



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* EN TRES QUESERAS RURALES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTORA: ERIKA LORENA JIMÉNEZ MUÑOZ

DIRECTOR: ING. Jesús López Salazar.MsC

Riobamba– Ecuador

2019

DERECHO DE AUTOR

©2019, Erika Lorena Jiménez Muñoz

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

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

El Tribunal de trabajo de titulación certifica que: el trabajo de Investigación tipo experimental “EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Escherichia. Coli* y *Listeria monocytogenes* EN TRES QUESERAS RURALES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”, de responsabilidad de la señorita ERIKA LORENA JIMÉNEZ MUÑOZ, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

ING. Fredy Patricio Erazo Rodríguez.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

ING Msc. Jesús Ramón López Salazar.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

ING. Msc. Enrique César Vayas Machado.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, ERIKA LORENA JIMÉNEZ MUÑOZ soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual de trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Erika Lorena Jiménez Muñoz

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedico primordialmente a Dios el cual ha sido un pilar fundamental para poder culminar esta meta.

A mis padres René y Narcisa quienes siempre han estado guiándome apoyándome y con su infinito amor he culminado esta etapa.

A mi hijo Matías y a mi esposo Jhonnatan quienes me han acompañado y han luchado junto a mí este triunfo, a mis hermanos Yolanda y Cristian, mi sobrino Esteban Nicolás quienes con su comprensión y amor he podido seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A mi Familia que fueron un pilar muy importante, a mis profesores que fueron una guía para poder culminar esta etapa

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por haberme permitido formar parte de su seno científico, y pertenecer a esta prestigiosa institución

A la Facultad de Ciencias Pecuarias a la carrera Industrias Pecuarias quien me dio la oportunidad de conocer a personas maravillosas.

A los docentes especialmente al Ing. Jesús López, el Ing. Enrique Vayas.

A mis amigos que con su apoyo incondicional culmine esta etapa y siempre los llevare presente.

RESUMEN

Se evaluó la presencia de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en tres queseras rurales de la provincia de Chimborazo, en el cantón Chambo en la quesera Don Lucho, en el cantón Colta en la quesera Corporación de Indígenas de Chimborazo y en el cantón Riobamba, parroquia Tunshi en Lácteos Santa Fé, las muestras se analizaron en el laboratorio de Biotecnología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se evaluaron las etapas de: pasteurización, cuajado, moldeado y producto final, se utilizó un diseño completamente al azar, los resultados fueron sometidos al análisis de varianza (ADEVA) y separación de medias según Tukey ($P < 0,05$), estableciendo que la quesera Corporación de Indígenas de Chimborazo presentó una alta contaminación de *Escherichia coli* en las etapas de: pasteurización con 151,00 UFC. g⁻¹, cuajado con 176,50-¹, y en el producto final con 125,00 UFC. g⁻¹, incumpliendo con la Norma Técnica INEN 0010: 2012 para leche pasteurizada con un valor menor a < 10 UFC g⁻¹, no cumple con la NTE 1528:2012 para queso fresco cuyo valor debe ser menor de < 10 UFC g⁻¹, y con el reglamento de las normas sanitarias de Perú para la cuajada que no debe tener más de 10 UFC g. En la quesera Lácteos Santa Fé se evidenció la presencia de *Listeria monocytogenes* en las etapas de moldeado y producto final, en base a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, las tres queseras rurales evaluadas no cumplen las normas sanitarias y producen quesos frescos no aptos para el consumo humano, por lo que es urgente la implementación de normas de higiene y Buenas Prácticas de Manufactura, con el fin de obtener productos inocuos y de calidad para ser comercializados acatando la normativa del país.

Palabras claves: *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, queso fresco, higiene

ABSTRACT

The presence of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* was evaluated in three rural cheese farms in the province of Chimborazo, in the canton of Chambo in the cheese

factory Don Lucho, in the canton Colta in the cheese factory of Indigenous people of Chimborazo and in the canton Riobamba, parish Tunshi in Lácteos Santa Fé, the samples were analyzed in the Animal Biotechnology laboratory of the Faculty of Animal Sciences of the Polytechnic School of Chimborazo. The following stages were evaluated: pasteurization, curdling, molding and final product, a completely randomized design was used, the results were subjected to variance analysis (ANOVA) and separation of means according to Tukey ($P < 0.05$), establishing that The Chimborazo Indigenous Corporation cheeseburger presented a high contamination of *Escherichia coli* in the stages of: pasteurization with 151.00 CFU. g^{-1} , set with 176.50- g^{-1} , and in the final product with 125.00 CFU. g^{-1} , not complying with the Technical Standard INEN 0010: 2012 for pasteurized milk with a value less than < 10 CFU g^{-1} , does not comply with NTE 1528: 2012 for fresh cheese whose value should be less than < 10 CFU g^{-1} , and with the regulation of the sanitary norms of Peru for the curd that should not have more than 10 CFU g. In the Lácteos Santa Fé cheese factory the presence of *Listeria monocytogenes* was evidenced in the stages of molding and final product, based on the results obtained in this research work, the three evaluated rural cheese makers do not comply with the sanitary norms and produce fresh unfit cheeses for human consumption, so it is urgent to implement hygiene standards and Good Manufacturing Practices, in order to obtain safe and quality products to be marketed in compliance with the country's regulations.

Key words: *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
DERECHO DE COPYRIGHT.....	ii

HOJA DE CERTIFICACIÓN.....	iii
PÁGINA DE RESPONSABILIDAD COMPARTIR DERECHOS.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
INDICE DE TABLAS.....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	xv
INDICE DE GRÁFICOS.....	x
ANEXOS.....	xvi
RESUMEN.....	xvii
SUMMARY.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPITULO I

1. MARCOTEORICO REFERENCIAL	
1.1 Leche	4
1.1.1. Definición	4
1.1.2. Composición química de la leche	5
1.1.3. Higiene y calidad de la leche.....	5
1.3.1. Composición del queso fresco	8

1.3.2.	<i>Clasificación del queso según su forma de elaboración</i>	8
1.3.3.	<i>Requisitos microbiológico de la cuajada</i>	9
1.3.4.	<i>Calidad del queso fresco</i>	9
1.3.5.	<i>Control microbiológico el queso fresco.</i>	10
1.5.1.	<i>Prevalencia de listeria monocytogenes en quesos</i>	13
1.5.2.	<i>Características de crecimiento.</i>	13
1.5.3.	<i>Colonización. Patogenia de la infección</i>	14

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLOGICO	
2.1	Localización y duración del experimento	16
2.2.1.	<i>Materiales</i>	17
2.2.2.	<i>Equipos</i>	18
2.2.3.	<i>Medios de cultivo</i>	18
2.7.1.	<i>Etapas de diagnóstico</i>	20
2.7.2.	<i>Control de calidad</i>	20
2.8.1.	<i>1. Placas petri film</i>	21
2.9.1.	<i>Determinación de escherichia coli ufc/g.</i>	21
2.9.2.	<i>Determinación de listeria monocytogenes ufc/g</i>	23

CAPITULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
3.1	Resultados del check list realizado a cada empresa	24
3.1.1	<i>Evaluación del personal de las empresas (a, b, c).....</i>	24
3.1.2	<i>Edificios y facilidades (a, b, c)</i>	25
3.1.3	<i>Evaluación de diseño y construcción (a, b, c)</i>	26
3.1.4	<i>Procesos y producción (a, b, c)</i>	27
3.2	Análisis Microbiológicos en la línea de producción y producto terminado.....	23
4.	CONCLUSIONES	
5.	RECOMENDACIONES	

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Composición de la leche por razas (%).	5
Tabla 2-1:	Requisitos Microbiológicos de la leche pasteurizada	6

Tabla 3-1: Requisitos Microbiológico de la cuajada.....	9
Tabla 4-1: Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados	10
Tabla 5-1: Brotes causados por Listeria Monocytogenes En Queso Fresco.....	11
Tabla 6-1: Valores óptimos de Crecimiento.....	13
Tabla 7-2: Condiciones meteorológicas del cantón Riobamba.	16
Tabla 8-2: Esquema del experimento.....	19
Tabla 9-2: Esquema del ADEVA.....	19
Tabla 10-3: Determinación de la presencia de Escherichia coli (UFC.g ⁻¹) en la línea de producción y producto final	25

ANEXOS

ANEXO A. Formato de Check List para actores que forman las empresas

ANEXO B. Análisis ADEVA, TUKEY

ANEXO C. Fotografías del experimento de campo

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) engloba uno de los problemas más extendidos en el mundo actual y una causa importante de disminución de la productividad para países, empresas, familias e individuos. (López, 2011, p. 23)

Según el (Ministerio de Salud Colombia, 2011) *Listeria monocytogenes* es un bacilo Gram-positivo capaz de crecer a temperaturas de refrigeración; su control en la industria de alimentos ha resultado complicado debido a la ubicuidad en el medio ambiente, así como a la tolerancia a condiciones medioambientales desfavorables como bajos valores de pH, altas concentraciones de cloruro de sodio y su capacidad de formar biopelículas.

Debido a estas razones, puede fácilmente contaminar los productos post proceso y multiplicarse provocando el riesgo de infección al consumidor. El queso producido artesanalmente es uno de los productos con mayor peligro ya que es producido a partir de leche cruda es decir sin pasteurización, malas prácticas de manufactura convierten en un vehículo potencial de transmisión para *Listeria monocytogenes*. (López, 2011, p. 23)

Los alimentos se pueden contaminar en los distintos procedimientos de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo. En estos últimos años, la mala manipulación por parte de aquellas personas responsables de la misma, determinan importantes problemas de salud pública, particularmente en los países en vías de desarrollo. (López, 2011, p. 23)

En el Ecuador, mensualmente se consumen 1,36 millones de kilos de queso de todas las variedades, lo cual representa un mercado de \$7,03 millones por mes. El consumo promedio por hogar alcanza las 2,5 unidades de 500 gramos; para ello una familia destina en promedio \$6,5 por mes. El 81,5% del mercado de quesos corresponde a la variedad del fresco, que contempla el queso de mesa, de comida, el amasado, el criollo (Patricio, 2016, p. 43)

Los quesos hechos con leche sin pasteurizar parecen estar ligados con brotes de intoxicaciones alimentarias con mayor periodicidad que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque estos también pueden desembocar en toxiinfecciones por una inadecuada pasteurización de la leche o debido a que el queso hecho de leche pasteurizada se contamina después con microorganismos patógenos. (Ministerio de Salud, 2011 Colombia).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la presencia de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos en tres queseras rurales de la Provincia de Chimborazo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de *Escherichia. coli*, y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos elaborados en tres las plantas productoras a nivel rural.
- Evaluar el nivel de contaminación en las líneas de producción en tres queseras rurales de la Provincia de Chimborazo.
- Aplicar medidas de higiene para reducción o control de la contaminación de *Escherichia. coli*, y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos en queseras rurales.

CAPITULO I

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. Leche

1.1.1. *Definición*

La norma ecuatoriana NTE-INEN 009: 2012 define que la leche es la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo.

La producción de leche en el Ecuador es sin duda uno de los pilares fundamentales de la alimentación humana más importante gracias a su elevado contenido nutricional y la diversidad de productos derivados que se obtiene de la misma. (Molina,2009, p.9)

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2007), la mayor producción lechera se encuentra en la región interandina con un 73%, mientras que el 19% a la región Costa y un 8% al resto del país.

Del total de la producción a nivel nacional, el 75% de leche generada en las fincas corresponde a pequeñas y medianas explotaciones de 1 hasta menos de 100 ha, en donde no existen las condiciones correctas de manejo e higiene para la obtención y transporte de la leche, por lo que la calidad se ve en desventaja. (Molina,2009, p.9)

La producción lechera es la única fuente de ingresos estables que se puede denotar en el sector rural especialmente en los sectores marginales, por esta razón se pretendió llegar con capacitaciones en temas de higiene durante el proceso de ordeño y luego de este, comercialización de la materia prima a un precio adecuado en función de los parámetros de calidad. (Molina,2009, p.19)

1.1.2. *Composición química de la leche*

Dentro de la estructura de la leche, situamos proteínas, lactosa, grasas, vitaminas, minerales y enzimas. Estos componentes difieren entre sí por el tamaño molecular y por su solubilidad, volviendo a la leche en un complicado sistema físico-químico: las moléculas menores figuradas por las sales, lactosa y vitaminas hidrosolubles se presentan en una fase de solución verdadera. (Molina,2009, p.19)

Tabla 1-1: Composición de la leche por razas (%).

Raza	Grasa	Proteína	Lactosa	Ceniza	SNG*	ST**
Ayrshire	4,00	3,53	4,67	0,68	8,90	12,90
Brownswiss	4,01	3,61	5,04	0,73	9,40	12,41
Guernsey	4,95	3,91	4,93	0,74	9,66	14,61
Holstein F.	3,40	3,32	4,87	0,68	8,86	12,26
Jersey	5,37	3,92	4,93	0,71	9,54	14,91

* Sólidos No Grasos ** Sólidos Totales

Fuente: (Molina,2009, p 21)

Realizado por: Jiménez Erika, 2019

1.1.3. *Higiene y calidad de la leche*

La calidad es ampliamente importante, debido a que los productores de leche deben mostrar y poner en práctica todo el conocimiento adquirido y los procesos posibles para reunir los estándares de calidad. Si el productor realiza producto de calidad, lo cual se verá reflejado en múltiples ventajas para todos (Higiene física, Higiene química, Higiene microbiológica.) (Molina,2009, p.41)

Tabla 2-1. Requisitos Microbiológicos de la leche pasteurizada

Requisitos	N	M	M	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/cm ³	5	30.000	50.000	NTE INEN 1529-13
Recuento de coliformes, UFC/cm ³	5	<1	10	AOAC 991.14
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> / 25g	5	0	-	NTE INEN 1520-14
Detección de <i>Salmonella</i> en 25 g				
Recuento de <i>Escherichia Coli</i> UFC/g	5	0	-	ISO 11290-1
	5	<10	-	NTE INEN 1529-15

Fuente: NTE INEN 10:2012. (Leche pasteurizada, Requisitos).
Realizado por: Jiménez Erika, 2019

1.2. Calidad de la leche para quesos.

Es importante enfatizar que para producir quesos óptimos y aptos se tiene que partir de leche de buena calidad. Para cerciorar buenos resultados se debe usar leche limpia, baja en contenido bacteriano, no debe poseer olores o sabores anormales y debe de proceder de animales sanos. (MATER,2000, p. 12)

Las leches mastíticas son muy perjudiciales en la fabricación de quesos, aún las leches de vacas clínicamente curadas provocan perturbaciones en la manufactura, ya que contienen elementos bacteriostáticos que impiden el proceso normal de los fermentos lácticos produciéndose un daño en la composición de la leche. Para la producción de queso es necesario partir de leche de una calidad elevada, lo cual no es tan importante para la fabricación de otros productos lácteos. (MATER,200, p. 12)

La razón de ello es que la leche para elaboración de queso no puede tratarse a alta temperatura y que de hacerlo se producirían alteraciones no deseables en la fase de las proteínas. No obstante, el recuento bacteriano total de la leche utilizada, no es de suma importancia como el tipo de bacterias presentes. Así las más perjudiciales son las

bacterias productoras de gas como *Escherichia* y *Enterobacter*. (MATER,200, p. 12)

1.3. Queso

La norma ecuatoriana NTE-INEN 1528: 2012 define al queso fresco como “Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco.

Los quesos frescos son confeccionados de manera industrial y artesanal, coexistiendo mayor riesgo de contagio con *Listeria monocytogenes* en la obtención artesanal debido esencialmente a la falta de ejecución de Buenas Prácticas de Manufactura. (Molina,2009, p.12)

Como efecto del impacto de este patógeno en la salud pública y los intereses particulares del Gestor del Riesgo, en la presente disertación se busca realizar la evaluación cualitativa del riesgo de infección por *Listeria monocytogenes* por consumo de queso fresco. (Naranjo,2011, p.17)

A los mercados llegan quesos hechos con leche cruda sin el tiempo prudente de maduración, lo cual multiplica las probabilidades de que exista una contaminación. Existen empresas que elaboran quesos con leche cruda poseen un cuidado extremo en sus procesos, los cuales van desde el ordeño, la manipulación y el tratamiento en la quesera, debido a que estos productos no llevan ningún proceso térmico y por ende todas las bacterias proliferadas en la leche pasan directamente al queso con cierto factor de riesgo. (Molina,2009, p.13)

El queso fresco artesanal se fabrica a partir de leche cruda, con fermentación espontánea y corta maduración usando procedimientos muy rudimentarios, no normalizados. El queso fresco artesanal, dentro de la escala de productos lácteos elaborados, es el que posee mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser distribuido. Por esta razón se le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicaciones alimentarias. (Caballero y cols., 1998, p23).

1.3.1. Composición del queso fresco

El queso fresco está combinado por un 24 % de grasa, 21 % de proteína, 2 % de carbohidratos, 2 % de sales minerales y el 50% de agua, 1 % de sal de cocina además de las vitaminas A, B, D, E y K. (Lopez, 2011, pág. 16)

Los quesos frescos consiguen valioso contenido de humedad y no han sido sometidos a un transcurso de maduración, normalmente tiene un sabor a leche fresca o leche acidificada. Su contextura suele ser pastosa, su color blanco su corteza es muy fina. Los quesos frescos adquieren un pH de 4,5, alto contenido en humedad (60%) y es consistencia pastosa. (Cuadrado, 2010)

1.3.2. Clasificación del queso según su forma de elaboración

- **Industrial:** El producto se elabora en industrias queseras, con instalaciones más o menos grandes y que suponen cierto capital. La leche se la obtiene de los ganaderos que pueden residir estar cerca o lejos de la fábrica y el queso que se elabora puede elaborarse siguiendo las técnicas tradicionales o no (Quezada,2011, p.45)

- **Artesano:** Al frente de su producción hay muy pocas personas y se caracteriza porque en su proceso de manufacturación se mantienen los procesos tradicionales de la zona y se obtiene un producto peculiar. Cada artesano utiliza pequeñas cantidades de leche, la cual puede ser comprada o bien propia, en cuyo caso también se llama “queso de granja” (Ramirez,2013, p.57).

1.3.3. *Requisitos Microbiológico de la cuajada*

Tabla 3-1 Requisitos Microbiológico de la cuajada

Leches fermentadas y Acidificadas (Yogurt, leche cultivada, cuajada, otros)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	N	c	Límite por g.	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Mohos	5	3	5	2	10	10 ²
Levaduras	5	3	5	2	10	10 ²

Fuente:(Norma Sanitaria Perú Analisis, 2012).

Realizado por: Jiménez Erika, 2019

1.3.4. *Calidad del queso fresco*

Se podría definir a la calidad como el acumulado de particularidades y patrimonios de un producto que se le atribuye la capacidad de satisfacer las exigencias, establecidas o implícitos del consumidor. (Molina,2009, p.14)

Para adquirir un queso de calidad es intensamente importante conseguir leche de la misma categoría, que verifique con los lineamientos organolépticos, físico-químicas y microbiológicas definitivas por la normativa nacional, es primordial que todas las etapas de la elaboración del queso se efectúen con las condiciones idóneas de higiene. (Molina,2009, p.14).

1.3.5. Control Microbiológico el queso fresco.

De acuerdo a la NTE INEN 1528: 2012 de queso fresco, en los requisitos microbiológicos se establece que “los quesos frescos no madurados deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.” Los quesos frescos no madurados, experimentados de acuerdo con las normativas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con las exigencias microbiológicas establecidas.

Tabla 4-1. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados

Requisitos	N	M	M	c	Métodos de ensayo
Enterobacterias, UFC/g	5	2×10^2	10^3	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/g	5	10	10^2	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> / 25g	5	Ausencia	-	0	ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25g	5	Ausencia	-	1	NTE INEN 1529-14

Fuente: NTE 1528:2012(Queso fresco, Requisitos)

Realizado por: Jiménez Erika, 2019

Donde:

N= Numero de muestras a examinar

M= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M=Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

C= Número de muestras permisibles con resultados entre m y M

1.4. Conservación del queso

El tiempo de preservación varía de acuerdo al funcionamiento del formato, la textura y el tipo de leche. Sin embargo, al momento de almacenar el queso debemos tener en cuenta la temperatura y humedad ambiental, que varía entre 5 y 10°C, mientras que el porcentaje

de humedad del 60 – 80%, estas medidas son las condiciones idóneas para la conservación del queso. (Castro,2012, p. 3).

Para una óptima conservación el queso debe estar en un ambiente frío, debido a que en el calor comienza a “sudar”, perdiendo grasa y resecándose. Existen diferentes tipos de textura los cuales poseen diferentes temperaturas. (Castro,2012, p. 3).

- Quesos de pasta dura: 8-12 °C
- Quesos de pasta blanda y azules: 4-8 °C

1.5. Brotes Causados Por *Listeria monocytogenes* En Queso Fresco.

Los principales brotes de Listeriosis, obtenidos al consumo de queso. De los casos incluidos únicamente dos indican que fueron producidos con leche cruda, y se destaca en este resumen la variedad de quesos (incluidos quesos frescos y madurados. (Ministerio de Salud, Colombia 2011, p.12).

Tabla 5-1. Brotes causados por *Listeria Monocytogenes* En Queso Fresco.

Año	Tipo de queso	N° de afectados	Tipo de Listeriosis	País
1995	Queso blando	37	I	Francia
1997	Queso blando elaborado con leche cruda	14	NI	Francia
2000	Queso fresco tipo mexicano	13	I	Estados Unidos
2005	Queso tomme	10	NI	Suiza
2008	Queso Brie	69	I	Chile
2009	Queso duro	14	I	Austria

Fuente: (Ministerio de Salud, 2011)
Realizado por: Jiménez Erika,2019.

Listeria monocytogenes y la listeriosis fueron registradas por primera vez en estudios de laboratorio en animales en 1924. La listeriosis es una enfermedad que ataca a los humanos y en la década de los ochenta presentó un incremento en el número de casos en varios

países, donde la transmisión por el consumo de alimentos contaminados fue completamente establecida. (Ministerio de Salud, Colombia 2011, p.12).

Listeria monocytogenes es un bacilo Gram-positivo capaz de crecer a temperaturas de refrigeración; su control en la industria de alimentos ha resultado complicado debido a la ubicuidad en el medio ambiente, así como a la tolerancia a condiciones medioambientales desfavorables como bajos valores de pH, altas concentraciones de cloruro de sodio y su capacidad de formar biopelículas. (Ministerio de Salud, Colombia 2011, p.12).

Cuando un queso es elaborado de manera artesanalmente es uno de los productos lácteos que brinda condiciones idóneas para la *Listeria*, debido a que es elaborado a partir de leche cruda y en cierta medida en malas prácticas de manufactura, a la alta humedad y al hecho de no estar en controles de almacenamiento, distribución y expendio, se convierten en un potencial de transferencia para *Listeria monocytogenes* y otros microorganismos patógenos (Ministerio de Salud, Colombia 2011, p.12).

El crecimiento de *Listeria monocytogenes* en los alimentos depende de las características intrínsecas del alimento (pH, actividad del agua), de las características extrínsecas (temperaturas de almacenamiento, humedad relativa) y de las técnicas de procesado utilizadas en su elaboración. (Ramirez,2014, p.5).

Listeria monocytogenes sobrevive a la producción y maduración del queso debido a la resistencia a la temperatura a la capacidad de proliferar en el frío y a su tolerancia a la sal. Durante la elaboración, *Listeria monocytogenes* se concentra en la cuajada del queso. El comportamiento de las listerias en la cuajada está afectado por el tipo de queso variando desde el crecimiento en queso feta, a la muerte significativa en el queso cottage. Por ejemplo, durante la maduración del queso, *Listeria monocytogenes* puede crecer en el queso Cammenbert, morir gradualmente en los quesos Cheddar o Colby o disminuir rápidamente durante la maduración temprana para después estabilizarse como ocurre en el queso azul. (Melendez,2010, p. 5)

El Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) reportó uno de los brotes de mayor impacto por *Listeria monocytogenes* en el año 2000, debido al consumo de queso fresco, elaborado de forma artesanal con leche cruda contaminada. En este brote se obtuvieron 12 casos, 11 mujeres con edad promedio de 21 años. Del total de mujeres 10 estaban embarazadas, de ellas 5 abortaron, 3 tuvieron parto prematuro y en dos casos, se presentaron infecciones en los neonatos. La tasa de hospitalización fue del 100%.

1.5.1. Prevalencia de *Listeria Monocytogenes* en quesos

La prevalencia varía entre 0% y 50%, sin embargo, esta variabilidad puede estar relacionada con el número de muestras procesadas en cada estudio, así como las condiciones de elaboración de los mismos. (Fernandez,2011, p.23)

1.5.2. Características de crecimiento.

Las características más importantes de esta bacteria incluyen la habilidad para crecer a temperaturas de -1,5-45°C, valores de pH reportados de 4,0 -9,6 y actividades de agua (aw) superiores a 0,92. (Ministerio de Salud Colombia, 2011, p.16).

Tabla 6-1: Valores óptimos de Crecimiento

Valores óptimos de crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> Parámetro	Óptimo
Temperatura	30-37 °C
pH	7,0
Actividad de agua (aw)	0,97

Fuente: (Ministerio de Salud, 2011).
Realizado por: Jiménez Erika,2019

1.5.3. Colonización. Patogenia de la infección

Listeria monocytogenes es una bacteria que se detecta en materia fecal, el microorganismo es fagocitado por los macrófagos, polimorfonucleares y células plasmáticas; sin embargo, por acción de la listeriolisina sale de las vacuolas fagocíticas y prolifera en el citoplasma de las células infectadas. La presencia de síntomas puede obedecer a la infección simultánea por otros gérmenes. Aunque el período de incubación no se conoce con precisión, se estima en alrededor de 3 semanas. (Ministerio de Salud Colombia, 2011, p.16).

1.6. Escherichia Coli

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, usualmente móvil por flagelos peritricos, cuyo hábitat es el intestino de animales de sangre caliente (35, 36). Esta bacteria es utilizada como indicador de posible contaminación fecal y presencia de patógenos en agua y alimentos debido a que se encuentra abundantemente en heces de humanos y animales. (Ministerio de Salud Colombia, 2011, p.18).

De 3,3 a 12,3 millones de casos en Estados Unidos y de alrededor de 3900 muertes. Está presente en números elevados en las heces de animales y humanos, y es importante como indicador de la contaminación fecal en alimentos (Forsythe y Hayes 1998, p.67).

Su principal característica es que produce grandes cantidades de gas que causan la hinchazón de los quesos. Estas especies son habitantes normales del tracto intestinal del humano y de los animales, aunque también se encuentran en el suelo y agua. La principal importancia del género *Escherichia* es que constituye un indicador de las condiciones higiénicas en la obtención y fabricación de la leche y sus productos, y en el caso especial de la *Escherichia. coli*, es un indicador de contaminación fecal en el agua (Demeter y Elbertzhagen, 1971). Estos organismos son una causa de gastroenteritis en humanos y otros animales. (Varela, Lavalle and Alvarado, 2016, p. 23)

En general, *Echericha coli* no crece muy bien durante el proceso de manufactura de los quesos, el pH bajo y la sal son inhibidores de su crecimiento. Las gastroenteritis

ocasionadas por consumo de queso contaminado con *Escherichia coli* se reportan como debidos a una contaminación post pasteurización y otras causas. Entre las que más interesan en el análisis microbiológico de quesos por su significado sanitario son las bacterias coliformes, ya que se consideran como indicadores de *Escherichia coli*. La cuál se localiza en las leches debido al mal ordeño y a las aguas contaminadas empleadas durante el proceso de elaboración de los quesos. Esta bacteria es causa de las mayoría de las diarreas infantiles en niños menores de cinco años, la sintomatología característica, es diarrea abundante, dolor abdominal y fiebre (Varela, Lavalle and Alvarado, 2016, p. 25)

Aunque *Escherichia coli* puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, varios estudios han documentado que ciertas cepas de *Echericha coli* producen diarrea y otras enfermedades extra intestinales en humanos. (Varela, Lavalle and Alvarado, 2016, p. 25)

Esta bacteria es capaz de producir dos tipos de toxina shiga, que ocasionan diarrea, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Esta bacteria se encuentra regularmente en las heces del ganado sano y es transmitida al hombre principalmente por la ingestión de productos bovinos; aunque se ha relacionado también con la leche no pasteurizada, bebidas contaminadas, verduras frescas y a través del contacto persona a persona (Alvarado,2016, p.25)

CAPÍTULO II

2. Marco metodológico

2.1. Localización y duración del experimento

El trabajo experimental se realizará en el laboratorio de Biotecnología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, ubicado en el kilómetro 1 ½ de la Panamericana sur, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. A una altitud de 2754 msnm, y con una longitud Oeste de 78° 28' 00'' y una latitud Sur de 01° 38' 02''. La presente investigación tendrá un tiempo de duración de 60 días.

Tabla 7-2: Condiciones meteorológicas del cantón Riobamba.

INDICADORES	2016
Temperatura (°C).	13,45
Precipitación (mm/año).	42,8
Humedad relativa (%).	61,4
Viento / velocidad (m/s).	2,50.
Heliofania (horas/ luz).	1317,6

Fuente: Estación Meteorológica de la Facultad de CIENCIAS PECUARIAS

2.2. Unidades experimentales

En la presente investigación se utilizará 48 quesos frescos, proveniente de tres queseras ubicadas en los cantones Tunshi Chambo y Colta el lugar de realización de los análisis microbiológicos será en el Laboratorio de Biología y Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3. Materiales, equipos e instalaciones

2.3.1. *Materiales*

- ✓ Placas petrifilm

- ✓ Pinzas

- ✓ Gradilla tubos de ensayo

- ✓ Mechero

- ✓ Pipetas

- ✓ Pipeta de 10ml

- ✓ Varilla de agitación

✓ Pipetas de 1 y 10 ml

✓ Tubos de ensayo

✓ Espátula

2.3.2. *Equipos*

✓ Microscopio

✓ Cuenta colonias

✓ Autoclave

✓ Congelador

✓ Cabina de flujo laminar

2.3.3. *Medios de cultivo*

Placas Petri film para *Escherichia coli*.

Placas Petri film para *Listeria monocytogenes*.

2.4. Tratamiento y diseño experimental

Se aplicará 3 tratamientos, con 4 repeticiones cada uno, dando un total de 90 unidades experimentales. Los resultados experimentales serán modelados bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA). El modelo lineal aditivo es el siguiente:

$$Y_{ij} = u + T_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor del parámetro en medición

u = Promedio

T_i = Efecto del tratamiento utilizado

ϵ_{ij} = Error experimental

Tabla 8-2: Esquema del experimento.

TRATAMIENTO	CODIGO	REPETICIONES	T.U.E*	REP/TRAT
1	QR1	4	1	4
2	QR2	4	1	4
3	QR3	4	1	4
TOTAL				12

Fuente: Jiménez, E. (2019).

*T.U.E: un queso fresco.

Tabla 9-2: Esquema del ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamiento	2
Error	9

Fuente: Jiménez, E. (2019).

*T.U.E: un queso fresco.

2.5. Mediciones experimentales

Las unidades experimentales que se conformaran por tres marcas de queso de las cuales se tomaran cuatro muestras en diferentes tiempos, para la determinación de la contaminación microbiológica

2.6. Análisis microbiológicos.

- Recuento microbiano en placa Petri film para *Escherichia coli*.
- Recuento microbiano en placa Petri film para *Listeria monocytogenes*.

2.7. Técnicas Estadísticas:

- Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos serán sometidos a: Análisis de Varianza para las diferencias (ADEVA) y separación de medias a través de la prueba de Tukey al nivel de $P < 0.05$.

2.8. Procedimiento experimental

2.8.1. Etapa de diagnóstico

Se realizará el diagnóstico de las condiciones higiénicas y de calidad en las queseras rurales, tomando en cuenta las características del personal, la infraestructura y equipos mediante la aplicación de check list.

2.8.2. Control de calidad

Para determinar la calidad microbiológica del queso fresco, se tomarán muestras en cada quesera, en una cantidad de 200 g, las mismas que se identificadas y se colocaran en una caja térmica para luego ser trasladadas al Laboratorio de Biología y Biotecnología animal Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, en los cuales se realizaran los análisis microbiológicos con el objetivo de determinar la calidad e inocuidad del producto que se elabora en las queseras rurales.

2.9. Metodología de evaluación

2.9.1. 1. Placas Petri film

Es un método microbiológico que consiste en un conjunto de placas listas para usarse diseñadas con prestaciones para ahorrar tiempo, incremento de productividad, fiabilidad y eficiencia de los procesos de detección, cuantificación o análisis. Su diseño dispone de una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes

Proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento, siendo uno de los métodos más rápidos eficaces y validados por normas tanto nacionales como internacionales para su uso y aplicación en investigación ya sea en la industria o a nivel científico. Las Placas Petrifilm™ están disponibles para la mayoría de las necesidades y de pruebas microbiológicas incluyendo:

- Recuento de *Escherichia coli*.
- Recuento de *Listeria monocytogenes*

2.10. Análisis microbiológico

2.10.1. Determinación de *Escherichia coli* UFC/g.

Para la determinación microbiológica de *Escherichia coli* UFC/g, se procedió de la siguiente manera:

- Receptar e identificar las muestras.

- Esterilizar los materiales en autoclave por 15 minutos a 120° C (pipetas, tubos de ensayo colocados en una funda de tela).
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).
- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla y en cada uno poner 9 ml de agua destilada.
- Poner en los tubos de ensayo 1 gr de las muestras, agitar por un minuto, esta dilución pertenece a la solución 10^{-1} .
- De la solución anterior tomar 1 ml y colar en la siguiente fila de tubos, correspondiendo a la solución 10^{-2} .
- De la solución 10^{-2} tomar 1ml de solución y colocar en la última fila de tubos, correspondiendo a la solución 10^{-3} .
- Con la solución 10^{-3} sembrar en las placas Petri film 3M.
- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de solución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37° C durante 24 horas en el caso de *Escherichia coli*.
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias e identificar el número de microorganismos presentes.

- Los resultados reportar en UFC/g o UFC/ml.

2.10.2. Determinación de *Listeria monocytogenes* UFC/g

Para la determinación de *Listeria monocytogenes* se seguirá el mismo procedimiento mencionado anteriormente, el cambio que se realizará es en la utilización de placas Petri film para *Listeria*, y el tiempo de incubación 2 días.

CAPÍTULO III

3. Marco de discusión y análisis de resultados

3.1 Resultados del check list realizado a cada empresa

3.1.1 Evaluación del personal de las empresas (A, B, C)

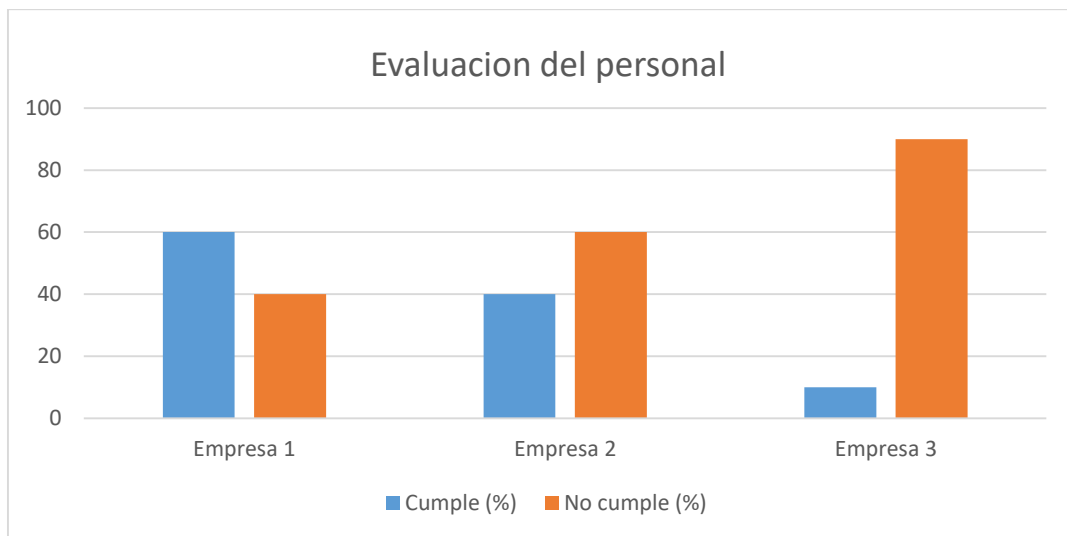


Gráfico 1-3: Evaluación del cumplimiento de las normas de higiene del personal de las empresas.

Elaborado por: Jiménez, E. (2019).

El personal de la empresa 1 cumple con el 60% de las normas de higiene entre las cuales se destacan: lavado y desinfección de manos, control de enfermedades, uso de cofia y mascarilla, no usar cosméticos y no comer; el 40 % es el incumplimiento por el baño diario, uso de guantes y falta de capacitación.

El personal de la empresa 2 incumple en un 40%. en el acatamiento de las normas de higiene, las cuales son: lavado y desinfección de manos, control de enfermedades, baño diario, uso de mascarilla, no usar cosméticos.

El personal de la empresa 3 incumple con el 90% de las normas de higiene que son importantes en la elaboración del producto como: el lavado y desinfección de manos, control de enfermedades, baño diario, uso de guantes, uso de mascarilla y cofia. Su nivel de cumplimiento es del 10%.

3.1.2 Edificios y facilidades (A, B, C)

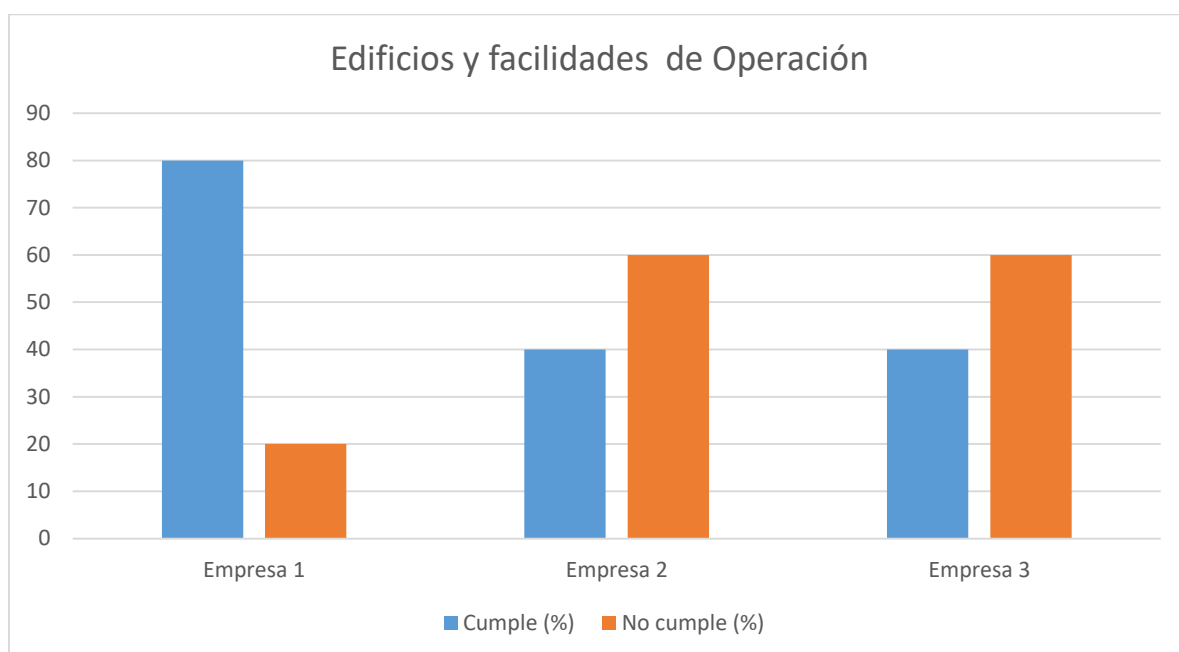


Gráfico 2-3: Evaluación de edificios y operación.

Elaborado por: Jiménez, E. (2019).

El perímetro de la empresa 1 cumple con el 80% de las normativas como son: manejo adecuado del equipo, remover la basura, mantener las aceras y jardines limpios y el 20% es la falta de un sistema de tratamiento de desechos líquidos.

El perímetro de la empresa 2 alcanza el 40% de las normativas como son: remover la basura y corte de grama, el 60% restante corresponde a mantener aceras y jardines limpios, almacenamiento correcto de los equipos y sistema de tratamientos de desechos líquidos.

La empresa 3 cumple con el 40% de las normativas el manejo de adecuado de equipos, corte de grama el 60% de incumplimiento es la falta de un sistema de tratamiento de desechos líquidos, remover la basura, falta de aseo en las aceras y jardines.

3.1.3 Evaluación de diseño y construcción (A, B, C)

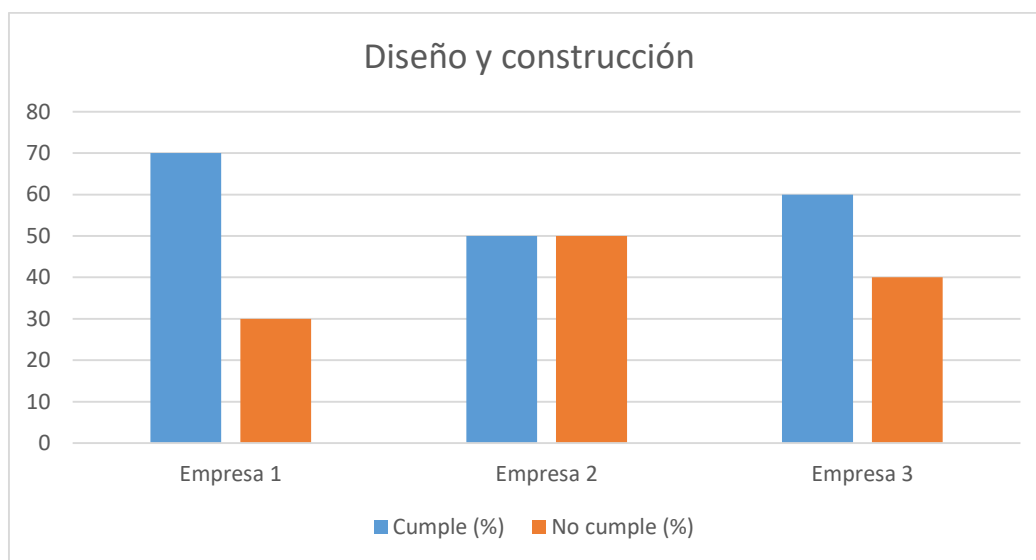


Gráfico 3-3: Evaluación de diseño y construcción de las empresas.
Elaborado por: Jiménez, E. (2019).

El diseño y construcción de la planta 1 cumple con el 70% de desempeño, pero con falencias para eliminar vapor y olores, dicha empresa no efectúa limpieza de techos ya que estos son altos.

El diseño y construcción de la quesera 2 cumple con el 50% de los aspectos como proveer espacio suficiente para maquinaria, sanitarios y lavamanos, el 50% restante es la dificultad para eliminar vapor y olores, la planta no realiza limpieza del techo, ya que estos no están en buenas condiciones.

El diseño y construcción de la quesera 3 cumple con el 60% de las normativas como: espacio suficiente para el almacenamiento de maquinaria, sanitarios y lavamanos, el 40% son las insolvencias para eliminar vapor y olor, control de plagas, esta empresa no realiza la limpieza de techos ya que se encuentran en mal estado.

3.1.4 Procesos y producción (A, B, C)

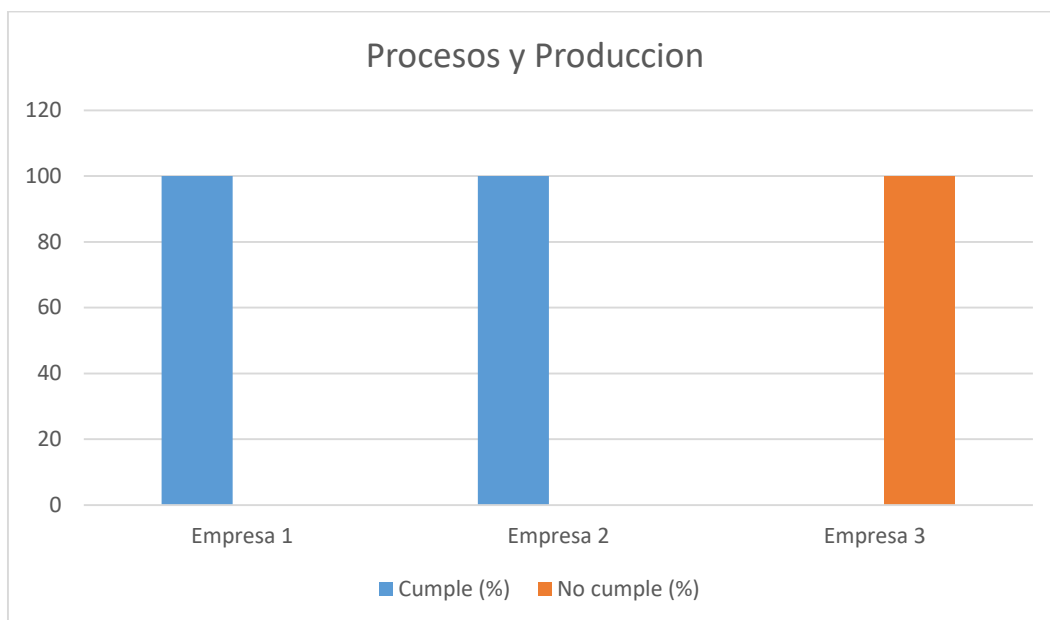


Gráfico 4-3: Evaluación de los procesos y producción.

Elaborado por: Jiménez, E. (2019).

El control de proveedores de la quesera 1 está bajo la responsabilidad del administrador de la empresa y las buenas prácticas de manufactura se hacen de forma empírica, no cuentan con flujograma que sigan la secuencia del proceso para conocer en qué etapa se está fallando, el almacenamiento del producto se lo hace en frigoríficos a temperaturas entre 2-6°C al igual que el transporte con cadena de frío.

El control de proveedores de la planta 2 está bajo la responsabilidad del dueño de la empresa, el almacenamiento se lo hace en frigoríficos a temperaturas entre 2-6°C, pero el transporte del producto final no es correcto ya que no cuenta con cadena de frío.

En la empresa 3 carece de control de proveedores, los procesos se realizan empíricamente dificultando saber la etapa que está fallando, el almacenamiento del producto no es el correcto, el transporte del producto final es inadecuado, ya que se corta la cadena de frío y se expone al sol por mucho tiempo lo que afecta a la calidad del producto

3.2 Análisis Microbiológicos en la línea de producción y producto terminado en las tres queseras rurales.

En los resultados de los estudios microbiológicos realizados en tres queseras rurales de la provincia de Chimborazo, se observan en la tabla N° 10 en la quesera 3 se evidencio la presencia de *Escherichia coli* en la etapa de pasteurización la cual presentando diferencias significativas entre cada una de las quesera, la empresa 1 arrojó el valor más bajo con 1,0 UFC.g⁻¹ y la quesera 3 el valor más alto con 151,08 UFC.g⁻¹ incumpliendo con la NTE 0010:2012 cuyo valor debe ser menor a < 10 UFC.g⁻¹ de *Escherichia coli*

La presencia de *Escherichia coli* en la etapa de cuajado presentan diferencias estadísticas entre las queseras evaluadas, la quesera 1 reporta el valor más bajo con 3,25 UFC.g⁻¹ y la quesera 3 con el valor más alto 176,50 UFC.g⁻¹ incumpliendo con la Norma Sanitaria Perú, cuyo valor debe ser hasta un rango de 10 UFC/g de *Escherichia coli*.

En la etapa de moldeo de los quesos presentan diferencias estadísticas en el recuento de *Escherichia coli*; así, la denominada empresa 3 reporta el valor más bajo con 42,50 (UFC.g⁻¹) y la empresa 2 con el valor más alto 103,75 (UFC.g⁻¹) incumpliendo con la NTE 1528:2012, cuyo valor debe ser menor a < 10 UFC/gr de *Escherichia coli*

La etapa de moldeo solo se observa la presencia de *Listeria monocytogenes* en la empresa 1, la misma que no cumple con la NTE 1528:2012, la cual menciona que en 25g no debe de haber presencia de *Listeria monocytogenes*.

La presencia de *Escherichia coli* en el producto final presentan diferencias significativas entre las queseras evaluadas, la empresa 1 reporta un valor de 31,50 (UFC.g⁻¹) y la empresa 3 con el valor

más alto 125,00 (UFC.g⁻¹) la misma que no cumple con la NTE 1528:2012 cuyo valor debe ser menor a < 10 UFC/gr de *Escherichia coli*.

El producto final de la empresa 1 reporta la presencia de *Listeria monocytogenes* incumpliendo con la NTE 1528: 2012 el cual en 25 g no debe de haber presencia *Listeria monocytogenes*.

Tabla 10-3: Determinación de la presencia de *Escherichia coli* (UFC.g⁻¹) en la línea de producción y producto final.

Sitio de Muestreo	Tratamientos	Media(UFC.g⁻¹)	E.E	p.valor
Etapa de Pasteurización	Empresa 1	1,0 a	4,54	< 0,001
	Empresa 2	43,75 b	4,54	< 0,001
	Empresa 3	151,00 c	4,54	< 0,001
Etapa de Cuajado	Empresa 1	3,25 a	5,14	< 0,001
	Empresa 2	35,50 b	5,14	< 0,001
	Empresa 3	176,50 c	5,14	< 0,001
Etapa de Moldeo	Empresa 3	42,50 a	4,38	< 0,001
	Empresa 1	88,50 b	4,38	< 0,001
	Empresa 2	103,75 b	4,38	< 0,001
Producto Final	Empresa 1	31,50 a	5,2	< 0,001
	Empresa 2	96,75 b	5,2	< 0,001
	Empresa 3	125,00 c	5,2	< 0,001

Fuente:Jiménez,2019 INFOSTAT.

Promedios con letras diferentes en una misma fila difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey

4. Conclusiones.

Se evaluó la presencia de *Escherichia. coli*, y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos en las tres empresas rurales de la provincia de Chimborazo obteniéndose como resultado la mayor incidencia de *Escherichia Coli* en el producto de la empresa 3 con 125,00 (UFC.g⁻¹).

El nivel de contaminación microbiológica en las líneas de producción de las queseras rurales de la provincia de Chimborazo fue un alto, a cada empresa se aplicó un check list el cual evidenció las deficientes prácticas de higiene, en las etapas de pasteurización, cuajado y moldeo, además de la falta de capacitación al personal, lo que conlleva a un producto de mala calidad.

La empresa 3 reportó un alto nivel de contaminación en su proceso de elaboración de quesos, alcanzando conteos de *Escherichia coli* de 151,00 (UFC.g⁻¹), 176,50 (UFC.g⁻¹) y 125,00(UFC.g⁻¹), en las etapas de pasteurización, cuajado y producto final respectivamente lo que demuestra las deficientes prácticas de higiene personal, e higiene ambiental en el proceso

En la empresa 1 tanto en la etapa de moldeo y producto final se encontró la presencia de *Listeria monocytogenes* demostrando que esta empresa produce quesos sin acatar la NTE1528:2012 la cual menciona que en 25g de queso no debe haber presencia.

Se pudo demostrar con esta investigación que, en las tres queseras rurales evaluadas, existe, la falta de aplicación de medidas de higiene la cual conlleva obtener quesos de mala calidad, para revertir esta situación es necesario aplicar el manual medidas de higiene para el mejoramiento de la calidad e inocuidad de los quesos.

5. Recomendaciones

Los productores rurales de quesos frescos deben obligatoriamente aplicar un apropiado proceso de pasteurización de la leche, controlando tiempo y temperatura con el fin de reducir la cantidad de microorganismos patógenos.

Se sugiere que en las plantas artesanales dedicadas a la elaboración de productos lácteos se mantenga un control higiénico sanitario sobre el personal que elabora el producto.

Mediante el uso del manual las tres queseras rurales deben implementar medidas higiénicas eficientes, con el fin de brindar al consumidor un alimento de buena calidad.

Es necesario que los organismos de control como ARCSA y AGROCALIDAD realicen auditorias regulares y oportunas a los productores de quesos artesanales e implementen planes de capacitación permanentes tanto como la calidad e inocuidad de dichos productos

BIBLIOGRAFIA

Castro, C. N. (2012). *Características físicas de la leche*.

[30 de enero de 2019]

http://biblioteca.sena.edu.co/exlibris/aleph/u21_1/alephe/www_f_spa/icon/31496/pdf/b2_car1.pdf

Cuadrado, A. R. (2010). *Leches Fermentadas*.

[24 de enero de 2019]

<http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/518/>

Canada, FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2018). *Calidad y evaluación de productos*.

[16 de enero de 2019]

<http://www.fao.org/dairy-production-products/products/calidad-y-evaluacion/es/>

Fernández, A. I. (2010). *Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Producción Higiénica De La Leche Cruda* .

[30 de enero de 2019]

http://www.infocarne.com/documentos/composicion_leche_vaca_oveja_cabra_elaboracion_quesos.htm

Guía de los alimentos. (2009).

[30 de enero de 2019]

<http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>

Inda. (2000). Optimización del rendimiento y aseguramiento de la inocuidad en la industria de la quesería .

[10 de enero de 2019]

http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/QUESO/queso.htm

Ecuador, Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2011). *Norma Técnica Ecuatoriana*.

[30 de enero de 2019]

<https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0700.2011.pdf>

Jurares, M. (2011). *Procesos para la elaboración de productos lácteos*. Guatemala.

[10 de enero de 2019]

<https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0700.2011.pdf>

Licata, L. M. (2011). *zonadiet.com* .

[12 de enero de 2019]

<http://www.zonadiet.com/comida/queso.htm>

Lopez, M. (2011). *Niveles de Cloruro de Calcio Líquido y en Polvo en la Elaboración de Queso Fresco Pasteurizado*

[15 de febrero de 2019]

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/900>

Maduro, R. (2013). *Características organolépticas*.

[15 de febrero de 2019]

<http://1.bp.blogspot.com/-Gk-YVDL>

Ministerio de Salud. (2011). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes*.

[15 de febrero de 2019]

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>

Molina, F. (2009). *Indicadores De Calidad De Leches Crudas En Diferentes Regiones De Colombia*

[15 de febrero de 2019]

Naranjo, S. (2011). *Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche cruda*.

[15 de febrero de 2019]

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>

Ecuador, Instituto Ecuatoriano de Normalización 9 Norma Técnica del Ecuador.

(2015). *Leche cruda. Requisitos*. Obtenido de Norma Técnica Ecuatoriana:

[15 de febrero de 2019]

http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf

Quintinel, A. (2013). Sección inspección y tecnología alimentaria. En

Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES).

[15 de febrero de 2019]

http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/poes1_05apr2013_cierre_11.pdf

Rita, M. (2014). *Determinacion de listeria monocytogenes en queso fresco expendido al granel*

[15 de febrero de 2019]

<file:///C:/Users/erika/Downloads/Listeria%20queso%20granel%20Cuenca.pdf>

Zunino, A. (2011). *Dulce de leche.*

[15 de febrero de 2019]

http://www.maa.gba.gov.ar/dir_ganaderia/leche/dulce_de_leche_inf.pdf

ANEXOS

ANEXO A: Check List aplicado a las empresas

DIAGNOSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA EMPRESA 1

Para el diagnóstico de la situación actual se aplicó un check list en la Planta de Lácteos con el fin de conocer la situación real de la empresa.

1.- PERSONAL

El personal que conforma el equipo de trabajo en la planta es:

- Administrador. (Ing. Pecuarias)
- Técnico de Producción. (Ing. Agroindustrias)
- Técnico de mantenimiento. (Ing. Mecánico)
- Operarios.
- Chofer.

1. Evaluación del personal de la empresa 1

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Control de enfermedades	X			Una vez al año
Bañarse		X		
Lavado de manos	X			
Joyería		X		
Guantes		X		No utilizaban guantes en el proceso de elaboración
Cofia y mascarilla	X			
No comer, beber, mascar chicle, tabaco, fumar	X			
No usar cosméticos	X			
Capacitación		X		
Supervisión	X			

Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

Evaluación del personal Empresa 1



Realizado por: Jiménez Erika,2019.

2.- Evaluación de edificios y facilidades Empresa 1

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Almacenamiento del equipo adecuadamente	X			
Remover basura	X			
Cortar grama	X			
Mantener aceras, calles y jardines limpios	X			
Tener sistema de tratamiento de desechos		X		No poseen de un sistema de tratamiento de desechos

Realizado por: Jiménez Erika,2019.

GRAFICO 2. Evaluación de edificios y facilidades



Realizado por: Jiménez Erika,2019.

3 Diseño y construcción de la Planta de la empresa 1

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Proveer espacio para maquinaria y almacenaje de materiales	X			
Proveer ventilación para eliminar vapor y olores	X			
Los pisos, paredes y techos pueden ser limpiados con facilidad		X		
Proveer iluminación y una malla que proteja contra el vidrio si explotan bombillas		X		
Disposición de canales de drenajes de agua residual y suero	X			

Control de plagas		X		Presencia de moscos
Limpieza de superficie (incluyendo techos)	X			
Manejo y almacenaje de utensillos	X			No esterilizan los moldes
Sanitarios y lavamanos	X			
Desechos de basura y desperdicio	X			

Realizado por: Jiménez Erika,2019.

Grafico 3. Diseño y construcción



Realizado por: Jiménez Erika,2019.

4. Evaluación de control de procesos y producción de la empresa 1

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Materia prima y otros ingredientes (control de proveedores)	X			
Operaciones de manufactura	X			No existen flujo-gramas presentes, todo se hace por experiencia
Almacenaje y transportación de producto final debe llevarse a cabo bajo condiciones que protejan el alimento.	X			

Realizado por: Jiménez Erika,2019.

GRAFICO 4. Evaluación de proceso y producción



DIAGNOSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA EMPRESA 2

Para el diagnóstico de la situación actual se aplicó un check list en la Planta de Lácteos con el fin de conocer la situación real de la empresa.

1.- PERSONAL

El personal que conforma el equipo de trabajo en la planta es:

- Administrador. (Dueño de la empresa)
- Técnico de Producción. (Dueño de la empresa)
- Técnico de mantenimiento. (Ing. Mecánico)
- Operarios.
- Chofer. (Dueño de la empresa)

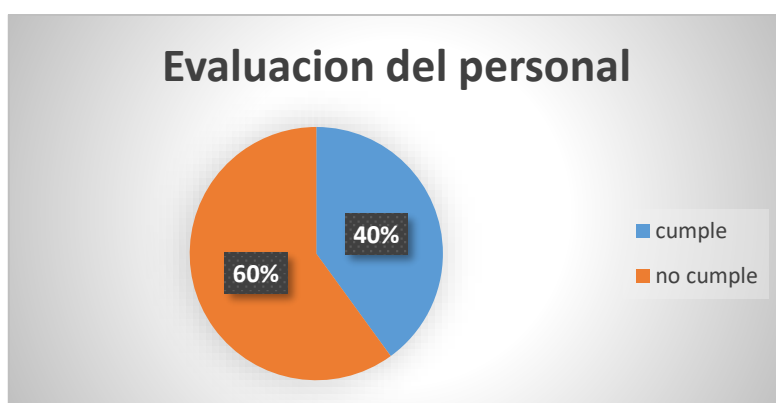
1. Evaluación del personal de la empresa 2

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Control de enfermedades		X		Una vez al año
Bañarse		X		No poseen un lugar de aseo
Lavado de manos	X			
Joyería	X			
Guantes	X			
Cofia y mascarilla		X		No utilizan gorras y cobertor de barba

No comer, beber, mascar chicle, tabaco, fumar		X		Los operarios consumen alimentos en el área de producción
No usar cosméticos		X		
Capacitación	X			Rara vez realizan capacitación
Supervisión		X		No realizan supervisión en su empresa

Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

Grafico 1. Evaluación del personal de la Empresa 2



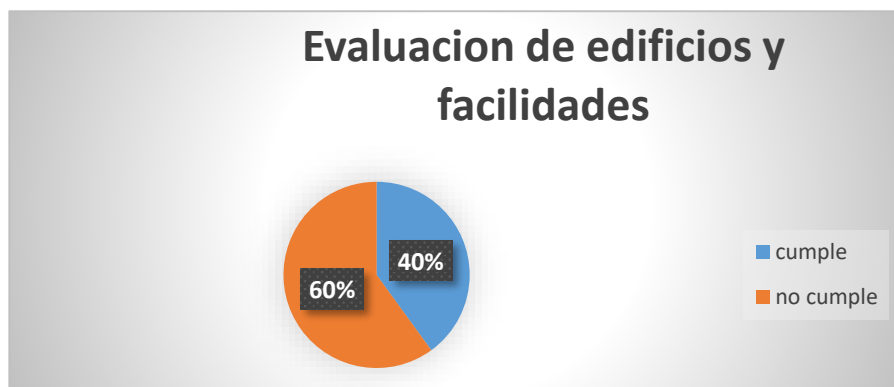
Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

2. Evaluación de edificios y facilidades Empresa 2

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Almacenamiento del equipo adecuadamente		X		No poseen un lugar de almacenamiento
Remover basura	X			
Cortar grama	X			
Mantener aceras, calles y jardines limpios		X		Muy poco aseo en los jardines
Tener sistema de tratamiento de desechos		X		No poseen de un sistema de tratamiento de desechos

Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

Grafico 2. Evaluación de edificios y facilidades de la Empresa 2



3 Evaluación del diseño y construcción de la empresa 2

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Proveer espacio para maquinaria y almacenaje de materiales	X			
Proveer ventilación para eliminar vapor y olores		X		
Los pisos, paredes y techos pueden ser limpiados con facilidad		X		
Proveer iluminación y una malla que proteja contra el vidrio si explotan bombillas	X			
Disposición de canales de drenajes de agua residual y suero	X			
Control de plagas		X		Presencia de moscos
Limpieza de superficie (incluyendo techos)		X		
Manejo y almacenaje de utensillos	X			No esterilizan los moldes
Sanitarios y lavamanos	X			
Desechos de basura y desperdicio		X		Acumulan la basura en un lugar sin rotulo



Realizado por: Jiménez Erika,2019.

4. Evaluación de control de procesos y producción de le empresa 2

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Materia prima y otros ingredientes (control de proveedores)	X			
Operaciones de manufactura	X			No existen flujo-gramas presentes, todo se hace por experiencia
Almacenaje y transportación de producto final debe llevarse a cabo bajo condiciones que protejan el alimento.	X			

Grafico3. Evaluación de control de procesos y producción



Realizado por: Jiménez Erika,2019.

DIAGNOSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA EMPRESA 3

Para el diagnóstico de la situación actual se aplicó un check list en la Planta de Lácteos con el fin de conocer la situación real de la empresa.

1.- PERSONAL

El personal que conforma el equipo de trabajo en la planta es:

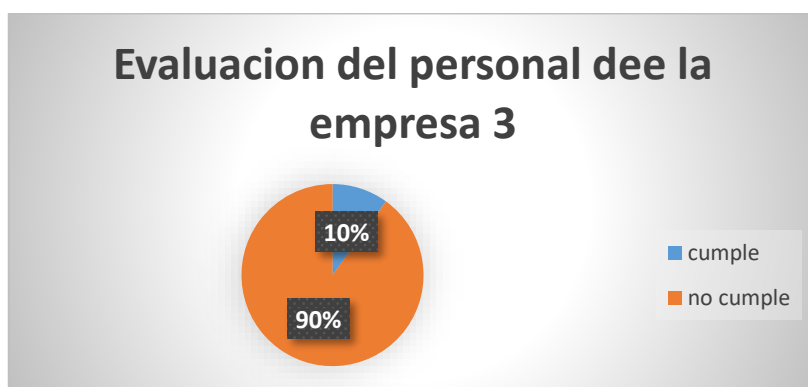
- Administrador. (Ing. Pecuarias)
- Técnico de Producción. (Dueño de la empresa)
- Técnico de mantenimiento. (Dueño de la empresa)
- Operarios.
- Chofer.

1. Evaluación del personal de la empresa 3

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Control de enfermedades		X		Una vez al año
Bañarse		X		
Lavado de manos		X		
Joyería		X		
Guantes		X		No utilizaban guantes en el proceso de elaboración
Cofias y mascarilla		X		
No comer, beber, mascar chicle, tabaco, fumar		X		
No usar cosméticos	X			
Capacitación		X		
Supervisión		X		

Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

GRAFICO 1. Evaluación del personal Empresa A

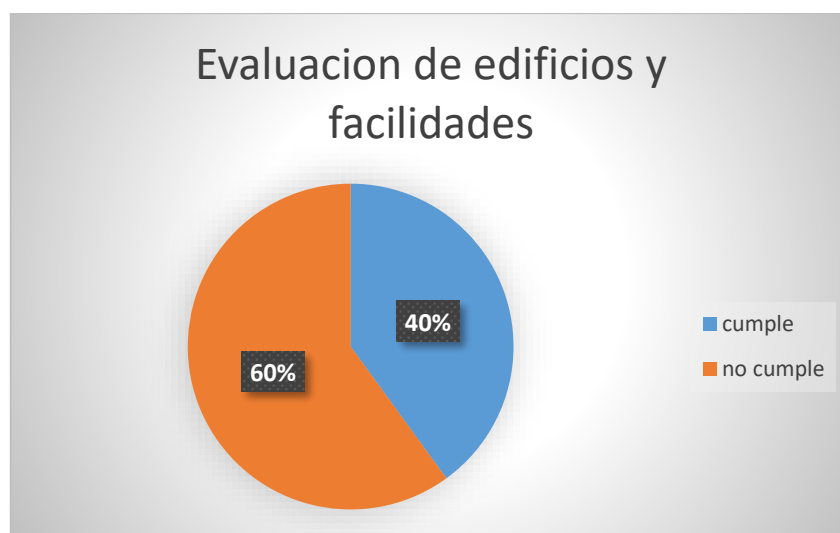


Realizado por: Jiménez Erika, 2019.

2.- Evaluación de edificios y facilidades Empresa 3

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Almacenamiento del equipo adecuadamente	X			
Remover basura		X		
Cortar grama	X			
Mantener aceras, calles y jardines limpios		X		
Tener sistema de tratamiento de desechos		X		No poseen de un sistema de tratamiento de desechos

Grafico 2. Evaluación de edificios y facilidades de la empresa 3



3 Evaluación del diseño y construcción de la empresa 3

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Proveer espacio para maquinaria y almacenaje de materiales	X			
Proveer ventilación para eliminar vapor y olores		X		
Los pisos, paredes y techos pueden ser limpiados con facilidad		X		
Proveer iluminación adecuada y malla que proteja si explotan bombillas		X		
Disposición de canales de drenajes de agua residual y suero	X			

Control de plagas		X		Presencia de moscos
Limpieza de superficie (incluyendo techos)	X			
Manejo y almacenaje de utensillos	X			No esterilizan los moldes
Sanitarios y lavamanos	X			
Desechos de basura y desperdicio	X			



4 Evaluación de control de procesos y producción de la empresa 3

Aspectos a considerar	Presente	Ausente	NA	Observaciones
Materia prima y otros ingredientes (control de proveedores)		X		No tienen control de proveedores
Operaciones de manufactura		X		No existen flujo-gramas presentes, todo se hace por experiencia.
Almacenaje y transportación de producto final debe llevarse a cabo bajo condiciones que protejan el alimento.		X		

Grafico 4. Evaluación de procesos y producción de la empresa 3



ANEXO B: Análisis ADEVA, TUKEY

1. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LA ETAPA DE PASTEURIZACIÓN E. COLI

Lugar de muestro	Tratamientos	I	II	III	IV	Suma	Media
Etapa de Pasteurización	Empresa 1	1	0	2	1	4	1
	Empresa 2	57	41	36	41	175	43,75
	Empresa 3	165	134	154	150	603	150,75

2. ANALISIS DE VARIANZA(ADEVA).

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado de la media	F-Valor	p-valor
Empresa	44778,5	2	22389,25	289,62	< 0,001
Error	695,75	9	77,31		
Total	45474,25	11			
CV	13,90				

3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY 5%

Rango	Media	n	E.	Empresa
A	1,00	4	4,58	1
B	43,75	4	4,58	2
C	151,00	4	4,58	3

1. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LA ETAPA DE CUAJADO

Lugar de muestro	Tratamientos	I	II	III	IV	Suma	Media
Etapa de cuajado	Empresa 1	5	2	5	1	13	3,25
	Empresa 2	25	36	30	51	142	35,5
	Empresa 3	196	175	170	165	706	176,5

2. ANALISIS DE VARIANZA(ADEVA).

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado de la media	F-Valor	p-valor
Empresa	63728,17	2	31864,08	325,33	< 0,001
Error	881,5	9	97,94		
Total	64609,67	11			
CV	14,17				

3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY 5%

Rango	Media	n	E.	Empresa
A	3,25	4	5,14	1
B	35,50	4	5,14	2
C	176,50	4	5,14	3

1. RESULTADOS EXPERIMENTALES DEL MOLDE

Lugar de muestro	Tratamientos	I	II	III	IV	Suma	Media
Etapa de moldeo	Empresa 1	80	90	101	83	354	88,5
	Empresa 2	115	100	105	95	415	103,75
	Empresa 3	46	30	48	46	170	42,5

2. ANALISIS DE VARIANZA(ADEVA).

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado de la media	F-Valor	p-valor
Empresa	8133,5	2	4066,75	52,99	< 0,001
Error	690,75	9	76,75		
Total	8824,25	11			
CV	11,2				

3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY 5%

Rango	Media	n	E.	Empresa
A	3,25	4	4,38	3
B	35	4	4,38	1
B	171,5	4	4,38	2

1. RESULTADOS EXPERIMENTALES DEL PRODUCTO

Lugar de muestro	Tratamientos	I	II	III	IV	Suma	Media
Producto final	Empresa 1	21	40	30	35	126	311,5
	Empresa 2	80	90	105	112	387	96,75
	Empresa 3	120	120	125	135	500	125

2. ANALISIS DE VARIANZA(ADEVA).

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado de la media	F-Valor	p-valor
Empresa	18397,117	2	9198,58	52,99	< 0,001
Error	973,75	9	108,19		
Total	19370,92	11			
CV	12,32				

3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY 5%

Rango	Media	n	E.	Empresa
A	31,5	4	5,20	1
B	96,75	4	5,20	2
C	125,5	4	5,20	3

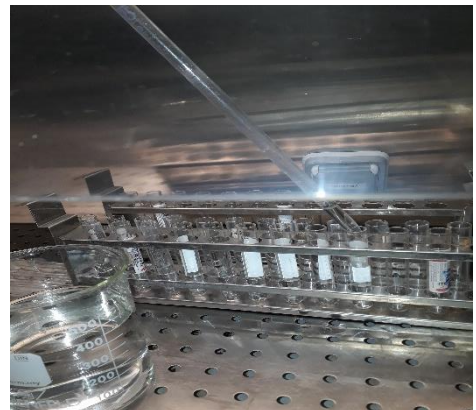
ANEXO C: Fotografías del experimento de campo

Check List realizando a las empresas

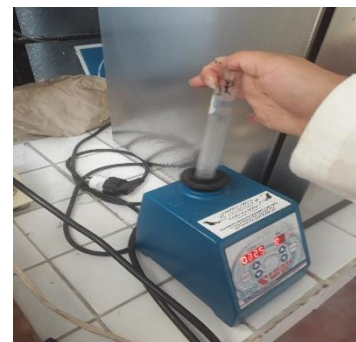


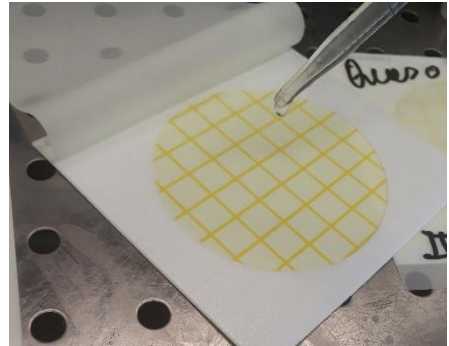
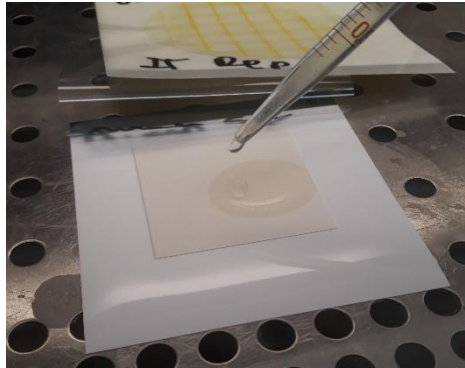
Análisis Microbiológicos

Preparación de los materiales y la dilución



Preparación de la muestra





Reposo en la estufa a 37C y realizar el conteo despues de 48 horas



Realizado por: Jiménez Erika, 2019.