

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Producción Agrícola y Animal
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

Proyecto de investigación:

DIAGNÓSTICO DE PRÁCTICAS DE HIGIENE EN QUESERÍAS ARTESANALES
Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes*, EN
ACULCO, ESTADO DE MÉXICO.

Prestador de servicio social

Angélica María Padilla Pérez
Matricula 2173028345



Asesor interno

Dr. Francisco Héctor Chamorro Ramírez
Número económico 32000



Asesor externo

MVZ. Suzette Juárez Contreras
Cedula profesional 12527771

Periodo y lugar de realización

Inicio 18 de noviembre del 2022, termino 18 de mayo del 2023

Laboratorio Veterinario de Ciencias de la Carne y Salud Pública.
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso
1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C. P. 04960, Ciudad de México.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN..... | 3 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 4 |
| 3. OBJETIVO GENERAL..... | 5 |
| 4. OBJETIVOS ESPECIFICOS..... | 5 |
| 5. METODOLOGÍA..... | 6 |
| 6. ACTIVIDADES REALIZADAS..... | 12 |
| 7. METAS ALCANZADAS..... | 13 |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 14 |
| 9. CONCLUSIÓN..... | 24 |
| 10. RECOMENDACIONES..... | 25 |
| 11. REFERENCIAS..... | 26 |
| 12. ANEXOS..... | 28 |
| Anexo 1. Cuestionario de producción..... | 28 |
| Anexo 2. Encuesta SEH (Sistema de Evaluación de Higiene)..... | 29 |

1. RESUMEN

Los quesos frescos artesanales suelen elaborarse bajo deficientes condiciones higiénico-sanitarias, empleando leche cruda y metodologías no estandarizadas, provocando que el queso sea altamente susceptible a contaminación por microorganismos, que pueden ser patógenos como *Listeria monocytogenes*. El objetivo de este trabajo fue diagnosticar el nivel de implementación de las buenas prácticas de higiene (BPH) en cuatro queserías artesanales ubicadas en Aculco, Estado de México y establecer su relación con la presencia de *L. monocytogenes*. Se elaboró y aplicó un cuestionario de producción y una encuesta de evaluación de higiene para determinar el nivel de cumplimiento de las BPH en cada quesería (Q1,Q2,Q3,Q4), los niveles se clasificaron como muy bajo, bajo, medio, alto y muy alto. Se obtuvieron tres quesos (Oaxaca, botanero y rancharo) por quesería, sumando un total de 12 muestras. A partir de ellos se determinó la presencia de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y coliformes totales (CT), mediante la técnica de conteo en placa. Posteriormente se detectó la presencia de biofilms presuntivos mediante irradiación de luz UV sobre superficies inertes, a partir de estos se seleccionaron 5 puntos de muestreo y se realizó un hisopado por quesería (N=20). Se determinó la presencia de *L. monocytogenes* en dichas superficies y en los quesos (N=12), realizando un enriquecimiento, aislamiento en medio selectivo, pruebas microscópicas y bioquímicas. Los resultados obtenidos muestran que las queserías no cumplen con las BPH, el nivel de cumplimiento para la Q1 fue muy bajo, mientras que, para la Q2, Q3 y Q4 fue bajo. Se obtuvieron recuentos que van desde las 1,200 a 200,000 UFC/gr para BMA y de 500 a 400,000 UFC/gr para CT. Se detectó presencia de biofilms presuntivos en múltiples superficies de las queserías; sin embargo, en superficies y quesos no se aisló *L. monocytogenes*. No se encontró relación entre el nivel de cumplimiento de las BPH con la presencia de *L. monocytogenes* en las queserías evaluadas.

2. INTRODUCCIÓN

La quesería artesanal en el municipio de Aculco tiene su origen en la década de 1960, esta actividad se sustenta en la producción familiar de leche y en las más de 60 agroindustrias especializadas de carácter rural que transforman la leche producida en quesos, de los cuales se estima una producción semanal de 43,209 kg, de ahí su posicionamiento como el principal productor en el Estado de México y poseedor de un gran renombre a nivel regional (Fernández, 2020; Ruiz *et al.*, 2020; Lugo, 2018).

Los quesos frescos suelen ser elaborados de manera artesanal en áreas rurales con deficientes condiciones higiénico-sanitarias, empleando leche cruda y metodologías rudimentarias no estandarizadas que resultan en un alto grado de manipulación del producto, debido a esto el queso fresco dentro de los productos lácteos es el que cuenta con mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser comercializado (Arroyo y Vázquez, 2018; Merchán *et al.*, 2018; Solórzano *et al.*, 2021). Pues su presencia dependerá de la calidad de la leche empleada, de la limpieza general de la quesería, del manejo de la cuajada durante el procesamiento y de la temperatura de almacenamiento (Sánchez *et al.*, 2016). Debido a ello, los quesos frescos pueden participar como vehículos de microorganismos patógenos causantes de ETA'S, como *Listeria monocytogenes*, causante de la listeriosis, considerada por la CDC como la tercera causa de muerte por ETA'S en el mundo y de la cual los brotes más frecuentes han sido asociados con el consumo de quesos frescos. Lo anterior porque su medio de elaboración es idóneo para su supervivencia y crecimiento, dado el alto contenido de humedad y residuos del producto. *L. monocytogenes* puede contaminar el queso en sus distintas etapas de fabricación, ya sea por empleo de leche contaminada o a través de los manipuladores, equipos y utensilios, debido a su capacidad para adherirse a distintas superficies y formar biofilms. Los cuales favorecen su persistencia y la protegen de la acción de detergentes, sustancias antimicrobianas, salinidad y desecación, además de sobrevivir en medios con condiciones desfavorables como temperaturas de refrigeración (>4°C), medios ácidos y de alta salinidad (Ministerio de Consumo de España, 2020; CDC, 2017; Baez, 2018 Ripolles, 2018).

3. OBJETIVO GENERAL

Diagnosticar el nivel de implementación de prácticas de higiene en queserías artesanales y su relación con la presencia de *Listeria monocytogenes*, en Aculco, Estado de México.

4. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar las buenas prácticas de higiene (BPH) durante la elaboración de los quesos frescos artesanales.
- Determinar la presencia de bacterias indicadoras de contaminación en quesos frescos: Mesofílicos y Coliformes.
- Detectar la presencia de biofilms presuntivos en superficies inertes (instalaciones, equipos y utensilios).
- Determinar la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos y en superficies inertes (instalaciones, equipos y utensilios).

5. METODOLOGÍA

5.1. Ubicación y tipo de estudio:

Se realizó un estudio transversal descriptivo en queserías artesanales ubicadas en el Municipio de Aculco, localizado al noroeste del Estado de México, en las coordenadas 20°16'20" latitud norte y 99°59'10" longitud oeste.

Se trabajó con cuatro queserías, las cuales se identificaron como Q1, Q2, Q3 y Q4. Estas corresponden a agroindustrias que elaboran quesos frescos tradicionales como Oaxaca, rancharo y botanero.

5.2. Evaluación de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) durante la elaboración de los quesos frescos:

Para la evaluación de las BPH, se visitó cada una de las queserías donde se aplicó un cuestionario de producción al propietario y una encuesta SEH (Sistema de Evaluación de Higiene) (Carrascosa, 2010) (Anexo 1).

- a. Cuestionario de producción: Se aplicó un cuestionario con preguntas abiertas y cerradas al propietario para recolectar datos generales del establecimiento y del proceso de elaboración del queso.
- b. Encuesta SEH (Sistema de Evaluación de Higiene): Se evaluó el cumplimiento de las BPH mediante una encuesta diseñada e implementada por Carrascosa (2010), la cual con los fines de esta investigación se complementó con los requisitos mínimos de buenas prácticas de higiene en el proceso de elaboración de alimentos establecidos en la NOM-251-SSA1-2009. Esta constó de 7 categorías, que contemplaban distintos puntos, a los cuales se les asignó una puntuación de 0 a 3, de acuerdo con el grado de cumplimiento, posteriormente a partir de la puntuación obtenida por quesería se les asignó una calificación en una escala de 0 a 10.

5.3. Determinación de bacterias indicadoras de contaminación en quesos frescos: Bacterias Mesofílicas Aerobias (BMA) y Coliformes totales (CT):

a. Preparación de la muestra:

Se basó en las especificaciones descritas en la NOM-110-SSA1-1994; para lo cual se pesaron 10 gr de queso por cada muestra y se colocaron en licuadoras estériles, a las cuales previamente se les adicionó 90 mL de agua peptonada como diluyente (10^{-1}). Posteriormente se operó la licuadora por 1 min para homogenizar la muestra.

Se realizó una segunda dilución (10^{-2}) transfiriendo 1 mL de la solución a un tubo de ensayo estéril con 9 mL de agua peptonada.

b. Siembra y determinación de Unidades Formadoras de Colonia (UFC):

El método para la determinación de BMA, se realizó mediante la técnica de cuenta de bacterias aerobias en placa descrita en la NOM-092-SSA1-1994 y para CT mediante la técnica de cuenta de coliformes totales en placa descrita por la NOM-113-SSA1-1994:

La técnica de siembra utilizada fue mediante vaciado en placa, para ello se colocaron en dos cajas Petri 1 mL de la dilución 10^{-2} de cada muestra de queso, posteriormente en una caja se vertieron 15 mL del medio Plate Count a 45°C para BMA y en la caja restante 15 mL del medio Rojo Bilis Violeta (RBV) para CT.

Se mezcló de forma cuidadosa el inóculo y el medio realizando movimientos circulares de derecha a izquierda, de izquierda a derecha y de adelante hacia atrás sobre una superficie lisa y horizontal. Finalmente se esperó a que las cajas solidificaran y se invirtieron para su incubación a 35°C por 24 horas.

Transcurrido este tiempo se procedió a cuantificar el número de UFC/gr en los quesos frescos para BMA y CT.

5.4. Determinación de presencia de biofilms presuntivos en superficies inertes:

Detección de biofilms presuntivos mediante irradiación de luz UV: Se visitó a las cuatro queserías evaluadas al término de su jornada laboral de tal forma que sus prácticas de limpieza y desinfección ya hubieran sido aplicadas.

Por medio de una lámpara UV de 395 nm se irradió luz UV directamente sobre las superficies de instalaciones, equipos y utensilios, con especial énfasis en puntos donde *L. monocytogenes* podría aislarse con mayor frecuencia. Como lo fueron aquellos con presencia de humedad, con restos de queso, superficies de difícil acceso, que presentaran orificios y grietas, así como en equipos constituidos a partir de materiales porosos, huecos y fibrosos (ANSES, 2012). Lo anterior con el objetivo de visualizar la presencia de biofilms presuntivos, los cuales se pueden observar cómo manchas de suciedad que a simple vista no son perceptibles y que por medio de la luz UV se observan fluorescentes.

5.5. Determinación de *L. monocytogenes* en superficies inertes:

a. Identificación de puntos a muestrear:

Durante la inspección de superficies bajo irradiación de luz UV se identificaron los puntos con presencia de biofilms presuntivos y que por sus características podrían favorecer la presencia de *L. monocytogenes*. A continuación, se seleccionaron cinco puntos de muestreo en cada quesería, los cuales incluyeron superficies de contacto y no contacto con el alimento.

b. Muestreo de superficies inertes:

El muestreo se realizó utilizando guantes, así como un hisopo de algodón estéril seco para las superficies húmedas y para superficies secas, se humedeció con solución salina estéril. El hisopo se inclinó en un ángulo de 30° y se frotó con la máxima fuerza posible (sin desintegrarlo) sobre la superficie de manera vertical, de manera horizontal y de manera diagonal (Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, 2007; ANSES, 2012; Figueroa *et al.*, 2019).

Posterior al muestreo cada hisopo se colocó dentro de tubos de ensayo con 3 mL de caldo de Enriquecimiento para *Listeria* (LEB), de tal forma que la punta se encontrara sumergida en el caldo. Cada tubo se identificó previamente con la fecha, hora, número de muestra y punto de muestreo. Finalmente, se almacenaron en una hielera con bolsas refrigerantes

manteniéndolos a una temperatura de 4°C hasta su transporte al Laboratorio Veterinario de Ciencia de la Carne y Salud Pública de la UAM-Xochimilco.

c. Aislamiento e identificación de *L. monocytogenes*:

Se realizó de acuerdo con la NOM-143-SSA1-1995, realizando algunas adaptaciones, el cual consta de las siguientes etapas:

- **Enriquecimiento:** Los hisopos se colocaron en el caldo de enriquecimiento LEB durante el muestreo y su transporte al laboratorio, donde posteriormente se incubaron por 48 horas a 35°C.
- **Siembra en medio selectivo:** Posterior a la incubación, los tubos se abrieron junto al mechero y el hisopo se agitó para colectar la mayor parte de inóculo posible y se realizó el primer grupo de estrías por medio de sembrado masivo en medio selectivo Oxford, el segundo y tercer grupo de estrías se realizaron utilizando un asa bacteriológica, a continuación, se incubaron a 35°C por 24 h.
- **Resiembra Agar Soya Trypticaseína con 0.6% de Extracto de Levadura (ASTEL):** Posterior a la incubación en medio Oxford, las cajas Petri se revisaron y se seleccionaron únicamente las cajas con colonias presuntivas de 1-2 mm de diámetro, color negro o café oscuro y rodeadas de un halo negro, las cuales son características típicas de *Listeria spp.* Se seleccionaron de 1-2 colonias por caja y a continuación, se sembraron por estría cruzada en medio ASTEL y se incubaron a 35°C por 24 horas.
- **Pruebas de identificación:** Se realizaron pruebas microscópicas y bioquímicas descritas en la NOM-143-SSA1-1995:

Microscópica

Tinción Gram: Las colonias aisladas en medios ASTEL, se sometieron a la prueba de tinción de Gram, para lo cual se formó un frotis con cada colonia aislada, posteriormente se realizó el proceso de tinción (cristal violeta, Lugol, alcohol-acetona y safranina) y una vez seco se observó al microscopio electrónico con el objetivo 100X, para lo cual se colocó una gota de aceite de inmersión sobre el portaobjetos.

Las colonias aisladas que correspondieron con la morfología microscópica de *L. monocytogenes* (Bacilos cortos Gram positivos) se sometieron a las siguientes pruebas bioquímicas complementarias.

- Bioquímicas

Catalasa: Sobre portaobjetos se colocaron las distintas colonias aisladas con un palo de madera estéril y posteriormente se les agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3%. Positiva, presencia de efervescencia.

Hemólisis: Se dibujó una cuadrícula de 20 espacios en el fondo de una placa de agar sangre (5%). Posteriormente, se tomaron las distintas colonias aisladas y se inocularon por duplicado mediante la técnica de picadura en sus cuadros respectivos en la caja. Se incubó por 48 h a 35°C.

Positiva: β -hemólisis (lisis total de los eritrocitos), zona transparente alrededor del punto de picadura. Negativa: α -hemólisis (hemólisis parcial), la zona de crecimiento se observa de color verdoso. γ -hemólisis (sin lisis).

Movilidad Sulfuro Indol Movilidad (SIM): Cada colonia aislada se inoculó en un tubo de medio SIM por picadura introduciendo el asa bacteriológica de forma recta en el tubo hasta aproximadamente 2/3 de su profundidad. Se incubaron a 25°C por 24 horas. Se consideró positiva (móvil), si se observaba crecimiento alrededor de la picadura y en forma de paraguas.

5.6. Determinación de *L. monocytogenes* a partir de quesos frescos:

a. Muestreo y transporte de muestras:

Se realizó siguiendo las especificaciones señaladas por la NOM-109-SSA1-1-1994; para lo cual se visitó cada una de las cuatro queserías artesanales evaluadas y se colectaron tres tipos de queso (Oaxaca, rancho y botanero) elaborados en cada una de ellas, obteniendo un total de 12 muestras.

El muestreo se realizó de forma aleatoria, donde cada propietario eligió cada uno de los quesos al azar de entre todos los almacenados, resultado de la elaboración de ese día o el anterior, los cuales se encontraban envasados en bolsas de plástico (presentación al consumidor). El peso de cada muestra de queso fue de 250 gr. Las

muestras se etiquetaron para su identificación con los siguientes datos; fecha y hora del muestreo, tipo de queso y nombre del establecimiento. A continuación, se almacenaron en una hielera con bolsas refrigerantes manteniéndolas en una temperatura de 4°C hasta su transporte al Laboratorio Veterinario de Ciencias de la Carne y Salud Pública de la UAM-Xochimilco.

b. Aislamiento:

El método utilizado para la determinación de *L. monocytogenes* en quesos frescos se basó en el descrito por la NOM-143-SSA1-1995 con algunas adaptaciones, el cual constó de las siguientes etapas:

- Enriquecimiento: Se pesaron 25 gramos de cada queso (muestra) y se colocaron en frascos estériles con 225 mL de medio de Enriquecimiento para *Listerias* (LEB), a continuación, se homogenizaron con un dispersor Ultra Turrax a 2.4 x 1000 rpm y se incubaron durante 48 horas a 35°C.
- Siembra en medio selectivo: Concluido el tiempo de incubación, se agitó el frasco con el enriquecimiento, se sumergió un asa bacteriológica rotándola dentro del medio y por tensión superficial la muestra se adhirió en el extremo del filamento. A continuación, se sembró el inóculo por estría cruzada en placas de medio selectivo Oxford y se incubaron a 35°C por 24 horas.
- Resiembra en ASTEL: Posterior a las 24 horas de incubación, se resembraron colonias presuntivas de 1-2 mm de diámetro, color negro o café oscuro y rodeadas de un halo negro, en medio ASTEL, incubando a 35°C por 24 horas.
- Pruebas de identificación:

Microscópica. Se realizó tinción Gram siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

Posteriormente debían de realizarse más pruebas de identificación, de acuerdo con lo establecido por la NOM-143-SSA1-1995, sin embargo, los aislamientos obtenidos correspondieron a bacterias Gram negativas, por lo tanto, no cumplieron con la morfología microscópica de *L. monocytogenes* (Gram positiva) y se descartaron.

5.7. Análisis estadístico:

Las UFC/gr correspondientes a los microorganismos BMA y CT se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y las diferencias entre medias con la prueba de Tukey, utilizando el paquete estadístico SSPS.

6. ACTIVIDADES REALIZADAS

6.1. Actividades referentes al trabajo de investigación:

- Elaboración de un Sistema de Evaluación de Higiene SEH, para determinar el nivel de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene BPH en queserías artesanales, del 21 al 27 de noviembre de 2022.
- Realización de práctica de microbiología para la siembra en medios de cultivo a través de estría cruzada, el 1 y 2 de diciembre de 2022.
- Aplicación del SEH en visitas presenciales a cuatro queserías artesanales, realizadas del 5 al 8 de enero del 2023.
- Obtención de muestras de quesos frescos elaborados por las queserías artesanales, en una segunda visita realizada el 19 de enero del 2023.
- Procesamiento de muestras y determinación de Unidades Formadoras de Colonia UFC por gramo de queso analizado para Coliformes totales y Bacterias mesofílicas aerobias, del 20 al 22 de enero del 2023.
- Detección de biofilms presuntivos y muestreo de superficies inertes de instalaciones, equipos y utensilios de queserías artesanales, en una tercera visita realizada el 29 de junio del 2023.
- Procesamiento de muestras y determinación de *L. monocytogenes* en quesos frescos del 20 al 26 de enero del 2023; y para superficies del 30 al 7 de junio del 2023.

6.2. Actividades de apoyo en el Laboratorio Veterinario de Ciencias de la Carne y Salud Pública (LVCC y SP) de la UAM-Xochimilco.

- Coordinación y conducción de prácticas POES, realizadas el 7 y 8 de noviembre del 2022, así como el 14 y 15 de febrero de 2023, durante los trimestres 22-O y 23-I, respectivamente.
- Coordinación y conducción de prácticas HACCP, realizadas del 13 al 15 de diciembre del 2022, así como del 29 al 31 de mayo del 2023, durante los trimestres 22-O y 23-I, respectivamente.
- Realización de siembra en medios de cultivo y pruebas fisicoquímicas en canales de pollo, como apoyo en la etapa experimental del proyecto de maestría titulado “Evaluación del efecto combinado de ácidos orgánicos y (Citrosan) y nanopartículas de plata (AgNPs) sobre poblaciones bacterianas y características fisicoquímicas en canales de pollo”, en un período del 19 al 30 de junio del 2023.
- Participación como integrante del comité organizador del Coloquio de reproducción, genética y ciencias de la carne, realizado el 28 y 29 de noviembre del 2022, durante el trimestre 22-O.
- Participación como integrante del comité organizador del 2do Foro de investigación modular, realizado el 16 de enero del 2023, durante el trimestre 22-O.

7. METAS ALCANZADAS

- Se logró el desarrollo y aplicación de un método para la evaluación de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) en queserías artesanales.
- Aplicación del método descrito por la NOM-143-SSA1-1995, para determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* a partir de quesos frescos y superficies.
- Se logró la determinación y recuento de UFC de microorganismos indicadores (BMA Y CT) en quesos frescos.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Evaluación de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) durante la elaboración de los quesos frescos:

Los resultados obtenidos de del cuestionario de producción se describen en el Cuadro 1. Las cuatro queserías evaluadas emplean leche cruda de vaca para la elaboración de los quesos, la cual proviene de múltiples productores. Además, utilizan equipos y utensilios similares, únicamente varían la capacidad o la cantidad que poseen entre cada una.

Cuadro 1. Resultados cuestionario de producción.

| | Quesería | | | |
|------------------------------|--|--|---|--|
| | Q1 | Q2 | Q3 | Q4 |
| Origen materia prima (leche) | CMP | CMP | CMP | CMP |
| Leche procesada al día (L) | 900 | 900 | 3000 | 700 |
| Queso elaborado al día (kg) | 90 - 95 | 110 - 120 | 300 | 90 |
| Tipos de quesos elaborados | O, B, R, M | O, B, R, M | O, B, R, M | O, B, R, M |
| Ingredientes del queso | LV, LP, CaCl ₂ , cuajo, NaCl y nitratos | LV, CaCl ₂ , cuajo, NaCl y nitratos | LV, CaCl ₂ , cuajo, NaCl y nitratos | LV, CaCl ₂ , cuajo, NaCl y nitratos |
| Número de empleados | 3 | 4 | 8 | 6 |
| Equipos empleados | Tina de cuajado Molino Refrigerador Báscula | Tina de cuajado Molino Refrigerador Báscula | Tina de cuajado Molino Cámara de refrigeración Báscula | Tina de cuajado Molino Refrigerador Báscula |

*CMP. Compra a múltiples productores.

*O. Oaxaca, B. Botanero, R. Ranchero, M. Morral.

*LV. Leche de vaca (sin pasteurizar). LP. Leche de vaca en polvo. CaCl₂. Cloruro de calcio. NaCl. Cloruro de sodio (sal).

Los resultados concuerdan con lo reportado por otras investigaciones realizadas en la misma zona de estudio, Villegas *et al.* (2014), menciona que las queserías obtienen la leche a partir de múltiples productores de una o más comunidades del municipio, elaboran el queso a partir de leche cruda de vaca y más del 80% de ellas procesan entre 1000 y 3000 litros de leche al día, por otra parte Espinosa *et al.* (2013), señala que la producción de quesos en el municipio se fundamenta en la fabricación de cuatro tipos, donde se transforma el 67-77% del volumen de leche en queso Oaxaca, el 20% en rancharo y el 11% en botanero y panela.

Por otra parte, son muy pocos los equipos empleados durante la elaboración del queso, ya que este es caracterizado por ser un proceso artesanal que involucra la menor cantidad posible de procesos mecánicos, el uso de utensilios rústicos y un alto grado de manipulación, tal como lo describe Castro *et al.* (2013), que señala que el proceso artesanal de elaboración en el municipio de Aculco se caracteriza por ser realizado en un entorno rural, empleando conocimientos tradicionales, además de no contar con tecnología adecuada para llevar a cabo un control estricto de los parámetros del proceso.

En cuanto a la encuesta de evaluación de buenas prácticas de higiene realizada a las queserías (Cuadro 2), la Q1 y la Q2 tuvieron los puntajes más bajos y altos, respectivamente.

Cuadro 2. Resultados encuesta SEH (Sistema de Evaluación de Higiene).

| Categoría | Puntuación máxima | Quesería | | | |
|--------------------------------------|----------------------|----------|-----|----|----|
| | | Q1 | Q2 | Q3 | Q4 |
| 1. Zona exterior | 12 | 2 | 9 | 9 | 11 |
| 2. Zona interior | 36 | 11 | 27 | 24 | 18 |
| 3. Equipo y utensilios | 18 | 17 | 18 | 16 | 17 |
| 4. Higiene del personal | 27 | 16 | 19 | 21 | 25 |
| 5. Programas limpieza y desinfección | 30 | 15 | 18 | 18 | 17 |
| 6. Proceso de elaboración | 18 | 9 | 10 | 10 | 9 |
| 7. Requisitos administrativos | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| TOTAL | 147 | 71 | 101 | 98 | 97 |

En cuanto al nivel de cumplimiento de BPH obtenido por cada quesería (Figura 1), para la Q1 fue muy bajo, lo cual es resultado de malas prácticas de higiene como la ubicación del establecimiento, ya que este se encuentra frente a un corral de ganado, no cuenta con ventilación, por presencia de fauna nociva dentro del área de proceso, el empleo de leche sin pasteurizar, así como por la mala ejecución de las prácticas de limpieza y desinfección, entre otras.

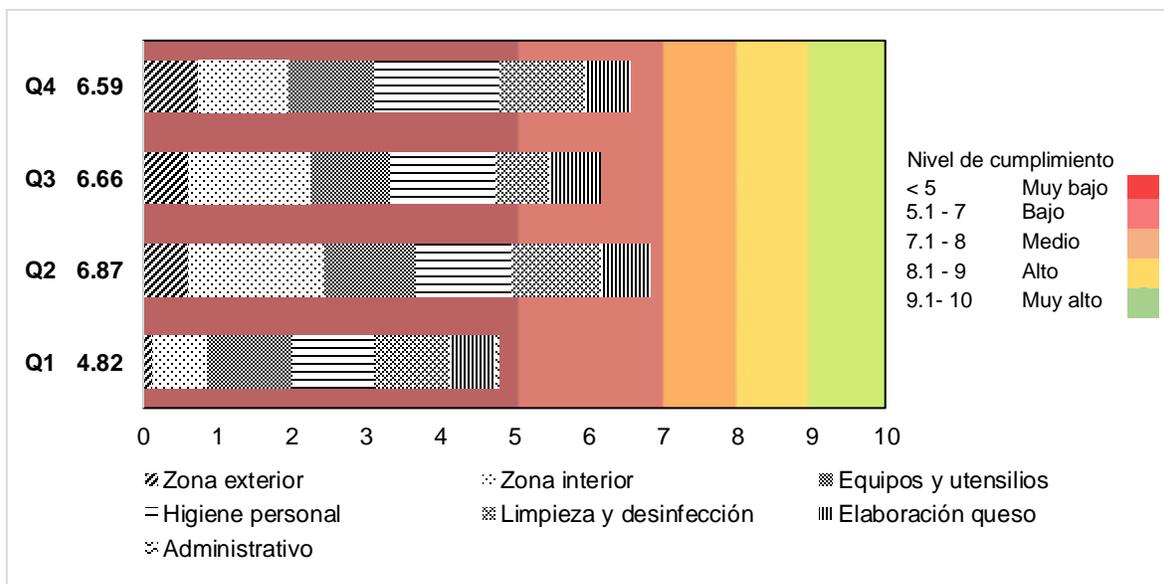


Figura 1. Nivel de cumplimiento de BPH por quesería. Las tramas representan las categorías evaluadas dentro de la encuesta SEH y su sumatoria muestra el nivel de cumplimiento.

Por otro lado, a pesar de que las queserías Q2, Q3 y Q4 obtuvieron puntajes mayores respecto a la Q1, su nivel de cumplimiento fue bajo, ya que de igual forma emplean leche sin pasteurizar, realizan una mala ejecución de prácticas de limpieza y desinfección y las instalaciones son inapropiadas. Esto impide la correcta implementación de algunas BPH, tal es el caso de la Q4 que no cuenta con sistema de drenaje y la Q3 que cuenta con un piso sumamente desgastado que provoca la acumulación de suero que no puede ser drenado (Figura 2). Por lo tanto, las cuatro queserías evaluadas no cumplen con los requisitos mínimos de BPH en el proceso de elaboración de alimentos establecidos en la NOM-251-SSA1-2009. Otros investigadores han realizado evaluaciones similares a queserías artesanales, basándose en la norma anteriormente señalada, como es el caso de Soria (2020), quien realizó la aplicación de un cuestionario de evaluación de BPH en cuatro queserías artesanales del estado de Michoacán, las cuales presentaron un porcentaje de cumplimiento limitado con respecto a las medidas mínimas de higiene establecidas por la norma. El más bajo fue de 56.55% y el más alto de 80.32%.



Figura 2. Instalaciones queserías evaluadas. **A.** Q1, no cuenta con ventilación, las ventanas están cubiertas con cartón (1), paredes con humedad y suciedad (2), piso de fácil limpieza con drenaje (3). **B.** Q2, cuenta con sistema de drenaje (4). **C.** Q3, cuenta con paredes de loseta de fácil limpieza (5), piso desgastado con acumulación de suero (6). **D.** Q4, no cuenta con sistema de drenaje (7).

8.2. Determinación de bacterias indicadoras de contaminación en quesos frescos: Bacterias Mesofílicas Aerobias (BMA) y Coliformes totales (CT):

Con respecto a los microorganismos indicadores de contaminación determinados en los distintos quesos frescos (Cuadro 3). Se obtuvieron recuentos para BMA y CT más altos en los quesos elaborados en la Q4, sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre queserías para BMA, pero en el caso de CT si existe diferencia ($P < 0.5$) entre los recuentos de la Q1 y Q4.

El tipo de queso con recuentos más elevados para BMA y CT variaron entre queserías. En la Q1 y Q2 fue botanero y Oaxaca, mientras que en Q3 y Q4 fue botanero y rancharo.

Cuadro 3. Microorganismos indicadores de contaminación en quesos frescos.

| | Queso | Quesería | | | |
|---|-----------|-------------|------------|------------|--------------|
| | | Q1 | Q2 | Q3 | Q4 |
| Bacterias mesofílicas aerobias BMA (UFC/gr) | Oaxaca | 90,000 | 170,000 | 7,100 | 180,000 |
| | Ranchero | 1,200 | 93,000 | 120,000 | 160,000 |
| | Botanero | 96,000 | 140,000 | 120,000 | 200,000 |
| | \bar{X} | 62,400 | 134,333.33 | 82,366.67 | 180,000 |
| Coliformes totales CT (UFC/gr) | Oaxaca | 66,000 | 5,300 | 152,000 | 198,000 |
| | Ranchero | 500 | 27,000 | 192,000 | Incontable |
| | Botanero | 38,000 | 320,000 | 140,000 | 400,000 |
| | \bar{X} | 34,833.33 b | 117,433.33 | 161,333.33 | 332,666.67 a |

*UFC / gr. Unidades Formadoras de Colonia por gramo.

*a, b. Diferencia P (<0.05).

En la figura 3 y 4 se aprecian las UFC correspondientes a mesofílicos y coliformes totales, respectivamente en quesos botaneros.

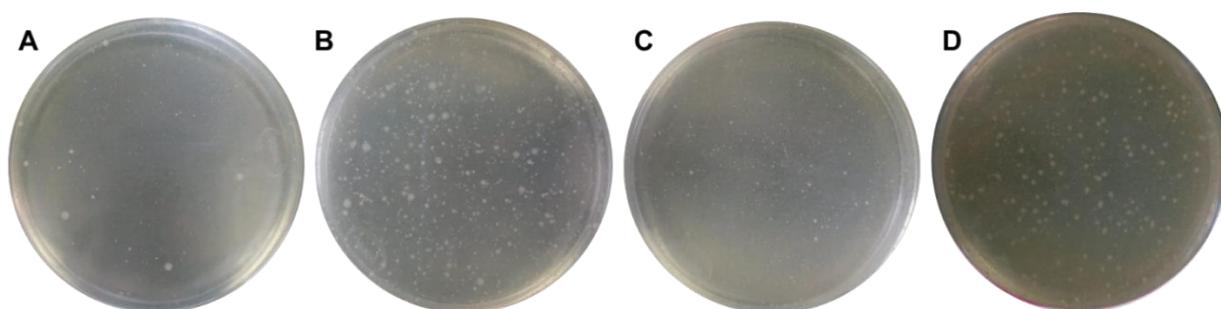


Figura 3. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) correspondientes a BMA en Agar Plate Count Queso Botanero (Dilución 10^{-2}), se aprecian colonias de color blanco. **A.** Q1. **B.** Q4. **C.** Q3. **D.** Q4.

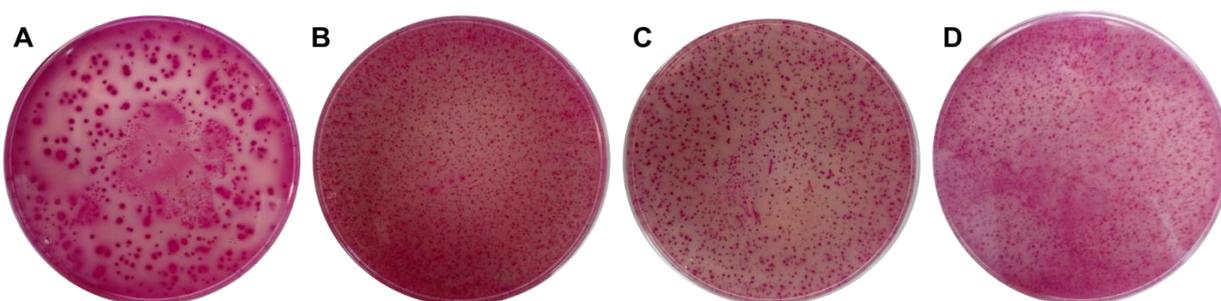


Figura 4. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) correspondientes a CT en Agar Rojo Bilis Violeta. Queso Botanero (Dilución 10^{-2}), se aprecian colonias color rojo. **A.** Q1. **B.** Q2. **C.** Q3. **D.** Q4.

En cuanto al recuento de BMA y CT en quesos frescos, la NOM-243-SSA1-2010 no establece los límites permisibles, en el caso de BMA se debe a que, de acuerdo con Soria (2020), dentro de estas se encuentran las bacterias ácido-lácticas,

encargadas de aportar textura, olor y sabor al queso. Sin embargo, se obtuvieron recuentos elevados para ambos tipos de microorganismos en los quesos frescos evaluados en esta investigación, los cuales van desde las 1,200 a 200,000 UFC/gr para BMA y de 500 a 400,000 UFC/gr para CT, lo cual puede estar directamente relacionado con los bajos niveles de cumplimiento de las BPH que obtuvieron las distintas queserías, como lo es el empleo de leche ya que esta se obtiene a partir del ordeño artesanal y es distribuida a las distintas queserías sin una cadena de frío, lo cual favorece la sobrevivencia y multiplicación de microorganismos, sumado a la falta de condiciones de higiene y al alto grado de manipulación por parte del personal durante todo el proceso de elaboración de los distintos quesos frescos (Arroyo y Vázquez, 2018).

Los recuentos obtenidos están dentro de lo reportado por investigaciones similares, como Soria (2020), que obtuvo recuentos de 2,642 a 6,480,000 y de 80 a 24,264,000 UFC/gr para BMA y CT respectivamente en quesos frescos artesanales elaborados en queserías del estado de Michoacán. Por el contrario, Sánchez *et al.*, 2016, reportó valores superiores a los obtenidos en este estudio, pues obtuvo recuentos superiores a 1,000,000,000 UFC/gr tanto para BMA como CT en quesos frescos elaborados en queserías del municipio de Zacazonapan, Estado de México.

En el caso de estudios realizados en la misma zona de estudio, se reportan recuentos más altos para CT que los obtenidos en este estudio., Castro *et al.* (2013), obtuvo un promedio de 6,500,000,000 UFC/gr para CT a partir de 26 muestras de queso. Por otra parte, Escobar *et al.* (2017), reportó un promedio de 6,300,000 UFC/gr de CT en quesos botaneros, ambos tipos de queso obtenidos en queserías artesanales de Aculco.

Las queserías Q2, Q3 y Q4 presentaron recuentos elevados para ambos microorganismos, lo cual es congruente con el nivel de implementación de BHP que obtuvieron, el cual fue bajo. Sin embargo, la Q1 obtuvo un nivel de cumplimiento de las BPH muy bajo y su recuento de microorganismos fue menor respecto a las tres queserías restantes, esto podría atribuirse a la calidad microbiológica de la leche empleada, pues este puede variar entre queserías por tener distintos orígenes.

8.3. Detección de biofilms presuntivos en superficies inertes:

A través de la lámpara de luz UV se detectaron biofilms presuntivos en distintas superficies (Figura 3). En la Q1 se detectaron en mesa, prensa de desuerado, pared externa de tina cuajado y coladera de desagüe; en la Q2 se detectaron en prensa, llave de tina cuajado, parilla de refrigerador, pata mesa desuerado y en pared tina cuajado; en la Q3 se detectaron en mesa de trabajo, pata de la mesa desuerado, prensa, pared, tina cuajado y coladera desagüe. Finalmente, en la Q4 en pata mesa desuerado, bolsa de malla, llave tina cuajado, caja de arrastre y utensilio para estirar queso Oaxaca.

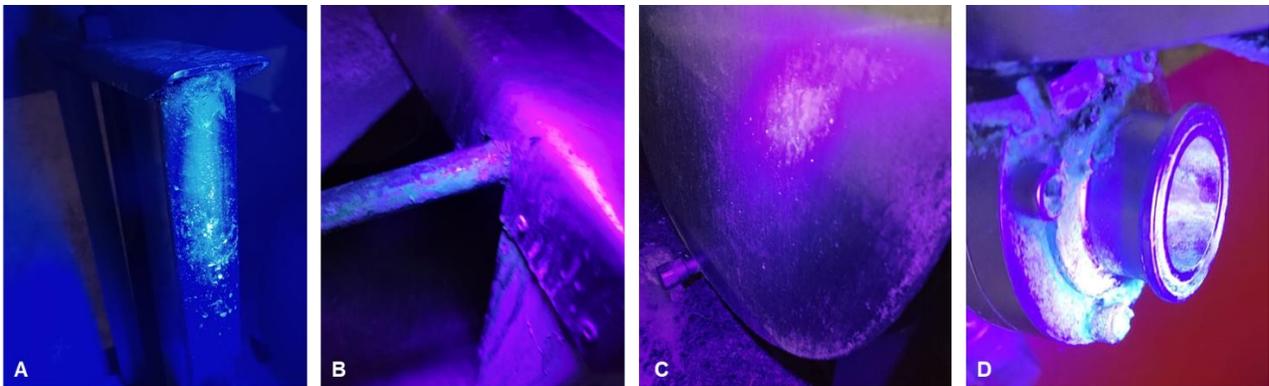


Figura 3. Biofilms presuntivos en superficies a través de fluorescencia. **A.** Q1, Prensa desuerado. **B.** Q2, Prensa desuerado. **C.** Q3, Pared externa tina de cuajado. **D.** Q4, Llave desagüe tina de cuajado.

8.4. Determinación de *L. monocytogenes* en superficies inertes:

En cuanto a la determinación de *L. monocytogenes* dentro de las instalaciones de las distintas queserías evaluadas se identificaron biofilms presuntivos en superficies de las cuatro queserías y a partir de las muestras obtenidas de estas superficies, se aislaron colonias presuntivas a *Listeria spp.*; sin embargo, en las pruebas de identificación bioquímica se descartaron porque no cumplieron con las características de *L. monocytogenes*. Por lo tanto, no fue detectada en ninguna superficie de las cuatro queserías evaluadas (Cuadro 5). En la figura 6 se aprecia el procedimiento para la detección de *L. monocytogenes* en superficies.

Cuadro 5. Resultados de las pruebas de determinación de *L. monocytogenes* en superficies.

| Quesería | Superficie | AMS <i>Listeria</i> <i>spp.</i> | Identificación microscópica | | Pruebas bioquímicas | | |
|----------|--|---------------------------------------|-----------------------------|--------------|---------------------|-----------|---------------|
| | | | Morfología | Tinción Gram | Catalasa | Hemólisis | Movilidad SIM |
| Q1 | 1. Mesa desuerado | D | | | | | |
| | 2. Prensa | D | | | | | |
| | 3. Mesa (abajo) | P | Bacilos cortos | + | + | α | - |
| | 4. Pared tina cuajado | D | | | | | |
| | 5. Coladera desagüe | D | | | | | |
| Q2 | 1. Prensa | D | | | | | |
| | 2. Llave tina cuajado | P | Bacilos cortos | - | | | |
| | 3. Parilla refrigerador | P | Bacilos cortos | + | + | γ | - |
| | 4. Pata mesa desuerado | P | Bacilos cortos | + | + | α | + |
| | 5. Pared tina cuajado | D | | | | | |
| Q3 | 1. Mesa de trabajo | D | | | | | |
| | 2. Pata mesa desuerado | D | | | | | |
| | 3. Prensa | D | | | | | |
| | 4. Pared tina cuajado | D | | | | | |
| | 5. Coladera desagüe | D | | | | | |
| Q4 | 1. Pata mesa desuerado | D | | | | | |
| | 2. Bolsa (desuerar) | D | | | | | |
| | 3. Llave tina cuajado | P | Bacilos cortos | + | + | γ | - |
| | 4. Caja de arrastre | P | Bacilos largos | + | | | |
| | 5. Utensilio para estirar queso Oaxaca | P | Bacilos cortos | + | + | γ | + |

*AMS. Aislamiento en medio selectivo (Oxford) para *Listeria spp.*

*D. Descartada. P. Presuntiva.

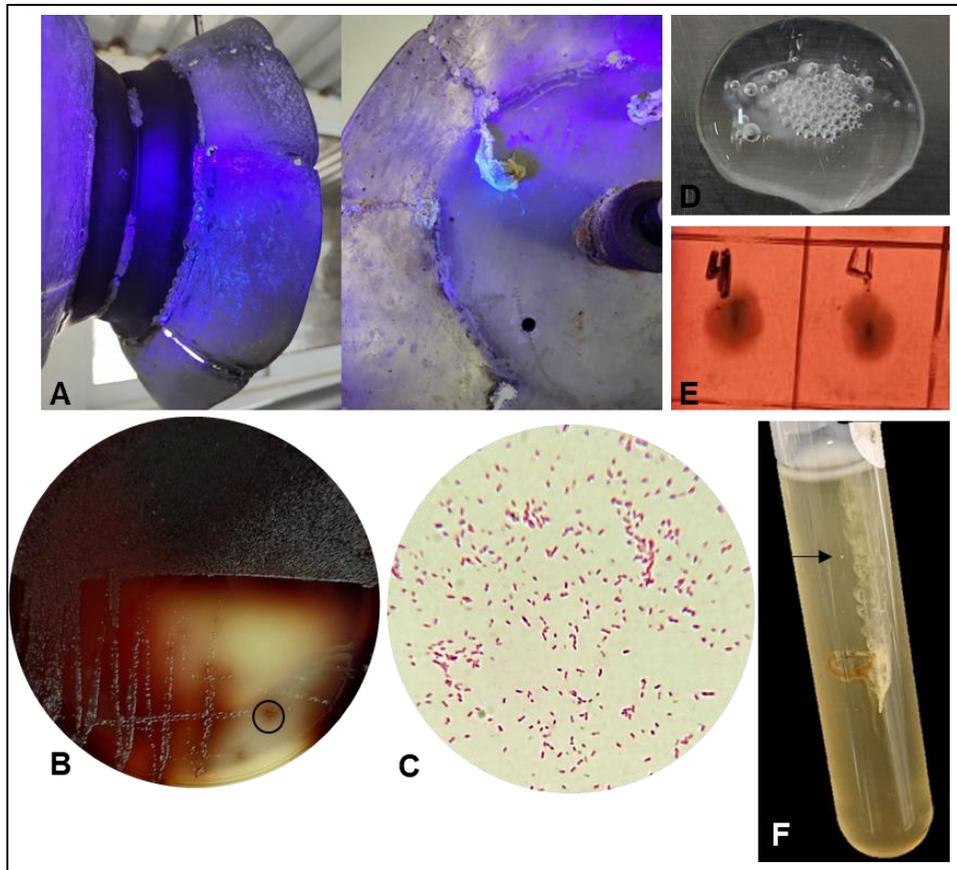


Figura 6. Proceso para la detección de *L. monocytogenes* en utensilio para estirar queso Oaxaca de Q4. **A.** Irradiación de luz UV para identificar biofilms presuntivos y toma de muestra. **B.** Aislamiento en medio selectivo Oxford, colonias características típicas de *Listeria spp.* **C.** Identificación microscópica, Bacilos cortos Gram (+). **D.** Catalasa (+). **E.** Hemólisis (γ). **F.** Movimiento SIM (+). Negativo a *L. monocytogenes*.

Diversos autores han determinado la presencia de *L. monocytogenes* en instalaciones de queserías. Ayala (2015) muestreó utensilios, manos, pisos y equipos; sin embargo, no la detectó. Por otra parte, Soria (2020), realizó muestreos de superficies (utensilios, mesas, manos y tanques de almacenamiento de leche) de seis queserías del estado de Michoacán y aisló tres cepas de *L. monocytogenes* en tanques de leche de tres queserías.

8.5. Determinación de *L. monocytogenes* a partir de quesos frescos:

En este estudio para determinar la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos que se comercializan en el municipio de Aculco, cuatro muestras se determinaron como presuntivas a *Listeria spp.* de acuerdo con el crecimiento en el medio selectivo (Figura 5A); sin embargo, en la identificación microscópica se

observaron como bacilos cortos Gram negativos o como cocos Gram positivos (Figura 5B), lo cual las descartó como cepas de *L. monocytogenes*. En el cuadro 4 se describen los hallazgos en el medio selectivo y en la tinción diferencial por Gram. Por lo tanto, se encontró ausencia en los 25 gr de muestra analizada de cada uno de los quesos (N=12). Lo cual cumple con lo establecido por la NOM-243-SSA1-2010.

Cuadro 4. Resultados en el aislamiento en medio selectivo e identificación microscópica de *L. monocytogenes* en quesos frescos.

| Quesería | Queso | AMS <i>Listeria spp.</i> | Identificación microscópica | |
|----------|----------|-----------------------------|-----------------------------|------|
| | | | Morfología | Gram |
| Q1 | Oaxaca | D | | |
| | Ranchero | D | | |
| | Botanero | D | | |
| Q2 | Oaxaca | P | Bacilos cortos | - |
| | Ranchero | D | | |
| | Botanero | P | Bacilos cortos | - |
| Q3 | Oaxaca | D | | |
| | Ranchero | D | | |
| | Botanero | P | Cocos | + |
| Q4 | Oaxaca | D | | |
| | Ranchero | D | | |
| | Botanero | P | Bacilos cortos | - |

*AMS. Aislamiento en medio selectivo (Oxford) para *Listeria spp.*

*D. Descartada. P. Presuntiva.

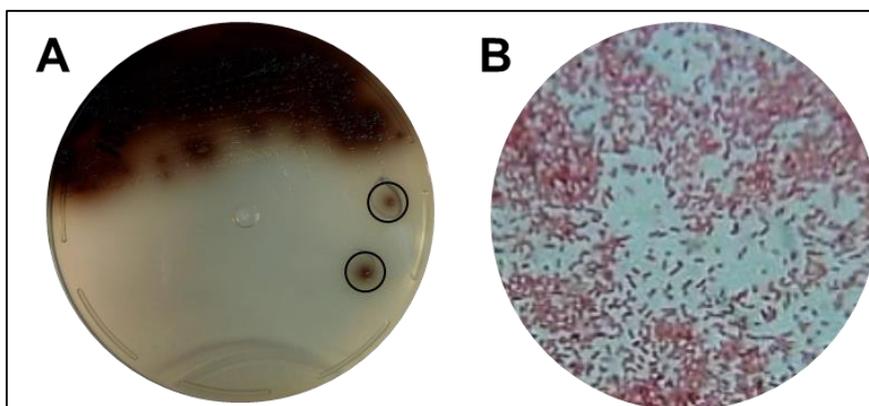


Figura 5. Proceso para la detección de *L. monocytogenes* en Queso Botanero Q2. **A.** Aislamiento en medio selectivo Oxford, colonias características típicas de *Listeria spp.* **B.** Identificación microscópica, Bacilos cortos y cocos Gram (-). Negativo a *L. monocytogenes*.

Otros autores también han determinado la presencia de *L. monocytogenes.*, como Ayala (2015), quien busco tanto por el método tradicional, así como por PCR, en 100 muestras de quesos frescos obtenidos de mercados públicos de la ciudad de Querétaro y la bacteria no fue detectada en ninguna muestra de queso. Por otra parte, Iñiguez (2002) reportó una prevalencia de 9.9% (10) y 22.7 % (23) por método tradicional (NOM) y PCR respectivamente, en 101 quesos frescos de diferentes municipios de Sonora. De igual manera, Báez (2018), analizó 126 muestras quesos frescos de leche no pasteurizada obtenidos de 20 mercados públicos en el estado de Puebla por el método de PCR y obtuvo una prevalencia de 9.5 % (12) muestras positivas.

Diversos estudios en países del continente americano han reportado prevalencias para *L. monocytogenes* en quesos frescos elaborados a partir de leche cruda, Ocampo *et al.* (2019), encontró una prevalencia de 27% en 126 quesos analizados de la ciudad de Cali, Colombia, mientras que Espinoza *et al.* (2004), reportó una prevalencia de 4.05% en 74 quesos de mercados de Ica, Perú. Así mismo Diaz, *et al.* (2012), obtuvo 3.34% de 60 quesos de la Provincia de Trujillo, Perú. Finalmente, García (2014), reporto una prevalencia de 0% en 60 quesos de mercados en la Cuenca, Ecuador.

9. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo bajo las condiciones observadas durante el periodo de estudio muestran que no existió relación entre el nivel de cumplimiento de las BPH en la elaboración de quesos frescos con la presencia de *L. monocytogenes* en superficies y quesos; sin embargo, las cuatro queserías evaluadas presentaron niveles bajos de cumplimiento de las BPH, así como presencia de biofilms presuntivos en sus distintas superficies, lo cual nos indica un ambiente de elaboración que favorece la proliferación y supervivencia de microorganismos que pueden ser patógenos y en consecuencia la obtención de quesos frescos con una deficiente calidad sanitaria, lo cual se reflejó en los elevados recuentos de microorganismos indicadores de contaminación.

10.RECOMENDACIONES

Se recomienda a las queserías evaluadas en esta investigación, el desarrollo e implementación de un plan integrado que permita corregir todas aquellas acciones que se están realizando inadecuadamente y que están directamente relacionadas con los bajos niveles de cumplimiento de las BPH y en la obtención de quesos frescos con una mala calidad microbiológica.

A pesar de los resultados obtenidos en esta investigación no existe certeza de que los quesos fabricados y comercializados en Aculco, Edo. México, estén libres de *L. monocytogenes*, por esta razón, es de suma importancia continuar determinando la prevalencia de este microorganismo en las múltiples queserías artesanales del municipio.

11. REFERENCIAS

1. Agencia Francesa de Salud y Seguridad Alimentaria, Medioambiental y Laboral ANSES. (2012). Directrices sobre el muestreo de equipos y zonas de procesamiento de alimentos para la detección de *Listeria monocytogenes*. Recuperado de: <https://bit.ly/3GsmxI8>
2. Arroyo, O., Vásquez, D. (2018). Efecto de nitrato/nitrito sobre la supervivencia de la flora microbiana en leche cruda. *Universidad Autónoma del Estado de México*. 142 p.
3. Ayala, O. (2015). Incidencia de *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos que se expenden en la Ciudad de Querétaro. *Universidad Autónoma de Querétaro*.
4. Báez, G. (2018). Incidencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos no pasteurizados provenientes de diferentes mercados de la ciudad de Puebla determinada mediante PCR. *Benemérita Universidad Autónoma de Puebla*.
5. Carrascosa, C. (2010). Evaluación higiénico-sanitaria en queserías industriales y artesanales de Canarias. *Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*. 393 p.
6. Castro, G. (2013). Caracterización de la microflora de tres quesos tradicionales mexicanos: Chihuahua, Cincho y Oaxaca. *Universidad Autónoma del Estado de México*.
7. Center for Disease Control and Prevention CDC. (2017). *Listeria* (Listeriosis). Recuperado de: <https://bit.ly/3OfIG97>
8. Díaz, M., Chávez, M., Saucedo, E. (2012). *Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú. *Revista "Ciencia y Tecnología", Escuela de Postgrado – UNT*. 23-38 p.
9. Escobar, S., Espinoza, A., Salazar, F., Martínez, A. (2017). Análisis del efecto antibacteriano del chile (*Capsicum annum spp*) y el epazote (*Chenopodium ambrosioides*) utilizados en la elaboración del queso botanero. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 8 (2). 5 p.
10. Espinoza, A., De la Torre, M., Salinas, M., Sánchez, V. (2004). Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de producción artesanal que se expenden en los mercados del distrito de Ica, enero - marzo 2003. *Revista Perú Medica Exp Salud Pública*. Vol. 21 (2). 5 p.
11. Espinosa, E., Arriaga, C., Boucher, F., Espinoza, A. (2013). Generación de valor en un Sistema Agroalimentario Localizado (SIAL) productor de quesos tradicionales en el centro de México. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*. Vol. 112. 36-44 p.
12. Fernández, H. (2020). Estrategias de valorización de los quesos artesanales de Aculco, Estado de México. *Universidad Autónoma del Estado de México*.
13. Figueroa, A., Maldonado, I., López, J., Verdugo, A., Ruiz, D., Cantú, E. (2019). Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from pork meat and on inert surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol. 50. 817 – 824 p.
14. García, M. (2014). Determinación de *Listeria monocytogenes* en queso fresco expandido al granel en los mercados de Cuenca. *Universidad del Azuay*.
15. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y debidas. (2007). N° 461. MINSA-PERÚ.
16. Iñiguez, C. (2002). Detección y prevalencia de *Listeria monocytogenes* en queso fresco por Reacción en Cadena de la Polimerasa y método oficial. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.*

17. Lugo, E. (2018). Aculco, Pueblo mágico. *Fondo editorial Estado de México*. 120 p.
18. Merchán, N., Pineda, L., Cárdenas, A., González, N., Otálora, M., Sánchez, Y. (2018). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. Vol. 56.
19. Ministerio de Consumo de España. (2020). Directrices para la verificación del muestreo de *Listeria monocytogenes* en zonas de trabajo y equipos utilizados en la producción de alimentos listos para el consumo. 31 p.
20. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
21. NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
22. NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
23. NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
24. NOM-143-SSA1-1995. Bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.
25. NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
26. NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
27. Ocampo, I., González, C., Moreno, S., Calderón, C., Flórez, L., Olaya, M., Rivera, P., Lesmes, M. (2019). Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali-Colombia. *Acta Agronómica*. Vol. 68 (2). 108-114 p.
28. Ripolles, C. (2018). Supervivencia de *Listeria monocytogenes* sobre superficies de contacto con alimentos: un abordaje multidisciplinario de un problema complejo. *Universidad Autónoma de Barcelona*. 253 p.
29. Ruíz, C., Navarrete, E., Martínez, K. (2020). Uso del Green Marketing en la producción de lácteos en el municipio de Aculco, estado de México, 2019. *Revista de Investigación Latinoamericana en Competitividad Organizacional*. No. 6. 13 p.
30. Sánchez, J., Colín, V., López, F., Avilés, F., Castelán, O., Estrada, G. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. *Salud Pública de México*. Vol. 58 (4). 461-467 p.
31. Solorzano, R., Amaya, M., García, D., Vasallo, A. (2021). Evaluación de las buenas prácticas en la elaboración de queso artesanal en Manabí, Ecuador. *Revista de Salud Animal*. Vol. 43 (2). 10 p.
32. Soria, R. (2020). Evaluación de la calidad microbiológica en queso fresco y adobera, de la región Tierra Caliente del estado de Michoacán. *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*.
33. Villegas, A., Cervantes, A., Cesín, A., Espinoza, A., Hernández, A., Santos, A., Martínez, A. (2014). Atlas de los quesos mexicanos genuinos. *Colegio de Postgraduados*. 400 p.

12. ANEXOS

Anexo 1. Cuestionario de producción.

| CUESTIONARIO DE PRODUCCIÓN QUESERIAS ARTESANALES | | Fecha ID Quesería |
|---|--|------------------------------|
| 1. Ubicación del establecimiento: | | |
| 2. ¿Cuál es el origen de la leche (materia prima)? | a. Producción propia. b. Distintos productores (compra). c. Ambas opciones. | |
| 3. ¿Cuántos litros de leche procesa al día? | | |
| 4. ¿Cuántos kg de queso elabora aproximadamente al día? | | |
| 5. ¿Cuántos y que tipos de quesos elabora? | Numero: Tipos: | |
| 6. ¿Cuál es su rendimiento litros de leche por kg de queso? | a. 10 litros leche por kg queso b. <10 litros leche por kg queso c. Otro: | |
| 7. Ingredientes del queso: | Lista mayor a menor proporción: | |
| 8. Número de empleados involucrados en la elaboración del queso: | | |
| 9. Equipos y utensilios empleados en la elaboración de los quesos: | | |
| 10. Frecuencia de limpieza de: <ul style="list-style-type: none"> a. Instalaciones b. Equipos c. Utensilios | | |
| 11. Descripción del proceso de limpieza: <ul style="list-style-type: none"> a. Instalaciones b. Equipos d. Utensilios | | |
| Observaciones | | |

Anexo 2. Encuesta SEH (Sistema de Evaluación de Higiene).

| ENCUESTA SEH (SISTEMA DE EVALUACIÓN DE HIGIENE) QUESERIAS ARTESANALES | | Fecha ID Quesería | | |
|---|---------|------------------------------|--------------|-----------|
| Buenas Prácticas de higiene BPH | Cumple | | | |
| | No 0 | Si (Estado o condición) | | |
| | | Buena 3 | Regular 2 | Mala 1 |
| 1. Zona exterior | | | | |
| Los accesos y alrededores de la instalación se encuentran limpios. | | | | |
| En los alrededores del establecimiento no existen condiciones, como; maleza o hierbas, encharcamientos por un drenaje inadecuado, equipos en desuso, etc. | | | | |
| El establecimiento se encuentra alejado de corrales de animales. | | | | |
| Se cuenta con un dispositivo para limpiar el calzado en la entrada. | | | | |
| 2. Zona interior | | | | |
| Las instalaciones son apropiadas al uso que se destinan y cuentan con las dimensiones suficientes para la producción diaria. | | | | |
| Las instalaciones son apropiadas para el almacenamiento y distribución de agua potable. | | | | |
| Cuenta con baño(s) separados del área de elaboración, con agua potable, retrete, lavabo y jabón. | | | | |
| Dentro del área de elaboración se cuenta con una estación de lavado y desinfección de manos para el personal. | | | | |
| La iluminación es suficiente/adecuada. | | | | |
| Los dispositivos de iluminación están debidamente protegidos y son fácilmente limpiables. | | | | |
| Las puertas y ventanas cuentan con una buena ventilación. | | | | |
| Las puertas y ventanas del área de producción están protegidas con rejillas o mallas para evitar la entrada de lluvia, fauna nociva o plagas. | | | | |
| En el área de proceso no se encuentra evidencia de presencia de plagas o fauna nociva. | | | | |
| Los pisos, paredes y techos del área de producción son de fácil limpieza, sin grietas o roturas. | | | | |
| Los pisos tienen suficiente inclinación hacia los sumideros para evitar la acumulación de agua (humedad). | | | | |
| Cuentan con recipientes para depositar la basura orgánica e inorgánica. | | | | |
| 3. Equipos y utensilios | | | | |
| Los equipos están instalados de forma que el espacio entre ellos, la pared, el techo y el piso, permiten su limpieza y desinfección. | | | | |
| Se encuentran en buenas condiciones de funcionamiento. | | | | |
| Se encuentran limpios y desinfectados previo a su uso. | | | | |
| Se limpian al finalizar las actividades del día. | | | | |
| En los equipos de refrigeración y congelación no hay acumulación de agua. | | | | |
| Los equipos de refrigeración mantienen una temperatura máxima de 7°C. | | | | |
| 4. Higiene del personal | | | | |
| Se excluye a personal del proceso de elaboración si presenta signos de enfermedad (tos, fiebre, vomito, diarrea, lesiones en áreas corporales, etc.) | | | | |

| | | | | |
|---|--|--|--|--|
| El personal se presenta aseado al trabajo con ropa y calzado limpio, cabello corto o recogido, sin barba y bigote, así como uñas cortas sin esmalte. | | | | |
| La ropa de los manipuladores al inicio de la jornada de trabajo está limpia e íntegra. | | | | |
| El personal utiliza botas, delantales, cubrebocas, y cofia*. *color claro (evidencia la falta de limpieza cuando esta sucia). | | | | |
| El personal se lava las manos con regularidad (antes de entrar a la zona de producción, después de manipular materiales potencialmente contaminados, etc.). | | | | |
| El lavado de manos es realizado correctamente. | | | | |
| El personal no come, bebe o fuma en las áreas donde se entra en contacto directo con el producto. | | | | |
| El personal no ingresa a la zona de producción con joyerías de manos, orejas, cuello, etc. | | | | |
| El propietario (productor) comunica a sus empleados sobre las medidas de higiene de manera clara y sencilla. | | | | |
| 5. Programas de limpieza y desinfección | | | | |
| El agua empleada para la limpieza y elaboración es potable. | | | | |
| No se aprecian restos de materia orgánica en los distintos utensilios y equipos. | | | | |
| Se utilizan detergentes adecuados para el tipo de suciedad producida. | | | | |
| El procedimiento de limpieza elimina la suciedad presente en las superficies. | | | | |
| Se utiliza un desinfectante. | | | | |
| El procedimiento de desinfección elimina los microorganismos en las superficies. | | | | |
| Existe una zona exclusiva para el almacenamiento de los productos de limpieza y desinfección. | | | | |
| Baños limpios y desinfectados antes del inicio de la jornada laboral. | | | | |
| Se cuenta con instalaciones (piso, techo, puertas, paredes) limpias. | | | | |
| Las cisternas y/o tinacos que almacenan el agua son lavados con frecuencia. | | | | |
| 6. Proceso de elaboración del queso | | | | |
| Recepción de la materia prima (leche): Se realiza prueba(s) para evaluar la calidad de la leche. | | | | |
| La leche (materia prima) es pasteurizada. | | | | |
| La leche es almacenada en condiciones adecuadas (refrigeración). | | | | |
| El producto durante su proceso de elaboración se expone a temperaturas ambiente el menor tiempo posible. | | | | |
| Los envases empleados están protegidos del polvo, lluvia, fauna nociva y materia extraña. | | | | |
| Los productos (quesos) son almacenados en condiciones adecuadas (refrigeración). | | | | |
| 7. Requisitos administrativos | | | | |
| Realiza registros | | | | |
| Realiza loteado | | | | |