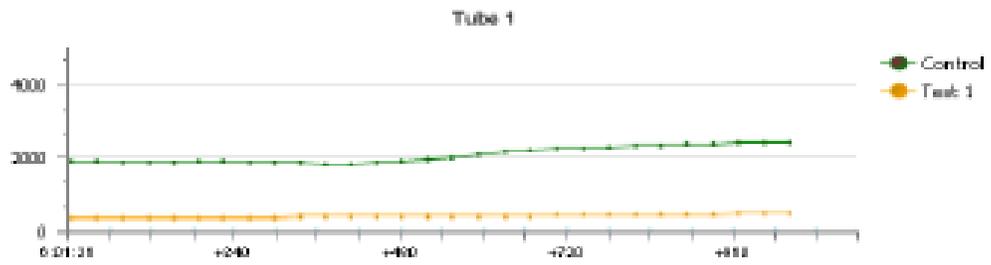
User Name: ANALIA
 Lot ID: LOTE 1

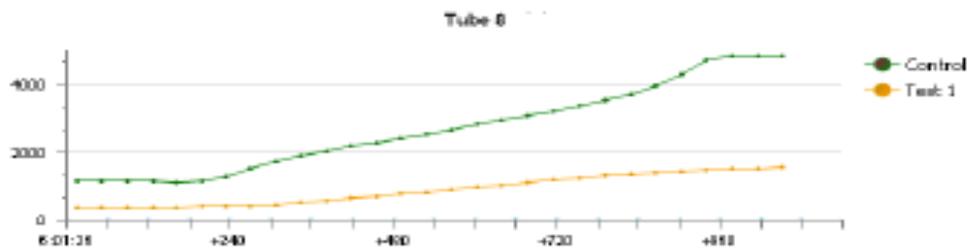
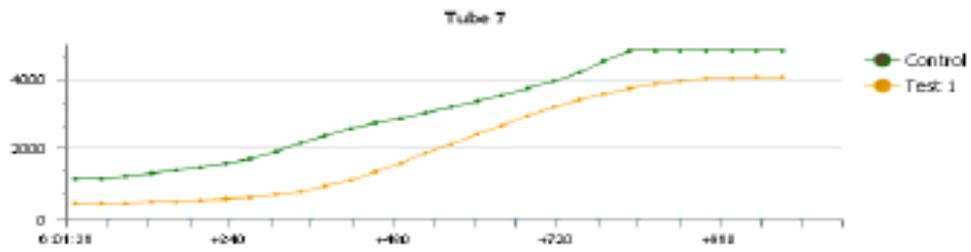
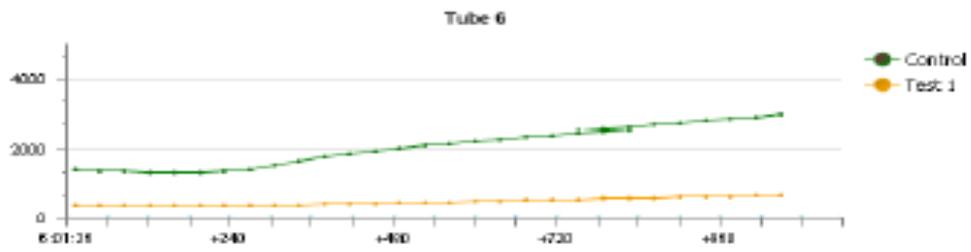
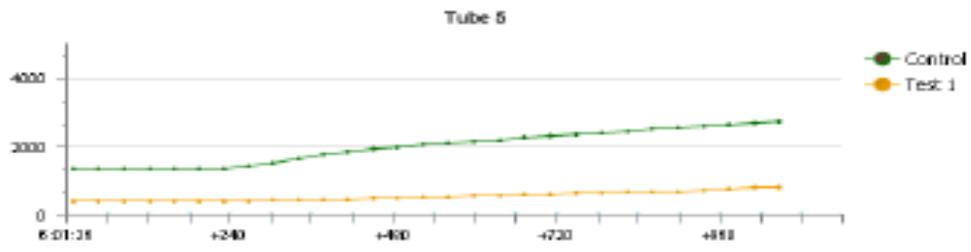
SAMPLE ID	CH1		CH1
01. 1.1	Invalid	01. 1.9	Negative
01. 1.2	Negative	01. 1.10	Negative
01. 1.3	Negative	01. 1.11	Negative
01. 1.4	Negative	01. 1.12	Negative
01. 1.5	Negative	01. 1.13	Negative
01. 1.6	Negative	01. 1.14	Negative
01. 1.7	Negative	01. 1.15	Negative
01. 1.8	Negative	01. 1.16	Negative

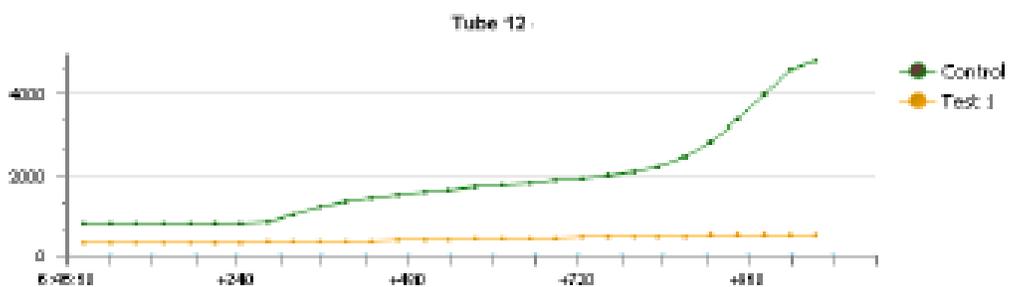
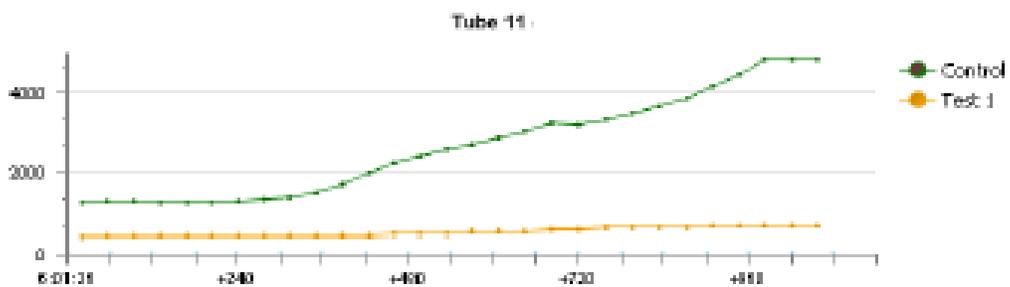
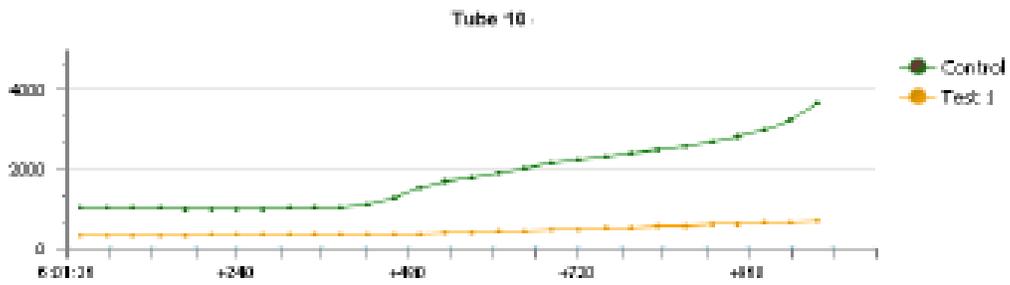
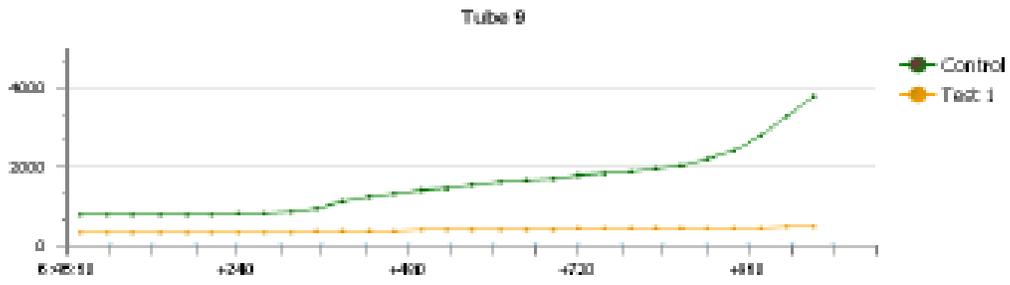
Test Results



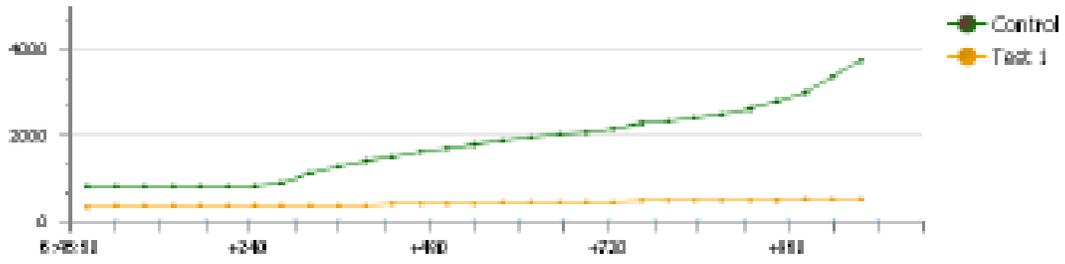
Comments



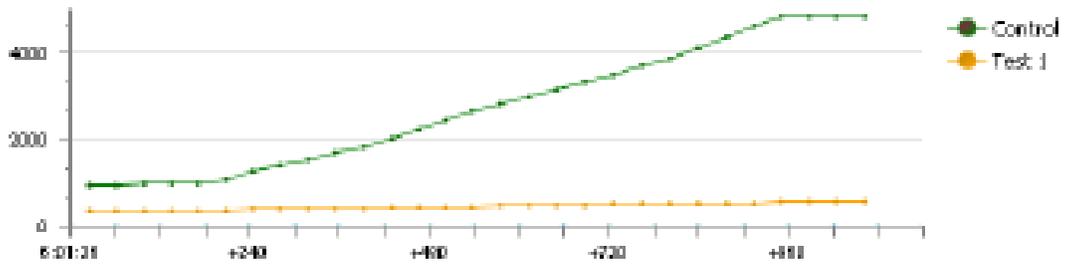




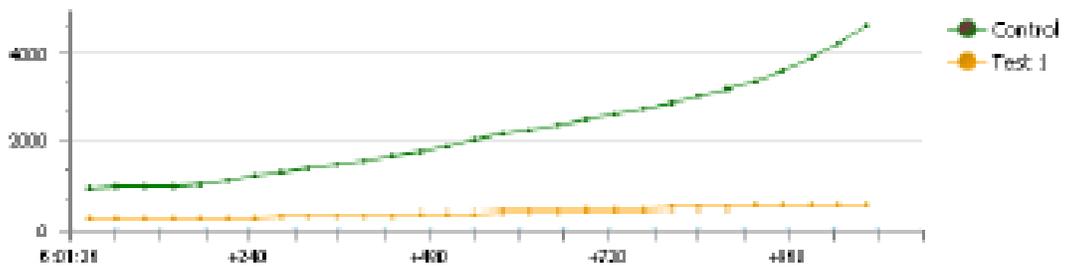
Tube 13.



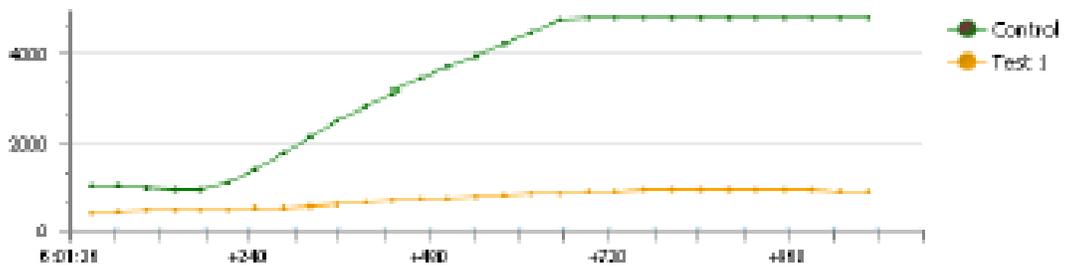
Tube 14.

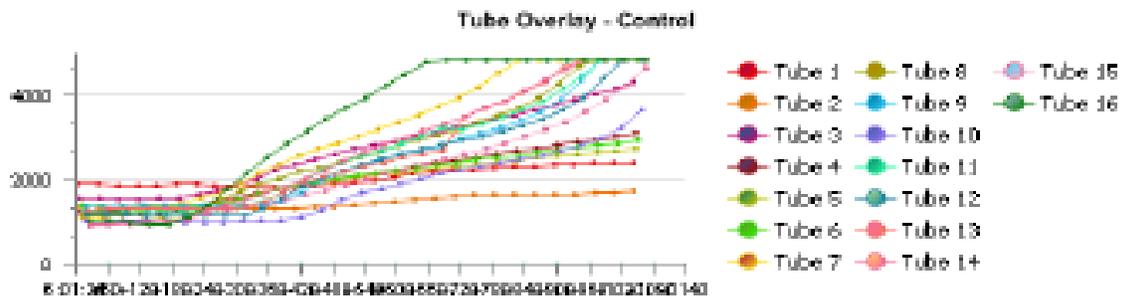
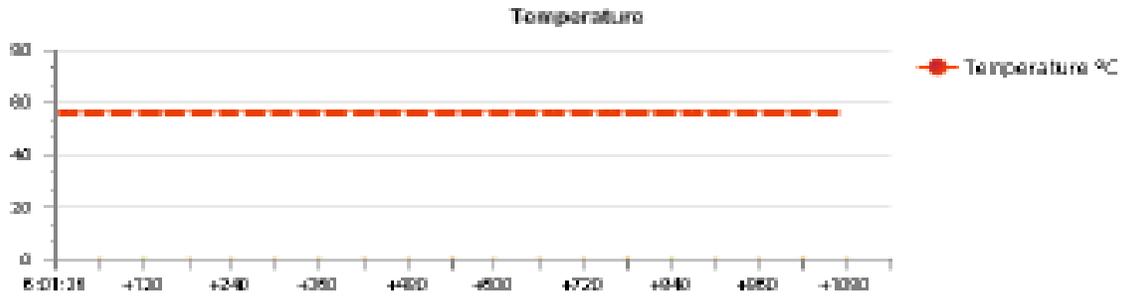


Tube 15.



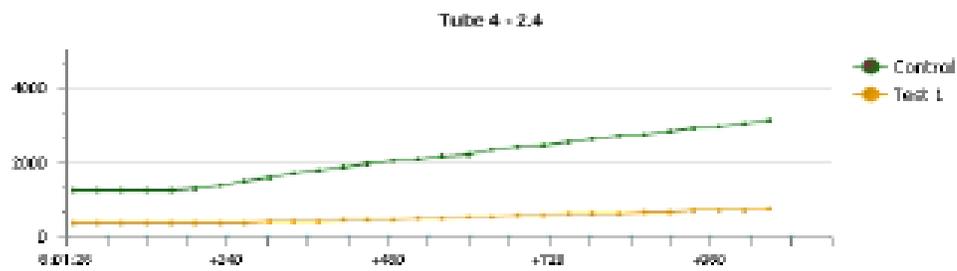
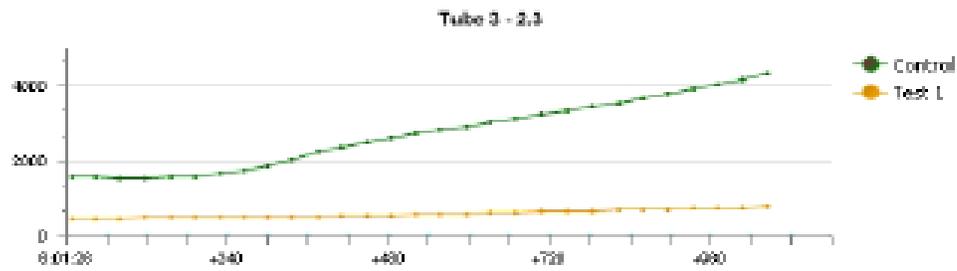
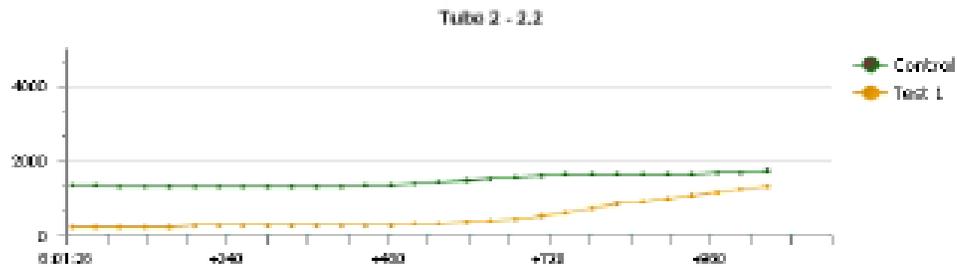
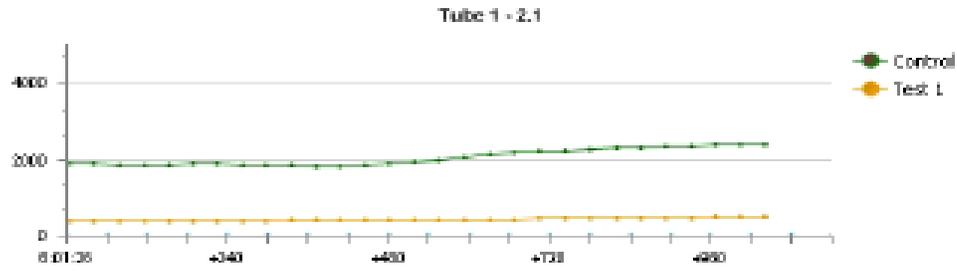
Tube 16.



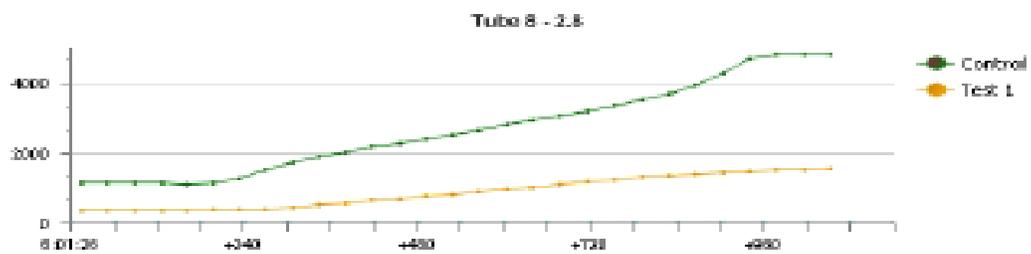
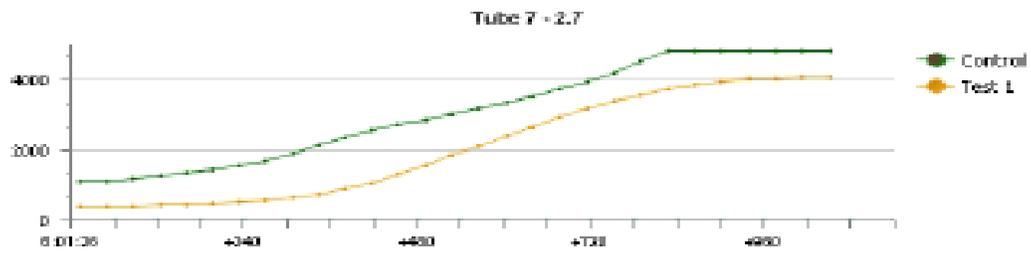
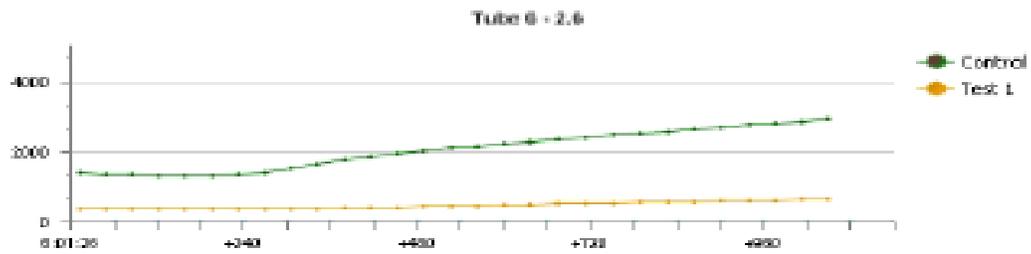
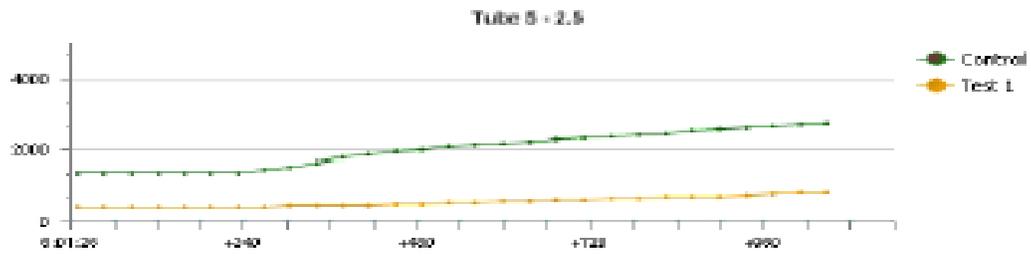


Print Time: Wednesday, July 08, 2015 9:14 AM

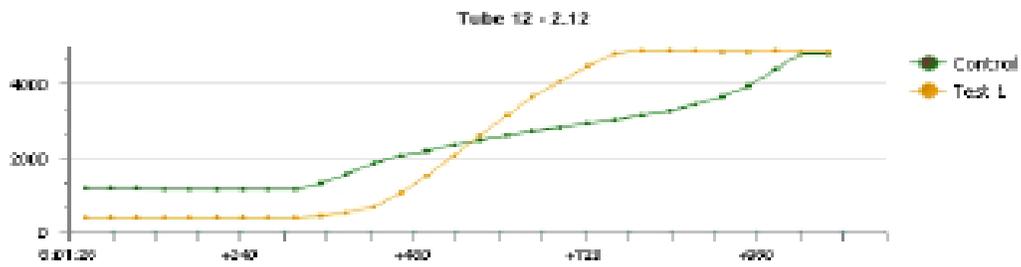
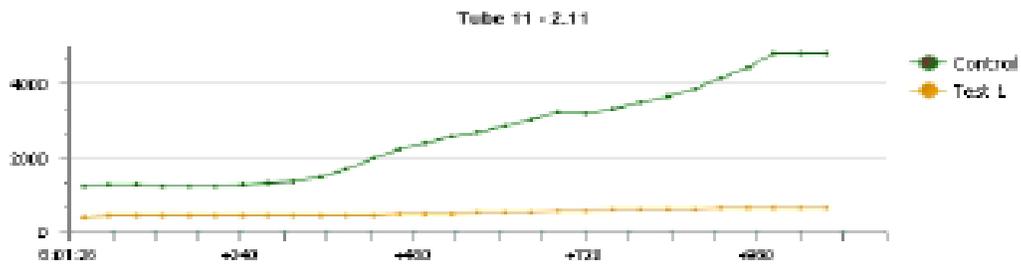
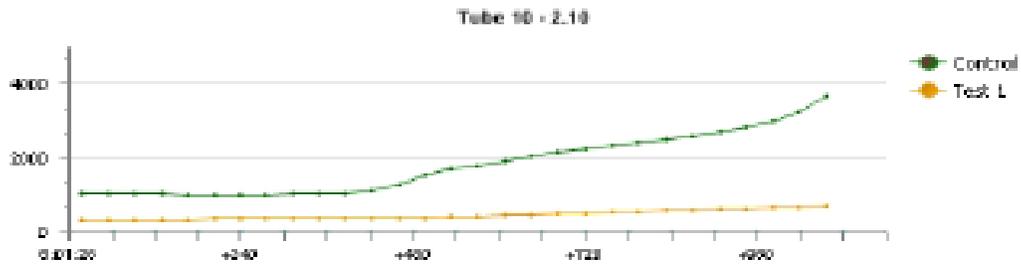
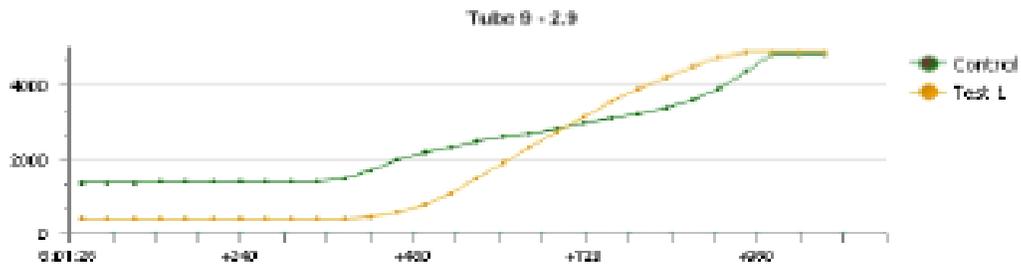
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



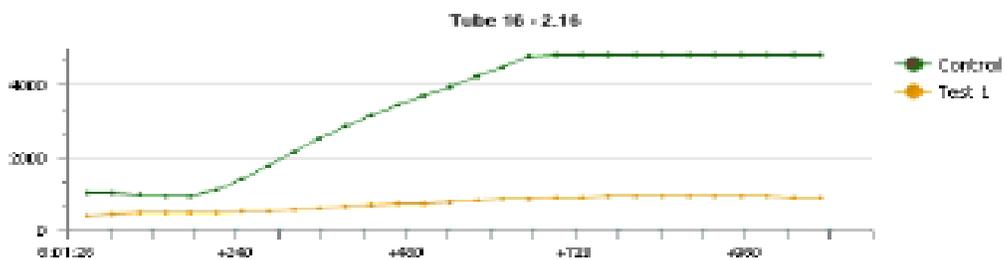
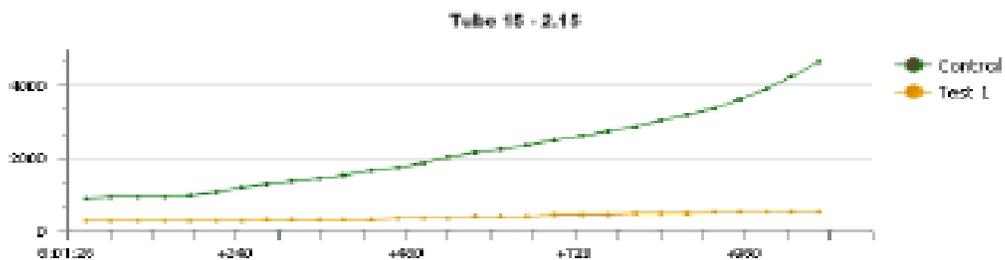
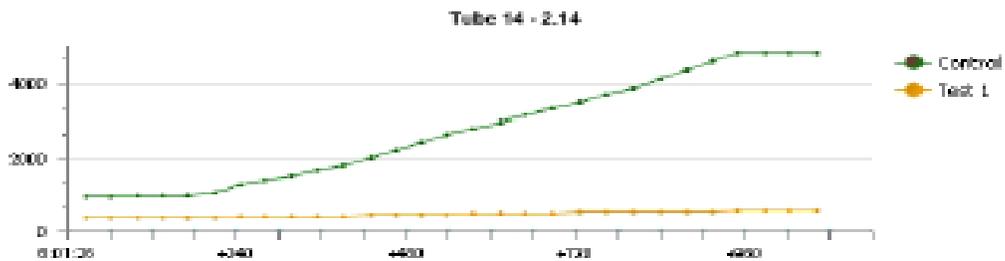
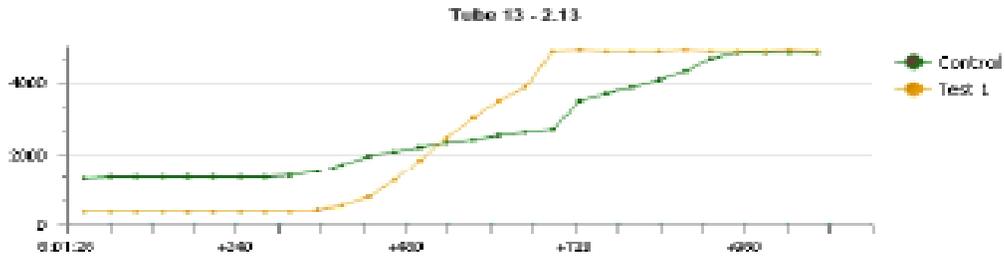
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



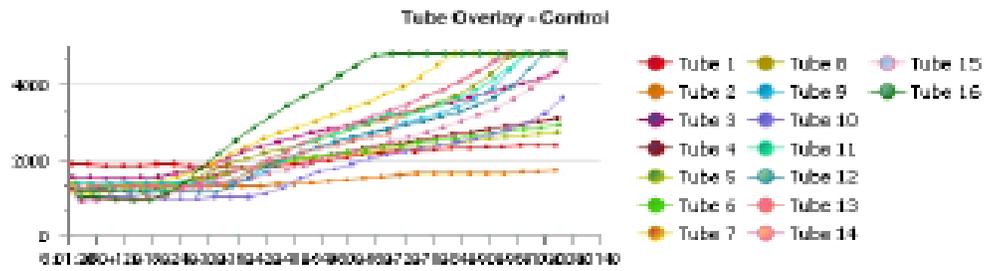
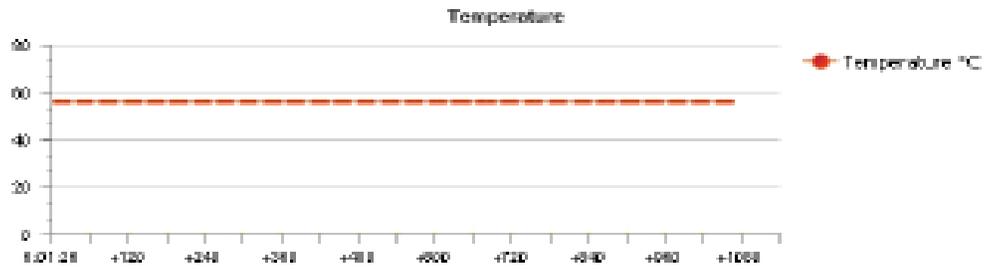
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

Test Detail

Test Type: ANSR Listeria Algorithm: PN Listeria 20130814
 Set Temperatur 56.0°C Start Time: 11/04/2015 6:46:50PM
 Instrument ID: DF37E315
 File Name: LISTERIA3.json

Test Fields

User Name: ANALIA CORDERO
 Lot ID: LOTE 3

SAMPLE ID	CH1	SAMPLE ID	CH1
01. 3.1	Negative	09. 3.9	Negative
02. 3.2	Invalid	10. 3.10	Negative
03. 3.3	Invalid	11. 3.11	Negative
04. 3.4	Negative	12. 3.12	Negative
05. 3.5	Negative	13. 3.13	Negative
06. 3.6	Negative	14. 3.14	Negative
07. 3.7	Positive	15. 3.15	Negative
08. 3.8	Positive	16. 3.16	Negative

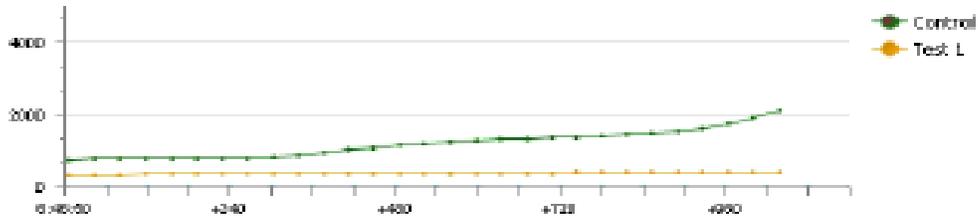
Test Results



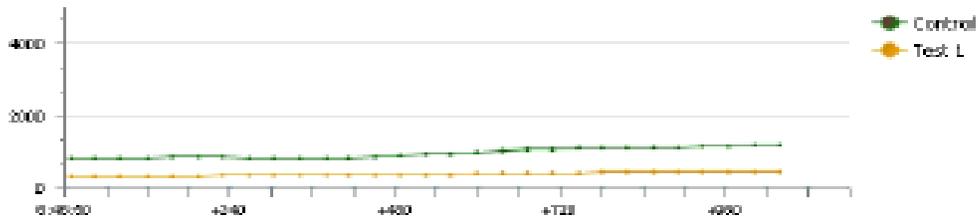
Comments

SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

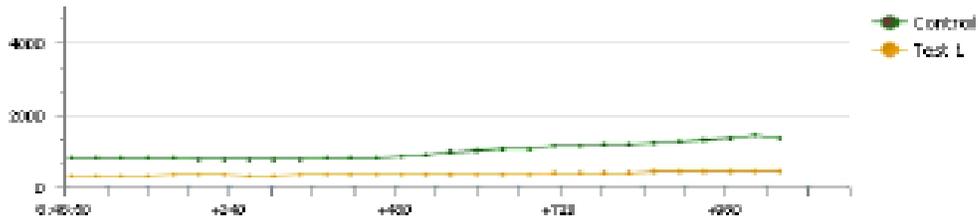
Tube 1 - 3.1



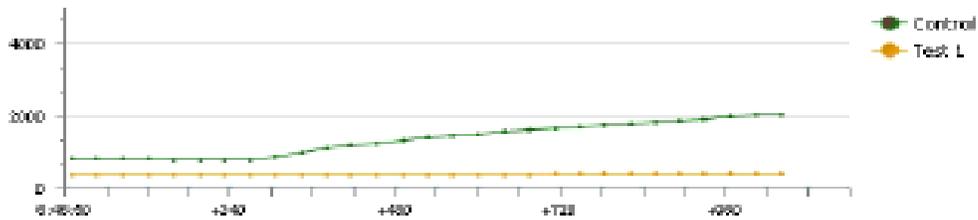
Tube 2 - 3.2



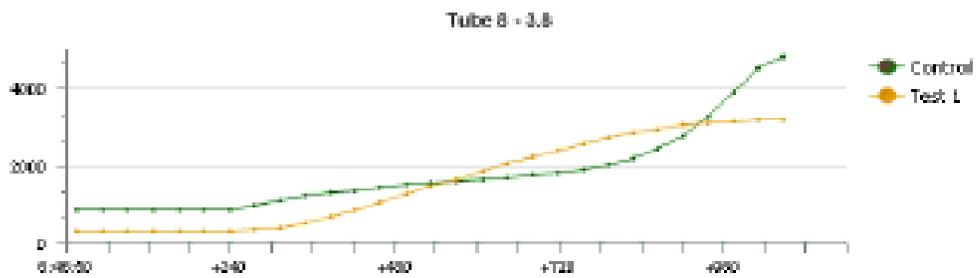
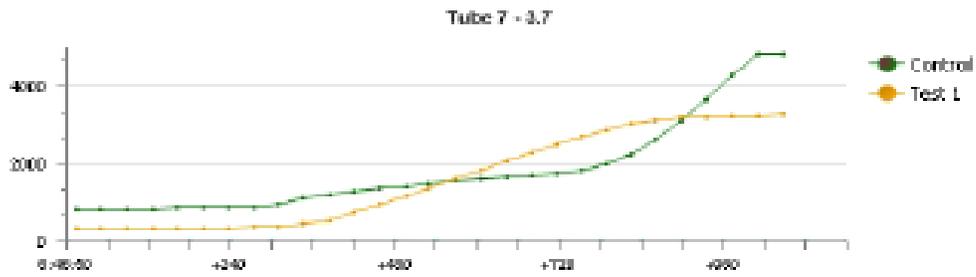
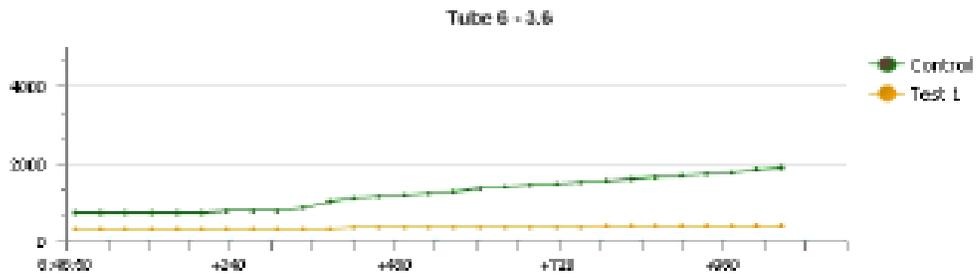
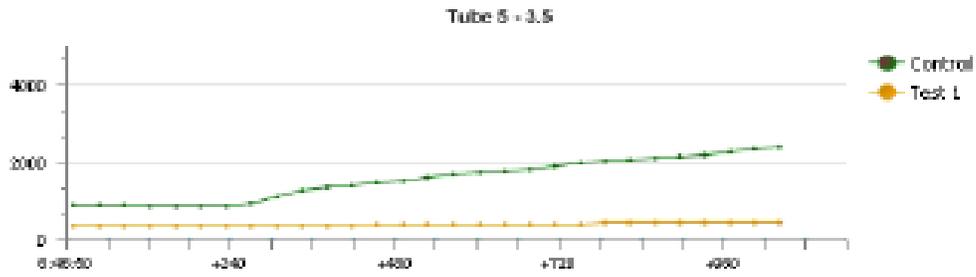
Tube 3 - 3.3



Tube 4 - 3.4

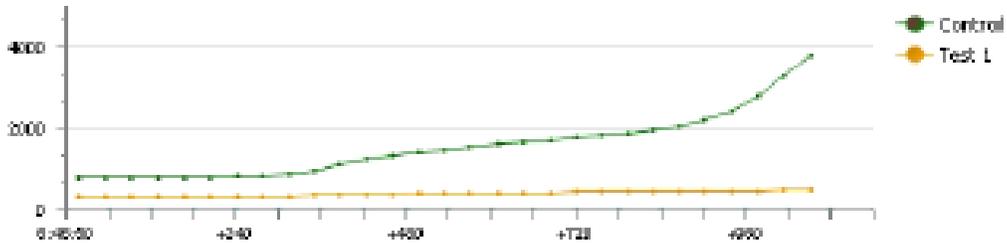


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

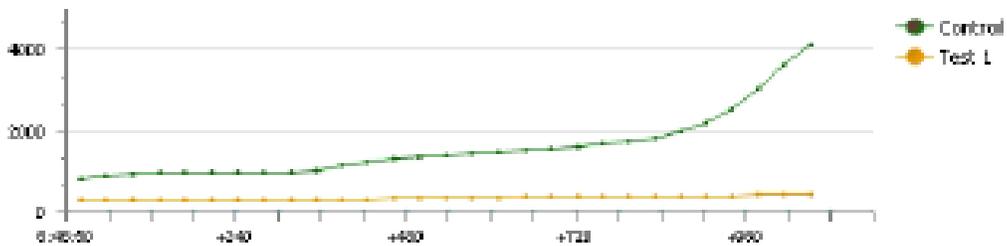


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

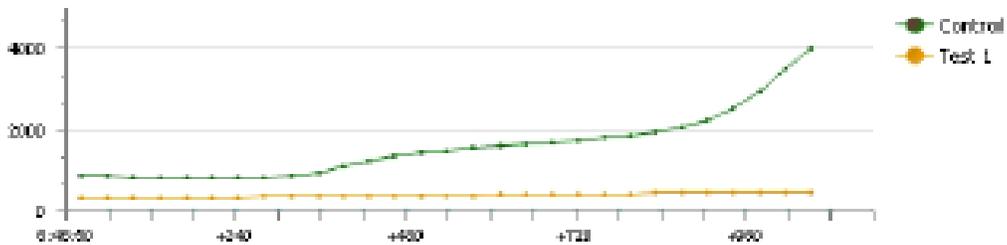
Tube 9 - 3.9



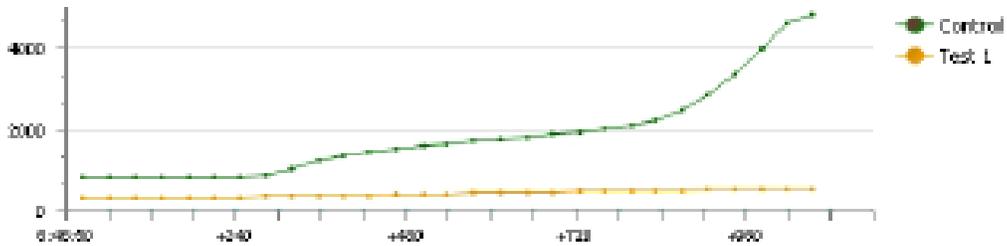
Tube 10 - 3.10



Tube 11 - 3.11

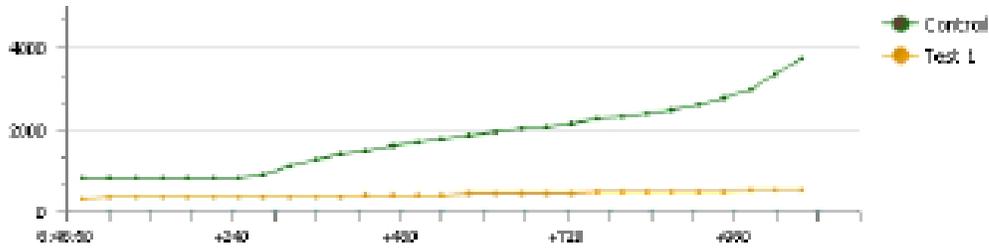


Tube 12 - 3.12

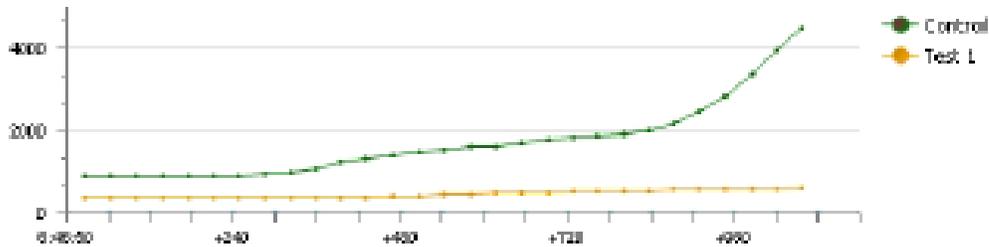


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

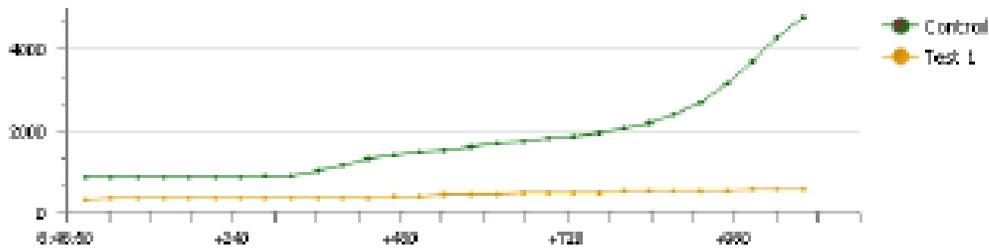
Tube 13 - 3.13



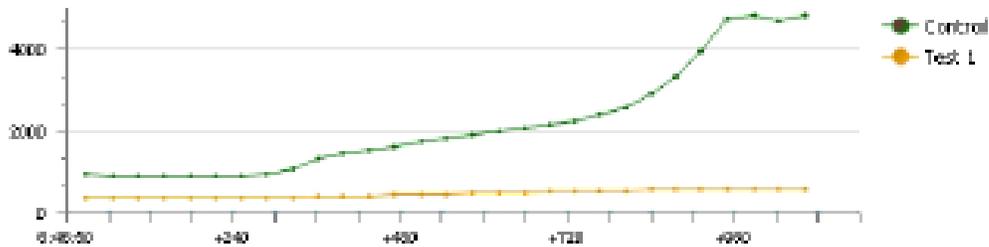
Tube 14 - 3.14



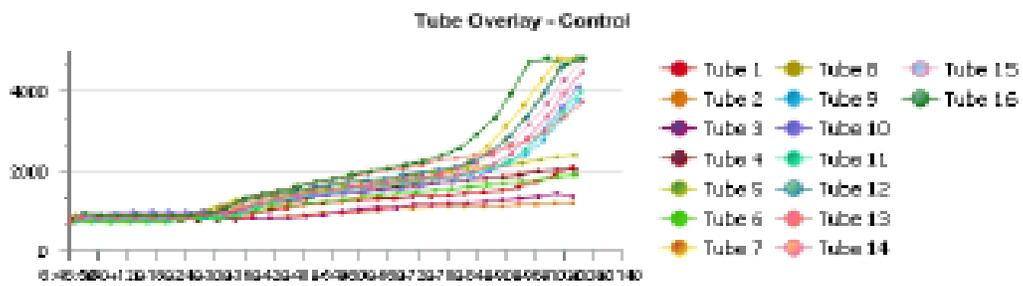
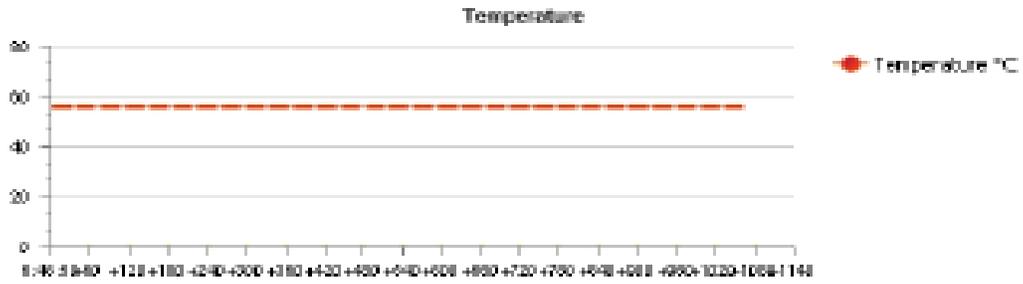
Tube 15 - 3.15



Tube 16 - 3.16

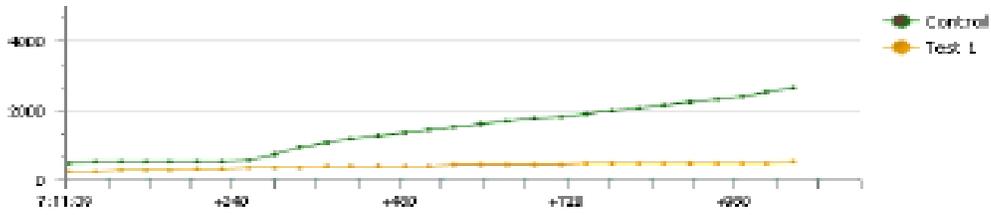


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

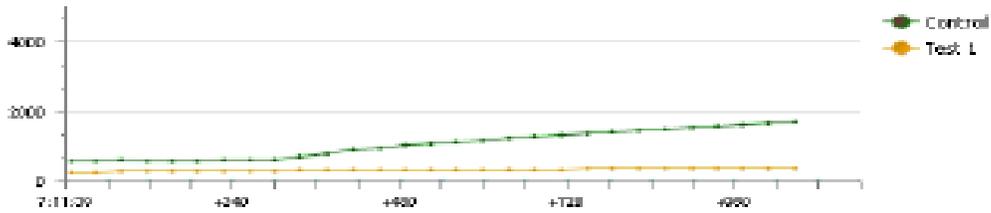


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

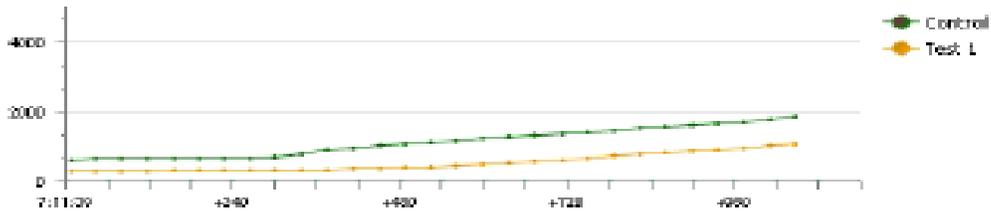
Tube 1 - 4.1



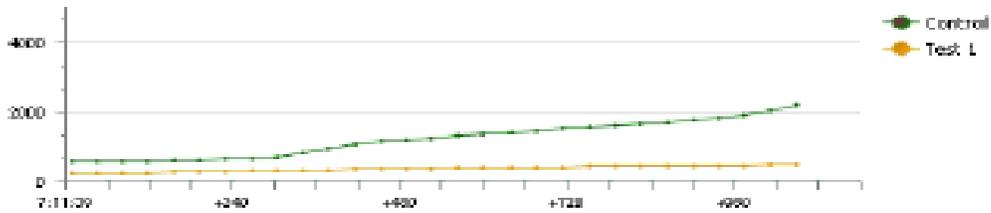
Tube 2 - 4.2



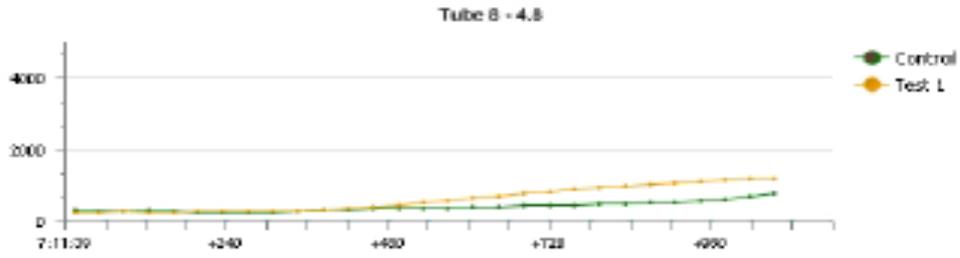
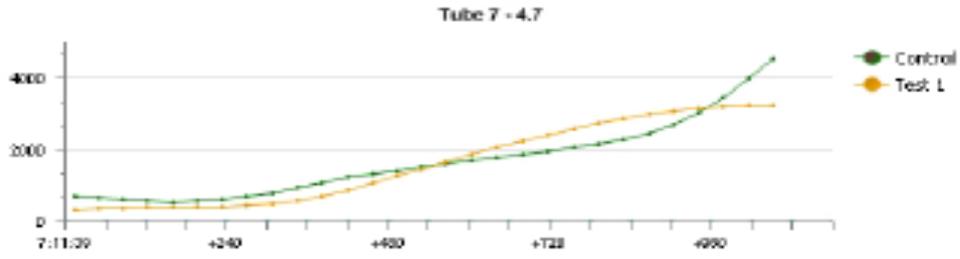
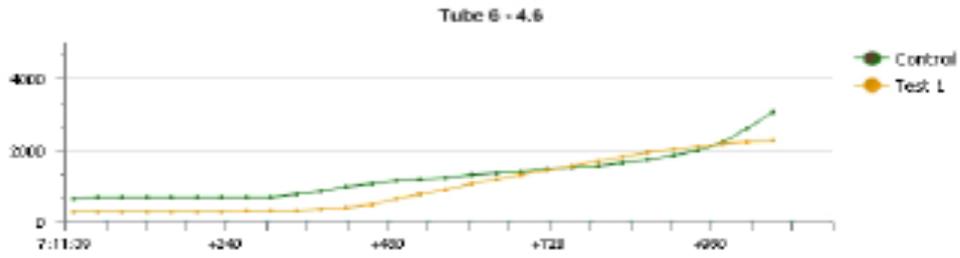
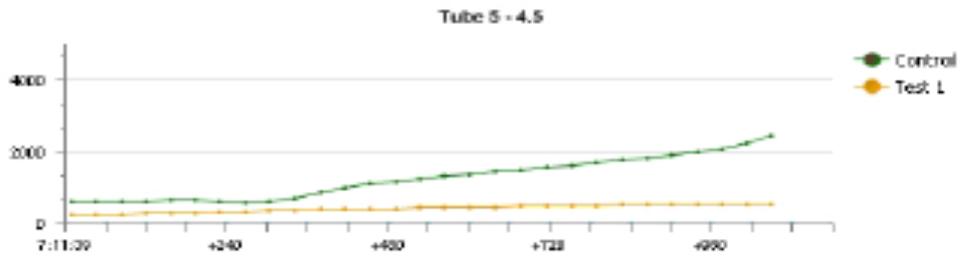
Tube 3 - 4.3



Tube 4 - 4.4

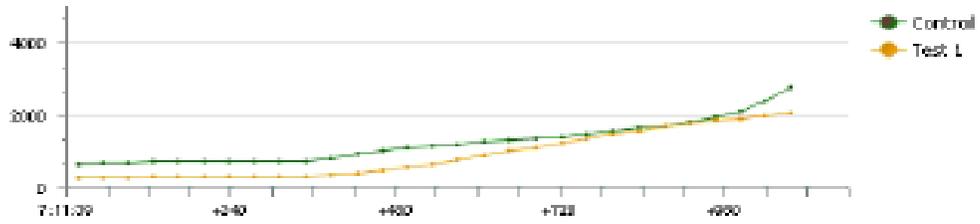


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

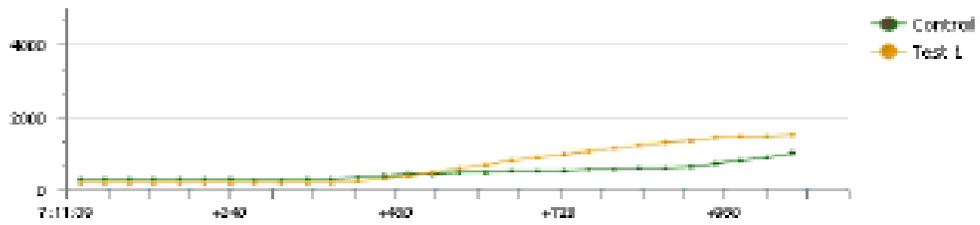


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

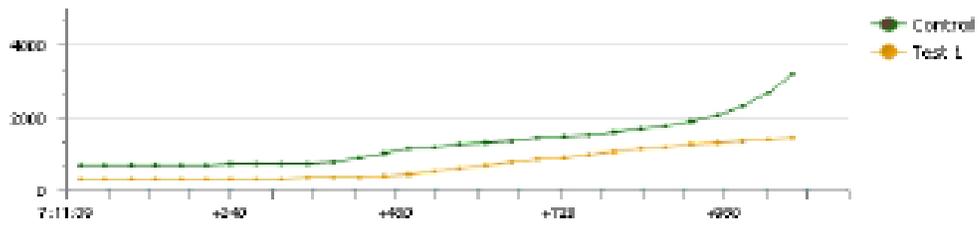
Tube 9 - 4.9



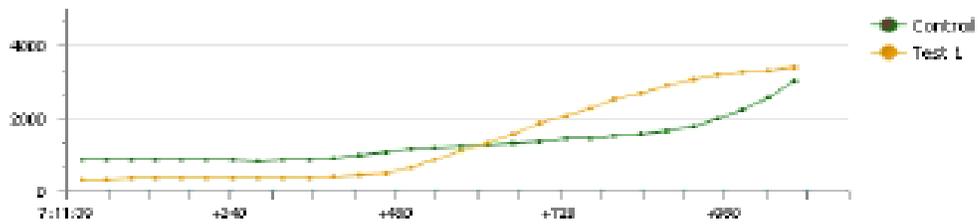
Tube 10 - 4.10



Tube 11 - 4.11

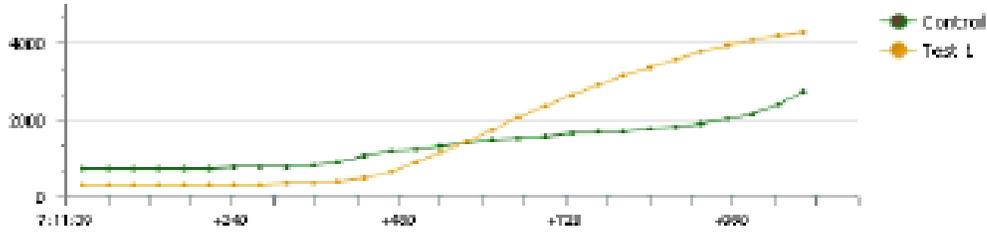


Tube 12 - 4.12

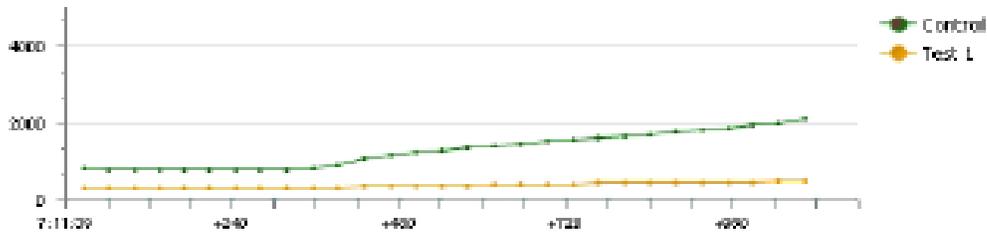


SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

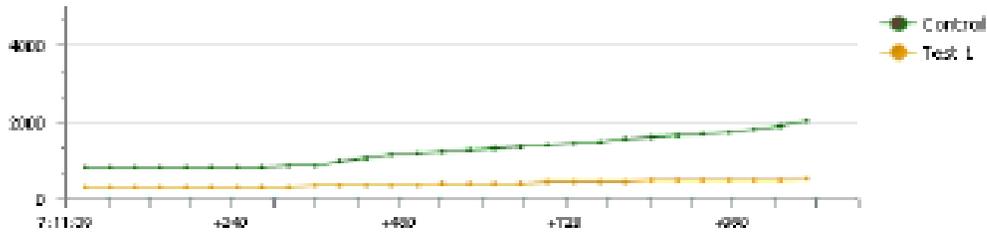
Tube 13 - 4.13



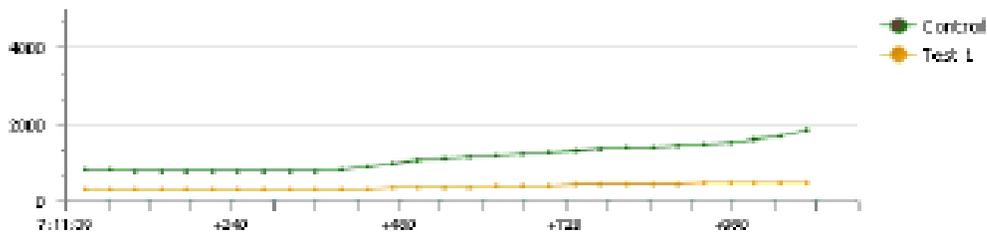
Tube 14 - 4.14



Tube 15 - 4.15



Tube 16 - 4.16



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT

Test Detail

Test Type: JANSR Listeria **Algorithm:** PIN Listeria 20130814
Set Temperatur: 56.0°C **Start Time:** 11/04/2015 7:39:09PM
Instrument ID: DF37E315
File Name: LISTERIA5.json

Test Fields

User Name: ANALIA CORDERO
Lot ID: LOTE 6

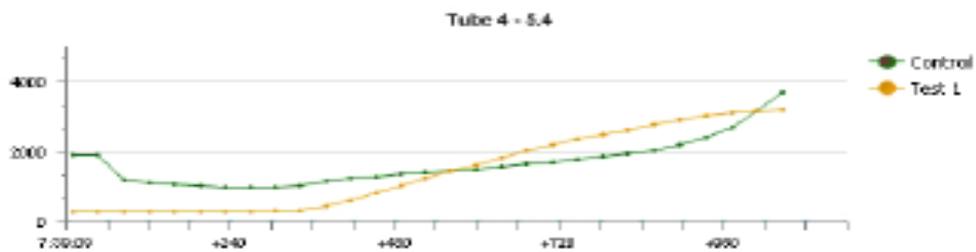
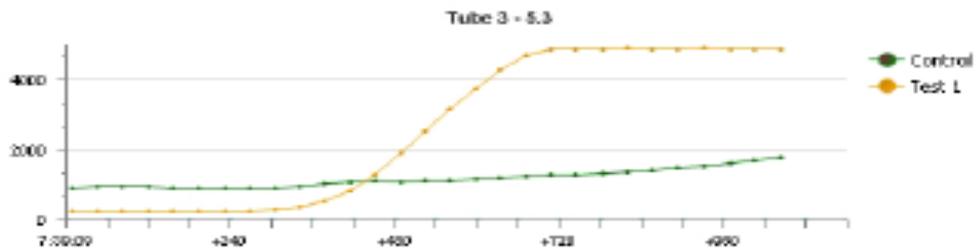
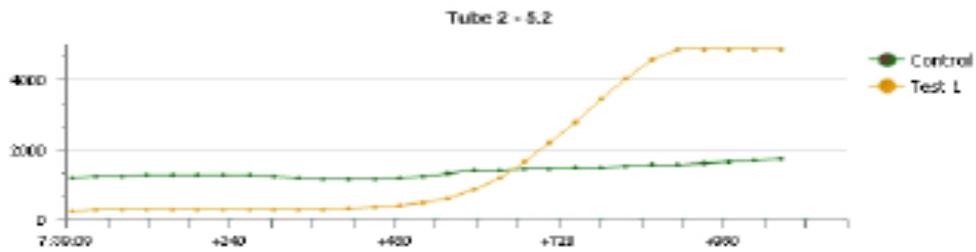
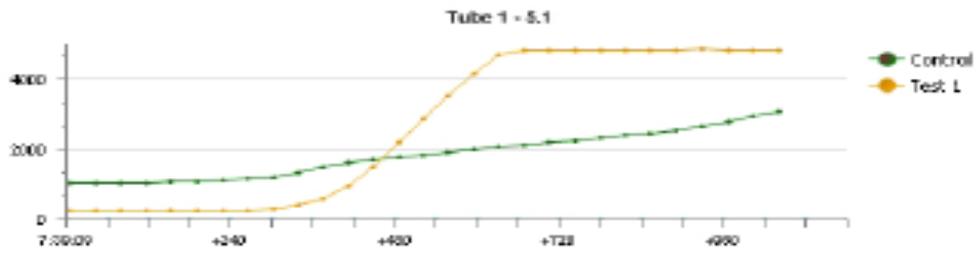
SAMPLE ID	CH1	SAMPLE ID	CH1
01. 5.1	Positive	09. 5.9	Positive
02. 5.2	Invalid	10. 5.10	Negative
03. 5.3	Positive	11. 5.11	Positive
04. 5.4	Positive	12. 5.12	Negative
05. 5.5	Negative	13. 5.13	Positive
06. 5.6	Positive	14. 5.14	Positive
07. 5.7	Negative	15. 5.15	Positive
08. 5.8	Negative	16. 5.16	Positive

Test Results

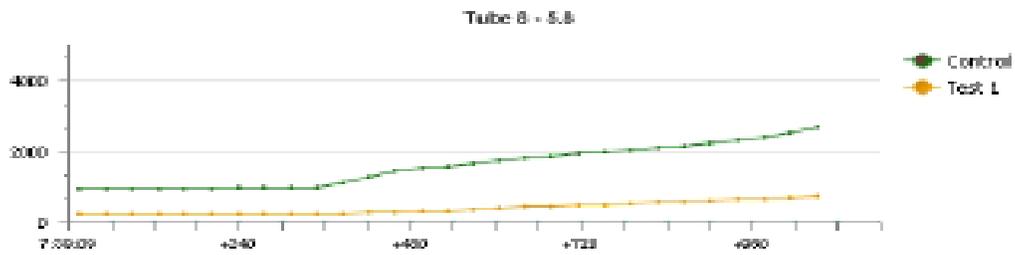
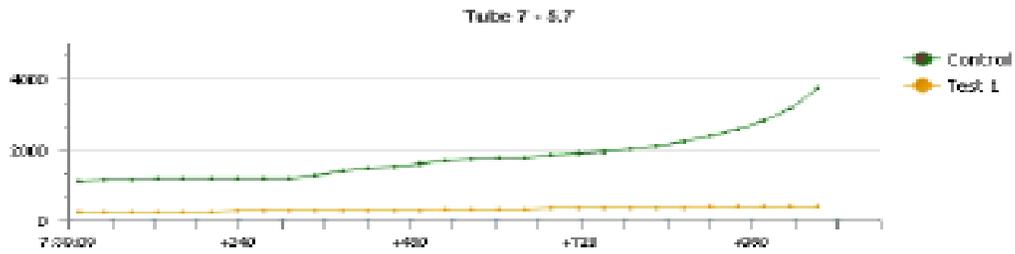
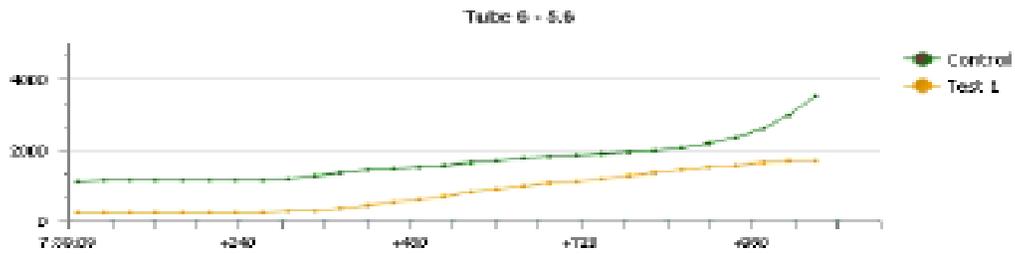
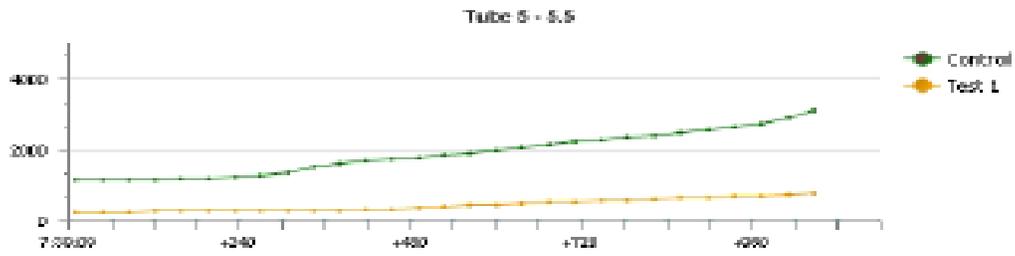


Comments

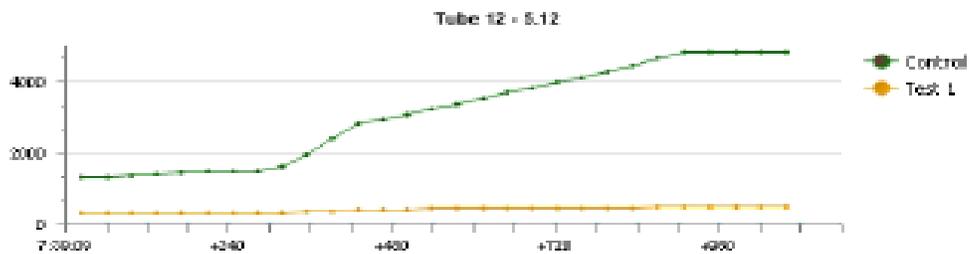
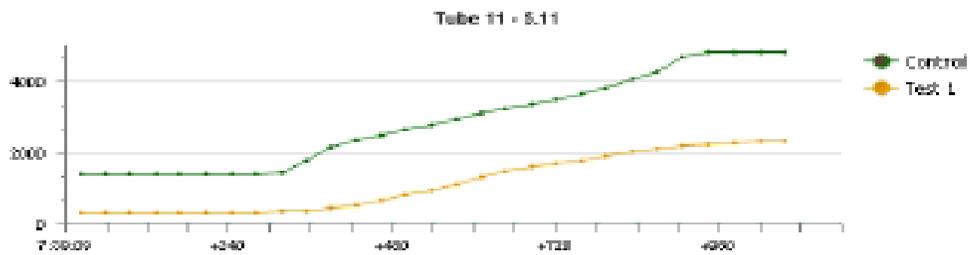
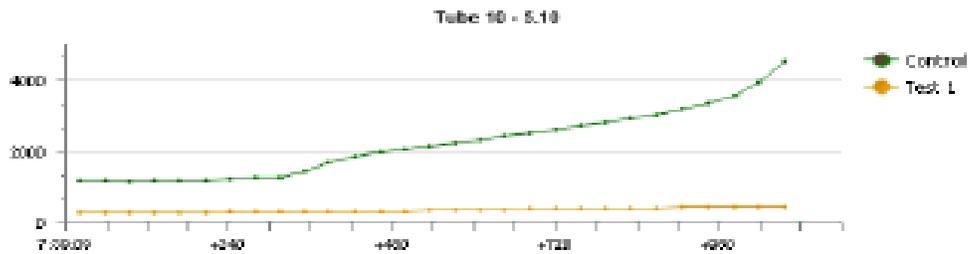
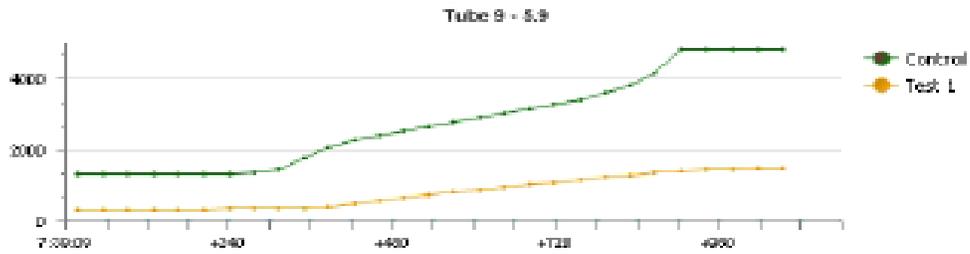
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



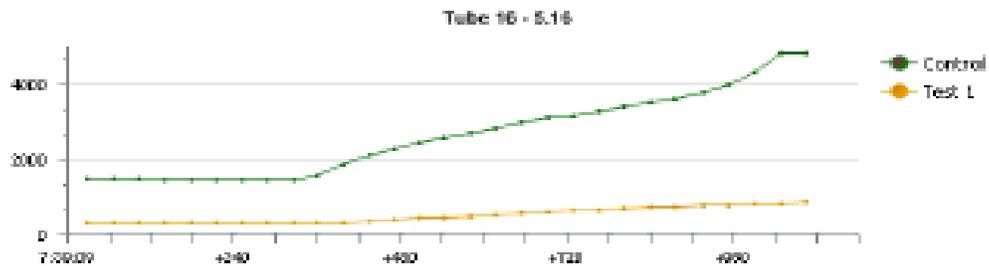
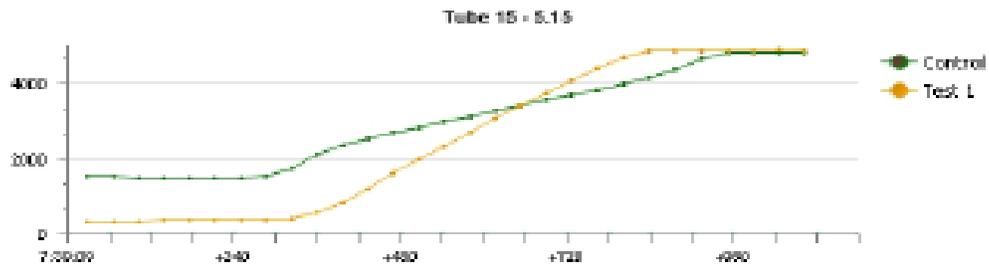
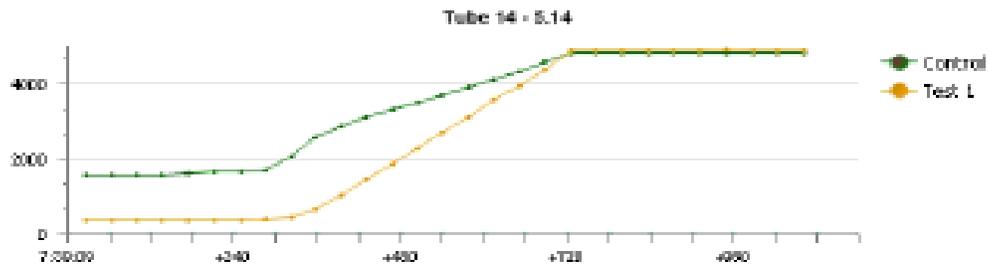
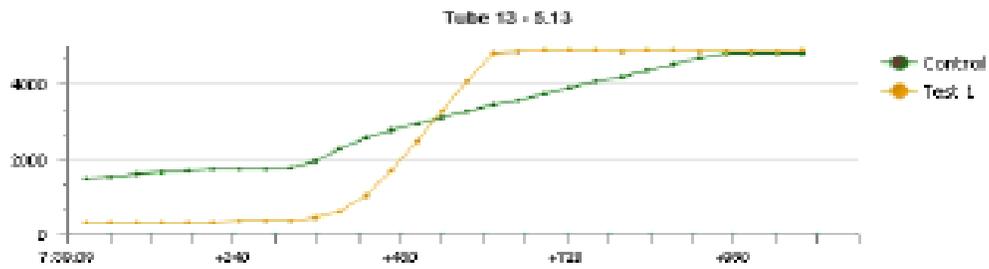
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



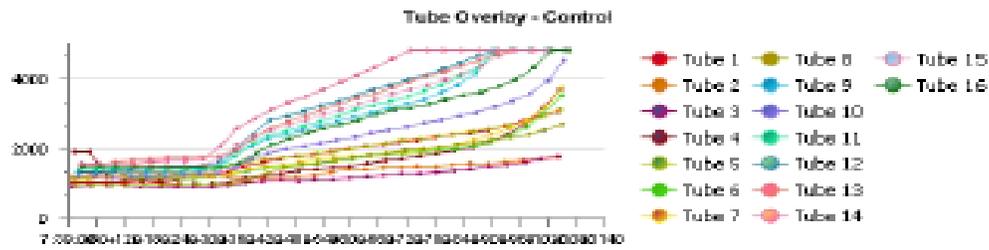
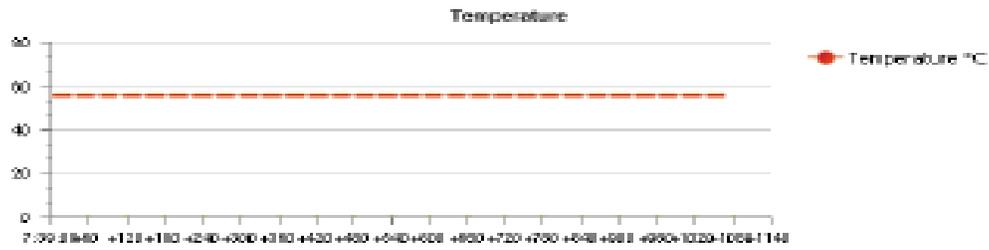
SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



SUMMARY TEST & TUBE GRAPHS REPORT



Anexo 6. Certificado AOAC para ANSR (*Neogen Corporation*) para *Listeria* spp.

Neogen's ANSR® for *Listeria monocytogenes* receives AOAC approval



LANSING, Mich., July 9, 2015 /PRNewswire/ -- Neogen Corporation has received approval from the AOAC Research Institute for its new rapid and accurate test to definitively detect *Listeria monocytogenes* DNA in food and environmental samples.

Neogen's newly approved ANSR® for *Listeria monocytogenes* (Performance Tested MethodSM certification, No. 061506, from the AOAC Research Institute) detects *L. monocytogenes* after only 10 minutes post-sample processing. Neogen's ANSR is an isothermal amplification reaction test method that exponentially amplifies the DNA of any target bacteria present in food and environmental samples to detectable levels.

"The AOAC approval further validates our test as an invaluable tool to food producers," said Ed Bradley, Neogen's vice president for Food Safety. "ANSR is the fastest DNA-definitive pathogen assay available — with results in only 10 minutes. Compared to the three hours other methods such as polymerase chain reaction, or PCR, take to produce DNA-level results, that's a huge difference in a laboratory's workflow, and the operations of a food producer as a whole."

Combined with ANSR's single-step enrichment, Neogen's new pathogen detection method for *L. monocytogenes* can provide definitive results in as little as 17 hours for environmental samples from the time the sample is taken. The new test also utilizes Neogen's LESS Plus Medium, which can be autoclaved — allowing for larger batches of media to be prepared prior to use.

The approval covers the use of the ANSR system to detect *L. monocytogenes* in the following sample types: hot dogs, Mexican-style cheese, cantaloupe, guacamole, pasteurized liquid egg, sprout irrigation water, and sponge samples from stainless steel surfaces.

Neogen's line of ANSR products also includes AOAC Research Institute-validated ANSR for *Listeria* and ANSR for *Salmonella*.

Neogen offers an unmatched industry-specific range of microorganism testing products, experience and expertise — from lateral flow immunoassays to fully automated pathogen and spoilage organism platforms, to a comprehensive catalog of high quality dehydrated culture media, to DNA genotyping technology through its NeoSEEK genomic profiling and serotyping service.

Neogen Corporation (Nasdaq: [NEOG](#)) develops and markets products dedicated to food and animal safety. The company's Food Safety Division markets dehydrated culture media and diagnostic test kits to detect foodborne bacteria, natural toxins, food allergens, drug residues, plant diseases and sanitation concerns. Neogen's Animal Safety Division is a leader in the development of animal genomics along with the manufacturing and distribution of a variety of animal healthcare products, including diagnostics, pharmaceuticals, veterinary instruments, wound care and disinfectants.