UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Patología Animal, Producción Animal,
Bromatología y Tecnología de los Alimentos

"EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA EN QUESERÍAS INDUSTRIALES Y ARTESANALES DE CANARIAS"

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

Conrado Carrascosa Iruzubieta
Para optar al Título de Doctor

Dirigida por:

Dr. Rafael Millán de Larriva

Dra. Esther Sanjuán Velázquez

Dr. Pedro Saavedra Santana

Arucas, a 19 de junio de 2010

El Dr. Rafael Millán de Larriva y la Dra. Esther Sanjuán Velázquez, profesores titulares del Área de Nutrición y Bromatología del Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos y el Dr. Pedro Saavedra Santana, Catedrático del Área de Estadística e I.O. del Departamento de Matemáticas de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

INFORMAN que la presente memoria, presentada por el Licenciado en Veterinaria D. Conrado Carrascosa Iruzubieta, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos y reúne las condiciones requeridas para optar al Título de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Título:

"EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA EN QUESERÍAS INDUSTRIALES Y ARTESANALES DE CANARIAS".

Y para que así conste, en cumplimiento de la legislación vigente, firman el presente documento.

En Arucas, a 19 de junio de 2010

Fdo. Dr. Rafael Millán de Larriva

Fdo. Dra. Esther Sanjuán Velázquez

Fdo. Dr. Pedro Saavedra Santana

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los tres directores, a la Dra. Esther Sanjuán Velázquez, por su labor de dirección y corrección de la Tesis, al Dr. Rafael Millán de Larriva por su dirección científica y apoyo en todo momento y al Dr. Pedro Saavedra Santana por la inestimable realización del tratamiento de datos y análisis estadístico.

No quisiera olvidarme de ninguno de los compañeros que durante estos últimos años me han ayudado en la elaboración y redacción de la tesis.

A mi buen amigo Esteban Pérez García, por su colaboración y apoyo en todos estos años, haciendo más llevadero el camino.

A los integrantes del Grupo de Quesos: Iván y Maira por la inestimable ayuda en el análisis microbiológico y toma de muestras de los quesos artesanos.

A Estrella y Cristina por su colaboración y puesta a punto de todas las técnicas microbiológicas.

A los cuarenta queseros artesanos de Gran Canaria que durante dos años nos permitieron compartir con ellos su sabiduría y buen hacer.

A todas las industrias lácteas participantes y en especial a las cinco queserías industriales que de forma desinteresada colaboraron en este estudio.

Al Cabildo de Gran Canaria y a Aider Gran Canaria por la financiación del proyecto para la evaluación comparada de las queserías artesanales de Gran Canaria.

A Raúl Grau Meló por su colaboración y ayuda desde Valencia.

A Agustín Hernández Castro por su inestimable ayuda en las tareas técnicas.

A Raduán, por su colaboración, apoyo y ayuda desde el comienzo de este trabajo.

A Ricardo Martel Manzano y Nuria por su colaboración en la tramitación de toda la documentación relacionada con la tesis.

Quiero agradecer sinceramente a la Dra. Esther Sanjuán Velázquez la dedicación y trabajo empleados en la culminación de esta tesis, empleando muchas horas para ensamblar esta amalgama de información.

A Chavi, sin la cual nada de esto podría haber visto la luz. Por su ayuda, comprensión y apoyo en todo momento. Por su paciencia y su gran esfuerzo en el trabajo del día a día que se ha multiplicado por tres.

A mis padres y a Macarena, por haberme acompañado durante estos años de trabajo y por tantas enseñanzas que no se pueden reflejar en este texto.

A mis padres,
a Chavi y
a Alejandra, Sara y María, mis tres niñas.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN **1**

I.1. Antecedentes **3**

I.2. Quesos en Canarias **4**
I.2.1. Producción y características 5
I.2.2. Producción de quesos en Gran Canaria 11
I.2.3. Clasificación de los diferentes tipos de quesos elaborados en Gran Canaria 13

I.3. Queserías Industriales y Artesanales **21**
I.3.1. Generalidades de las Queserías Industriales y Artesanales 21
I.3.2. Instalaciones de las queserías 23

I.4. Microbiología del queso **29**
I.4.1. Grupos microbianos de interés en el queso 29
1.4.1.1. Microorganismos referentes como criterios de Seguridad Alimentaria 32
1.4.1.2. Microorganismos referentes como criterios de higiene de los procesos 42
I.4.2. Toxiinfecciones alimentarias por consumo de queso 51
I.4.2.1. Toxiinfecciones alimentarias en la Unión Europea 51
I.4.2.2. Toxiinfecciones alimentarias en España 56
I.4.2.3. Toxiinfecciones alimentarias en Canarias 61

I.5. APPCC en queserías **63**
I.5.1. Etapas de control en la fabricación del queso industrial 72
I.5.2. Etapas de control en la elaboración del queso artesanal 75
I.5.3. Requisitos previos 78

I.6. Limpieza y desinfección en Queserías Industriales y Artesanales **83**
I.6.1. Programas de Limpieza y Desinfección 85
I.6.2. Tipos de desinfectantes empleados en queserías 91
I.6.3 Sistemas de limpieza y desinfección en Queserías Industriales y Artesanales 93
I.6.4. Bioláminas (Biofilm) 99
I.6.4.1. Uso de detergentes y desinfectantes frente a las bioláminas 101

I.7. Control microbiológico de superficies **103**
I.7.1. Métodos microbiológicos tradicionales para el control de superficies 104
I.7.2. Luminiscencia: Justificación de nuevos métodos de control de superficies 107
I.7.3. Consideraciones sobre criterios de control de superficies 110

I.8. Sistemas de evaluación de higiene (HAS) **112**

I.9. Conocimientos de los manipuladores de alimentos **114**

I.10. Planteamiento y objetivos **117**

II. MATERIAL Y MÉTODOS **121**

II.1. Industrias lácteas **123**
II.1.1. Material experimental 123
II.1.1.1. Evaluación inicial del sector: encuestas APPCC y encuestas LD 123

II.1.1.2. Evaluación higiénica de las Queserías Industriales: encuestas HAS y tests de conociminetos de los manipuladores de alimentos 125
II.1.1.3. Selección de industrias lácteas 126
II.1.1.4. Descripción de las Queserías Industriales 129
II.1.1.5. Factores considerados para el análisis de riesgos 131
II.1.1.5.1. Descripción de las superficies muestreadas en las Queserías Industriales 133
II.1.1.6. Material general de laboratorio, reactivos y medios de cultivo 135
II.1.2. Métodos 136
II.1.2.1. Toma de muestras 136
II.1.2.2. Técnicas para el control microbiológico de superficies 139
II.1.2.2.1. Criterios para la valoración higiénica de superficies 143
II.1.2.3. Medición del cloro libre en el agua de abasto de las queserías industriales 144
II.1.2.4. **Análisis estadístico de las Queserías Industriales** 145
II.1.2.4.1. Comparación de los métodos de control de superficies empleados 145
II.1.2.4.2. Tasas ajustadas de contaminación en superficies 145
II.1.2.4.3. Factores de riesgo de contaminación de superficies en Queserías Industriales 146

II.2. Queserías Artesanales 148
II.2.1. Material experimental 148
II.2.1.1. Evaluación inicial del sector artesanal: encuestas de producción (APPCC y LD) 148
II.2.1.2. Evaluación higiénica de las queserías artesanales: encuestas HAS y tests de conocimentos de los manipuladores de alimentos 149
II.2.1.3. Selección y descripción de las Queserías Artesanales 150
II.2.1.4. Clasificación de las queserías. Descripción de los factores para el análisis de riesgos 154
II.2.1.5. Material general de laboratorio, reactivos y medios de cultivo 158
II.2.2. Métodos 159
II.2.2.1. Toma de muestras 159
II.2.2.2. Técnicas para determinaciones microbiológicas de la leche y del queso 164
II.2.2.2.1. Preparación de las muestras analíticas 164
II.2.2.2.2. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos 165
II.2.2.2.3. Recuento de *Escherichia coli* 165
II.2.2.2.4. Recuento de *Staphylococcus aureus* 166
II.2.2.2.5. Recuento de *Salmonella spp.* 167
II.2.2.2.6. Detección de *Listeria monocytogenes* 168
II.2.2.2.7. Técnica de detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* mediante el uso del sistema MIni Vidas y tests listos para usar 168
II.2.2.2.8. Criterios microbiológicos de referencia en leche y quesos 170
II.2.2.3. **Análisis estadístico de las Queserías Artesanales** 172
II.2.2.3.1. Factores de riesgo de contaminación de productos lácteos elaborados en Queserías Artesanales de Gran Canaria 172
II.2.2.3.2. Asociación entre los conocimientos de manipulación de alimentos y los niveles de contaminación de superficies en las Queserías Artesanales 173

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 175

III.1. Resultados descriptivos de las encuestas en las Queserías Industriales y Artesanales 177
III.1.1. Implantación y funcionamiento del APPCC en las industrias lácteas 177
III.1.2. Limpieza y Desinfección de las industrias lácteas 180
III.1.3. Factores de producción de las Queserías Industriales y de las Artesanales 184
III.1.3.1. Queserías Industriales 184
III.1.3.2. Queserías Artesanales 185

III.1.4. Evaluación de los conocimientos higiénicos de los manipuladores de las Queserías Industriales y Artesanales 189
III.1.4.1. Queserías Industriales 189
III.1.4.2. Queserías Artesanales 191
III.1.5. Encuesta Higiénico Sanitaria (HAS) de las Queserías Industriales y de las Artesanales 194
III.1.5.1. Queserías Industriales 194
III.1.5.2. Queserías Artesanales 197
III.1.6. Parámetros de elaboración de las Queserías Industriales y de las Artesanales 202

III.2. Resultados analíticos en Queserías Industriales 211
III.2.1. Datos descriptivos 211
III.2.1.1. Control microbiológico de superficies 211
III.2.1.1.1. Control de superficies mediante laminocultivos 211
III.2.1.1.2. Control de superficies mediante placas de contacto 219
III.2.1.1.3. Control de superficies mediante bioluminiscencia 226
III.2.1.2. Control del cloro libre en el agua de abasto 230
III.2.2. **Resultados del análisis estadístico en las Queserías Industriales** 231
III.2.2.1. Estudio comparado entre las diferentes técnicas de control de superficies 231
III.2.2.2. Influencia de los factores de riesgo sobre la contaminación de superficies 243

III.3. Resultados analíticos en Queserías Artesanales 246
III.3.1. Datos descriptivos 246
III.3.1.1. Recuento microbiológico en la leche y en el queso 246
III.3.1.2. Resultados y comparativa de los controles de superficies en Queserías Industriales y Artesanales mediante laminocultivos 252
III.3.2. **Resultados del análisis estadístico en las Queserías Artesanales** 254
III.3.2.1. Determinación de los factores de riesgo de contaminación en la leche y el queso 254
III. 3.2.2. Asociación entre conocimientos de manipulación de alimentos y niveles de contaminación en superficies 264

IV. CONCLUSIONES 267

V. RESUMEN 275

VI. SUMMARY 281

VII. BIBLIOGRAFÍA 287

VIII. ANEXOS 315

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Antecedentes

A lo largo de la historia han sido numerosos los pueblos que de una u otra forma han elaborado productos lácteos similares al queso de nuestros días. Es probable que su elaboración surgiera de forma simultánea en varios lugares, pero fue en Mesopotamia, en la zona conocida como Creciente Fértil, hace 6000-7000 años a. C., donde se hallaron restos arqueológicos que lo confirman (Woolley y Hall, 1931). Desde esta región sumeria, el queso se extendió de forma radial en todas las direcciones, hacia la India, Tíbet y las estepas rusas y hacia Occidente a través del Mediterráneo, llegando a toda Europa. Los griegos y romanos jugaron un papel fundamental en la divulgación de los métodos de elaboración por todos los territorios europeos conquistados.

La migración geográfica de la quesería fue la causa del resurgimiento de nuevas variedades de queso debidas a las diferencias climáticas y del terreno, que influían en el tipo de animal lactante que se criaba (Robinson y Wilbey, 2002).

Este producto pronto constituiría un importante recurso alimenticio de alto valor nutritivo para los primeros ganaderos, que lo incorporarían a su dieta alimenticia durante sus habituales desplazamientos (Ares, 1993). La aparición del queso está ligada a la domesticación de los rumiantes, por lo que los primeros derivados lácteos fueron elaborados con leche de cabra y oveja, cuya explotación ganadera se inicia unos 10.000 años a. de C., mientras que los de vaca comenzaron a elaborarse unos 2.000 ó 3.000 años más tarde.

Los monjes cistercienses fueron los que se encargarían, en los siglos posteriores, de hacer de la elaboración de quesos todo un arte en el medio millar de monasterios repartidos por toda Europa. Este hecho contribuyó a mantener las tradiciones queseras durante la Edad Media y el Renacimiento.

Los orígenes de la elaboración del queso y la aplicación de principios artesanos en su fabricación han dado lugar a más de 900 nombres diferentes (Eekhofstort, 1977).

Aunque muchos de ellos son similares, se pueden agrupar en 18 tipos naturales (Ernstrom y Tittsler, 1965).

La gran variedad de quesos se explica por dos hechos esenciales (Alais, 1985): naturaleza de la leche (pequeños matices de composición tienen repercusiones en las propiedades del queso) y las formas de preparación que presentan una diversidad cuyos límites son difíciles de fijar (temperatura y tiempo de cuajado, salado y condiciones de maduración).

Lo que sí se ha diferenciado muy bien en todos los tipos de quesos son las dos líneas generales de producción, la industrial, que proporcionó al producto una homogeneidad y competencia en los mercados de las modernas ciudades, y la artesanal de granja, que creó nuevas clases de queso con connotaciones propias, adaptándose al mismo tiempo a las exigencias higiénico-sanitarias actuales.

I.2. Quesos en Canarias

En el Archipiélago Canario prehispánico, ya había una importante cabaña caprina y ovina, pero no hay referencias claras de la elaboración de queso como tal, aunque sí se elaboraban unas tortas de leche ácida como las que se producen actualmente en algunas zonas del Atlas al noreste de África (Anónimo, 2006 e).

Los nuevos pobladores tras la Conquista, trajeron el conocimiento de la elaboración del queso, así como nuevas razas de animales, que en el cruce con las razas locales, originaron la base genética de las razas actuales.

En todas las islas se comenzó a producir queso con un proceso de elaboración similar al europeo del siglo XV, sentando las bases de los conocimientos para su elaboración.

El tipo de leche utilizada para la elaboración del queso es uno de los principales elementos diferenciadores, no sólo por la especie caprina, bovina u ovina, sino también por la raza. Se puede destacar también la alimentación de los animales como

otro de los factores que afectan a la calidad de la leche. A lo largo de los siglos, se han ido seleccionando animales que produjeran abundante leche de excepcional calidad, pero a su vez, que se adaptaran a los diferentes ecosistemas de las islas, de forma que se pudieran aprovechar los pastos naturales tan diferentes de una isla a otra. De esta forma, hoy tenemos las razas autóctonas especializadas en producción de leche tanto en la especie caprina (Cabra Tinerfeña Norte, Tinerfeña Sur, Majorera y Palmera) como ovina (Oveja Canaria) (Anónimo, 2006 e).

I.2.1. Producción y características

El queso artesanal de Canarias se elabora principalmente con leche de cabra cruda, por lo que su producción está muy relacionada con las explotaciones caprinas, así como con las instalaciones y dimensiones de la quesería.

Actualmente la cabaña caprina y ovina se encuentran oficialmente indemnes de brucelosis (Decisión de la Comisión 2009/600/CE, de 5 de agosto) (Anónimo, 2009 a).

Las queserías son establecimientos de producción limitada, que han sufrido importantes cambios para adaptarse a la Directiva CE 92/46/CEE. Estos cambios han provocado el cierre de algunas queserías obsoletas y han fomentado la modernización de la mayoría de las queserías artesanales, adaptándose así a los requisitos higiénico-sanitarios actuales (Fresno, 2000).

En 1993 la producción anual de queso en Canarias era de unas 8.000 t, de las cuales 1.650 t se elaboraban en industrias queseras y las otras 6.350 t, siguiendo procesos artesanales.

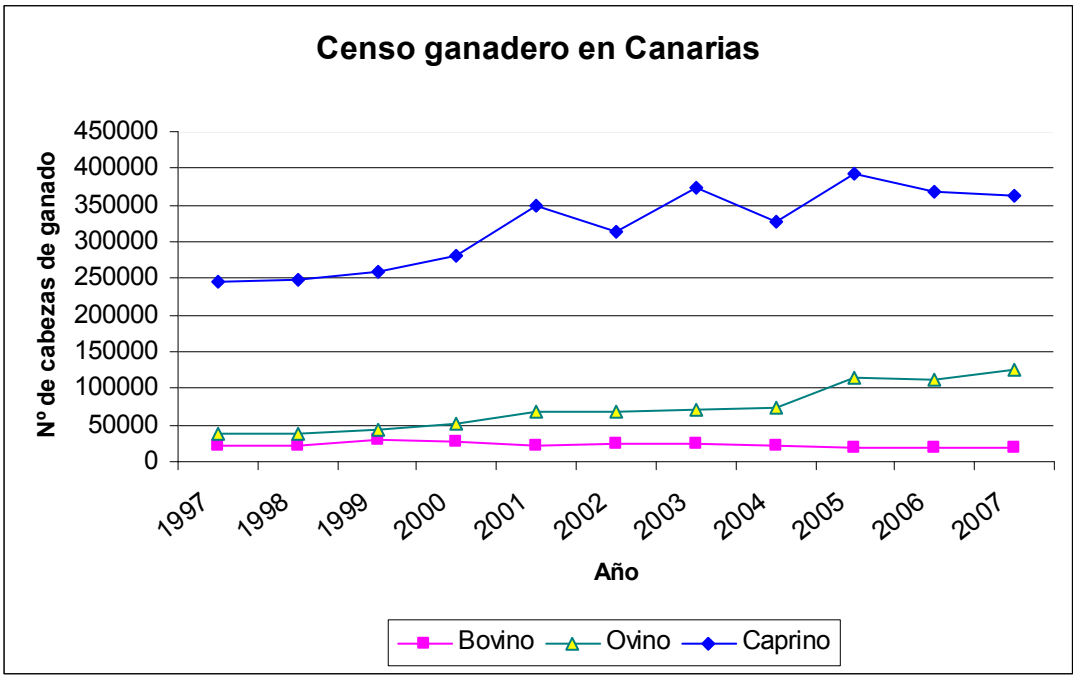
Debido a los cambios mencionados y a otros factores socioeconómicos, la producción de queso artesanal disminuyó ligeramente, aunque en los últimos años ha habido un aumento considerable. Se estima que la producción quesera artesanal supone el 78% de la producción total de quesos producidos en Canarias (Fresno, 2000), siendo ésta de 17.000 t/año en el año 2007.

Según la Memoria de las Encuestas Ganaderas, publicadas por el Misterio de Agricultura, Pesca y Alimentación en el año 2007, las principales Comunidades Autónomas donde se ubica la cabaña caprina son: Andalucía 593.230 (39,3%), Canarias 363.329 (12,6%), Castilla-La Mancha 314.941 (10,9%) y Extremadura 293.246 (10,1%).

Hay que destacar que la producción de leche de todas las especies supone un 38,65% del valor total de la producción ganadera de Canarias, mientras que la de leche de cabra representa el 27,67% (Anónimo, 2007 b).

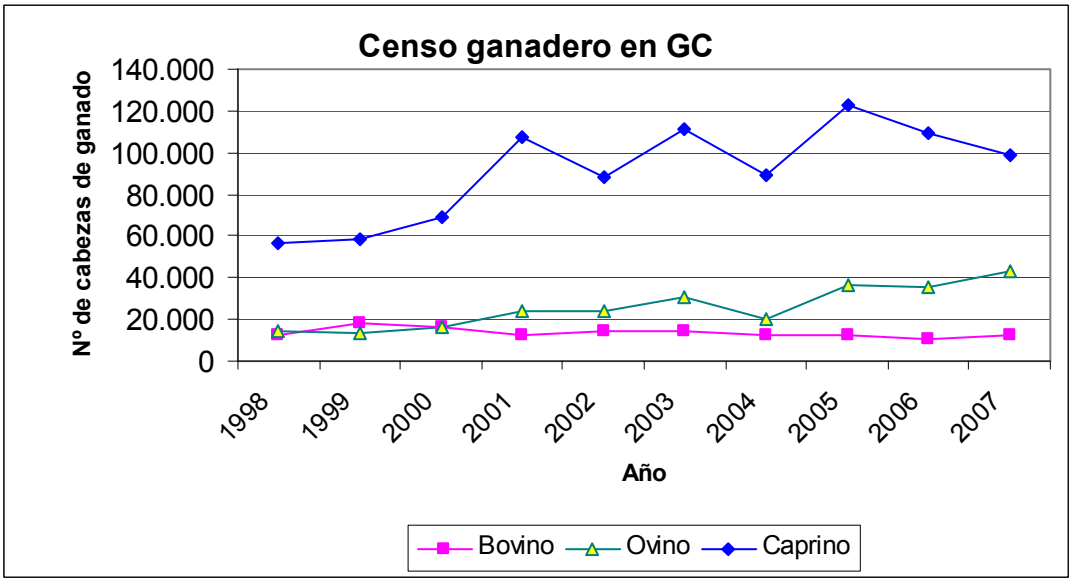
La Figura 1 muestra la evolución del censo ganadero en Canarias, desde el año 1998 al 2007, siendo muy similar a la de Gran Canaria (GC) (Figura 2). Se observa que la cabaña bovina se mantuvo durante esos años, aumentando más del doble la cabaña ovina, mientras que la caprina sufrió diferentes fluctuaciones, aumentando hasta el doble en el año 2005 y sufriendo un progresivo descenso hasta el 2007.

Figura 1. Evolución del censo ganadero en Canarias de las especies productoras de leche (1997-2007).



Fuente: Servicio de Estadística. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, 2007.

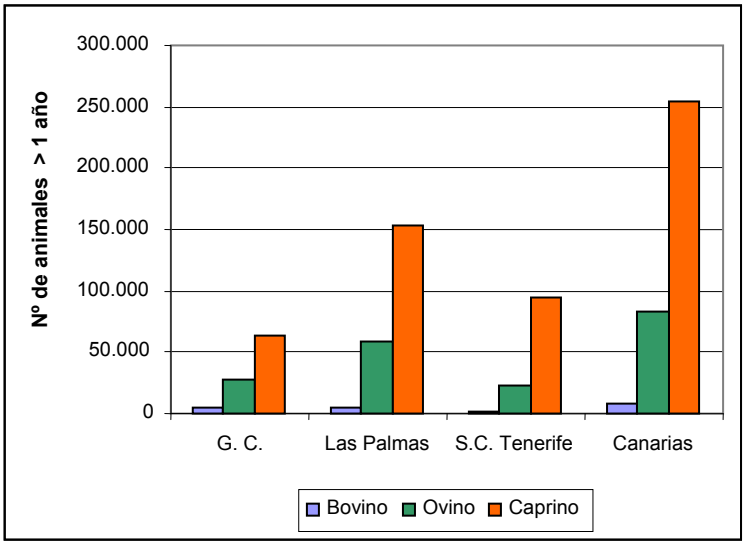
Figura 2. Evolución del censo ganadero en GC de las especies productoras de leche (1998-2007).



Fuente: Servicio de Estadística. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, 2007.

La isla de GC alberga 5.804 vacas en ordeño de las 8.277 que hay en Canarias. Fuerteventura y GC agrupan más de la mitad de las cabras en ordeño de Canarias, con 141.813 frente a 254.873 en Canarias. Algo similar ocurre con el ganado ovino: Fuerteventura y GC tienen 53.011 ovejas en ordeño de las 82.650 que hay en Canarias.

Figura 3. Número de animales en ordeño por especie en Canarias, por provincias y en GC.



Fuente: Servicio de Estadística. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, 2007.

La Figura 3 muestra el número total de animales en ordeño en toda la Comunidad Autónoma, en las provincias de Las Palmas y Santa Cruz de Tenerife y en GC. El valor de la producción de leche de cabra en Canarias fue de 48.725.000 €, lo que representa el 70% del total de la producción de leche.

La Tabla 1 muestra el número de animales en ordeño y la producción lechera de la provincia de Las Palmas y de GC, por especie. La columna de la derecha presenta el valor de la leche en miles de euros.

Tabla 1. Número de animales en ordeño y producción lechera.

	Las Palmas	Gran Canaria	Valor leche (miles €) Las Palmas
Bovino	5.565*	5.389	
Miles de l. leche	30.964	29.984**	12.344
Ovino	33.196*	27.751	
Miles de l. leche	4.994	4.175**	2.996
Caprino	153.427*	66.210	
Miles de l. leche	55.617	24.001**	27.124
Total miles l. leche	**91.575**	**58.160****	**42.869**

*número de animales en ordeño

**cálculo estimado a partir de los animales en ordeño en GC.

Para el cálculo de la producción quesera en la isla de Gran Canaria, se dividieron los litros de leche por un factor de conversión (litros de leche necesarios para la elaboración de un kilogramo de queso), este factor fue el mismo que utilizó García (2001), para el cálculo de la producción quesera de las diferentes islas en el año 1993.

El rendimiento quesero (RQ) ha sido objeto de debate durante décadas por los investigadores y fabricantes, pues su determinación permite el control de los flujos de materia prima, el cálculo de la rentabilidad de fabricación y la detección de anomalías de fabricación. Entendemos por RQ, la cantidad de queso que se puede fabricar teóricamente a partir de un volumen de leche determinado. Hay numerosas fórmulas que intentan aproximar el RQ a la realidad de cada producción, mediante el cálculo en base al balance en materia seca. Guerault-Mamejouls (1945), lo hizo en base al contenido en materia seca desgrasada de la leche utilizada. Maubois y Mocquot (1971), analizaron y perfeccionaron en diferentes publicaciones el enfoque hacia una fórmula más global.

Convencionalmente se admite que para fabricar 1 Kg de queso fresco son necesarios los siguientes volúmenes de leche:

- 10 l de leche de vaca (3% grasa).
- 7 l de leche de cabra (4% grasa).
- 5 l de leche de oveja (7 % grasa).

La variabilidad observada en el RQ de la leche puede (en el caso de la leche de oveja), ser debida fundamentalmente a las variaciones estacionales que presentan sus componentes mayoritarios (grasa y proteínas) (Quintanilla y Peña, 1991).

Los últimos datos sobre la producción quesera en Canarias están recogidos en el Informe sobre el Plan Director para el Desarrollo Ganadero en las Islas Canarias. (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA), 2008), donde se expone que "*La producción quesera de Canarias es actualmente uno de los pilares donde se sustenta el subsector ganadero, con una base económica que representa más de 101 millones de euros (Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, 2006). Su valor económico se ha incrementado en más de un 32% desde el año 2001. La producción quesera regional se estima en la actualidad en aproximadamente 17.000 toneladas al año, habiéndose registrado un incremento de más de 2.000 toneladas en los últimos cinco años. Esta producción tiene una fuerte competencia en los quesos subvencionados de importación que representan más de 24.000 toneladas anuales*". (Anónimo, 2008).

La Tabla 2 muestra un resumen de la producción de queso artesanal e industrial en Canarias.

Tabla 2. Producción de queso artesanal e industrial en Canarias.

Año	Total	Queso artesanal	Queso industrial	Fuente
1993	8.000 t	6.350 t	1.650 t	Consej. Gana, 1993
2000	15.304 t	11.652 t	3.382 t	Fresno, 2000
2008	17.000 t	13.260 t	3.740 t	ICIA, 2008

I.2.2. Producción de quesos en Gran Canaria

Según se define en el Anexo I de la Norma de Calidad para Quesos y Quesos Fundidos (Anónimo, 2006 b), "*se entiende el queso como el producto fresco o madurado, sólido o semisólido, obtenido de la leche, de la leche total o parcialmente desnatada, de la nata, del suero de mantequilla o de una mezcla de algunos o de todos estos productos, coagulados total o parcialmente por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, antes del desuerado o después de la eliminación parcial de la parte acuosa, con o sin hidrólisis previa de la lactosa, siempre que la relación entre la caseína y las proteínas séricas sea igual o superior a la de la leche*."

En GC, los quesos artesanales están elaborados principalmente con leche cruda, siguiendo las prácticas tradicionales de coagulación enzimática. La mayoría de estos quesos son vendidos como queso fresco (24 a 48 horas), un 30 % de la producción es curado por un corto periodo de tiempo, entre 15 y 45 días y sólo en algunos casos especiales el periodo de curación se prolonga (Fresno, 2000).

Todos los quesos de las queserías industriales están elaborados con leche pasteurizada. Aunque algunas queserías artesanales también pasteurizan la leche para elaborar el queso fresco, la mayoría sigue elaborando el queso semicurado o curado con leche cruda. Pero lo que realmente diferencia a unos y a otros es el grado de manipulación (mecanización durante la elaboración) y la normalización o estandarización de las producciones de las queserías industriales frente a producciones endémicas y con matices propios de cada artesano.

En GC se estima una producción anual de 1,4 t/año de quesos artesanos de diferentes tipos según sea el origen de la leche que entra a formar parte del queso durante su elaboración, así como los diferentes grados de curado que presentan (Plan de Desarrollo Rural y de las Medianías y Cumbres de Gran Canaria. Asociación Insular de Desarrollo Rural de Gran Canaria) (AIDER GC, 2000).

Los únicos datos de la producción quesera de GC son aproximados y se pueden calcular a partir de la producción de leche en GC, la cual se multiplicó por un factor de conversión leche/queso y se le restaron los litros de leche aproximados, que no se destinaron a la producción de queso. Para ello, se estimó la producción de los litros de leche por especie y año (ver Tabla 1), obtenida de los datos publicados por el Servicio de Estadística de la Consejería de Agricultura, Ganadería y Alimentación (2007), que aunque no mostraban los datos de producción lechera por isla sino por provincia, sí figuraban el número de animales productores de leche por isla.

Cálculo para determinar la producción de queso en GC:

$$A = B - C - D$$

A: Litros de leche/año empleados en la producción de queso en GC
B: Producción total de leche
C: Leche destinada a la central lechera
D: Leche exportada a otras islas

$A = 58.160.000 - 9.000.000 - 2.400.000 = 46.760.000$ litros de leche.

Para obtener los Kg de queso producidos al año dividimos la cantidad de leche entre el RQ estimado (7 l/kg):

$$kg = \frac{A}{RQ} = \frac{46.760.000}{7} = 6.680.000\ kg/año\ de\ queso\ producido\ en\ GC$$

La Tabla 3 muestra la producción en kg de queso industrial y artesanal por islas. Así como el porcentaje de cada tipo de producción frente al total de cada isla (Fresno, 2000).

Tabla 3. Producción (kg) de queso por islas (2000).

Isla	Queso industrial	% sobre queso total	Queso artesanal	% sobre queso total
Tenerife	1.106.560	31	2.499.149	69
La Palma	-	-	1.254.032	100
La Gomera	-	-	373.838	100
El Hierro	355.645	77	108.226	23
Gran Canaria	912.323	19	3.442.648	81
Lanzarote	347.602	36	615.139	64
Fuerteventura	659.921	18	3.359.565	82
Total	**3.382.051**	**22**	**11.652.597**	**78**

I.2.3. Clasificación de los diferentes tipos de quesos elaborados en Gran Canaria

El valor nutritivo de los quesos y sus características tecnológicas están determinados por la composición de la leche de partida, en la que el principal factor de variación es la alimentación de los animales, sin embargo, un factor decisivo es la mecánica de elaboración de los quesos (Morand-Fher *et al.,* 2000) que abarca desde el tratamiento térmico y coagulación hasta el proceso de maduración, incluyendo etapas tan importantes como el prensado, desuerado y salado.

El RD 1113/2006 (Anónimo, 2006 b) clasifica los quesos atendiendo a su maduración, de la siguiente forma:

1. Queso fresco: es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación.

2. Queso blanco pasteurizado: es aquel queso fresco en el que el coágulo obtenido se somete a un proceso de pasteurización, quedando dispuesto para el consumo al finalizar su proceso de fabricación.
3. Queso madurado: es el que, tras el proceso de fabricación, requiere mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en condiciones tales que se produzcan los cambios físicos y químicos característicos del mismo.

La palabra madurado podrá sustituirse por los calificativos según el grado de maduración alcanzado por el producto a la salida de fábrica que figuran en la Tabla 4.

Tabla 4. Denominación de los quesos por tiempo de maduración.

Denominaciones facultativas	Peso>1,5 kg	Peso≤1,5 kg
	Maduración mínima en días	
Tierno	7	7
Semicurado	35	20
Curado	105	45
Viejo	180	100
Añejo	270	

La caracterización más rigurosa de los quesos de GC fue realizada por AIDER GC en el año 2006, realizando varias catas con un panel de jueces expertos y seleccionando 12 tipos diferentes de quesos en función de la especie productora de leche y del grado de maduración (Anónimo, 2007 a).

Los tipos de queso relacionados fueron:

- Cabra semicurado
- Cabra curado
- Oveja semicurado
- Vaca semicurado
- Vaca-cabra
- Vaca-cabra semicurado (mayor porcentaje de leche de vaca que de cabra)
- Vaca-cabra curado

- Cabra-oveja semicurado (50% de leche de cada especie)
- Cabra-oveja (mayoritariamente leche de cabra)
- Vaca-oveja
- Queso flor
- Fresco (mezcla de varias especies, mayoritariamente leche de cabra)

En un continente en miniatura, como se denomina muchas veces a GC, se encuentran diferentes ecosistemas, por lo que la ganadería es muy variada y con ello sus quesos.

Las características generales de los quesos de G C son (Anónimo, 1999 d):

- *Forma*: cilíndrica. Los de cabra, frescos, con la corteza exterior blanca y muy delgada. Los de oveja son de color amarillento y con los dibujos de las queseras en las caras planas. Los curados son de diferentes tonalidades marrones.

- *Leche:* de cabras majoreras. Otros de leche de oveja de la raza canaria y otros de mezcla.

En una breve descripción de los quesos de GC se contemplarían aspectos como:

- Uno de los quesos más representativos de la isla es aquel elaborado con leche cruda o pasteurizada de cabra. Su consumo en fresco es delicioso, muy suave al paladar y de agradable sabor. Su pasta es muy húmeda, algo elástica, y a veces tiene pequeños ojos.

- Cuando maduran, tanto los curados como los semicurados, desarrollan toda su potencialidad, mostrando un amplio abanico de aromas y sabores. Su textura es compacta. Al corte son de color blanco o amarillo pajizo. De sabor ligeramente ácido, un poco salados, con intenso y exquisito bouquet a leche de cabra.

- Los quesos elaborados con leche de oveja se suelen consumir transcurridos unos días después de madurarse en la tranquilidad y oscuridad de las cuevas o cámaras acondicionadas para tal fin. Al corte son de color marfil o tirando a amarillento poco brillante, con pequeños ojos irregulares desigualmente repartidos. Su sabor es más o menos intenso (dependiendo del periodo de curación) y sabroso, dejando en boca un delicioso recuerdo.

- En esta isla se producen quesos de mezcla de leche de diferentes especies que complementan la oferta, caracterizándose también por su gran calidad.

La tipología de los quesos elaborados en la isla de GC (Foto 1), la podemos agrupar por la zona de producción, que junto con la climatología local, condiciona las especies productoras de leche, ofreciendo un variado repertorio de quesos.

Foto 1. Diferentes tipos de quesos artesanales de Gran Canaria.

La Tabla 5 fue elaborada por AIDER GC (2003) y recoge los cuatro grandes grupos de los tipos de quesos de esta isla: costa, medianías del noroeste, medianías del centro, y resto de medianías y cumbres.

Tabla 5. Tipos de quesos en GC.

QUESO DE COSTA	
Ganado asociado	Rebaños medianos o grandes de cabras (300-1.000 cabezas) En ocasiones acompañado de algo de oveja
Alimentación del ganado	Pastos áridos complementados diariamente con concentrado
Formato y aspecto de los quesos	Queso de cabra, y en ocasiones algo de oveja Color blanco Tipo majorero Cilíndrico 5-6 cm de altura De 2,5 a 3,5 kilos Se comercializan a partir de 8 días y hasta de dos meses Tratamientos superficiales con aceite y gofio (marrones) o pimentón rojizos) En los bordes la corteza presenta el dibujo de la empleita de palma
Características organolépticas	Sabor ligeramente ácido , un poco salado, fuerte Corte blanco y quebradizo Pasta cerrada Textura granulosa Al madurar se vuelven algo *picones* y tienden a resecar Momento óptimo de maduración: 1,5 meses Con más de cuatro meses endurecen y son aptos para consumir rallados, en aceite o para elaborar patés o almogrote
Comercialización	Generalmente a través de madurador - mayorista
Zona tipo de producción	Costa del sureste insular y La Aldea

Tabla 5. Tipos de quesos en GC (Continuación).

QUESO DE MEDIANÍAS DEL NOROESTE	
Ganado asociado	Caprino y ovino en ganados mixtos de entre 70 y 100 animales, a los que pueden sumarse 2-3 vacas
Alimentación del ganado	Pastoreo en vegetación arbustiva y pastizales húmedos. Se complementa con forrajes de arbustos autóctonos. Sólo se recurre a los concentrados en épocas desfavorables, para las cabras
Formato y aspecto de los quesos	Queso de mezcla: oveja-vaca, y cada vez más, cabra Muy estacional debido al ciclo productivo natural de la oveja Amarillentos De 3,5 a 4,5 kilos Laterales abombados y sin dibujo; la pinta muestra sin embargo una flor central. Maduración en cueva Se consumen a partir de los 15 días y son quesos buenos para madurar, en especial los hechos con leche de primavera Hay que cuidar la temperatura de conservación, pues a altas temperaturas se achaparran
Características organolépticas	Quesos poco ácidos Corte suave, amarillento Paladar untuoso Momento óptimo de maduración: 2 meses Algunos artesanos ahúman sus quesos Queso de flor: interior amarillo claro; son quesos más amargos, de pasta blanda y con formatos más pequeños: 1,5 – 2 kilos
Comercialización	Predominio de Madurador- Mayorista, pero existe también la costumbre de ir a comprarlo a la propia finca
Zona tipo de producción	Altos de Guía y Gáldar

Tabla 5. Tipos de quesos en GC. (Continuación).

QUESO DE MEDIANÍAS CENTRO (QUESO DE VACA)	
Ganado asociado	Vacuno del país y mestizo Ganado mixto: trabajo y leche
Alimentación del ganado	Flora autóctona espontánea y forrajes cultivados por los ganaderos
Formato y aspecto de los quesos	Quesos frescos, semicurados o curados Color amarillo Altura de 5 a 7 cm Peso de 2 a 5 kilos Con bordes ligeramente abombados debido a su cremosidad Formato similar al Queso de Guía, que puede conservar el dibujo de la flor de cuando son cuajados con cardo, método que aún mantiene algún artesano Se consumen en fresco, o bien se elaboran para su consumo a partir de los 15-20 días, con un corto periodo de maduración que no alcanza el mes y medio Tratamiento superficial con untado de aceite o manteca de cerdo
Características organolépticas	Queso fresco Quesos poco ácidos, ligeramente dulzones Corte blanco y suave Pasta cerrada Textura suave, aunque menos que el de oveja Queso curado o semicurado Suave en el corte pero con ojos elásticos; amarillo Maduración en cueva Momento óptimo de maduración, al cabo de un mes aproximadamente
Comercialización	Predominio de venta directa
Zona tipo de producción	Queso fresco: Vega de San Mateo Queso semicurado o curado: Fontanales

Tabla 5. Tipos de quesos en GC (Continuación).

QUESO DEL RESTO DE MEDIANÍAS Y CUMBRES	
Ganado asociado	Ganados pequeños o medianos de cabra y/u oveja (80 – 200 cabezas)
alimentación del ganado	Pastoreo en monte bajo y pastos húmedos y rastrojos de cultivos, complementada en parte con los concentrados Se conservan las prácticas trashumantes para el aprovechamiento de los pastos naturales
Formato y aspecto de los quesos	Quesos de mezcla, ligeramente amarillentos Tienen alturas mayores: 7-8 cm; con bordes muy rectos y lisos De 5 a 7 kilos Quesos elaborados para madurar (quesos para guardar) Son también estacionales Pinta sin flor Maduración en cuevas Tratamiento superficial con aceite y gofio (marrones)
Características organolépticas	Intensos sabor y aromas; poco ácidos Al madurar, el corte se torna quebradizo debido a la elevada proporción de leche de cabra Pasta cerrada Textura granulosa, que se suaviza al aumentar la proporción de oveja (vertiente norte) frente a la de cabra (vertientes sur y este) Momento óptimo de maduración: 2 meses
Comercialización	Principalmente a través de Madurador - Mayorista
Zona tipo de producción	Saucillo

I.3. Queserías Industriales y Artesanales

I.3.1. Generalidades de las Queserías Industriales y Artesanales

El Decreto 50/1995, 24 marzo, por el que se crea el Registro de Productores de Queso de Características Tradicionales, en establecimientos de producción limitada de las Islas Canarias y se regula su funcionamiento, recoge las diferencias claras entre queserías industriales y artesanales.

El artículo 8 del RD 1679/1994 (aún vigente en el inicio de la fase experimental del presente estudio y posteriormente derogado por el RD 640/2006), eximía a los establecimientos elaboradores de quesos de algunos requisitos del Anexo D. En contrapartida estas queserías debían elaborar quesos con un ciclo de maduración superior a sesenta días o elaborar productos lácteos de características tradicionales.

El sistema de elaboración de las queserías artesanales se ajusta más al modo antiguo y tradicional, aunque actualmente han mejorado bastante las instalaciones por exigencias de la normativa europea. En cualquier caso, los quesos artesanales tienen una diversidad de sabores y aromas más amplia y variada dentro del mismo producto que los quesos industriales.

Mediante el mencionado Decreto se regulan las condiciones mínimas que han de cumplir las explotaciones ganaderas donde se produce la leche, las del ordeño y las de la elaboración de quesos. También se crea el Registro de Productores de Queso de Características Tradicionales (QCT), el cual dice textualmente: "*Dada la importancia de la producción de queso elaborado con leche cruda procedente de distintas especies domésticas, que se consume tradicionalmente con menos de sesenta días de maduración, con un importante arraigo en las costumbres culinarias de las islas, hace necesario mediante este Decreto la regulación de esta actividad, que se realiza en base a la Directiva CEE 92/46, de 16 de junio y con el Real Decreto 1.679/1994 (ambos derogados). Por otra parte, la Directiva 92/47, del Consejo, de 16 de junio, relativa a las condiciones de concesión de excepciones temporales y limitadas*

respecto de las normas comunitarias sanitarias específicas aplicables a la producción y comercialización de leche cruda y productos lácteos, es llevada a la legislación nacional con la Orden del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de 26 de mayo de 1993, la cual en su artículo segundo, establece que sólo los establecimientos con producción limitada podrán acogerse al régimen de excepciones permanentes que establece dicha disposición. Asimismo, la Directiva 94/71 (CE) del Consejo, de 13 de diciembre, que modifica la 92/46, permite en su artículo 1, apartados 3 y 4, una regulación de la producción de queso de leche cruda".

A los efectos de la presente norma, se entenderá por *Queso de Características Tradicionales de las Islas Canarias en establecimientos de producción limitada* (en lo sucesivo queso QCT), el elaborado en las Islas Canarias siguiendo los métodos tradicionales, a partir de la leche cruda obtenida en la propia granja y con menos de 60 días de maduración. La producción anual máxima de leche no deberá sobrepasar los límites productivos establecidos para las distintas especies, que son los siguientes:

1. 750.000 litros/año de leche de vaca.
2. 250.000 litros/año de leche de oveja.
3. 350.000 litros/año de leche de cabra.
4. 700.000 litros/año de leche de varias especies.

La presente norma no será de aplicación cuando se trate de establecimientos que elaboren quesos para su consumo en los mismos, y de venta directa al consumidor. Atendiendo a este Decreto, quedan bien definidas las características productivas de las queserías artesanales, las cuales van a condicionar las dimensiones y los útiles para la elaboración del queso.

I.3.2. Instalaciones de las queserías

Queserías Industriales

Sus instalaciones (Foto 2) y la distribución de las diferentes salas dependen del volumen de leche a transformar, así como, de su capacidad para almacenar el queso en las cámaras de refrigeración.

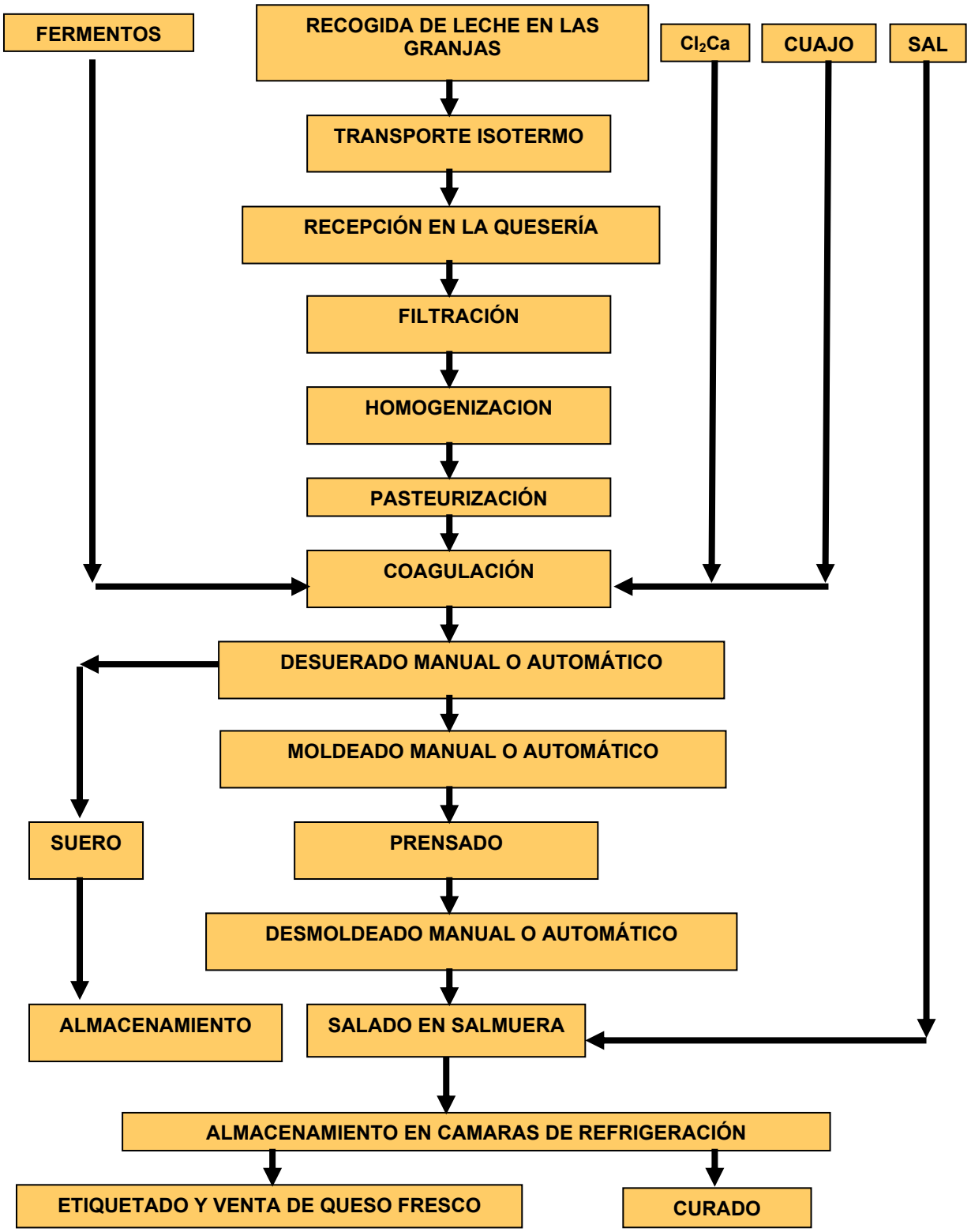
La mayoría de las queserías industriales en GC tienen una capacidad de elaboración entre 30.000 y 10.000 litros de leche al día. En general sus instalaciones constan de una sala de recepción de leche, sala de elaboración con el pasteurizador y la maquinaria para la coagulación de la leche (Foto 3) y llenado de los moldes, zona de salmuera y cámaras de maduración de los quesos.

Foto 2. Instalaciones de una quesería industrial.

Foto 3. Cubas abiertas de cuajado de una quesería industrial.

En la Figura 4 se muestra el diagrama de flujo del proceso de fabricación general de queso industrial en GC.

Figura 4.Diagrama de flujo de fabricación de queso industrial con leche pasteurizada.



Queserías Artesanales

Las instalaciones de las queserías artesanales, podemos decir que se ajustan a la producción lechera de su propio rebaño y al tipo de queso elaborado.

1. Las queserías más simples constarían de:
   - Un cuarto de reducidas dimensiones, donde se lleva a cabo el filtrado de la leche y la elaboración completa del queso, coagulación, llenado de moldes, prensado, salado y desmoldeado. Como útiles más importantes cabe destacar:
   - Lecheras de aluminio para el transporte de la leche desde la ordeñadora hasta la quesería.
   - Recipientes de plástico de uso alimentario para la coagulación de la leche (Foto 4) que se recibe a la temperatura corporal del animal, o pequeñas cubas de cuajado de acero inoxidable de unos 100-200 litros de capacidad, donde la leche es calentada mediante la recirculación de agua caliente por la doble camisa de la cuba o mediante un hornillo de gas colocado en la parte inferior.
   - Queseras de madera para el llenado de moldes, desuerado y prensado manual. Esta operación también se puede realizar sobre una mesa de acero inoxidable.
   - Prensas neumáticas horizontales, que suelen estar presentes en casi todas las queserías.
   - Moldes, que suelen ser de materiales poliméricos; polipropileno o de polietileno de alta densidad, (los cuales se deben usar siempre con paños de algodón). También es frecuente el uso de las empleitas de plástico.
   - Fregadero con agua corriente fría y caliente.
   - El suelo suele ser de gres o terrazo y las paredes alicatadas o pintadas hasta el techo.
   - Un cuarto de maduración del queso: consta de una habitación o cueva, de igual material de revestimiento que el anterior, con ventilación natural y temperatura no controlada, y estanterías de madera con o sin cañizos.
   Estas estanterías también pueden ser de plástico o metálicas.

2. Las queserías de mayor producción constarían de:
   - Una zona de recepción de la leche:

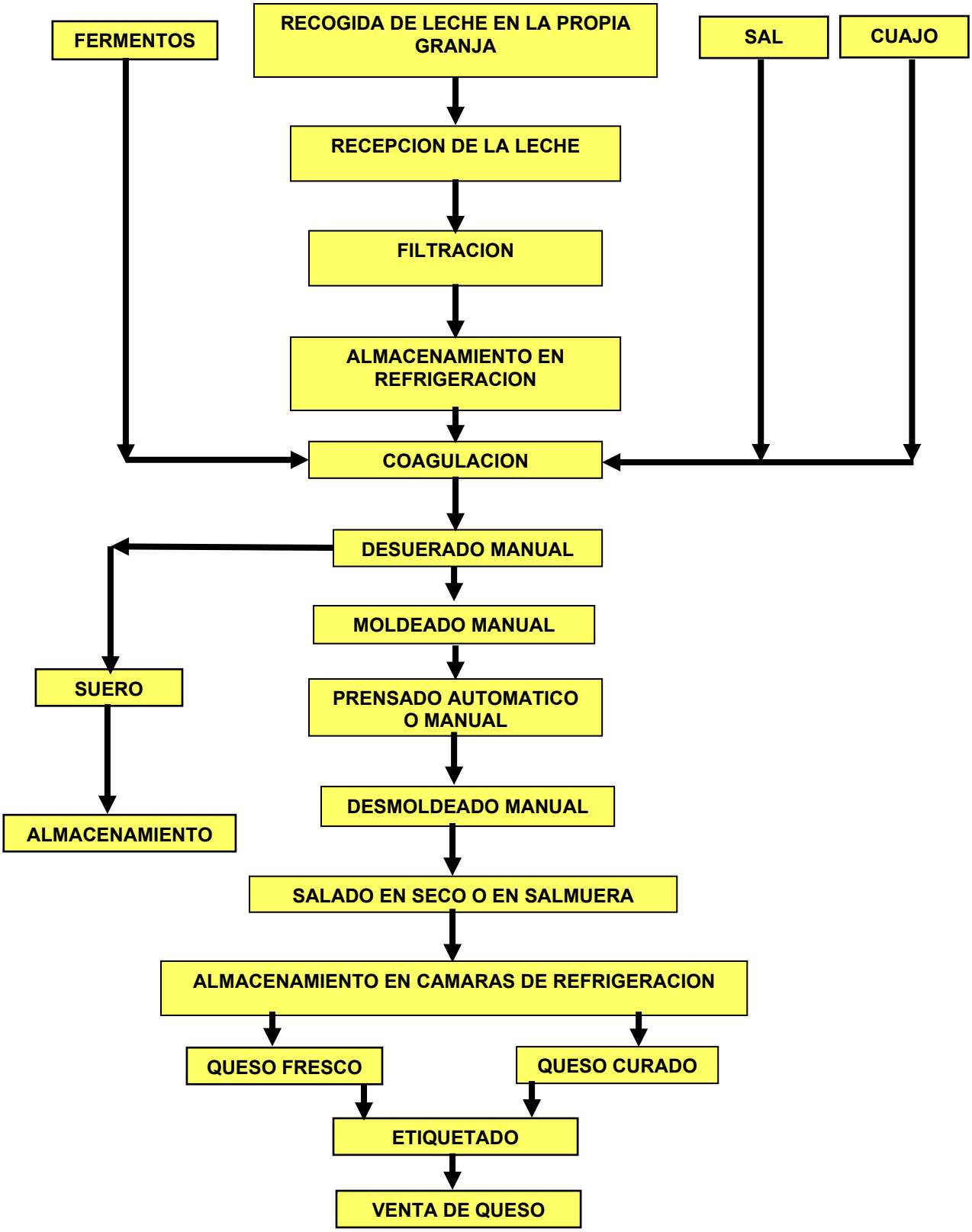
- La leche tras el ordeño se conserva en tanques de frío hasta su elaboración.

- Una zona de elaboración:
  - Estas queserías con mayor producción tienen cubas abiertas para el cuajado de la leche; una vez formado el cuajo desueran en la propia cuba o en pequeñas bateas.
  - Prensas neumáticas de mayor capacidad que las anteriores.
  - La mayoría de las queserías, incluso las de grandes producciones, salan el queso en superficie, una minoría lo sala por inmersión en salmuera mediante recipientes de acero inoxidable con capacidad de enfriamiento y agitación de la salmuera.
- Una zona de maduración del queso:
  -Para el almacenamiento o madurado del queso tienen cámaras de refrigeración a temperatura controlada.

Foto 4. Desuerado de la cuajada en una quesería artesanal.

En la Figura 5 se muestra el diagrama de flujo del proceso de fabricación general de queso artesanal en GC.

Figura 5. Diagrama de flujo de elaboración de queso artesano.



I.4. Microbiología del queso

I.4.1. Grupos microbianos de interés en el queso

La aparición de enfermedades causadas por microorganismos patógenos transmitidos por alimentos se ve incrementada por la industrialización y la centralización de la producción de alimentos y el suministro, comercio internacional, etc. (Tauxe, 1997). En los países desarrollados, los patógenos transmitidos por alimentos más comunes son *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens y Campylobacter spp*. (Altekruse *et al.,* 1997). Los alimentos implicados en brotes alimenticios causados por estos patógenos son principalmente de origen animal, incluyendo carne, huevos, leche y sus derivados (Doyle *et al.,* 1997).

L. monocytogenes, Salmonella spp., S. aureus, y *E. coli* son considerados como el mayor peligro que amenaza a la seguridad alimentaria de los quesos (De Buyser *et al*., 2001). El incremento en los últimos años de las toxiinfecciones alimentarias producidas por *L. monocytogenes, Salmonella spp.*, *E. coli* y estafilococos coagulasa positivos, por consumo de productos lácteos y sobre todo de queso, ha provocado la implantación de medidas higiénicas para reducir el riesgo de contaminación durante el procesado. Si bien es cierto que la pasteurización reduce la población microbiana de los productos tratados por calor, estos pueden contaminarse en la postpasteurización, cuyos efectos se minimizan mediante la limpieza y desinfección con productos químicos (Lopes, 1986).

La mayoría de la contaminación y defectos del producto final observados en las queserías están relacionados con deficiencias de la leche utilizada en su elaboración. Por este motivo es fundamental que la leche sea de buena calidad microbiológica, y que comience a cuidarse en la propia granja, que suele ser el eslabón más frágil de la cadena (García *et al.,* 1999). Es fundamental la limpieza y desinfección de los materiales que entren en contacto con la leche durante el ordeño (pezoneras, tubos, unidad final) y almacenamiento (cántaras y tanques de frío). Además de estas superficies, debemos incluir las cisternas para el transporte de la leche y los tanques de almacenamiento utilizados en las queserías industriales.

La leche de un animal sano es estéril en el tejido mamario y en el momento de su secreción se contamina al discurrir por el conducto galactóforo del pezón (la carga microbiana puede alcanzar la cantidad de 10^2-10^3 microorganismos/g), pero sobre todo, al salir de la mama y ponerse en contacto con heces, utensilios sucios y manos del manipulador (García *et al*., 1999). Aún aplicando unas buenas medidas de manejo durante el ordeño, es difícil la obtención de una leche con menos de 5.000 gérmenes/ml. Se trata principalmente de gérmenes saprofitos de la ubre y de los conductos galactóforos: micrococos, estreptococos lácticos y lactobacilos, fundamentalmente (Larpent, 1994).

La legislación actual (Reglamento CE 853/2004) únicamente exige en la leche cruda el recuento de gérmenes mesófilos aerobios totales, pero como agentes causantes de defectos o alteraciones en los quesos tienen interés los siguientes microorganismos (García *et al*., 1999):

- Bacterias anaerobias esporuladas: *Clostridium tyrobutyricum*.
- Coliformes.
- Levaduras fermentadoras de la lactosa.
- Bacterias psicrotrofas Gram negativas.
- *Clostridium sporogenes*.
- Bacterias termotolerantes.

Durante el almacenamiento se recomienda que la leche se mantenga en refrigeración a temperaturas < 5ºC, ya que la tasa de microorganismos de la leche se multiplica por dos, aproximadamente, al cabo de 24 horas, y por cuatro a las 48 horas de almacenamiento. A temperatura ambiente, esta tasa aumenta unas 200 veces las primeras 24 horas, y 4.000 veces tras dos días de almacenamiento (García *et al*., 1999).

El Reglamento (CE) Nº 1662/2006 que modifica al Reglamento (CE) Nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, hace referencia a la temperatura a la cual debe conservarse la leche tras el ordeño, que debe ser inferior a 8ºC, si su almacenamiento no supera las 24 horas (Anónimo 2006 d). Si por el

contrario es superior este periodo de tiempo, la temperatura de conservación será inferior a 6ºC. Como excepción se contempla que, si la leche va a ser procesada en las siguientes dos horas del ordeño, no precisará conservarse a las temperaturas anteriormente citadas.

Una gran diversidad de especies microbianas participan en los procesos de maduración de los quesos. Aunque la población total de bacterias generalmente supera las 10^9 ufc/g (Kosikowski, 1977), existe un equilibrio entre los distintos grupos microbianos influenciado por factores extrínsecos y fisicoquímicos intrínsecos como pH, actividad del agua, concentración de cloruro sódico, cultivos iniciadores añadidos, etc.

En España se elaboran un gran número de quesos frescos y curados a base de leche de cabra. Las características microbiológicas y fisicoquímicas de algunas variedades como Valdeteja (Gutiérrez *et al*., 1988), Majorero (Fontecha *et al*., 1990), Ibores (Mas *et al*., 1991), Gredos (Medina *et al*., 1992), Valdeón (López-Díaz *et al.,* 1995), Armada (Tornadijo *et al*., 1995), han sido estudiadas.

Hay que destacar la tendencia al consumo de quesos elaborados con leche cruda, la cual mantiene la microbiota natural que no es eliminada, al no ser tratados por calor (De Reu *et al*., 2002). El uso de leche cruda para la elaboración de quesos y otros productos lácteos incrementa enormemente el riesgo de contaminación por microorganismos patógenos. Es por esta razón por la que estos quesos son considerados como productos de alto riesgo por infecciones bacterianas y toxiinfecciones. En general las características microbiológicas de los quesos que se elaboran con leche cruda, dependen de la calidad de la leche, de los procedimientos y condiciones de elaboración, del personal y de las condiciones de almacenamiento (Colak, 2007).

Debemos tener muy en cuenta, que después del periodo de curado, todavía pueden permanecer algunos patógenos como *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* causando serios problemas de seguridad alimentaria a los consumidores, a pesar de añadirle

sal, de los metabolitos antimicrobianos, de la presencia de un bajo pH y niveles de humedad reducidos (Oksuztepe *et al.,* 2005).

La relación de los microorganismos de interés a valorar en los quesos (*L. monocytogenes, Salmonella spp., E. coli, S. aureus*) y en la leche (aerobios mesófilos totales) vienen recogidos en los Reglamentos (CE) 2073/2005 (Anónimo, 2005) y 853/2004 (Anónimo, 2004), respectivamente. Esta legislación no recoge los criterios microbiológicos para coliformes, pero algunos autores como Collins-Thompson *et al.* (1977), afirmaron que los recuentos de coliformes en quesos elaborados con leche cruda no deberían exceder de 10^3 ufc/g.

Tampoco la legislación actual recoge los criterios microbiológicos de hongos en quesos, pero es conveniente tenerlos en cuenta, pues algunas especies pueden producir micotoxinas, representando un grave peligro para los consumidores de estos productos, ya que la mayoría de ellas son hepatotóxicas, nefrotóxicas o neurotóxicas (Davis y Dieber, 1987). El desarrollo de la microbiota fúngica en la leche y en los productos lácteos está muy influenciado por el medio ambiente (Jordano, 1987).

Si bien en algunos quesos, como Roquefort, Camembert o Cabrales, la presencia de mohos es fundamental para conseguir su maduración y, por lo tanto, sus características diferenciales, en otros tipos de quesos, los hongos pueden llegar a provocar grandes pérdidas económicas (Serrano, *et al.,* 1997), pues su presencia puede contaminar el interior de la pasta, considerándolos como no aptos para el consumo. Durante la maduración de los quesos en las cámaras, los hongos suelen cubrir la corteza sin llegar a contaminar el interior.

1.4.1.1. Microorganismos referentes como criterios de Seguridad Alimentaria

Los criterios de seguridad alimentaria definen la aceptabilidad de un producto o un lote de productos alimenticios y son aplicables a los productos comercializados.

Según el Reglamento (CE) 2073/2005, son criterios a tener en cuenta por las queserías como parte del sistema de autocontrol:

a) ***Listeria monocytogenes***

Se hace obligatoria la investigación de este microorganismo en el queso, según las siguientes condiciones:

Categoría de alimentos: alimentos listos para el consumo que puedan favorecer el crecimiento de *Listeria monocytogenes,* que no sean destinados a los lactantes, ni para usos médicos especiales.

Fase en la que se aplica el criterio: las muestras serán tomadas antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. El límite permitido es de ausencia en 25 g de alimento.

El *método de análisis de referencia* es EN/ISO 11290-2*,* (Anexo I del Reglamento (CE) 2073/2005).

- Características:

El género *Listeria spp.* incluye seis especies: *L. monocytogenes, L. innocua, L. ivanovii* (*subespecie ivanovii y subespecie londoniensis*)*, L. seeligeri, L. welshimeri, L. Grayi* (Bell y Kyriakides, 1998).

Es una bacteria móvil, Gram positiva, que no esporula, catalasa positiva, de forma bacilar, psicrotrofa. Germen ubicuitario que se encuentra en numerosos alimentos, carnes, hortalizas, aves de corral y alimentos marinos.

L. innocua y *L. monocytogenes* comparten el mismo hábitat ecológico y requerimientos fisiológicos y pueden crecer perfectamente en medios selectivos corrientes de *Listeria* spp. produciendo colonias que morfológicamente son indistinguibles. El aislamiento de *L. ivanovii* es muy raro en los alimentos y es considerado patógeno para los animales y excepcionalmente para el hombre.

- Incidencia:

Según un informe sobre enfermedades zoonóticas, publicado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), la incidencia de las infecciones causadas por *Listeria* en Europa está aumentando (Matute y Abadía, 2008).

L. monocytogenes puede causar listeriosis humana, enfermedad severa con una mortalidad aproximada de un 24% de los afectados. Ésta ha sido encontrada en un amplio rango de productos derivados de la leche, como el queso y más específicamente en quesos elaborados a base de leche cruda, los cuales han sido ampliamente investigados, pues es bien conocida su relación con los casos por listeriosis (Farber y Peterkin, 1991; Ramsaran *et al*., 1998).

La aparición de graves brotes de listeriosis humana a partir del año 1985, cuyo origen estuvo en productos como quesos blandos, vegetales, leche mal pasteurizada y paté entre otros, puso de manifiesto la posible infección a través de los alimentos. Así en 1985, el consumo de queso tipo Mexicano elaborado en California fue el responsable de una intoxicación de más de 142 personas, incluyendo 42 muertos (Linnan *et al.,* 1988). La causa fue debida a una fuga de leche por un excesivo volumen en el pasteurizador, no asegurando la destrucción de la listeria durante el tratamiento térmico (Silva *et al*., 2003).

En los años 90 se produjeron varios brotes epidémicos que afectaron a un gran número de consumidores en diferentes países: Francia en 1992 (Anónimo, 1992), Estados Unidos en 1998 (Anónimo, 1998 d) y Finlandia en 1998 y 1999 (Lyytikäinen *et al*., 2000). En España, entre los años 89 y 98 se notificaron 208 casos de listeriosis al Sistema de Información Microbiológica. El año con mayor número de casos notificados fue en 1992 con 27 casos, de los que 12 pertenecían a un solo brote (Sánchez, 1998).

Incidencia en Canarias:

Al sistema de Declaración Obligatoria se comunicó un brote de listeriosis, cuyos casos procedían de varios municipios de la isla de Gran Canaria. El primer caso apareció en diciembre de 1991 y el último en mayo de 1993. Afectó a 24 personas, 5 de ellas fallecieron y se produjeron cuatro abortos como consecuencia de la enfermedad. A pesar de haberse realizado estudios descriptivos y analíticos y de tener sospechas fundadas sobre la implicación del consumo de un alimento determinado, el estudio de casos-controles no fue concluyente y no se descubrió el alimento responsable del brote, aunque todas las sospechas apuntaban al consumo de queso (Sánchez, 1998). Posteriormente, entre 1998 y 2007 se registraron un total de 53 casos de listeriosis. El año con mayor número de casos fue 2004 con 11, seguido de 2005 (10) y 2006 (9), mientras en el año 2000 no hubo ningún caso. Para el año 2004 la tasa de incidencia acumulada fue de 0,6 casos por 100.000 hab. (Matute y Abadía, 2008).

- **Importancia:**

Hay que resaltar la importancia de la comunicación, declaración e investigación de brotes de esta etiología, pues las nuevas tecnologías en el tratamiento de ciertas enfermedades, la aparición cada vez mas frecuente de personas inmunocomprometidas, los nuevos hábitos alimentarios y las nuevas tecnologías de procesamiento y almacenamiento de alimentos hacen que sea la listeriosis una de las enfermedades más actuales de nuestro tiempo (Tello y Sánchez, 1992).

- Supervivencia en el medio:

Numerosos estudios han demostrado que la supervivencia o crecimiento de *L. monocytogenes* depende de las condiciones durante la elaboración, maduración y almacenamiento del queso. Entre los parámetros técnicos que podrían afectar al comportamiento de *L*. *monocytogenes* están la naturaleza y actividad de los cultivos

iniciaciadores, la proporción y capacidad de acidificación, así como la humedad y temperatura durante la maduración (Bradshaw *et al.,* 1985).

La pasteurización de los alimentos es suficiente para su destrucción, aunque es una bacteria común en el ambiente y se encuentra en las instalaciones y equipos de las industrias lácteas y cárnicas. Este hecho junto con la capacidad de crecer a temperaturas de refrigeración y a valores de a_w inferiores a 0,93 y teniendo en cuenta la gravedad de la enfermedad que produce en el hombre, hace que se estén tomando medidas preventivas muy severas. Bradshaw *et al*. (1985), estudiaron la resistencia térmica de la *L. monocytogenes* asociada con la leche y concluyeron que la bacteria no sobrevive a los procesos de pasteurización. Este hecho deja claro que esta bacteria produce listeriosis cuando los productos lácteos son mal pasteurizados o cuando ocurre una contaminación posterior al tratamiento térmico (Lopes, 1986). La diversidad ambiental que existe en las queserías junto a la gran cantidad de superficies que entran en contacto con el queso o la leche a lo largo del proceso de elaboración, proporciona a estos microorganismos la posibilidad de colonizarlos.

La presencia de *L. monocytogenes* en la leche puede ser intracelular o extracelular; ambas formas son destruidas durante la pasteurización, aunque son más resistentes al calor las intracelulares, por lo que la presencia de un gran número de bacterias podrían sobrevivir a una mínima pasteurización (HTST) (Bunning *et al.,* 1988).

El riesgo de contaminación postpasteurización por *L. monocytogenes* de los productos lácteos plantea una seria amenaza, mayor que el riesgo de la supervivencia durante el tratamiento térmico, hecho documentado por Dairy Safety Initiatives Program of the Food and Drug Administration. En todas las contaminaciones de productos lácteos por *Listeria,* la fuente de contaminación fue ambiental y no por deficiencias en el proceso de pasteurización (Kozak *et al*., 1996). La prevención de la contaminación postprocesado de los productos lácteos merece una nueva atención y debería ser más prioritaria que los asuntos de inadecuados estándares mínimos de pasteurización HTST (Kozak *et al.,* 1996).

- Medios de cultivo:

Dada su patogenicidad y alta mortalidad, es fundamental su control a través de sistemas APPCC y la verificación microbiológica mediante métodos de identificación alternativos a los tradicionales que acorten el periodo de identificación.
La desventaja del método de referencia para la detección de *L. monocytogenes* (NF EN ISO 11290-1), desde el punto de vista de la industria agroalimentaria, es que se necesitan más de 7 días para su identificación y, además, este método con frecuencia no es lo suficientemente sensible para los alimentos contaminados con *L. monocytogenes* y *Listeria spp*. (Artault *et al.,* 2000). De ahí que la industria alimentaria y los laboratorios microbiológicos recurran a técnicas que acortan este periodo de identificación de *L. monocytogenes*, mediante el uso de medios cromogénicos como el Agar Aloa, Agar Ottaviani-Agosti (ISO 11290-2/A1), o técnicas serológicas.

Según el estudio de Artault *et al.* (2000), en la validación del método ALOA por parte de AFNOR, el límite de detección, es de 10 a 100 ufc/ml con el caldo de enriquecimiento Fraser, y el límite de sensibilidad permite la detección de niveles bajos de contaminación (<10 ufc/25 g).

Para la identificación y confirmación de la *L. monocytogenes* se puede utilizar el sistema comercial API el cual identificó el 85% de las especies y subespecies de listeria sin necesidad de tests complementarios (Bille *et al.,* 1992). Este test diferencia *L. monocytogenes de L. innocua,* que son las especies mayoritarias aisladas a partir de los alimentos, basándose en la presencia o ausencia de la arilamidasa (DIM test), la hidrólisis de la esculina, la presencia de a-manosidasa, y la producción de ácido a partir de D-arabitol, D-xilosa, L-rhamnosa, a-metil-D-glucosa, D-ribosa, glucosa-1-fosfato y D-tagatosa, y, finalmente, a partir de la hemólisis que distingue *L. monocytogenes* (hemolítica y patógena) de *L. innocua* (no hemolítica y no patógena). Este sistema reduce considerablemente el tiempo necesario para la identificación convencional, dando resultados fiables a partir de las 18 a 24 horas (Trepat, 2002).

b) ***Salmonella spp.***

Se hace obligatoria la investigación de este microorganismo en el queso, según las siguientes condiciones:

Categoría de alimentos: quesos hechos a base de leche cruda o sometida a tratamiento térmico inferior a la pasteurización, listos para el consumo que puedan favorecer el crecimiento de *Salmonella spp.,* que no sean destinados a los lactantes, ni para usos médicos especiales.

Fase en la que se aplica el criterio: las muestras serán tomadas antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido. El límite permitido es de ausencia en 25 g de alimento.

El *método de análisis de referencia* es EN/ISO 6579 (Anexo I del Reglamento (CE) 2073/2005).

- Características:

Según lo descrito en Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994), el género *Salmonella* se subdivide en cinco subgéneros distintos, donde el primero agrupa todas las salmonelas típicas patógenas que se encuentran en el contenido intestinal de los animales de sangre caliente.

Es una bacteria que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, bacilo Gram negativo, asporógeno, facultativamente anaerobio, catalasa positivos, oxidasa negativo y generalmente es móvil con flagelos peritricos. La mayoría de los miembros de esta familia se encuentran en el tracto intestinal de los humanos y de los animales, ya sea como patógenos o como comensales.

- Incidencia:

En la actualidad, las salmonelas son universalmente consideradas como una de las causas más importantes de enfermedad transmitida por alimentos (Adam y Moss, 1997). Incluso un reducido número de salmonelas han sido apuntadas como causa de enfermedad en algunas TIAs donde fueron realizados análisis cuantitativos (Anónimo, 1999 a).

Asímismo, S*almonella spp.* es el patógeno al que se destinan más recursos económicos para su detección y prevención como agente causal de TIAs, debido a su amplia distribución en el medio ambiente, a su patogenicidad, a su prevalencia en la cadena alimentaria (sobre todo en huevos y carnes), a su resistencia a las condiciones adversas y a su virulencia. A pesar de estos esfuerzos su incidencia ha aumentado en los últimos 10 años, al contrario que otros patógenos. La ubicuidad de *Salmonella spp.* asegura la preeminencia de este patógeno en la cadena alimentaria global y su importancia como agente causal de toxiinfecciones alimentarias. (D´Aoust, 1994; Anónimo, 1998 c).

Salmonella spp. es todavía uno de los mayores patógenos de los alimentos, si bien comparando la incidencia en la carne y en los huevos crudos, con los productos lácteos, incluidos los quesos de leche cruda, estos últimos resultan ser un vector menos importante para su transmisión de las infecciones por *Salmonella spp*.

Parece que el tipo de bacterias presentes en los quesos, la proporción de su inóculo y la cantidad de ácido láctico producido durante la fermentación poseen además de una acción inhibidora del crecimiento, una acción bactericida sobre las salmonelas.

En 1998, se produjo en Canadá una importante intoxicación por *Salmonella enteritidis* asociada al consumo de queso, con casi 700 casos distribuidos por varias provincias del país, los afectados fueron mayoritariamente niños. De un lote de queso Cheddar envasado en porciones fue aislada la *Salmonella enteritidis*, determinándose como la causa de la intoxicación, siendo este lote retirado del mercado por el fabricante en pocos días (Anónimo, 1999 c). Este queso pasteurizado no había sido relacionado antes con toxiinfecciones por *Salmonella enteritidis*. Sin embargo, sí habían sido informadas toxiinfecciones por otros serotipos de *Salmonella* como *typhimurium, heidelberg, oranienburg, javiana, berta, dublin,* y *paratyphi* (Desenclos *et al.,* 1996; D'Aoust *et al.,* 1985). En casi todos estos casos el queso fue elaborado con leche cruda o contaminado con ésta durante su elaboración.

- Importancia:

Salmonella spp. ha sido encontrada en queso Cheddar después de 7 a 10 meses de curado, dependiendo de la temperatura de conservación (D'Aoust *et al.,* 1985; El-Gazzar y Marth, 1992). Otros autores han comprobado que el incremento del nivel de sal en el queso Domiati de Egipto, de 60 a 100 g/l (salado en la leche) redujo el número de *Salmonella enteritidis*, que sobrevivió en el queso almacenado en frío en el primer caso más que en el segundo, si bien en ambos casos se detectaron salmonelas viables hasta las 13 semanas. Naguid *et al.* (1979), encontraron que *Salmonella tiphy* desapareció a los 34 y 16 días del queso Domiati preparado con 5% y 10% de sal respectivamente. Estas diferencias pudieron ser debidas a las características intrínsecas de cada serotipo.

En la misma línea se encuentran los estudios de D´Aoust, *et al*., 1989, quien resaltó el riesgo de preparar queso con leche cruda y la conveniencia de almacenar los quesos durante un periodo de 60 días para eliminar la posible contaminación de patógenos.

Se requieren rigurosos muestreos para identificar los patógenos debido a que la bacteria tiene una distribución heterogénea en el alimento. Las bacterias son protegidas de los ácidos del estómago por el alto contenido en grasa del queso (D´Aoust *et al*., 1989). El queso es un alimento listo para el consumo, pero incluso una pequeña contaminación puede suponer un riesgo para la salud humana, por lo que es esencial garantizar un estándar de alta seguridad en estos productos.

La Tabla 6 muestra algunos datos sobre TIAs por *Salmonella spp. y L. monocytogenes,* por consumo de queso en diferentes países (De Buyser *et al*., 2001).

- Cultivo:

En los procedimientos de detección de *Salmonella spp*. hay una serie de pasos que se deben seguir, incluyendo un preenriquecimiento y enriquecimiento en medio líquido, una diferenciación selectiva en placa, un aislamiento, una caracterización bioquímica y finalmente, una confirmación serológica de la bacteria aislada (ISO 6579, 2002).

Tabla 6. Toxiinfeciones por *Salmonella spp.* y *L. monocytogenes* con diferentes tipos de queso como alimento implicado en diferentes países.

País	Año	Microorganismo	Tipo de queso	Casos/muertos
Italia	1981	*Salmonella spp.*	Mozzarella	>100
USA	1981	*Salmonella spp.*	Mozzarella	321/2
Suiza	1983/87	*L monocytogenes*	Vacherin Mont D`or	122/33
Canadá	1984	*Salmonella spp.*	Cheddar	>1700
Finlandia	1985	*Salmonella spp.*	Queso de granja	35
USA	1985	*L monocytogenes*	Queso fresco mexicano	142/48
Inglaterra	1989	*Salmonella spp.*	Queso fresco	42
Luxemburgo	1989	*L monocytogenes*	Camembert	2
Dinamarca	1989/90	*L monocytogenes*	Queso curado azul	26
Francia	1993	*Salmonella spp.*	Queso de cabra	273/1
Canadá	1994	*Salmonella spp.*	Queso de granja	35
Francia	1995	*Salmonella spp.*	Queso Mont D`or	25
Francia	1995	*L monocytogenes*	Queso Brie de Meaux	36/11
Francia	1996	*Salmonella spp.*	Queso Mont D`or	14

Métodos inmunológicos en microbiología de los alimentos.

Los métodos inmunológicos se basan en la reacción específica entre un antígeno y un anticuerpo poli o monoclonal. En microbiología de los alimentos, el método inmunológico más empleado para la detección de microorganismos o sus toxinas es el ensayo ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) tipo sandwich.

Un número considerable de laboratorios de microbiología de los alimentos emplea instrumentos automatizados basados en una variante de la tecnología ELISA conocida como ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay), en la que el producto final de la reacción para la detección de los patógenos alimentarios mencionados es fluorescente en lugar de cromogénico (VIDAS, bioMérieux). Este método automatizado, que acorta

considerablemente el tiempo de detección de diversos microorganismos y sus toxinas, es empleado con frecuencia para *L monocytogenes* y *Salmonella spp.*

1.4.1.2. Microorganismos referentes como criterios de higiene de los procesos

Un criterio de higiene del proceso indica el funcionamiento aceptable del proceso de producción. Este criterio, que no es aplicable a los productos comercializados, establece un valor de contaminación indicativo por encima del cual se requieren medidas correctoras para mantener la higiene del proceso conforme a la legislación alimentaria.

Según el Reglamento (CE) 2073/2005, son criterios microbiológicos de higiene de los procesos a tener en cuenta como parte del sistema de autocontrol de las queserías:

a) *Escherichia coli*

Se hace obligatoria la investigación de este microorganismo en el queso según las siguientes condiciones:

Categoría de alimentos en los que se aplica: quesos hechos a base de leche o suero sometido a tratamiento térmico.

Fase en la que se aplica el criterio: en el momento, durante el proceso de fabricación, en el que se prevea que el número de *E. coli* será máximo, siendo el límite permitido *m* 100 ufc/g. y *M* 1.000 ufc/g.

La actual legislación no recoge criterios microbiológicos sobre *E. coli* para quesos elaborados con leche cruda, únicamente para aquellos quesos que hayan sufrido un tratamiento térmico, entendiendo como tal el calentamiento por encima de los 42ºC (Anexo I del Reglamento (CE) 2073/2005).

Acción en caso de resultados insatisfactorios: mejoras en la higiene de la producción y en la selección de las materias primas.

El *método de análisis referencia* es EN/ISO 16649-1.

- Características:

E. coli pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*; es un germen de forma bacilar, aerobio o anaerobio facultativo, casi siempre móvil, Gram negativo, no esporulado, catalasa positivo, oxidasa negativo, fermenta la lactosa produciendo gas y ácido (Adams y Moss, 1997).

Es un huésped habitual del intestino de los animales y los hombres, resultando generalmente un comensal inofensivo, aunque puede ser un patógeno oportunista. Existen cepas (serotipos) enteropatógenas para el hombre, responsables de diarreas o cuadros más graves.

Vive poco tiempo fuera del ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente, relacionándose con la contaminación fecal de las redes de abastecimiento de agua y los manipuladores de alimentos contaminados, así como con alimentos crudos o poco cocinados. No sobrevive a la pasteurización, ni los tratamientos prolongados de congelación. Las especies como *Enterobacterias aerógenes* y *E. coli* son capaces de fermentar la lactosa con formación de gas, causando una hinchazón temprana del queso (Gaya *et al.,* 1986).

- Incidencia:

E. coli ha sido implicado en numerosos brotes relacionados con una gran variedad de alimentos: agua, leche, carne, hortalizas, sushi, ensaladas, brotes de alfalfa y zumo de manzana (Buchanan y Doyle, 1997), así como leche no pasteurizada y productos lácteos (Anónimo, 1998 a; Anónimo, 1999 b). Los brotes causados por el serotipo O 157: H7 de EHEC han implicado principalmente a la carne picada insuficientemente cocinada y accidentalmente a la leche pasteurizada.

El riesgo de infección es alto aunque la dosis infectiva del *E. coli* O157:H7 sea baja, entre 10–20 ufc/g (Bolton *et al*., 1996), 1–700 ufc/g (Tilden *et al*., 1996), lo que la hace potencialmente muy peligrosa si la comparamos con otros microorganismo que necesitan una dosis infectiva mucho mayor.

E. coli enteropatógeno ha sido implicado en casos de gastroenteritis en USA tras el consumo de queso Camembert conteniendo 10^5 -10^6 *E. coli* /g (Marier *et al*., 1973).

Un estudio de Wang *et al*. (1997) sobre la supervivencia de *E. coli* O157:H7 inoculado en leche cruda y pasteurizada mostró que los patógenos sobrevivían a 5ºC, 28 días, incrementando su número a 8ºC y 15ºC, con un crecimiento más rápido en esta última temperatura. En quesos elaborados con leche cruda, la supervivencia de *E. coli* O157:H7, fue de 70 días después de la elaboración (Maher *et al.,* 2001); esto indicaría que el periodo de curado puede no ser suficiente para eliminar *E. coli* O157:H7 del queso (Altekruse *et al*., 1997).

- Importancia:

La mayoría de los serogrupos de *E. coli son* comensales inofensivos, pero un limitado número de serotipos son responsables de las diarreas y otros tipos de enfermedades más graves. *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) son los serotipos más patógenos, produciendo las verotoxinas o shiga toxinas (VTEC), siendo reconocidos como los responsables de las colitis hemorrágicas (HC) y de las diarreas asociadas a la forma del síndrome urémico hemolítico (HUS), (Hewelink *et al.,* 1998). La mayoría de la clínica tipo EHEC pertenece a *E. coli* O157:H7.

La leche de vaca, la leche pasteurizada, el yogurt y el queso han sido implicados en los casos de O157 VTEC, (Hewelink *et al*., 1998; Ramsaran *et al.*, 1998).

E. coli O157: H7 puede no ser eliminado del queso de cabra hecho con leche cruda, porque estos microorganismos toleran pH bajos (Jordan *et al.,* 1999), bajas temperaturas (Wang *et al.,* 1997) y concentraciones de sal del 8,5% (Glass *et al.,* 1992), lo cual caracteriza la elaboración y el proceso de curado. Así lo confirman

estudios (Vernozy, 2005) que detectaron la presencia de un número significativo de *E. coli* O157: H7, en quesos lácticos inoculados previamente tras una maduración de 42 días. Lo mismo ocurrió durante la elaboración de queso Cheddar (Reitsma y Henning, 1996), tras 158 días de curado después de haber sido inoculado con 10^3 ufc/ml. Sin embargo, este microorganismo fue inactivado durante la pasteurización de la leche inoculada con *E. coli* O157: H7, para la elaboración de queso Cottage (Arocha *et al.,* 1992). En quesos tipo Cottage o Mozzarella, donde la cuajada es calentada a altas temperaturas, el *E. coli* O157: H7 es incapaz de sobrevivir en el queso, lo cual no implica que estos quesos no puedan transmitir el *E. coli* patogénico si la leche es contaminada en fases posteriores (Vernozy, 2005).

b) Estafilococos coagulasa positivos

Se hace obligatoria la investigación de este microorganismo en el queso según las siguientes condiciones:

Categoría de alimentos en los que se aplica:

1. Quesos hechos a base de leche cruda.
2. Quesos hechos a base de leche sometida a un tratamiento térmico inferior a la pasteurización y quesos madurados hechos a base de leche o suero sometidos a pasteurización o a tratamientos más fuertes que la pasteurización.
3. Quesos frescos no madurados hechos a base de leche o suero sometida a pasteurización o a tratamientos más fuertes.

Fase en la que se aplica el criterio: se aplicará en el momento del proceso de fabricación, en el que se prevea que el número de estafilococos será máximo para los quesos 1 y 2, y al final del proceso de fabricación para 3.

Acción en caso de resultados insatisfactorios: se procederá con mejoras en la higiene de la producción (1, 2, 3) y selección de las materias primas (1 y 2). Si se detectan valores $>10^5$ ufc/g, el lote de quesos deberá ser sometido a pruebas para enterotoxinas estafilocócicas.

Los límites permitidos son:
m 10^4 ufc/g y *M* 10^5 ufc/g para (1)
m 100 ufc/g. y *M* 1.000 ufc/g para (2)
m 10 ufc/g. y *M* 100 ufc/g para (3).

El *método de análisis de referencia* es EN/ISO 16888-1 ó 2 (Anexo I del Reglamento (CE) 2073/2005).

- Características:

S. aureus es un coco Gram positivo, que forma células globosas de 1 µm de diámetro. Son microorganismos catalasa positivos, oxidasa negativos y anaerobios facultativos. Producen enterotoxinas termorresistentes, cuya producción se ve afectada en condiciones de anaerobiosis.

Se cree que la primera descripción de una intoxicación alimentaria causada por estafilococos es de Vaughan y Sternberg, quienes investigaron un importante brote de enfermedad en Michigan por el consumo de queso contaminado por estafilococos (Adams y Moss, 1997).

- Incidencia:

La contaminación estafilocócica es una de las primeras causas de intoxicaciones alimentarias en muchos países (Todd, 1978), incluyendo España, por lo que constituye un problema de seguridad alimentaria. La leche y los productos lácteos son un importante sustrato para el crecimiento de los estafilococos, por lo que, el queso puede aparecer frecuentemente contaminado (Anónimo, 1980). En la mayoría de las queserías artesanales, el producto puede ser hecho a mano en bateas abiertas, existiendo una alta probabilidad de contaminación (Gómez-Lucía *et. al*., 1987).

Las deficientes medidas higiénicas durante la elaboración de los alimentos constituyen el mayor riesgo de contaminación, estando las toxiinfecciones estafilocócicas asociadas frecuentemente con la preparación manual de los alimentos (Becker *et al.,*

2007). Aunque la leche y los productos lácteos suelen estar contaminados con *S. aureus* (Zweifel *et al*., 2006), los productos de las queserías raramente están involucrados en toxiinfecciones estafilocócicas, porque la densidad crítica de células no alcanza las10^5 ufc/g. Sin embargo, la toxina estafilocócica sí ha sido relacionada con toxiinfecciones alimentarias en productos como la leche cruda, quesos o leche en polvo (Ikeda *et al.,* 2005).

- Importancia:

La enfermedad se caracteriza por vómitos, dolor abdominal y diarreas después de las 2-6 h del consumo de comida contaminada por *S. aureus*, que produce las toxinas responsables del cuadro hemético. Los síntomas dependen de la cantidad de toxinas ingeridas y del estado de salud del afectado.

- Supervivencia en el medio:

S. aureus es un microorganismo ubicuitario Gram positivo, aislado comúnmente de la leche cruda de las granjas de ganado vacuno con mamitis. Por ello, su presencia en la leche cruda es importante para la seguridad y la calidad de los quesos producidos de forma tradicional (Delbes *et al.,* 2006). *S. aureus* puede llegar a acceder a cualquier leche por la excreción directa de las ubres con mamitis estafilocócicas clínicas o subclínicas y por contaminación externa (Cremonesi *et al.,* 2007). La contaminación de los alimentos con estafilococos puede tener lugar en varios estadíos que van desde la producción, hasta la venta y distribución (Poda *et al*., 1995). Es frecuente que la contaminación sea de origen animal, con una baja incidencia en la leche de vaca (Harvey y Gilmour, 1985) y mucho mayor en la de oveja (Gutiérrez *et al*., 1982). Los estafilococos coagulasa positivos han sido también encontrados en leche de cabra en niveles similares a los de leche de oveja (Valle *et al*., 1990).

Si el estafilococo está presente en los primeros estadíos de la elaboración del queso, puede permanecer en el producto, multiplicarse y producir enterotoxinas, dadas las condiciones nutritivas del medio y el largo tiempo de curado (Gómez-Lucía *et al*., 1987). No obstante, numerosos investigadores han observado cómo los cultivos del

fermento añadido pueden detener su crecimiento (Haines y Harmon, 1973). Hay factores que pueden afectar a la producción de toxinas sobre el alimento, como la concentración de NaCl, la temperatura, pH, condiciones climáticas y la presencia de microbiota competitiva (Brasca *et al.*, 2005).

Gómez-Lucía *et al.* (1987), describieron que en los quesos manchegos inoculados con *S. aureus* a una concentración de 2 10^4 bacterias/ml, a los que se les había añadido cultivos iniciadores al 1% y al 0,1% respectivamente, *S. aureus* después del salado, habían crecido unas 10 veces más en los quesos con un 0,1% que en los del 1%. La variación del pH en los diferentes estadíos de elaboración entre ambos tipos de quesos inoculados, no fue significativa. Altos valores de pH no correspondieron con un mayor crecimiento de *S. aureus*. La concentración de los cultivos iniciadores no pareció afectar el valor del pH, en el queso Manchego, así que, la parada del crecimiento de los estafilococos debió ser por otro factor. Diferentes resultados encontró Todd *et al.* (1981), quien comprobó que para un leve incremento del valor del pH en el queso de 5,5 a 5,7, las cantidades de *S. aureus* aumentaron de 10^2 a 10^7 ufc/g.

- Cultivos:

La detección de *S. aureus* y de la toxina en alimentos es complicada, porque los tratamientos alimentarios pueden eliminar la bacteria sin destruir la toxina, que es estable a altas temperaturas y al tránsito gastrointestinal. Los métodos para la detección de la toxina están basados en cultivos microbiológicos tradicionales o métodos inmunológicos, ELISA, ELFA y RPLA (Cremonesi *et al.,* 2007*).* Existen algunas desventajas asociadas con los cultivos microbianos, tales como el tiempo empleado, costes y el límite de detección de la toxina, que es mayor que el nivel requerido para la intoxicación estafilocócica (Cremonesi *et al*., 2007).

c) Aerobios mesófilos

Según el Reglamento (CE) nº 853/2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, se recogen en el Anexo III, Sección IX,

los criterios microbiológicos de la leche cruda de vaca y de otras especies destinadas a la elaboración de productos lácteos.

Los operadores de empresas alimentarias deberán iniciar procedimientos para garantizar que la leche cruda cumpla los siguientes criterios:

- La leche cruda de vaca:
Colonias de gérmenes a 30°C (por ml) ≤ 100.000*
- La leche cruda procedente de otras especies:
Colonias de gérmenes a 30°C (por ml) ≤ 1.500.000*

Sin embargo, en caso de que se destine leche cruda procedente de especies distintas de la vaca a la fabricación de productos realizados con leche cruda mediante un proceso que no implique ningún tratamiento térmico, los operadores de empresa alimentaria deberán adoptar medidas para garantizar que la leche cruda utilizada cumpla los siguientes criterios:

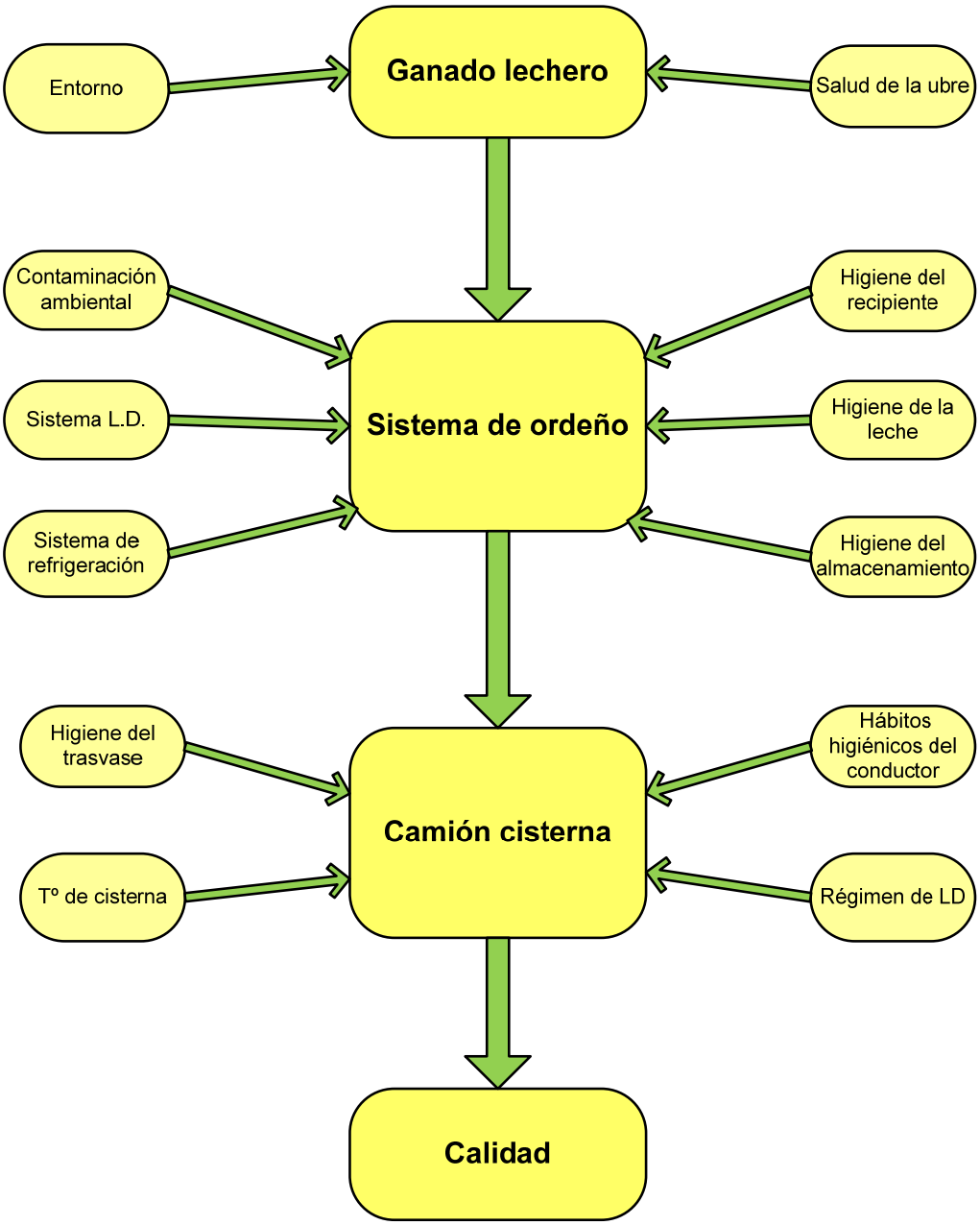
Colonias de gérmenes a 30°C (por ml) ≤ 500.000*
*(media geométrica móvil observada durante dos meses, con dos muestras, por lo menos al mes).

La microbiota de la leche dependerá de múltiples factores como del estado sanitario del ganado, del manejo de los animales durante el ordeño y de la conservación de la leche hasta su transformación (Figura 6, adaptada de Limsowtin y Powell, 1996).

Los microorganismos mesófilos dan una estimación de la población viable total y son indicativos de la microbiota endógena y de la contaminación exógena por los materiales (Ponce *et al.,* 2002).

Los microorganismos psicrófilos pueden crecer durante la conservación de la leche a 6ºC, aunque son inactivados por la pasteurización; las enzimas que éstos producen son termorresistentes y continúan su acción proteolítica y lipolítica tras el tratamiento térmico, causando problemas de aromas (Burton, 1986).

Figura 6. Factores que influyen en la microbiota final de la leche.



I.4.2. Toxiinfecciones alimentarias por consumo de queso

Las toxiinfecciones alimentarias (TIAs) se definen como:

- Síndromes generalmente gastroentéricos, con principal sintomatología tóxica, producida por determinados gérmenes o sus toxinas, vehiculados por los alimentos que se elaboraron y/o consumieron en un mismo lugar y que afectan a más de un consumidor (brote colectivo).

Dentro del concepto de TIAs, se incluye el de "intoxicación alimentaria", entendiéndose que son aquellas que ocurren como consecuencia de la ingestión de alimentos que llevan en su composición sustancias tóxicas de origen químico o microbiano (toxinas microbianas).

Los brotes transmitidos por alimentos suponen un problema de salud pública, pudiendo ocasionar graves consecuencias en algunos grupos de población, además de tener importantes repercusiones económicas.

A continuación, se contemplan los datos epidemiológicos de las TIAs producidas por los microorganismos de interés en los quesos, según la Directiva (CE) 2073/2005.

I.4.2.1. Toxiinfecciones alimentarias en la Unión Europea

La información de los brotes alimentarios investigados en los Estados Miembros de la Unión Europea (UE) en el año 2007 (Anónimo, 2009 b) está basada en la Directiva 2003/99/EC y fue publicada por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria en el año 2009.

En 2007 un total de 5.609 brotes fueron comunicados por los Estados Miembros, lo que supone un descenso del 2,2% comparado con los datos del 2006. De todos los brotes comunicados, 2025 (36,1%) fueron clasificados como confirmados. Éstos afectaron a 39.727 personas, con 3.291 hospitalizados, causando 19 muertes. El ratio medio comunicado a la UE fue de 1,13 brotes por cada 100.000 habitantes y 0,51 para

los brotes confirmados. El agente causal fue conocido en tres de cada cuatro brotes alimentarios.

Salmonella spp. fue, como en años anteriores, la causa más común de los brotes alimentarios comunicados en la UE. Los veintidós Estados Miembros comunicaron 2.201 brotes por *Salmonella spp.,* de los cuales el 26,8% fueron confirmados. Los 590 brotes confirmados de *Salmonella spp.* afectaron a 8.922 personas, resultaron hospitalizados 1.773 y causaron la muerte a diez. *S. enteritidis* fue el serotipo involucrado más común y los huevos y ovoproductos fueron los alimentos más frecuentemente implicados en estos brotes.

Catorce Estados Miembros informaron de 65 brotes causados por ***E. coli*** patógeno, los cuales constituyeron el 1,2% del total de brotes alimentarios en la UE, de los cuales el 44,6% fueron verificados. Los 29 brotes por *E. coli* confirmados afectaron a 541 personas y provocaron 24 hospitalizaciones.

El queso estuvo implicado en 2 brotes alimentarios causados por *E. coli*, lo que supone el 8,3% del total de brotes de la UE. El número de casos fue de 14, con 1 de ellos hospitalizado, pero sin ninguna defunción.

Los brotes causados por toxinas bacterianas producidas por ***Bacillus* spp., *Clostridium spp.*** o ***Staphylococcus spp.*** fueron comunicados por dieciocho Estados Miembros como causa de 458 brotes, de los cuales el 93,2% fueron confirmados. Los 427 brotes confirmados causados por toxinas bacterianas afectaron a 6.277 personas, con 345 hospitalizaciones, causando cuatro muertes.

Diez Estados Miembros informaron de un total de 105 brotes de origen alimentario causados por *Bacillus spp.*, de los que el 97,1% de éstos fueron confirmados. El número total de brotes causados por toxinas de *Bacillus spp.* dentro de la UE se incrementó en un 41,9% en 2007. Trece Estados Miembros informaron de 95 brotes de origen alimentario causados por *Clostridium spp.*, siendo el 95,8% confirmados. Dieciséis Estados Miembros informaron de 258 brotes causados por *Staphylococcus*.,

constituyendo el 4,6% del número total de brotes informados a la UE y de los cuales el 90,7% fueron confirmados.

Para *S. aureus* y *Staphylococcus spp.*, el queso fue el alimento implicado en 15 y 2 brotes alimentarios respectivamente, lo que supone el 3,8 % y 0,5% del total de brotes de la UE. El número de casos de *S. aureus* fue de 90, de los cuales 54 fueron hospitalizados y 8 de *Staphylococcus spp.,* de los cuales 4 fueron hospitalizados, pero sin ninguna defunción en ambos casos.

Aquellos brotes causados por otros agentes bacterianos, como ***Yersinia spp.***, ***Listeria spp.***, ***Shigella spp.***, ***Enterobacter spp.*** **y** ***Citrobacter spp.***, fueron menos numerosos. Además, se comunicaron un número de brotes provocados por parásitos fueron comunicados, siendo la mayoría de ellos causados por ***Trichinella spp.*** y relacionados con el consumo de carne de cerdo y jabalí no inspeccionada.

En cuanto a ***Campylobacter spp.,*** diecisiete Estados Miembros comunicaron un total de 461 brotes alimentarios de campilobacteriosis humana, constituyendo el 8,2% del número total de brotes alimentarios comunicados en la UE.

Otras bacterias como ***Listeria spp., Shigella spp., Citrobacter spp., Francisella spp., Enterobacter spp.,*** etc. pueden también causar brotes de origen alimentario. Ocho Estados Miembros informaron de un total de 40 brotes de origen alimentario causados por estos agentes bacterianos, lo que constituye el 0,7% del número total de brotes en la UE. 17 de estos brotes fueron confirmados. Un total de 497 casos fueron registrados y el total de hospitalizaciones en la UE fue de 6,4%, es decir, 32 casos.

En la Figura 7, se presentan el número de brotes comunicados y confirmados por estados miembros de la UE.

En la Figura 8, se muestra en %, la frecuencia de los alimentos implicados como responsables de TIAs, de todos los casos confirmados en Europa, en 2007.

Figura 7. Número de toxiinfecciones comunicadas (possible) y confirmadas (verified) alimentarias en Europa 2007.

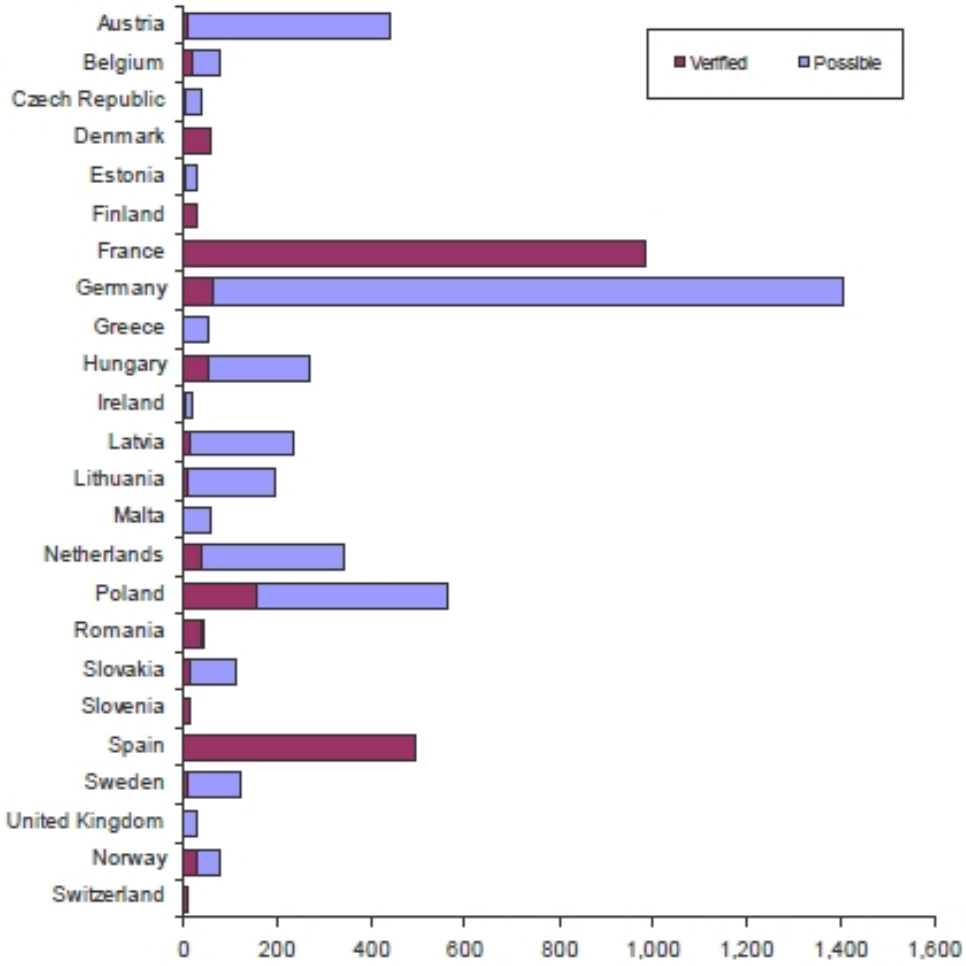
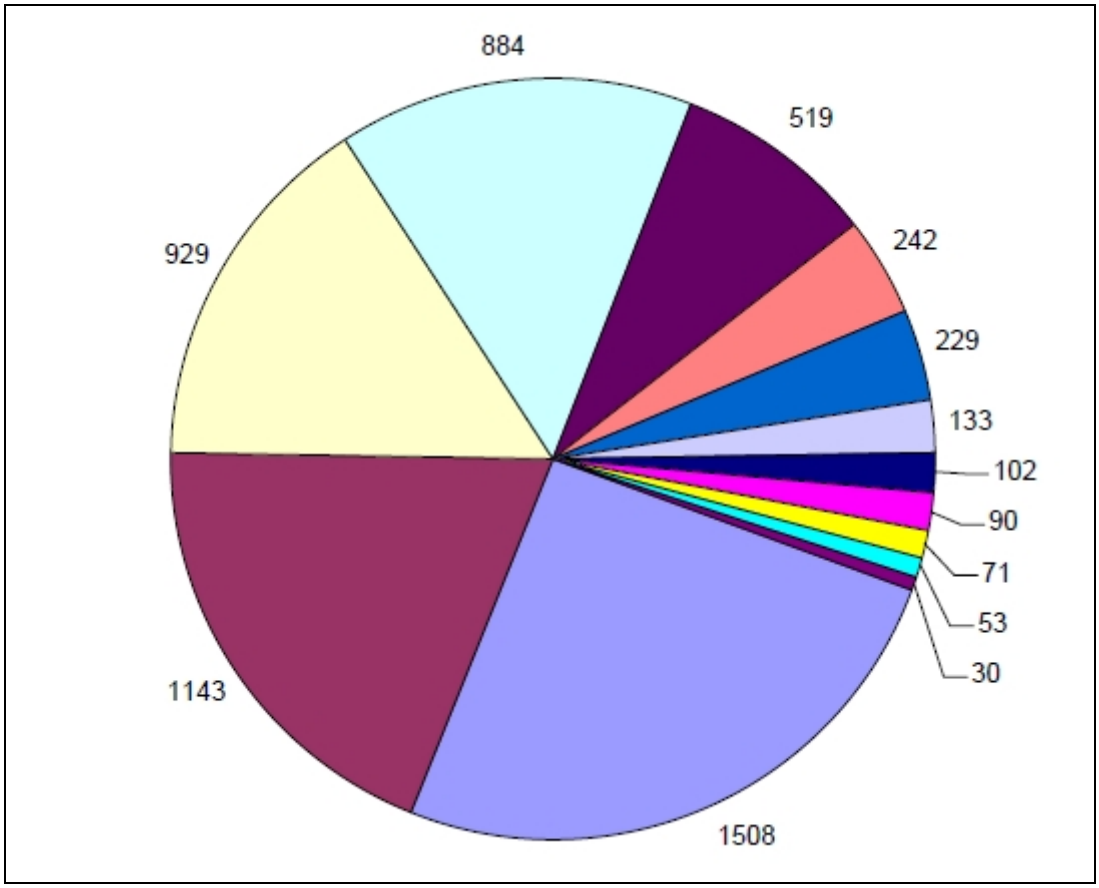


Figura 8. Distribución de la frecuencia de los alimentos implicados en TIAs en la UE, (2007).



Nota: datos incluidos de 2005 brotes: AT (11), BE (21), CZ (4), DK (57), EE (2), FI (32), FR (984), DE (62), HU (52), IE (5), LV (15), LT (10), NL (37), PL (155), RO (37), SK (17), SI (17), ES (495) y SE (12)

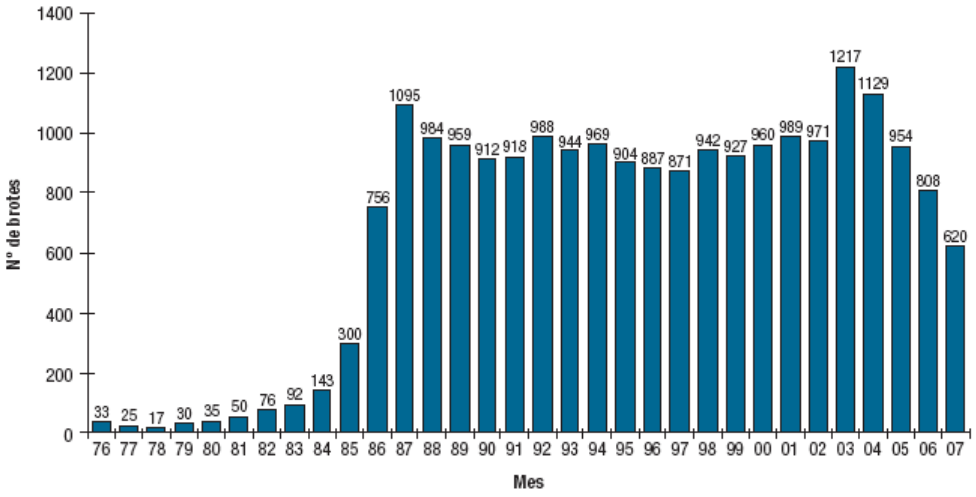
I.4.2.2. Toxiinfecciones alimentarias en España

En España, el Sistema de Información de Brotes de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) aporta información sobre brotes de diferente etiología, incluyendo aquellos de transmisión alimentaria.

Entre los años 1994 y 2003, se declararon 9.641 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (excluyendo los brotes hídricos), mientras que entre los años 2004 y 2007 se notificaron al Sistema de Brotes un total de 3.511 brotes alimentarios (no hídricos), con un rango anual entre 620 y 1.217 brotes. En la Figura 9 se observa la evolución de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (excluye hídricos) en España desde 1976 al 2007. Se detecta una progresiva disminución del número total de brotes declarados desde 2003. En el periodo 2004-2007 el número de casos correspondientes al total de brotes fue de 47.286 (rango anual entre 8.354 y 15.520 casos), siendo la media de casos por brote 13,5 y la mediana 5. Se notificaron 35 defunciones en 21 brotes, 13 de los cuales se debieron a *Salmonella spp.* (61,5% del total de brotes por *salmonelosis* en los que se produjo alguna defunción se debió a *Salmonella enteritidis*).

En cuanto a los agentes causales de las TIAs producidas por bacterias entre 1994 y 2003, fue *Salmonella spp.* con 5.206 brotes declarados la principal fuente de contaminación, seguida de *Staphylococcus aureus* con 301 y en tercer lugar aquellos producidos por *Clostridium spp.* con 211 declarados, no apareciendo ningún brote producido por *Listeria monocytogenes.*

Figura 9. Brotes de TIAs en España (1976-2007)



Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

Durante el periodo 2004-2007 se sigue manteniendo el mismo orden que en el periodo anterior, donde *Salmonella spp.* aparece como primer agente causal de toxiinfecciones alimentarias, con 1688 brotes, seguido por *Staphylococcus aureus* con 114 brotes y *Clostridium spp.* con 65 brotes declarados. En este periodo sí aparecen TIAs causadas por *Listeria spp.* con 5 brotes, destacando el aumento de los declarados por *Campylobacter spp.* con un total de 28 y una media de 7 brotes por año (2004-2007) respecto a los 36 brotes y una media de 3,6 por año, durante el periodo de 1994 a 2003.

La Tabla 7 muestra los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (excluyendo hídricos) en España durante el periodo 2004-2007.

En el año 2003 hubo en toda España 18 TIAs por el consumo de queso, de los cuales 7 tuvieron como agente causal al *Staphylococcus spp.*, 5 por *Brucella spp.*, uno por *Clostridium spp.*, uno por *Salmonella spp.* y 4 de origen desconocido.

Tabla 7. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (excluye hídricos. Alimento implicado. España. 2004-2007.

ALIMENTO	2004		2005		2006		2007		2004-2007	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Huevos y ovoproductos / mayonesa	393	34,8%	318	33,3%	219	27,1%	158	25,5%	1.088	31,0%
Carne (excluye carne de ave)	43	3,8%	39	4,1%	52	6,4%	25	4,0%	159	4,5%
Carne de ave	32	2,8%	27	2,8%	29	3,6%	21	3,4%	109	3,1%
Pescado	42	3,7%	36	3,8%	39	4,8%	40	6,5%	157	4,5%
Marisco	67	5,9%	50	5,2%	43	5,3%	31	5,0%	191	5,4%
Repostería / Nata	49	4,3%	47	4,9%	30	3,7%	26	4,2%	152	4,3%
Queso	26	2,3%	25	2,6%	19	2,4%	6	1,0%	76	2,2%
Leche / productos lácteos (excluye queso y nata)	9	0,8%	6	0,6%	1	0,1%	2	0,3%	18	0,5%
Vegetales	21	1,9%	45	4,7%	40	5,0%	18	2,9%	124	3,5%
Otros	121	10,7%	95	10,0%	89	11,0%	87	14,0%	392	11,2%
Desconocido	326	28,9%	266	27,9%	247	30,6%	206	33,2%	1.045	29,8%
TOTAL	**1.129**	**100%**	**954**	**100%**	**808**	**100%**	**620**	**100%**	**3.511**	**100%**

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

De forma general podemos decir que *Salmonella spp.* a pesar de ser la primera causa de toxiinfecciones alimentarias en España durante el periodo (1993-2007), no se relaciona demasiado con las TIAs por consumo de queso, pues solamente el año 2003 hubo un caso de salmonelosis por consumo de queso y entre el año 2004-2007 fue la responsable de 6 brotes (Martínez y Varela, 2008).

No ocurre lo mismo con el *Staphylococcus aureus,* que es el segundo responsable de toxiinfecciones alimentarias para el mismo periodo analizado, y sí está relacionado con el queso como alimento implicado en los brotes confirmados como agente causal. Aunque el año 2003 fue el agente causal de 7 de los 18 casos de intoxicación por consumo de queso. A partir de este año se vio implicado como agente causal en 29 brotes de toxiinfecciones.

E. coli (enterohemorrágico) en el periodo 1993-2007 fue responsable de 9 TIAs, pero no se relacionó al queso como alimento implicado en los brotes. Durante el periodo 2003-2007 se dieron 19 casos de *E. coli*, excluyendo los producidos por *E. coli* enterohemorrágico.

Listeria monocytogenes no apareció como agente causal de TIAs alimentarias hasta 2004, mientras que durante el periodo 2004-2007 hubo 5 brotes.

En el periodo 2004-2007, de los 13 brotes producidos por *Brucella spp.*, en 12 de ellos el queso fue el alimento implicado y en 2 de estos brotes, el queso fue adquirido en un puesto de venta ambulante, aunque en ningún caso éste fue distribuido comercialmente.

En la Tabla 8 se presentan desglosados por años, el número de TIAs por consumo de queso y el agente causal, durante el período 2003-2007, en el que se registraron un total de 94 brotes.

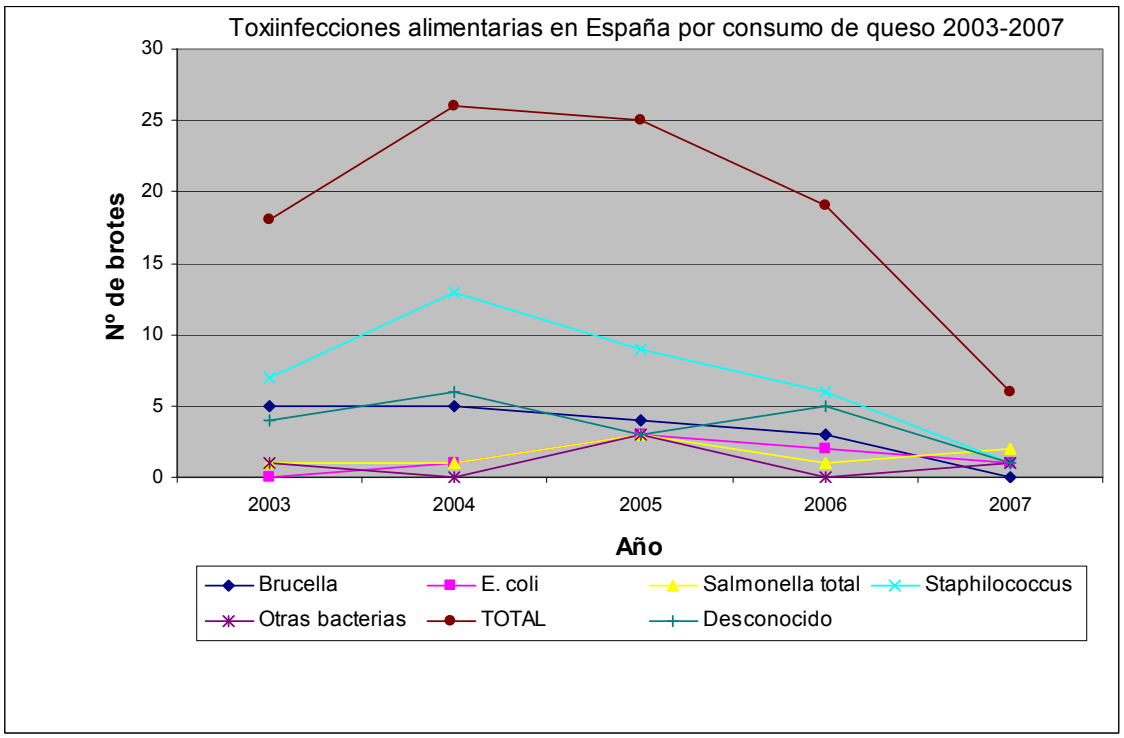
Tabla 8. TIAs por consumo de queso. Periodo 2003-2007.

Bacterias	2003	2004	2005	2006	2007	TOTAL/BACT
Brucella	5	5	4	4	0	18
C. botulinum	1	0	0	0	0	1
C. perfringens	0	0	0	0	1	1
E. coli	0	1	3	1	1	6
E. coli enterohemo	0	0	0	1	0	1
L. monocytogenes	0	0	0	0	0	0
Salmonella	1	0	3	0	1	5
S. enteritidis	0	1	0	1	1	3
Staphilococcus	7	13	9	6	1	36
Strectococcus	0	0	1	0	0	1
Otras bacterias	0	0	2	0	0	2
Sustancias químicas	0	0	0	2	0	2
Desconocido	4	6	3	5	1	19
TOTAL/AÑO	18	26	25	19	6	94

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

La Figura 10 resume las TIAs por agente causal ocurridas en España entre los años 2003 y 2007, en las que el queso fue el alimento implicado. Como se puede apreciar, el número total de TIAs descendió notablemente pasando de 26 brotes en el año 2004 a 6 en el año 2007. Se aprecia una evolución descendente de todas las especies bacterianas responsables de los brotes.

Figura 10. Brotes de TIAs por agente causal ocurridas en España entre los años 2003 y 2007, por queso como alimento implicado.



Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Así pues, parece necesario que los mayores esfuerzos de pevención deben ir dirigidos hacia las medidas higiénicas e implantación de sistemas de autocontrol, como medidas frente a la contaminación de la leche y del queso durante la elaboración.

En el Anexo VIII.5. se muestran las TIAs por agente causal y alimento implicado.

I.4.2.3. Toxiinfecciones alimentarias en Canarias

Los datos epidemiológicos de toxiinfecciones alimentarias recogidos por la Red Canaria de Vigilancia Epidemiológica (RCVE) de la Comunidad Autónoma de Canarias entre los años 1999 y 2004 se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Distribución anual de número de brotes en Canarias según el alimento implicado.

Alimento	1999 n (%)	2000 n (%)	2001 n (%)	2002 n (%)	2003 n (%)	2004 n (%)	Total n (%)
Carne/pollo	2 (5,7)	7 (14.6)	3 (10,3)	3 (7,7)	5 (11,1)	5 (11,4)	25 (10,4)
Huevo/mayonesa	18 (51,4)	18 (37,5)	11 (37,9)	17 (43,6)	19 (42,2)	12 (27,3)	95 (39,6)
Pastelería	4 (11,4)	10 (20,8)	1 (3,4)	4 (10,3)	2 (4,4)	4 (9,1)	25 (10,4)
Queso	5 (14,3)	4 (8,3)	5 (17,2)	10 (25,6)	6 (13,3)	10 (22,7)	40 (16,7)
Pescado/marisco	0	2 (4,2)	1 (3,4	1 (2,5)	3 (6,7)	4(9,1)	11 (4,6)
Otros	2 (5,7)	3 (6,3)	2 (6,9)	1 (2,6)	5 (11,1)	4 (9,1)	17 (7,1)
Hídricos	3 (8,6)	2 (4,2)	0	0	2 (4,4)	0	7 (2,9)
Desconocido	1 (2,9)	2 (4,2)	6 (20,7)	3 (7,7)	3 6,7)	5 (11,4)	20 (8,3)
Total	35 (100)	48 (100)	29 (100)	39 (100)	45 (100)	44 (100)	240 (100)

Como se observa, entre los años 1999 y 2004 se notificaron al RCVE un total de 240 brotes de toxiinfecciones alimentarias, donde el alimento mayoritariamente implicado fue el huevo/mayonesa, con 95 casos (39,6%) y el segundo fue el queso, con 40 casos, (16,7%), incluyéndose en estos datos todos los tipos de quesos: frescos, curados, de elaboración artesanal e industrial.

En la Tabla 10 puede observarse la distribución de brotes por años (1999-2004) según los agentes implicados.

El agente causal aislado con más frecuencia fue *Salmonella spp.*, responsable de 143 brotes, (59,6%) y en segundo lugar el *Staphylococcus spp.* responsable de 42 brotes, (17,5%), con una relación de 3,4 brotes de *Salmonella* por cada brote de *Staphylococcus spp.*

Tabla 10. Brotes según agente implicado.

Agente causal	1999 n (%)	2000 n (%)	2001 n (%)	2002 n (%)	2003 n (%)	2004 n (%)	Total n (%)
Bacillus cereus	0	0	1 (3,4)	3 (7,7)	2 (4,4)	1 (2,3)	7 (2,9)
C. perfringens	0	3 (6,3)	2 (6,9)	3 (7,7)	1 (2,2)	3 (6,8)	12 (5)
Salmonella spp.	23 (65,7)	33 (68,7)	20 (68,9)	20 (51,2)	29 (64,4)	18 (40,9)	143 (59,6)
Staphylococcus	4 (11,4)	5 (10,4)	3 (10,3)	9 (23,1)	7 (15,6)	14 (31,8)	42 (17,5)
Shigella spp.	1 (2,9)	0	0	0	0	0	1 (0,4)
Otros	3 (8,6)	3 (6,3)	1 (3,4)	0	2 (4,4)	1 (2,3)	10 (4,2)
Yersinia enter.	0	0	0	1 (2,6)	0	0	1 (0,4)
Desconocido	4 (11,4)	4 (8,3)	2 (6,9)	3 (7,7)	4 (8,9)	7 (15,9)	24 (10)
Total	35 (100)	48 (100)	29 (100)	39 (100)	45 (100)	44 (100)	240 (100)

Las estadísticas a nivel autonómico sobre la implicación del agente causal de las TIAs muestran que se sigue la misma tónica que en el resto del país. Para el mismo periodo de 6 años a nivel nacional se produjeron 3.493 casos de *Salmonella spp.* y 159 brotes de *Staphylococcus spp.,* con una relación de 21,9 brotes entre ambos agentes causales.

I.5. APPCC en queserías

El Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC) se define como una metodología con base científica y racional, que permite, por su enfoque sistemático y preventivo, identificar, evaluar y controlar los peligros asociados a la producción, procesado, manipulación, almacenamiento, transporte y distribución de los alimentos, para garantizar la ausencia de enfermedades de origen alimentario (Anónimo, 2006 a).

La Comisión del Codex Alimentarius (1997), redacta una definición para el APPCC como un sistema de control de procesos reconocido internacionalmente (Manis *et al*., 1995) para la identificación de los peligros, Puntos de Control Críticos (PCCs), medidas preventivas y para la implantación de un sistema de monitorización (Savage, 1995), así como para prevenir los problemas que ocurren en las líneas de producción de alimentos, siendo ésta la principal meta de todo sistema APPCC. Con este fin se han empleado siete principios básicos para establecer, llevar a cabo y mantener un plan APPCC, los cuales deben considerarse cuando se realiza el sistema de autocontrol de cualquier industria o establecimiento alimentario.

- Principio 1: Realizar un análisis de peligros. Preparar una lista de las etapas del proceso en las que puedan aparecer peligros significativos y describir las medidas preventivas.
- Principio 2: Identificar los Puntos de Control Criticos (PCC) del proceso.
- Principio 3: Establecer los Límites Críticos para las medidas preventivas asociadas con cada PCC.
- Principio 4: Establecer los criterios para la vigilancia de los PCC. A partir de los resultados de la vigilancia, se debe establecer el procedimiento para ajustar el proceso y mantener el control.
- Principio 5: Establecer las acciones correctoras a realizar cuando la vigilancia detecte una desviación fuera de un límite crítico.
- Principio 6: Establecer un sistema eficaz de registro de datos que documente el APPCC.

- Principio 7: Establecer el sistema para verificar que el Sistema APPCC está funcionando correctamente.

Se debe tener en cuenta que el APPCC evoluciona con el tiempo, adaptándose así a las exigencias de la industria alimentaria y a la legislación vigente. Esta rápida evolución dificulta su definición y el consenso de criterios entre los expertos.

Ningún otro aspecto de la higiene de los alimentos ha merecido mayor atención en los últimos años, no sólo a nivel de publicaciones científicas y libros, sino también de los organismos internacionales y de las administraciones sanitarias (Moreno, 2003). Su implantación es obligatoria en todos los establecimientos alimentarios desde la entrada en vigor del RD 2207/1995 (Anónimo, 1995), quedando posteriormente derogado por la entrada en vigor del RD 640/2006.

Para que el APPCC sea efectivo, es esencial que esté respaldado por un Manual de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y por un Programa de Requisitos Previos que controlen la higiene general y las condiciones ambientales en las operaciones de procesado de los alimentos (ILSI, 1999; Sperber *et al*., 1998; Wallace y Williams, 2001). El sistema APPCC evitará las TIAs sólo si es entendido y aplicado correctamente. Hay pocos registros (casos) de empresas que trabajen con pleno compromiso y entendimiento el sistema APPCC, que se hayan visto implicadas en TIAs, las cuales podrían deberse a serios defectos en sus programas APPCC o en su implantación, reflejando una falta de comprensión o compromiso hacia el sistema APPCC (Motarjemi y Kaferstein, 1999).

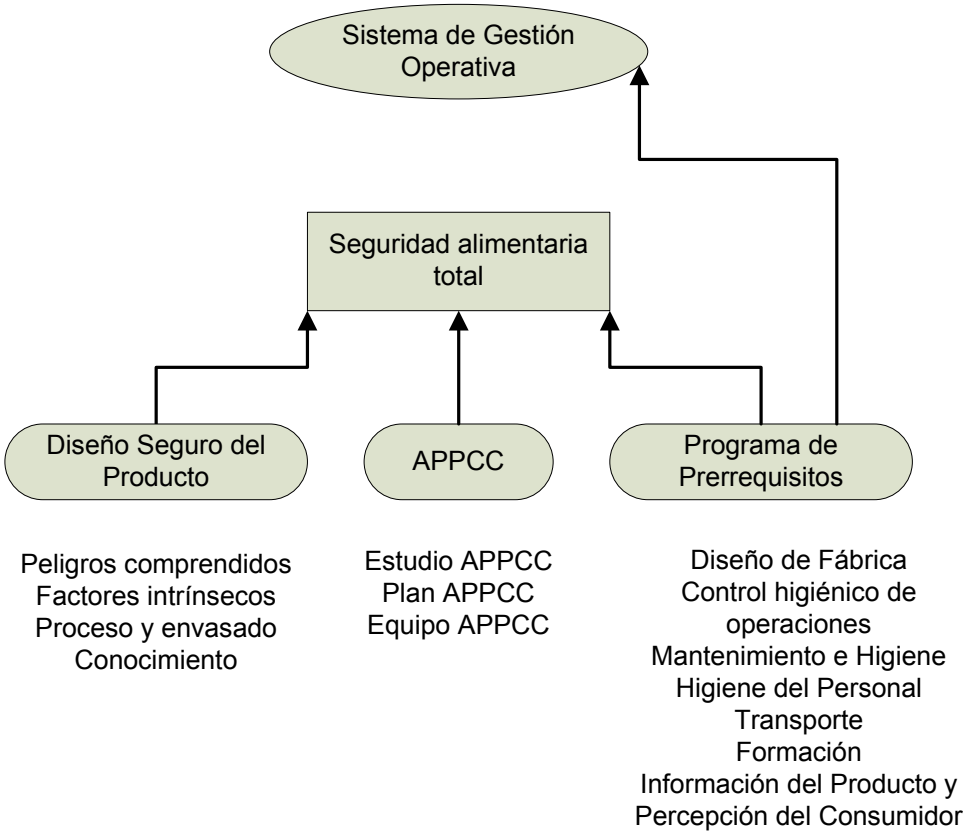
El control de la seguridad alimentaria durante el procesado de los alimentos es alcanzado a través de la aplicación del diseño de un producto seguro, del programa de requisitos previos y del APPCC, operando bajo el mismo marco de dirección del sistema (Wallace y Powell, 2005).

"*Cuando diseñemos un nuevo producto alimentario es importante preguntarse si es posible fabricarlo de forma segura. Los sistemas APPCC eficaces (y los programas de prerrequisitos) gestionarán y controlarán la seguridad alimentaria, pero lo que no*

pueden es hacer seguro un producto básicamente inseguro" (Mortimore y Wallace, 1998).

Un requisito fundamental de cualquier proceso alimentario es que el alimento producido debe ser inocuo para el consumo; para ello debe ajustarse al modelo de realización del procesado seguro de alimentos de la Figura 11 (Mortimore, 2001).

Figura 11. Cuadro de gestión para la seguridad alimentaria total.



La aplicación del APPCC en la fabricación de queso industrial ha demostrado ser beneficiosa y rentable, porque la industria llevó a cabo una reducción de la materia prima cruda (leche) y de las pérdidas del producto final (queso), creando una confianza en el consumidor mediante el aumento de la producción de queso seguro y de calidad consistente (Sandrou y Arvanitoyannis, 2000).

Mientras el APPCC ha sido ampliamente implantado en las industrias de la fabricación de alimentos y en las grandes compañías del sector hospitalario y catering, ha habido una preocupación por la implementación en los pequeños negocios (Egan *et al*., 2007). Gillespie *et al*. (2000) destacaron la eficacia del sistema APPCC mediante su estudio que determinó que la calidad microbiológica de los alimentos producidos en pequeños establecimientos con APPCC fue mejor que en aquellos establecimientos que no lo tenían implantado.

Además, Henson y Caswell (1999), encontraron que ese año los consumidores mostraban más interés en la calidad y seguridad de los alimentos que en otro estudio llevado a cabo por ellos mismos unos años antes. Por otro lado, el sistema APPCC puede facilitar la inspección de las autoridades sanitarias (Anónimo, 1993), lo cual simplifica y agiliza las inspecciones oficiales a los establecimientos queseros. Así, la aplicación del sistema de autocontrol en el procesado de los alimentos puede resultar beneficiosa para la industria, el gobierno y los consumidores, por la mejora de la seguridad y la prevención de las TIAs.

Estos beneficios no son inmediatos, ni económicamente tangibles a corto plazo. Aún siendo obligatoria su implantación y declarando ilegales las autoridades sanitarias a aquellas queserías tanto industriales como artesanales que no tengan implantado un sistema de autocontrol, muchos de los queseros artesanales ven este sistema como una imposición burocrática y un gasto económico añadido, ya que conlleva pequeñas reformas de la quesería y gastos en los análisis microbiológicos periódicos. Además, previamente a la implantación del APPCC se requieren unas medidas adicionales para la formación del personal, inversiones en las instalaciones y equipos, compra de suministros extra, así como soporte técnico (Henson *et al.,* 1999). Las queserías industriales acometieron las reformas de las instalaciones de forma paulatina antes de

la aplicación del APPCC entendiendo que se trataba de un requisito indispensable y demandado por sus grandes clientes, por lo que su implantación no supuso una gran inversión económica.

La implantación del APPCC en las queserías industriales es importante para garantizar la producción segura del queso (Harrigan y Park, 1991), que es un producto biológicamente y bioquímicamente inestable (Fox, 1993). La industria quesera presenta dos características bien diferenciadas: materia prima cruda como único producto primario procedente de la ganadería y una etapa determinante (la pasteurización) que puede ser aplicada para el control de algunos peligros microbiológicos potenciales, sin que ésta produzca cambios significativos en el producto final (Van Schothorst y Kleiss, 1994).

En la Tabla 11 se muestran las alteraciones más destacadas en la elaboración de diferentes tipos de queso según diversos autores (Sandrou y Arvanitoyannis, 2000).

Tabla 11. Problemas comunes por contaminación microbiana en la elaboración del queso.

Problemas	Tipo de queso	Microorganismos	Acción preventiva
Mal olor / decoloración	Cottage	*Geotrichum candidum, Mucor, Altenaria,y Penicillium*	Buenas condiciones higiénicas, almacenamiento a bajas temperaturas y empaquetado a vacío
Grietas en la superficie del queso	Emmental	Levaduras y hongos	Almacenamiento a bajas temperaturas y empaquetado a vacío
Manchas interiores	Camembert	*Pencillium roqueforti*	Buen control animal
Hinchamiento precoz	Todos los tipos	*Torulopsis sphaerica*	Pasteurización de la leche, buenas condiciones higiénicas y empaquetado a vacío
Sabor amargo / mal olor	Cottage y Cheddar	*Pseudomonas fluorescens*	Corto periodo de permanencia de la leche
Enranciamiento lipolítico	Cheddar y Swiss	*Pseudomonas fragi* y *Ps. fluorescens*	Pasteurización de la leche
Enranciamiento lipolítico	Dutch	*Alcaligenes viscolactis*	Pasteurización de la leche
Hinchamiento precoz	Feta y Teleme	*Coliformes*	Adición de cultivos lácticos iniciadores y temperaturas de control
Manchas de color	Romano	*Lactobacillus helveticus* y *Lb. bulgaricus*	Actividad propia de los starters
Formación de ojos	Todos los tipos	*Leuconostoc*	Temperatura de curado < 10°C
Hinchamiento tardío	Emmental, Gruyere, Edam, y Parmesano	*Clostridium*	Adición de cultivos iniciadores, temperatura de curado ≤ 15ºC, bajo pH y alta concentración de sal
Enranciamiento	Cheddar	*Clostridium tyrobutyricum*	Adición de cultivos iniciadores, temperatura de curado ≤ 15ºC
Retraso en el crecimiento de *Penicillium camemberti*	Camembert	Hongos y *Brevibacterium linens*	Control de la temperatura y humedad relativa

En la Tabla 12 se detalla la secuencia lógica para la instauración y aplicación del sistema APPCC, en queserías, observándose las diferencias para cada fase entre las industriales y las artesanales.

Tabla 12. Pautas para la elaboración de un APPCC en una QI y en una QA.

Etapas	Queserías industriales	Queserías artesanales
Formación de un equipo de APPCC.	Formado por el maestro quesero, responsable de calidad y gerente.	No hay personal suficiente, las personas implicadas son el técnico que realiza el APPCC y el quesero.
Descripción del producto.	Perfectamente definido por exigencias del mercado mediante análisis físico-químicos y microbiológicos periódicos. Gran variedad de productos y formatos.	Producto poco definido; depende de la composición de la leche. Se desconocen sus características físico-químicas a lo largo del tiempo. Poca variedad de productos.
Determinación de la aplicación del sistema.	Producto apto para todos los públicos sin excepción, de venta en canal mayorista.	Producto apto para todos los públicos sin excepción, de venta en canal minorista y venta directa en la quesería.
Elaboración del diagrama de flujo.	Elaborado por el equipo de APPCC; técnicas de elaboración modernas mediante sistemas de elaboración mecanizados.	Elaborado por el técnico que realiza el APPCC y por el quesero. Son técnicas de elaboración tradicionales y con fases muy reducidas.
Verificación *in situ* del diagrama de flujo.	Se lleva a cabo por todo el equipo del APPCC y corregido in situ por los técnicos, dependiendo de los resultados.	Se lleva a cabo por el técnico, pero los posibles cambios a *posteriori* no suelen ser modificados.

Tabla 12. Pautas para la elaboración de un APPCC en una QI y en una QA. (Continuación)

Etapas	Queserías industriales	Queserías artesanales
Enumeración de todos los riesgos posibles. Ejecución de un análisis de riesgos. Determinación de las medidas de control.	Dependen del tratamiento térmico y de la posible contaminación postratamiento térmico. La principal medida de control es la Tª de pasteurización.	Dependen en gran medida de la calidad microbiológica de la leche y de la manipulación del quesero. Se basan en la experiencia del quesero y son subjetivas (LD y BPE). Deben comenzar con la calidad de la leche ordeñada.
Determinación del APPCC.	Análisis a la recepción de la leche, Tª de pasteurización y prueba de la fosfatasa alcalina, pH de la cuajada, temperatura de conservación.	Limitados a las características organolépticas de la leche y control sanitario de los animales, condiciones de elaboración y temperatura de conservación de los quesos.
Establecimiento de límites críticos para cada PCC.	Pruebas objetivas: según la legislación vigente. Tª de pasteurización, controles microbiológicos (leche y queso) y físico-químicos del queso diarios.	Pruebas subjetivas, dificultad para implantar pruebas objetivas. Controles microbiológicos periódicos de leche y queso según la legislación vigente.
Establecimiento de un sistema de vigilancia para cada PCC.	Supervisados por el Dpto. de calidad, pero controlados por cada operario. Técnicas objetivas.	Difícil de implantar, ya que es la misma persona que elabora la que supervisa; basado en procedimientos subjetivos.

Tabla 12. Pautas para la elaboración de un APPCC en una QI y en una QA. (Continuación)

Etapas	Queserías industriales	Queserías artesanales
Establecimiento de medidas rectificadoras para las posibles desviaciones.	Pueden establecerse medidas correctoras a lo largo de la elaboración y sobre la analítica final.	Se aplican sobre la temperatura de conservación del queso y sobre los resultados microbiológicos periódicos y características organolépticas del queso elaborado.
Establecimiento de procedimientos de verificación.	Procedimientos analíticos objetivos en cada etapa de elaboración, implantados por el departamento de control de calidad.	Basados en los resultados analíticos periódicos; debe ser el propio quesero el que lo aplica asesorado por un técnico.
Establecimiento de un sistema de registro y documentos.	Amplio número de registros a lo largo de toda la producción, desde cloración del agua, a pH de la cuajada y salmuera, etc. Trazabilidad (leche-queso).	Limitado al registro de la producción quesera, Tª de las cámaras y trazabilidad (señalización de los lotes por fechas de producción).

I.5.1. Etapas de control en la fabricación del queso industrial

a) Control de la leche.

El control debe comenzar con la selección de los animales para su ordeño, destinándose a la fabricación de queso sólo la leche procedente de animales sanos y que no sean susceptibles de incorporar algún tipo de peligro a la leche. Se deben respetar en todo momento las condiciones higiénico sanitarias de producción y de almacenamiento de la leche según indica el Reglamento (CE) 853/2004.

Una escrupulosa higiene de la quesería puede reducir los niveles de psicrófilos y termodúricos a 3-5 10^3 ufc/ml (Van Den Berg, 1986). El total de colonias en la leche cruda debe estar en un rango entre 1-2 10^5, pudiendo ser fácilmente alcanzable (Mossel *et al.,* 1995).

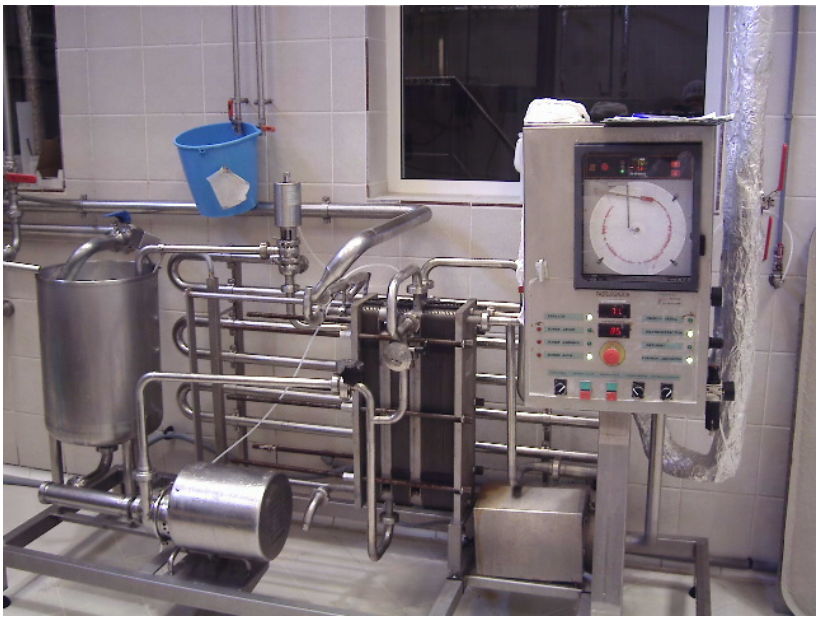
La inspección visual y los tests microbiológicos deberían ser usados para verificar la correcta aplicación de la limpieza de las instalaciones.

b) Pasteurización.

La pasteurización de la leche es un Punto de Control (PC). El objetivo de esta fase es hacer segura la leche cruda mediante la eliminación de los peligros causados por la presencia de microorganismos patógenos sensibles al calor (Van Schothorst y Kleiss, 1994; Jervis, 1994). La pasteurización es un PC porque algunos patógenos, que constituyen un alto riesgo para la salud pública, pueden sobrevivir a las condiciones del curado del queso. Es sin lugar a dudas, el principal punto de control de una quesería, sometiendo a la leche a un tratamiento térmico de 72ºC durante un periodo de 15 segundos (HTST, High Temperatura Short Time). Los microorganismos supervivientes son las bacterias termorresistentes (*Micrococcus, Streptococcus, Lactobacillus*), sobreviviendo sin crecimiento adicional, y las bacterias termófilas (*Micrococcus, Coryneformes*), capaces de sobrevivir y crecer (Hull *et al.,* 1992).

Se deberían tomar medidas preventivas de mantenimiento del pasteurizador para asegurar su adecuado funcionamiento en todo momento (Foto 5). De esta manera, se debe comprobar que haya una diferencia de presión entre la leche pasteurizada y la no pasteurizada de 0,5 bares, para evitar la contaminación cruzada (Dijkers *et al*., 1995). Para verificar que la leche ha sido correctamente pasteurizada, los datos del termógrafo deberían ser examinados frecuentemente. Al mismo tiempo, el test de la fosfatasa alcalina puede ser usado adicionalmente para verificar si la leche ha sido contaminada con leche cruda (Harding, 1991).

Foto 5. Pasteurizador en una quesería industrial.



La posible fuente de contaminación cruzada de la leche pasteurizada puede tener también su origen dentro o fuera de la quesería (Burgess *et al.,* 1994), siendo las fuentes de contaminación más comunes el aire, el agua, las superficies de los equipos, el personal, los cultivos iniciadores, el cuajo, y el material del empaquetado (Teuber, 1992; Parmentier, 1997). Es de crucial importancia para la prevención de la contaminación cruzada, el propio diseño y las operaciones de los equipos, la diferenciación entre áreas, el equipo y el sistema CIP usado para el circuito de leche cruda y leche pasteurizada (Mortimore y Wallace, 1994).

Después de la pasteurización, los microorganismos contaminantes más comunes son: *Staphylococcus spp., Salmonella spp., Campylobacter spp.*, coliformes y *Yersinia spp.*

c) Cubas y circuito de la leche.

Las cubas de leche y el equipo usado deberían ser limpiados, desinfectados y estar libres de residuos de detergentes o desinfectantes antes de comenzar la producción, porque pueden inhibir la actividad de los cultivos iniciadores (Anónimo, 1988 a). Además, la presencia de restos de productos químicos de limpieza y desinfección en el queso suponen un peligro químico para el consumidor.

d) Cultivos iniciadores.

La estandarización de los productos es asegurada por la adición de cultivos termófilos. Habitualmente contienen *Str. salivarius subs. bulgaricus* y varios tipos de lactobacillus, tales como *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Lb. delbrueckii subsp. lactis* (Caric, 1993). La formación del ácido láctico por los cultivos iniciadores es muy importante para el curado y la conservación del queso.

La adición de cultivos iniciadores tiene gran importancia por la producción de bacteriocinas o péptidos, que van a evitar el crecimiento de los microorganismos patógenos por su poder bacteriostático y al mismo tiempo compiten con ellos en un medio hostil que favorece el crecimiento de la microbiota ácido-láctica.

e) Coagulación de la leche.

Las siguientes operaciones para la fabricación del queso, como la adición del cuajo, control de la temperatura de la leche, tiempo de cuajado y corte de la cuajada, no tienen gran importancia desde el punto de vista higiénico, pero sí son cruciales para obtener un queso de calidad. Estas operaciones dependen de la experiencia personal del maestro quesero y del carácter propio que quiera imprimir a sus quesos. Únicamente decir que, tanto el cuajo como la sal, deben ser adecuados para el uso al que se destinan y no contener sustancias que supongan un peligro para el queso.

f) Salado.

Al adicionar la sal al queso se produce una subida de pH que puede favorecer el crecimiento de microorganismos patógenos. Una etapa crucial en la producción segura de queso curado es que cuando el pH alcance valores de 5,2, el queso debería estar preparado para absorber la suficiente concentración de sal para prevenir el crecimiento de microorganismos indeseables (Zerfiridis, 1997).

g) Maduración.

La maduración es importante desde el punto de vista de la seguridad microbiológica y para el desarrollo de las características organolépticas del queso. Las premisas del curado deberían incluir en las cámaras una limpieza y desinfección periódica, mantener una temperatura constante y humedad relativa adecuadas y estar libres de insectos, condensaciones y corrientes de aire no deseadas.

Los quesos envasados deberían estar almacenados en refrigeración hasta completar su maduración y desarrollo de sus características organolépticas antes del consumo. Durante el almacenamiento, el pH del queso, la temperatura, la humedad relativa (HR), y la limpieza de la sala de almacenamiento deberían ser comprobadas regularmente.

I.5.2. Etapas de control en la elaboración del queso artesanal

Básicamente, las etapas de elaboración en las QA son similares a las de la fabricación en QI, diferenciándose en que en las queserías industriales se trabaja a gran escala y se trata de un procedimiento normalizado y sujeto a controles en cada etapa. Sin embargo, la elaboración artesanal queda supeditada a los conocimientos y a la experiencia del quesero, así como a las peculiaridades de la materia prima de cada producción, por lo que el quesero modifica pequeños aspectos tecnológicos en cada elaboración para obtener un producto más o menos homogéneo. Cada una de las etapas no está sujeta a controles individuales continuos, pero en su conjunto, el proceso global de elaboración sí garantiza la seguridad del producto final. Es decir, las

únicas variables que cambian, desde el punto de vista higiénico a lo largo del proceso de elaboración artesanal, son:

1. La materia prima. (En este caso la leche es de su propia granja).

2. Las operaciones de limpieza y desinfección. Aunque de metodología rutinaria y manual, pueden dar resultados muy diferentes de una limpieza a otra.

3. Las etapas de control (Tª de la leche, Tª de las cámaras de maduración (Foto 6), etc) serían similares a las expuestas anteriormente para las QI, salvo el punto de control del tratamiento térmico de la pasteurización.

Foto 6. Cámara de maduración de quesos de una quesería artesanal.

4. Utilización de diferentes tipos de cuajos.

Los cuajos de bovino son los coagulantes más utilizados en la elaboración de la mayoría de variedades de quesos de todo el mundo (Wigley, 1996). Los cuajos comerciales son llevados a un pH de 2, conservados a temperatura de

refrigeración y la mayoría son desecados, estas medidas evitan el crecimiento de microorganismos.

Algunos quesos de los países de la cuenca del Mediterráneo son coagulados con cuajo de cordero, como los italianos Provolone, Pecorino Sardo, Romano (Battistotti y Corradini, 1993; Barzaghi *et al.,* 1997) y los quesos tradicionales de Grecia, Kefalotyri y Feta (Anifantakis, 1976; Anifantakis y Green, 1980). En España este tipo de cuajos son utilizados en los quesos de varias Denominaciones de Origen, como Idiazabal, Queso Majorero y Queso Palmero, aunque estos dos últimos pueden utilizar cuajo de cordero o de cabrito.

En España se ha establecido un criterio microbiológico para los cuajos según la Orden del 14 de enero de 1988 (Anónimo, 1988 b). Estos criterios han sido superados en todos los cuajos artesanales analizados por Gil *et al.* (2007), sobrepasando los recuentos permitidos de bacterias aerobias mesófilas, estafilococos enterotoxigénicos hongos y levaduras y sulfito reductores. No se detectó la presencia de *E. coli*, *Salmonella spp., Enterobacteriaceae, ni de L. monocytogenes.* Algunos investigadores (Piredda y Addis, 2003) indicaron que la calidad higiénica de los cuajos artesanales de Italia era también muy baja. Lo mismo sucede en otros países como Grecia, Egipto y Turquía, donde tradicionalmente está muy extendida la elaboración de queso tradicional con cuajo artesanal, dichos cuajos mostraron una alta contaminación por los microorganismos anteriormente citados (Moatsou *et al.,* 2004).

En el estudio de Gil *et al.* (2007), los quesos elaborados con cuajo de cordero fueron analizados microbiológicamente tras un periodo de curado de 60 y 150 días y ningún valor sobrepasó los límites marcados por el Reglamento 2073/2005. Estos resultados podrían explicarse porque se añade una pequeña cantidad de microorganismos procedentes del cuajo a un gran volumen de leche, donde las condiciones de crecimiento durante el curado son desfavorables para las bacterias patógenas.

En los cuajos de origen vegetal (Foto 7), tales como los extractos de flores de cardo (*Cynara cardunculus y humilis),* fueron encontrados recuentos altos de

bacterias aerobias mesófilas, *Enterobacteriaceae,* hongos y levaduras (Fernández-Salguero *et al*., 1999).

Foto 7. Flósculos de la flor del cardo *Cynara cardunculus* de Gran Canaria

I.5.3. Requisitos previos

El autocontrol representa la traducción práctica del concepto de responsabilidad legal en la producción de alimentos seguros, que se le atribuye al operador de la empresa alimentaria. Por otro lado, la responsabilidad de la evaluación de los sistemas de autocontrol corresponde a la autoridad sanitaria, que tiene que dar conformidad a estos sistemas, vigilando si cumplen con los requisitos legales y garantizan un nivel suficiente de seguridad de los alimentos producidos (Anónimo, 2006 a).

Una vez que el sistema APPCC está implantado, es necesario comprobar la eficacia del sistema mediante valoraciones predictivas, como pueden ser las auditorías internas y externas. No obstante, la eficacia final viene determinada por el cumplimiento de los criterios microbiológicos, entendiendo como tal, la obtención de resultados satisfactorios o aceptables, según lo establecido en el Anexo I del Reglamento 2073/2005, al efectuar pruebas comparándolas con los valores fijados para los criterios de seguridad alimentaria, y criterios microbiológicos de higiene de los procesos, mediante la toma de muestras, la realización de análisis y la aplicación de

acciones correctoras, de conformidad con la legislación alimentaria y las instrucciones de la autoridad competente.

Los Requisitos de Higiene previos a la implantación del APPCC, se agrupan en seis planes para el control de los peligros generales, más un plan dedicado a la trazabilidad, como exige el artículo 18 del Reglamento 178/2002 (Anónimo, 2002).

Según Sperber *et al*. (1998), "*los programas de requisitos previos son el fundamento sobre el que se construye el plan APPCC*". Facilitando así su aplicación, aunque éstos ya no formen parte del sistema APPCC. Los requisitos previos afectan a operaciones generales de las industrias o establecimientos, mientras que el APPCC es específico del producto y del proceso de fabricación.

Estos prerrequisitos son los siguientes:

1. Control de la calidad del agua
2. Limpieza y desinfección
3. Formación y control de manipuladores
4. Mantenimiento preventivo
5. Control de plagas y sistema de vigilancia
6. Gestión de residuos
7. Control de trazabilidad

Estos planes incluirán elementos necesarios, donde están incluidos los programas y procedimientos que se aplican, con evidencia documentada, que describen las actuaciones que se han llevado a cabo para demostrar la realización de lo previsto en los programas, recopilar información para evaluar la eficacia de los mismos y establecer acciones correctivas, así como en caso necesario, modificar el Plan correspondiente.

La actual tendencia del sistema APPCC a la simplificación de los protocolos de gestión, mediante la exclusión del seguimiento dentro del propio plan APPCC de los seis prerrequisitos, considera únicamente como Puntos de Control Críticos (PCC)

aquellos PC decisivos sobre la seguridad de los alimentos y el resto se incluyen dentro de las prácticas correctas de higiene (PCH). No obstante, los expertos consideran que sin la instauración previa de estos seis planes, el sistema APPCC no puede aplicarse con éxito ya que, éstos proporcionan las condiciones básicas ambientales y operativas que son necesarias para la producción de alimentos seguros (Moreno, 2003).

Las Prácticas correctas de Higiene son los procedimientos aconsejados que deben observarse en el manejo y procesado de los alimentos, a fin de evitar la contaminación microbiológica, química o física del producto terminado. En otras palabras, las medidas preventivas básicas son necesarias para obtener alimentos en condiciones higiénicas aceptables (Codex Alimentariux, 1997).

En el caso de la implantación del sistema de autocontrol en las queserías surgen discrepancias en cuanto a la consideración de algunas prácticas u operaciones como PCC o PCH. La Tabla 13 muestra estas diferencias, adaptado de Sheridan (2000). Las PCH cubren aspectos de la higiene y precisan acciones dirigidas a las instalaciones y al equipo, siendo su control visual y no pudiéndose en la mayoría de los casos, establecer límites críticos cuantificables objetivamente, mientras que los PCC (APPCC) van dirigidos a los aspectos de seguridad del producto y llevan consigo una acción directa sobre la leche, cuajada o queso, realizándose su control mediante pruebas cuantificables, como el control de la temperatura de pasteurización de la leche o el pH de la cuajada.

Para el estudio de la evaluación higiénico sanitaria de queserías industriales y artesanales de Canarias se considera fundamental el estudio de los planes referidos al control de la calidad del agua, limpieza y desinfección, y la formación y control de manipuladores:

a) Control de la calidad del agua: no forma parte de los ingredientes del producto final, pero sí como soporte de los productos químicos detergentes y desinfectantes empleados en la limpieza de superficies de las queserías, por lo que debe cumplir todos los requisitos del agua potable recogidos en el RD 140/2003.

b) Limpieza y desinfección: se debe redactar un plan de limpieza y desinfección para todas las superficies de la quesería, así como un programa para evaluar la eficacia de dicho plan, donde queden reflejados los métodos empleados para dicho control (inspección visual, bioluminiscencia, placas de contacto, etc.) y las acciones correctoras a emprender ante la desviación del mencionado plan.

c) Formación y control de manipuladores: para garantizar la higiene del proceso, los operarios deben tener conocimientos sobre cuestiones de higiene alimentaria en la elaboración y conservación de quesos. La empresa debe diseñar el programa de formación y la forma de implantarlo, bien con técnicos de la propia empresa o a través de entidades de formación externas. La empresa debe controlar la aptitud sanitaria para la manipulación de alimentos mediante la observación de correctas prácticas higiénicas y otras como las notificaciones de enfermedad de transmisión alimentaria.

Tabla 13. Diferencias entre PCH y PCC. (Sheridan, 2000).

PCH	PCC
Relacionadas primariamente con la higiene. En algún caso concreto, pueden tener relación con la seguridad del alimento.	Relacionados únicamente con la seguridad del alimento.
Cubren áreas como instalaciones, suelos, equipos y utensilios, higiene de los manipuladores, recogida de lotes defectuosos, formación del personal, etc.	Cubren la leche, cuajada y quesos.
No van dirigidas a los peligros específicos instalaciones/producto.	Van dirigidas específicamente a los peligros identificados.
No se toma en consideración si el no cumplimiento supone un riesgo sanitario no aceptable.	El no cumplimiento siempre supone un riesgo sanitario no aceptable.
Puede no ser siempre posible establecer límites críticos, comprobarlos o vigilarlos e introducir medidas correctoras	Debe ser siempre posible establecer límites críticos, comprobarlos o vigilarlos e introducir medidas correctoras.

I.6. Limpieza y desinfección en Queserías Industriales y Artesanales

Los establecimientos tienen como deber sacar al mercado alimentos de alta calidad, adoptando medidas que aseguren una calidad duradera ("good manufacturing practice", GMP). La limpieza y desinfección (LD) son imprescindibles para alcanzar tal objetivo y sus conceptos son difícilmente separables entre sí. Las GMP además comprenden la redacción de una documentación para archivo y posterior consulta, y el control de resultados (Zschaler, 1989).

La LD se repite regularmente a largos o cortos intervalos de tiempo, pudiendo ser manual como en las queserías artesanales, o automatizadas, como en las queserías industriales. En ambos casos, Wildbrett (1990), resumió los objetivos de la LD de las superficies que contacten con alimentos como sigue:

Limpieza:

1. Cumplir exigencias estéticas.
2. Restablecer el normal funcionamiento de las instalaciones y utensilios tras su actividad.
3. Prolongar la vida útil de instalaciones y utensilios.
4. Asegurar la calidad óptima de los alimentos frente a influencias químicas.

Desinfección:

1. Proteger la salud del consumidor.
2. Asegurar una calidad óptima de los alimentos frente a influencias microbianas.

- Limpieza

De acuerdo con la REIFF (1970), y otros autores, se entiende por limpieza la separación más completa posible de como mínimo dos sustancias unidas entre sí físicamente de forma leve; dicha separación debe ser permanente tras la cual, una de

las superficies debe quedar limpia. Otros autores añaden que la superficie debe quedar "microscópicamente limpia", (Flückiger, 1964). En términos estrictos, limpiar es la culminación de lavar y enjuagar.

- Desinfección, saneamiento y esterilización.

Una definición bien aceptada y tolerada de desinfección fue dada por la British Standards Institution (BSI 5283,1986): "*La destrucción de los microorganismos, aunque no usualmente bacterias esporuladas. No elimina necesariamente todos los microorganismos, pero los reduce a un nivel aceptable para el propósito definido, por ejemplo un nivel que no es dañino para la salud o para la calidad de los alimentos perecederos".* (Anónimo, 1986).

La eliminación de todos los microorganismos implicaría la ausencia, por ejemplo de endosporas de *Bacillus spp.* altamente resistentes, que se califican como gérmenes de riesgo; en este caso las exigencias de la desinfección se elevan hasta la esterilización. Sanitización: Reducir la carga microbiana no deseada de un producto limpio, sin afectar la calidad del producto ni provocar efectos adversos en la salud del consumidor (Wildbrett, 2000).

I.6.1. Programas de Limpieza y Desinfección

El plan de limpieza y desinfección se inscribe dentro de un plan global de dominio de la higiene. Debe incluir claramente:

- Definir lo que se debe hacer y métodos a aplicar.
- Aplicar a cada operario sus funciones y responsabilidades, así como el tiempo empleado.
- Control y registro de las operaciones de LD.
- Conocer el límite crítico de microorganismos tolerados para la actividad que desarrollamos.

Como paso previo para poder efectuar una LD lo más efectiva, rápida y económica posible, debemos conocer los restos orgánicos (suciedad) y la microbiota que vamos a tener en nuestras instalaciones y maquinaria.

Todo programa de LD tiene tres fases bien diferenciadas: enjuagado, limpieza (detergencia) y desinfección, que son comunes a todos los programas de LD empleados tanto en las queserías artesanales, como en las industriales.

1) Enjuagado

Antes de llevar a cabo esta fase, se deben recoger todos aquellos objetos que dificulten la limpieza, así como cubrir las partes de la maquinaria que no se puedan mojar, como cuadros eléctricos, motores o bombas.

Una vez ha concluido la producción, se procede al enjuagado de las superficies lo antes posible, evitando así la desecación de la materia orgánica, que facilitará su retirada.

El enjuagado es una operación donde se eliminan con agua las películas o las partículas que se adhieren débilmente a las superficies de los aparatos. De esta

operación depende en gran medida el éxito de las fases de detergencia y de desinfección posteriores, pues el exceso de materia orgánica sobre las superficies, conlleva la pérdida de eficacia de los detergentes y desinfectantes empleados en las posteriores etapas.

Por lo tanto tendremos:

- El pre-enjuagado, efectuado entre el final de la producción y la limpieza propiamente dicha, que elimina la mayor parte de la materia orgánica.
- El enjuagado intermedio, que se realiza tras la aplicación de la fase de detergencia o aplicación de algún producto químico.
- El enjuagado final, destinado a dejar las instalaciones en un estado higiénico satisfactorio para la elaboración posterior de alimentos. Este aclarado puede posponerse a momentos antes de la producción, evitando así una posible recontaminación de las superficies durante el tiempo de inactividad.

Parámetros que influyen en el enjuagado:

- Caudal: Un aumento del caudal disminuye la duración del enjuagado, pero no es factible para tiempos reducidos de enjuagado. La velocidad de eliminación de la suciedad por enjuagado es característica de cada suciedad y de cada uno de sus componentes en caso de una mezcla de compuestos.
- Naturaleza y concentración de la suciedad: las pequeñas moléculas (electrolitos, lactosa) son eliminadas más rápidamente que las macromoléculas (proteínas, glóbulos grasos). La naturaleza de la suciedad influye también sobre la fase de enjuagado, que es controlada por un mecanismo de desorción de la suciedad de la superficie.
- Temperatura de la solución de enjuagado: un aumento de la temperatura de 20º a 90ºC conduce únicamente a un aumento del 20% de las constantes de velocidad (Plett y Loncin, 1981).
- Geometría de la instalación: cuanto menor pérdida de carga tenga el circuito o el depósito, menos disminuye la cinética de enjuagado.

En definitiva, las operaciones de enjuagado se deben adaptar a cada equipo y al momento de aplicación en la actividad de LD. El pre-enjuagado elimina la mayor parte de la materia orgánica, lo que permite reducir la contaminación de las disoluciones de detergencia, ayudando así a disminuir el volumen de esta disolución. El enjuagado final debe conservar la higiene de los equipos y arrastrar la totalidad del desinfectante, evitando la posible contaminación química de los alimentos.

2) Limpieza (Detergencia)

Consiste en eliminar los depósitos fuertemente adheridos e indeseables que ensucian las superficies con la ayuda de las sustancias químicas adecuadas, los detergentes. Las suciedades están compuestas por los restos orgánicos e inorgánicos de las materias primas procesadas y por los microorganismos que se hayan podido desarrollar o generar. A su vez, estos restos pueden modificarse por el tratamiento térmico aplicado a las materias primas.

La limpieza es la resultante de varias etapas diferentes en el seno de la disolución detergente-agua-suciedad: difusión de los elementos químicos del detergente en el depósito de suciedad, hinchamiento de ésta, separación por el propio flujo del fluido de los restos de suciedad cuya cohesión estructural interna es menor, y por último, eliminación de la película residual en contacto íntimo con la superficie (Grasshoff, 1992, Bird y Spig, 1994). En el caso del ensuciamiento de superficies calientes por donde circulan productos lácteos, esta película residual está compuesta en su mayor parte de fosfatos cálcicos (Daufin *et al*., 1987; Green *et al*., 1988).

Como norma básica podemos decir que los detergentes alcalinos contribuyen a la eliminación de los restos orgánicos (grasas, proteínas) y los detergentes ácidos a la de los restos inorgánicos (minerales). Es, por lo tanto, requisito indispensable el uso de detergentes adecuados a la naturaleza de la suciedad.

Los factores que pueden verse implicados en los procesos de limpieza son muy numerosos, complejos y a menudo dependientes entre sí. Los podemos clasificar en tres categorías: los relativos a los productos alimenticios tratados y las suciedades que

aparecen durante el tratamiento, los relacionados a la estructura y la concepción de las instalaciones y aquellos relativos al proceso de limpieza propiamente dicho.

Parámetros que afectan a la limpieza:

1. Efecto de la naturaleza y de la concentración de las soluciones de limpieza.
   La eficacia de los detergentes depende de su composición, concentración de iones hidróxilos (Jenning, 1965; Gallot-Lavallée *et al.*, 1984) y tensioactivos.

2. Efecto de la temperatura.
   Jenning (1965) y Gallot-Lavallée *et al.* (1984), observaron que el logaritmo de la constante de la velocidad de eliminación de los solutos varía linealmente en función de la inversa de la temperatura absoluta, según la ecuación de Arrhenius. Es decir, a mayor temperatura, mayor cinética de limpieza.

3. Efecto de la acción mecánica.
   Numerosos autores ponen de manifiesto el efecto beneficioso de la acción mecánica sobre la cinética de la limpieza (Jenning, 1965 y Paulson, 1989).

4. Efecto del tipo de superficie.
   Jenning (1965); Dunsmore *et al*. (1981), ponen de manifiesto la importancia de la composición química y del estado de la superficie de los materiales de construcción de los equipos sobre el fenómeno y las cinéticas de limpieza.

3) Desinfección

El objetivo de la desinfección es la destrucción de los microorganismos que están sobre las superficies alimentarias y su entorno, garantizando así la inocuidad de los alimentos durante su almacenamiento, procesado y envasado.

Para lograr este objetivo podemos aplicar una desinfección térmica o química.

a) Desinfección térmica:

La aplicación de calor sobre las superficies provoca la destrucción térmica de los microorganismos mediante la desnaturalización irreversible de sus proteínas estructurales y sus enzimas. Ambas están relacionadas con la concentración de agua en las células vegetativas; a mayor contenido de agua se necesita aplicar menos calor para obtener el mismo efecto, y siendo la resistencia al calor óptima en una zona de pH en torno a 6-8. Por debajo o por encima de estos valores aumenta la sensibilidad a la temperatura (Russell *et al.,* 1982).

Es difícil determinar la cinética de destrucción por calor de los diferentes microorganismos que garantice la adecuada desinfección de las superficies. Ésta se lleva a cabo mediante agua caliente, por encima de 80ºC, o mediante vapor de agua, alcanzando temperaturas superiores a 100ºC. El inconveniente es que las juntas de caucho o plástico no suelen resistir estas temperaturas tan altas, además las superficies de acero inoxidable se deterioran por las dilataciones que se producen al entrar en contacto con altas temperaturas. Este tipo de desinfección únicamente se puede aplicar en superficies cerradas: conducciones, cubas cerradas, depósitos e intercambiadores de placas.

b) Desinfección química:

Según la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de febrero de 1998, relativa a la comercialización de biocidas (DOUE L 123 de 24/04/1998), se trata de sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas, presentados en la forma en que son suministrados al usuario, destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos (Anónimo, 1998 b).

Los desinfectantes químicos deben garantizar una eficacia fiable, es decir la destrucción de los gérmenes nocivos para los que ha sido diseñado el producto, y garantizar una inocuidad absoluta, entendiendo como tal la no agresión sobre las superficies tratadas, el medio ambiente y la nula toxicidad sobre las personas. Son

el único método de desinfección que se puede aplicar sobre las superficies abiertas, bien combinado con detergentes o aplicándolo solo. También se aplican mediante recirculación en circuitos cerrados o de un solo pase.

Debemos tener en cuenta las diferentes condiciones de aplicación que pueden afectar a la desinfección, tales como la dureza del agua, temperatura y presencia de sólidos, condiciones que son indicadas por el fabricante del desinfectante. Además de estos factores, se debe considerar si todos los lugares críticos de los equipos tienen contacto con el desinfectante, como juntas, uniones, aberturas, tapas y zonas muertas, y plantearse la necesidad de desmontar las piezas de los equipos. Así el uso de los desinfectantes debe estar seguido de un buen aclarado del equipo, controlando la calidad microbiológica del agua de aclarado y del agua de red para evitar los riesgos de una recontaminación (Orth, 1998).

Los desinfectantes muestran un número elevado de puntos de acción sobre los microorganismos, pero como paso previo tiene que haber un contacto directo entre ambos, por lo que debe haber una buena detergencia antes de la desinfección, haciendo accesibles los desinfectantes a los gérmenes. La formación de bioláminas supone un serio inconveniente para la desinfección, pues los estratos más profundos quedan protegidos por las capas superficiales de la acción de los desinfectantes y de los detergentes, por lo que se deben prolongar los tiempos de limpieza y desinfección.

En una segunda fase, el desinfectante penetra dentro de la célula y se pone en contacto con sus componentes vitales: pared bacteriana, membrana citoplasmática, enzimas del metabolismo de constitución y consumo y diversos orgánulos del citoplasma. Esta acción puede ser reversible si el microorganismo logra reparar los daños celulares.

I.6.2. Tipos de desinfectantes empleados en queserías

La industria alimentaria utiliza un gran abanico de sustancias desinfectantes. Los principios activos más importantes, su dosis de uso y recomendaciones, se describen en la Tabla 14, (Orth, 1998).

Tabla 14. Desinfectantes más utilizados en la industria alimentaria, mediante sistemas de aplicación CIP y espuma.

Principios desinfectantes	Condiciones y campos de aplicación
1. Peróxido de hidrógeno	Desinfección: 1.CIP 2.Vaporización 3.Spray 1. 1000-10000 mg/l desinfección en frío 2. 100-1000 mg/l desinfección en caliente 3. 30-300 mg/l desinfección interior de envases Superficies: tanques, tuberías, filtros, llenadoras parte externa de la maquinaria
2. Ácido peracético (PAA)+ H_2O_2 a) PAA 2,5-15% b) Combinado con ácidos orgánicos o inorgánicos y/o surfactantes	Desinfección: 1.CIP 2.Spray 1. 50-200 mg/l desinfección en frío 2. 400-2000 mg/l desinfección en caliente frente a esporas, virus y bacteriófagos. Superficies: tanques, tuberías, pasteurizadores, filtros, llenadoras, membranas de ultrafiltración
3. Halógenos a) Combinados con alcalino clorados y complejos orgánicos	Desinfección: 1.CIP 2.Spray 0,3-10 mg/l sistemas de recirculación de aguas 1. 25-50 mg/l 2. 100-400 mg/l combinado con detergentes 3. 1000-5000 mg/l superficies abiertas Superficies: tanques, tuberías, llenadoras,
b) Yodóforos	Desinfección: 1.CIP 2.Spray, en frío hasta 40ºC 1. 15-50 mg/l 2. 50-200 mg/l combinado con detergentes 3. 300-1000 mg/l superficies abiertas Superficies: tanques, tuberías y llenadoras

Tabla 14. Desinfectantes más utilizados en la industria alimentaria, mediante sistemas de aplicación CIP y espuma. (Continuación).

Principios desinfectantes	Condiciones y campos de aplicación
4. Superficieactivos a) Compuestos a base de amonios cuaternarios	Desinfección: 1.CIP 2.Spray, pH 5-10 1. 100 mg/l, eficaz frente G +, levaduras 2. 100-1000 mg/l, eficaz frente G -, hongos en superficies abiertas. Superficies: tanques, tuberías, llenadoras, exterior de maquinaria y suelos
b) Anfóteros	Desinfección: 1.CIP 2.Spray 1. 250-2000 mg/l, 2. 2000-10000 mg/l, superficies abiertas
5. Biguanidinas	Desinfección: 1.CIP 2.Spray, pH 5-7 1. 200-1000 mg/l, 2. 500-3000 mg/l, superficies abiertas
6. Alkylaminas	Desinfección de superficies abiertas con espuma 600-2000 mg/l superficies abiertas Superficies: llenadoras e higiene ambiental
7. Aldehídos Formol, glutaraldehídos, glioxal	Desinfección: 1.Spray 1. 1000-10000 mg/l, en frío Superficies abiertas: suelos, paredes, en general maquinaria y equipos

Las queserías industriales utilizan varios tipos de desinfectantes dependiendo de las superficies a desinfectar. En las superficies abiertas, donde la limpieza es manual se usa hipoclorito sódico y en los circuitos cerrados, o bien ácido peracético o la aplicación de una desinfección térmica mediante la disolución de sosa cáustica a una temperatura superior a 80ºC.

En las queserías artesanales, donde la mayor parte de la limpieza es manual, se utiliza hipoclorito sódico o un detergente alcalino clorado.

I.6.3 Sistemas de limpieza y desinfección en Queserías Industriales y Artesanales

Los procedimientos de LD en las queserías vienen determinados por el volumen de producción quesera, condicionando las dimensiones del establecimiento, el diseño, la maquinaria empleada, la mecanización y en definitiva las superficies a limpiar del establecimiento. De esta forma, cada uno de los establecimientos queseros tiene procedimientos de LD bien diferenciados; por un lado las queserías artesanales realizan la limpieza y desinfección manual, exceptuando la unidad de ordeño, y por otro lado, las queserías industriales realizan la LD, mayoritariamente, mediante sistemas CIP.

a) Queserías Industriales.

A diferencia de las queserías artesanales, las operaciones de LD en las queserías industriales se van a llevar a cabo mediante sistemas CIP para las superficies cerradas y proyección de espuma a baja presión para las superficies abiertas.

Sistemas de limpieza CIP (Cleaning in place)

Este sistema de limpieza consiste en la recirculación del agua de enjuagado, de las soluciones detergentes y de las soluciones desinfectantes, a través de tanques, tuberías y equipos de proceso, sin o con la mínima necesidad de desmontar las líneas de producción.

Esta disolución recircula desde los tanques del CIP, desde donde es impulsada por las bombas, hasta los depósitos de producción, donde a su vez es impulsada por las bombas de retorno a los tanques del CIP. Es importante comprobar periódicamente la presión y Tª del CIP (Varnam y Sutherland, 1996). Las operaciones de limpieza del sistema CIP requieren una serie de secuencias mínimas, las cuales pueden modificarse dependiendo de las instalaciones y equipos a limpiar.

1. Factores que influyen en la eficacia de la limpieza de los sistemas CIP:

- El tiempo:

La selección de los tiempos del agua de enjuagado o de la acción del detergente dependen de la longitud de los circuitos del CIP, del periodo transcurrido hasta que los efluentes salen claros, de la eliminación de los restos orgánicos de la superficies y del control del pH en los enjuagados intermedios. Para la selección de los tiempos de desinfección, se considera la naturaleza del desinfectante y de la carga microbiana.

- Temperatura:

Cuanto mayor es la temperatura de la disolución, más rápidas son las reacciones entre detergente y suciedad. Por debajo de los 45ºC éstas pueden producir gelificación de la suciedad, lo que imposibilita la detergencia (Perlat *et al.,* 1986). Por ello está claramente admitido que la eliminación de los depósitos proteicos se desarrolla de manera óptima a una temperatura cercana a los 65ºC.

- Detergentes:

No existe el detergente ideal, pero podríamos hacer una clasificación global con dos grandes grupos:

a) Detergentes alcalinos: contienen una fuente de alcalinidad (hidróxido sódico, hidróxido de potasio, carbonatos, fosfatos, etc.), agentes acomplejantes, tensioactivos, estabilizantes, oxidantes, inhibidores de espuma, etc.

b) Detergentes ácidos: contienen una fuente de ácidos inorgánicos (nítrico, fosfórico, etc.), u orgánicos, a los que se les puede añadir tensioactivos, anticorrosivos, etc.

La valoración de la concentración de las soluciones de limpieza alcalinas y ácidas, se realiza mediante la determinación de la conductividad de dichas disoluciones y la relación lineal entre las concentraciones y la conductividad específica.

- La acción mecánica:

Varía en función de las presiones y caudales volumétricos, es decir depende de las potencias respectivas de las bombas de envío y de retorno, del tipo de chorro y de manera general de la geometría de la instalación a limpiar.
De forma general, es esencial trabajar en un régimen turbulento con un número de Reynolds entre 80.000 y 250.000 para una velocidad media en las tuberías de 2 m/s y de 0,3 m/s en los intercambiadores de placas. Se aconseja un caudal de 1,5 veces mayor que el utilizado en producción (Leveau y Bouix, 2002).

En resumen, dentro de la tecnología de la limpieza y desinfección se distinguen los procedimientos para circuitos cerrados de tuberías, tales como Clean in Place (CIP) (Foto 8) y para los depósitos (Foto 9), que deberán tener gran cantidad de solución recirculante y buena turbulencia, buena suspensión de microorganismos, temperatura de aplicación del agua fría entre 4-10ºC y el agua caliente entre 40-60º y generalmente un buen aclarado inicial y final (Orth, 1998).

Para la limpieza de los tanques cilíndricos, hay varios dispositivos internos que hacen que la disolución se distribuya de forma homogénea por el interior de las paredes. Estos sistemas rotativos o fijos pueden proyectar la disolución a alta o a baja presión; en ambos casos hay que asegurar la presencia de una película de la disolución sobre toda la superficie. Se considera necesario un volumen de 0,8 a 1,2 litros de detergente por m^2 de superficie interna.

La fase de detergencia y desinfección debería hacerse en dos pasos bien diferenciados, pero si después del aclarado inicial la carga de sólidos no es muy excesiva, se puede aplicar la detergencia y desinfección en un solo paso.

Los sistemas de limpieza CIP, en las industrias lácteas contribuyen significativamente al nivel de agua consumida, y al volumen y carga de polución de los efluentes producidos (Álvarez *et al.,* 2007). También son responsables del alto valor del pH (9-11) en las estaciones de tratamiento de aguas residuales ya que las soluciones de sosa cáustica, son las más comúnmente usadas como detergente en la industria (Henck, 1995). La renovación de las disoluciones dependerá de las características de la maquinaria y de la planta.

Foto 8. CIP de limpieza en una quesería industrial.

Foto 9. Cubas de cuajado cerradas en una quesería industrial.

2. Selección de las unidades CIP

El dimensionado de una estación CIP debe tener en cuenta un conjunto de factores tan diferentes como:

- El tipo y el tamaño de la instalación

- Los equipos a limpiar
- El tipo de suciedad presente
- El tipo de detergente empleado
- La pérdida de carga en los circuitos

b) Queserías artesanales.

La limpieza y desinfección en las queserías artesanales se puede llevar a cabo de múltiples formas. Dependiendo de las instalaciones de cada establecimiento y de la experiencia y resultados obtenidos, cada elaborador optará por una u otra forma y elegirá diferentes detergentes y desinfectantes.

Dadas las dimensiones y los útiles a limpiar en las queserías artesanales, la limpieza y desinfección se realiza de forma manual, a excepción de la ordeñadora, que se limpia mediante la recirculación de las disoluciones detergentes alcalinas y ácidas, a través de todo el circuito de ordeño: pezoneras, mangueras, tuberías y unidad final.

Al finalizar la jornada diaria, el elaborador debe dejar todas las instalaciones recogidas y ordenadas, facilitando las labores de limpieza. Tras el enjuagado de las superficies con abundante agua potable, se debe proceder a frotar todos los utensilios de elaboración con estropajo o cepillo de cerdas de plástico (se recomienda cualquier color menos el blanco, de tal forma que se vean bien las cerdas desprendidas sobre las superficies), mediante una disolución preparada con un detergente neutro o un producto alcalino clorado.

De esta forma se limpian el tanque de frío, cántaras de leche, cuba de cuajado (Foto 10), prensa y mesas. Las superficies se deben dejar al menos 15 minutos impregnadas con el detergente. Tras el aclarado, se aplica el desinfectante mediante pulverización o inmersión de las piezas pequeñas, y antes de aclarar el desinfectante con agua potable se debe esperar unos 20 minutos.

Los moldes (Foto 11) merecen una mención aparte, pues su limpieza es diferente al resto de útiles anteriormente citados. Una vez desmoldados los quesos, deben

aclararse lo antes posible, para evitar que se deshidraten los restos de cuajada y dificulten la posterior limpieza.

Foto 10. Cuba de cuajado en una quesería artesanal después de la limpieza.

Se fregarán con una disolución de un detergente ligeramente alcalino o neutro y tras el aclarado, se meterán en remojo en una disolución con hipoclorito sódico u otro desinfectante. Periódicamente se repetirá esta operación pero con una disolución ácida.

Foto 11. Llenado de moldes en una quesería artesanal.

Siempre se debe comenzar a limpiar por las zonas más sucias y terminar por las zonas más limpias, es decir, comenzar por la zona de elaboración y terminar con las zonas de acceso. El suelo es la última superficie a limpiar, mediante cubo y fregona o por baldeo.

En el Anexo VIII.10. se muestra el modelo de plan LD diseñado para las QA que participaron en este estudio.

I.6.4. Bioláminas (Biofilm)

Las bioláminas son cúmulos de material orgánico y/o inorgánico que se depositan sobre las superficies en forma de capas, embebiendo y protegiendo a los microorganismos en una matriz polimérica de exopolisacáridos, que son sustancias producidas y excretadas por los microorganismos adheridos a las superficies. Es un reservorio importante de microorganismos que tradicionalmente no han recibido suficiente atención dentro de las áreas de procesado de las queserías (Mittelman, 1998). El hecho de que las bioláminas pueden causar una contaminación post-procesado reduce la vida útil del producto y provoca la transmisión de enfermedades (Allison y Gilbert, 1992; Mittelman, 1998). También producen un bloqueo mecánico, una disminución de la transferencia de calor, incremento de la resistencia del fluido y corrosión del metal (Russel, 1993), ya que algunos microorganismos catalizan reacciones químicas y bioquímicas causando corrosión de las tuberías y tanques (Chmielewski y Frank, 2003). Todas estas alteraciones provocan una pérdida de eficacia del intercambiador de placas (Schmid *et al.,* 2004).

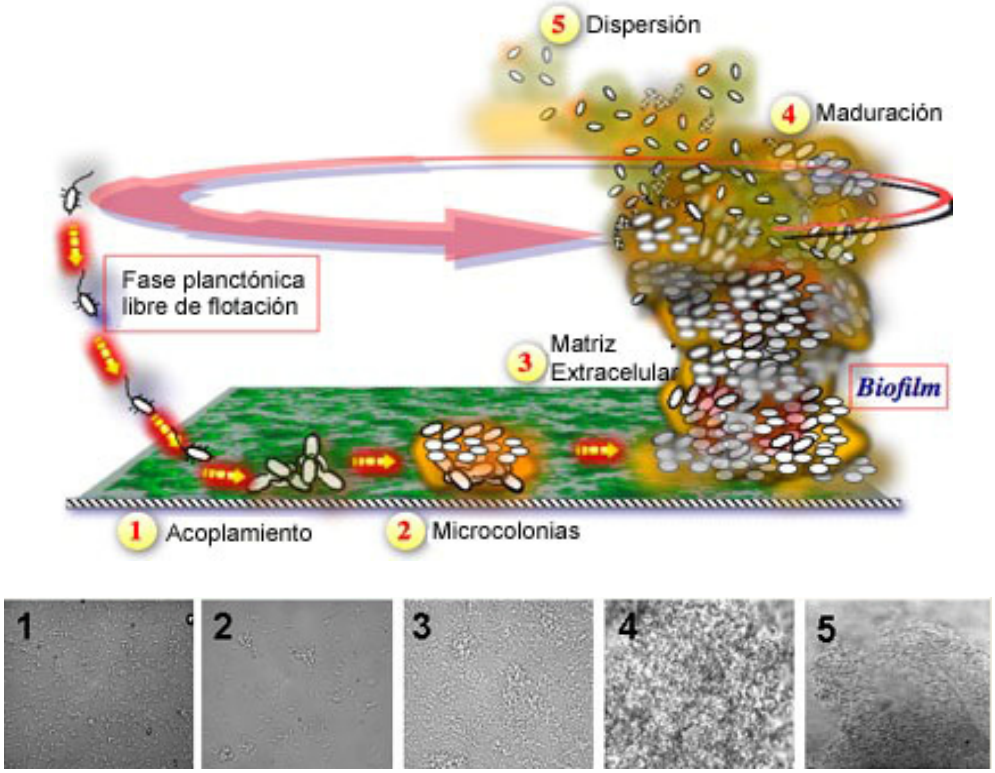
Por lo tanto, mientras el estado de las bioláminas de una quesería no sea evaluado, el APPCC se considera un sistema deficiente, por lo que se deben integrar las bioláminas como un importante requisito previo que es usualmente pasado por alto durante la implantación y mantenimiento de los planes del APPCC (Sharma y Anand, 2001).

Bacterias alterantes de los alimentos, como *Pseudomonas aeruginosa*, y patógenos como *Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* O157:H7 y

Campylobacter jejuni (Stern y Kazmi, 1989; Kumar y Singh 1994; Dewanti y Wong, 1995; Fenlon, 1996), han sido asociadas con la formación de bioláminas. Otros estudios (Helke y Wong, 1994; Jones y Bradshaw, 1997; Joseph *et al.,* 2001), mostraron que *Salmonella spp*. puede adherirse y formar bioláminas sobre las superficies de procesado de alimentos, incluyendo plásticos, cemento y acero inoxidable.

Se requiere un tiempo de contacto para la unión irreversible entre las bacterias y el sustrato (Foto 12). Este fenómeno fue estudiado por Lunden *et al.* (2000), que demostraron que el tipo más extendido de *L. monocytogenes* encontrado en las plantas de procesado de alimentos tenía buena capacidad para la adhesión y requería un corto periodo de tiempo para adherirse a la superficie.

Foto 12. Fases de la formación de un Biofilm y detalles de la superficie.



En las queserías, se ha encontrado formación de bioláminas en codos de las tuberías, juntas, gomas de sellado, cintas transportadoras, intercambiadores de calor y en las secciones de leche pasteurizada del pasteurizador, incluso las bacterias pueden quedar en las superficies de los equipos y no ser eliminadas por los detergentes aplicados en el CIP (Carpentier y Cerf, 1993, Mittelman, 1998).

I.6.4.1. Uso de detergentes y desinfectantes frente a las bioláminas

La dificultad que entraña la localización y eliminación de las bioláminas en los circuitos cerrados de las quesería industriales, contrasta con lo que ocurre en las queserías artesanales, donde prácticamente casi todas las superficies son abiertas y permiten la supervisión de las operaciones de limpieza, evitando así la aparición de este fenómeno.

Pero la presencia de las bioláminas puede darse en ambos tipos de queserías, debido principalmente a una limpieza deficiente e irregular. Esta se produce como consecuencia de la incapacidad de los detergentes alcalinos utilizados, de arrastrar o eliminar los restos orgánicos sobre los que se asientan las bacterias o simplemente, incapaces de eliminar el cúmulo de bacterias en su primera fase de adherencia, cuando aún no han formado la matriz de exopolisacáridos y son más fáciles de eliminar.

Los detergentes alcalinos combinados con secuestrantes y/o agentes aniónicos facilitan la eliminación de las bioláminas y son más eficaces que los ácidos, si bien algunas situaciones pueden requerir la presencia de ácidos, para limpiar las superficies con restos inorgánicos o con un alto contenido de residuos minerales (piedra de la leche). Las bioláminas formadas por *L. monocytogenes* son más resistentes a los desinfectantes en base cloro, yodo, amonios cuaternarios, tensioactivos aniónicos y ácidos, que las de otras bacterias.

Los fabricantes recomiendan que la temperatura de aplicación de los detergentes sea entre 40º y 90ºC, dependiendo del tipo de sólido y riesgo de redeposición. Jackson (1985), recomendó que las temperaturas de las disoluciones estuvieran por encima de

70ºC si se usaba para la limpieza de tuberías de leche y por encima de 77ºC para la limpieza del pasteurizador o intercambiadores de placas calientes. Se debe tener precaución con el uso de disoluciones muy calientes para no desnaturalizar las proteínas e hidratos de carbono pues aumentaría su adherencia a la superficie, y por otro lado, si las disoluciones no están lo suficientemente calientes, los sólidos pueden redepositarse. El proceso de limpieza puede remover el 90% o más de los microorganismos asociados con la superficie, pero no puede remover las biolâminas ya formadas.

I.7. Control microbiológico de superficies

En la industria alimentaria existe un gran interés por aplicar métodos de control en las operaciones de limpieza y desinfección de las superficies que entran en contacto con los alimentos. Estos métodos no sólo son indicadores de la eficacia de la limpieza en un determinado momento, sino que van a trazar la tendencia de la eficacia del programa de LD y su aplicación a lo largo del tiempo. Si el método que buscamos es sólo para controlar la desinfección y la posterior aplicación inmediata de las acciones correctoras, tendremos que utilizar métodos basados en la bioluminiscencia. Si por el contrario, la acción correctora puede ser aplicada tras 24 h, e interesa más valorar la tendencia de los resultados junto con el conocimiento de la microbiota contaminante, se utilizarán métodos microbiológicos tradicionales.

Además de estos controles sobre superficies consideradas como críticas por el contacto directo con los alimentos, también se realizarán controles en superficies como sumideros, suelos y parte inferior de la maquinaria, para la detección preventiva de patógenos como S*almonella spp.* y *Listeria spp*. Periódicamente también se deben realizar controles ambientales.

La higiene microbiológica en la producción y procesado de los alimentos tiene como fin proteger al consumidor de los agentes patógenos y asegurar la calidad de los alimentos (Cheswort, 1997; Vanne *et al*., 1996). Por lo tanto, la valoración de los riesgos microbiológicos durante la producción, procesado, y tratamiento de los alimentos constituye una importante base para el juicio de la seguridad de los productos alimenticios (Brauning y Hensel, 2004). Las técnicas y prácticas en la industria alimentaria han evolucionado para ayudar a los sistemas internacionales de control de calidad y para el seguimiento de los sistemas de calidad total de las compañías demandado por los consumidores (Cheswort, 1997; Carpentier y Cerf, 1993). EL sistema APPCC y las buenas prácticas de higiene son muy importantes para el cumplimiento de estas obligaciones con un coste permitido, sin comprometer la seguridad, la calidad o el servicio de los consumidores (Bredholt, 1996).

El propósito común es identificar los riesgos microbiológicos para controlar las superficies de procesado y las superficies en general de las áreas de producción de alimentos. Los métodos de muestreo son necesarios para establecer la frecuencia óptima del programa de limpieza y desinfección de los equipos, de esta forma adaptaremos el programa de LD a los resultados de los controles de superficies (Salo *et al*., 2006).

En el control de la higiene, el número total de bacterias y enterobacterias proporcionan una estimación del nivel de riesgo de contaminación durante la producción (De Boer, 1998). El seguimiento de la higiene en las industrias está basado generalmente en métodos microbiológicos tradicionales como los hisopos o las placas de contacto. Actualmente, es necesario validar los métodos de estudio de la higiene de las superficies en las industrias (Wirtanen *et al*., 1995). La validación de los procedimientos de limpieza es una parte esencial del éxito del mantenimiento y seguimiento de la higiene, proporcionando información que confirma la eficacia de los procedimientos de limpieza e identificando problemas o pequeños fallos del sistema (Orth, 1998). Esto debería ser pro-activo, permitiendo inmediatamente la corrección de los problemas o actuaciones para evitar los productos contaminados.

I.7.1. Métodos microbiológicos tradicionales para el control de superficies

Los métodos tradicionales más frecuentemente utilizados para el control microbiológico de superficies en industrias alimentarias son los hisopos, los laminocultivos (Foto 13) y las placas de contacto (RODAC) (Fotos 14 y 15). El método de los hisopos fue estandarizado en 1997 como un método de muestreo de superficies cuantitativo y semicuantitativo (Andrews, 1996). Numerosos métodos para la identificación de ciertas bacterias y la enumeración del total de bacterias han sido validados por la AOAC Internacional (De Smedt, 1998).

La inspección regular, junto con la rutina de los métodos microbiológicos de seguimiento, es muy eficaz para comprobar la eficacia de la limpieza y desinfección. Los métodos microbiológicos tradicionales son utilizados simultáneamente con otros

métodos como ATP bioluminiscencia, la detección de proteínas, la tinción combinada con microscopía y el análisis de imágenes (Wirtanen *et al*., 1995).

Foto 13. Laminocultivo para detección de enterobacterias.

Foto 14: Placa de contacto (RODAC) para la detección de aerobios.

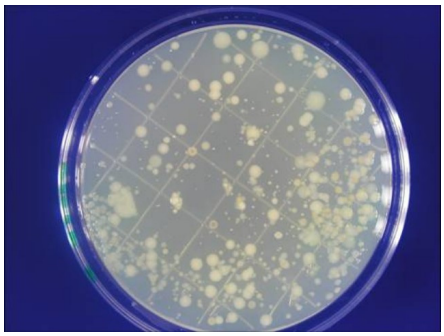
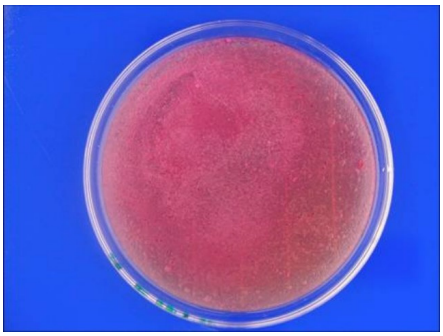


Foto 15. Placa de contacto (RODAC) para la detección de enterobacterias.



Los laminocultivos y las placas de contacto son soportes para un agar determinado.
La estimación del número total de colonias que crecen por contacto sobre una placa de cultivo puede llevar entre 24 y 48 h, mientras que la determinación de microorganismos específicos (hongos, levaduras, salmonelas), de 4 a 7 días. El principal inconveniente es que durante este tiempo el producto puede haber sido liberado al mercado o incluso consumido, antes de conocer los resultados de los controles. Por otro lado, si el producto es almacenado hasta la confirmación de los resultados microbiológicos tendríamos unas enormes pérdidas económicas por el

prolongado almacenamiento. Los métodos microbiológicos proporcionan información cuantitativa y cualitativa sobre la carga microbiana, pero es una información retrospectiva, pues requieren una incubación (Chisti y Moo-Young, 1994), siendo su uso inapropiado como herramienta de monitorización rápida requerida por el sistema APPCC. Por tanto, la información obtenida de los resultados microbiológicos tradicionales no permite conocer las superficies contaminadas de forma instantánea, por lo que no va a poder ser usada para evitar la contaminación cruzada de los alimentos.

En 1996, una encuesta no publicada en 500 establecimientos de comidas en Gran Bretaña, corroboró que los protocolos para la monitorización del control de superficies de las industrias no habían sido mayoritariamente adoptados. El estudio reveló que los métodos utilizados para la monitorización de la limpieza de las superficies fueron en el 48% de los casos, hisopos y placas de contacto, mientras que el 27% usa ATP bioluminiscencia (Davidson *et al.,* 1999).

Los hisopos, los laminocultivos y las placas de contacto están basados en el crecimiento en agar de los microorganismos separados de las superficies examinadas. Si los microorganismos son separados de forma violenta de las superficies, puede condicionar su crecimiento sobre el agar y no ser detectados (Salo *et al.,* 1999). Otros factores que pueden afectar los resultados son la rugosidad y la naturaleza de las superficies, la cantidad y tipo de sólidos presentes, así como el tipo de microorganismos adheridos. Además, los restos de desinfectantes presentes en las superficies muestreadas son absorbidos por el agar inhibiendo el crecimiento de los microorganismos. Para evitar esto, los medios de cultivo de las placas incorporan inhibidores de las sustancias desinfectantes.

Los microorganismos de las superficies estudiadas son transferidos al agar por presión sobre las superficies. En el método del hisopo, las superficies son hisopadas y los microorganismos son transferidos a un diluyente por agitación del hisopo. Posteriormente la disolución del diluyente es sembrada sobre determinadas placas de agar (Salo *et al*., 2000).

I.7.2. Luminiscencia: Justificación de nuevos métodos de control de superficies

Es importante usar el mejor método posible para el aislamiento y detección de los microorganismos en los biofilms y en los medios líquidos, porque los microorganismos que crecen en condiciones ambientales extremas son difíciles de cultivar y las placas convencionales no siempre dan estimaciones exactas (Salo *et al.*, 2006). Resulta difícil determinar la verdadera carga microbiana de las superficies, como lo demostró un estudio de Wirtanen *et al.* (1995), en el que mediante el uso de ultrasonidos despegaron de la superficie, unas 10 veces más células que las aisladas con los hisopos sobre los medios de cultivo.

Los resultados de la subjetiva inspección visual de establecimientos de comidas, no se relacionan con la calidad microbiológica de las comidas (Powell y Attwell, 1995). Por lo tanto, hay una necesidad de desarrollar un criterio objetivo y capacitado para ser incorporado a los sistemas de inspección. La inspección visual representa el primer paso para la validación de los sistemas de LD, sin otro coste que el tiempo empleado. Las limpiezas deficientes pueden ser identificadas rápidamente y llevar a cabo acciones correctoras en tiempo real, pero este sistema tiene sus limitaciones, pues sólo es aplicable a áreas de acceso visual y para la detección de residuos de alimentos groseros.

Entre las nuevas técnicas para valorar los criterios de higiene en establecimientos de alimentos, el uso de ATP-bioluminiscencia parece tener un gran potencial (Mackintosh, 1990). La bioluminiscencia está basada en la detección del ATP (adenosín trifosfato) bacteriano, y presenta como ventaja frente a los anteriores métodos, su inmediata respuesta. Esta técnica está basada en la enzima luciferasa de las luciérnagas (*Photinus pyralis*) (EC 1.13.12.17), llegando a ser una técnica estándar de valoración higiénica en las industrias de alimentos y bebidas (Bautista *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1996).

Generalmente, hay más ATP no microbiano presente en las muestras de los hisopos tomados de las superficies alimentarias, que ATP de origen microbiano.

Las superficies contaminadas con materia orgánica que incluyan células de origen animal, vegetal o microorganismos, portarán un contenido de ATP proporcional a la cantidad de contaminación. El ATP contenido en la materia puede ser removido y extraído desde la superficie por un hisopo, y entonces mezclado con el complejo enzimático luciferín-luciferasa que reacciona produciendo una pequeña emisión de luz. Cuando hay un exceso de reacción, la cantidad de luz emitida será proporcional a la cantidad de ATP presente.

De forma más detallada la reacción ocurre de la siguiente forma: la D-luciferin sufre una descarboxilación oxidativa en presencia de luciferasa de luciérnaga, ATP, oxígeno y $Mg^{2+,}$ produciendo una luz amarillo-verdosa en una longitud de onda máxima de 562 nm. El ATP está presente en células bacterianas y en todos los animales y plantas, incluyendo alimentos y residuos de alimentos. Por lo tanto, no sólo puede ser usado para la detección y cuantificación de microorganismos, sino que también puede ser usado como un medio de monitorización de la higiene o verificación de la limpieza (Calvert *et al*., 1999). El ATP recolectado mediante el hisopo es tamponado mediante un buffer con el Mg^{2+} que cataliza la reacción. El buffer permite que la reacción se establezca en un medio neutro para permitir que la emisión lumínica se mantenga a una intensidad constante, permitiendo tomar muestras entre pH 3 y 12. Este es un factor muy importante, porque las superficies muestreadas pueden tener restos de las soluciones de detergentes o desinfectantes, los cuales suelen tener un rango de pH alcalino, alterando la lectura de Unidades Relativas de Luz (URL). Otros factores externos como pH y productos químicos pueden afectar la actividad enzimática. Factores como sales, metales iónicos, conservantes, soluciones de limpieza, alcohol y agentes oxidantes pueden también afectar a la estabilidad de la reacción luciferín-luciferasa (Velázquez y Feirtag 1996).

Los luminómetros son capaces de medir la luz emitida y cuantificarla en términos de unidades relativas de luz (URL). La medición de bioluminiscencia da una rápida valoración de las cantidades de restos orgánicos, y de la contaminación microbiana de las superficies de los establecimientos (Tebbutt y Midwood, 1990). Esta técnica rápida de medición del ATP de la contaminación microbiana y de los residuos orgánicos, no identifica la cantidad de microorganismos, ni las especies contaminantes.

Algunos estudios han mostrado una buena correlación entre los resultados de ATP y los métodos microbiológicos (Bautista *et al*., 1992; Kyriakides y Patel, 1994,), mientras que otros han mostrado una correlación pobre (Griffith *et al*., 1997, Poulis *et al*., 1993). Esta disparidad de resultados se cree es debida a que la naturaleza de las condiciones de las superficies se desconocen. Algunos autores (Moore y Griffith, 2002; Tebbutt, 2007; Davidson *et al*., 1999) utilizaron en sus investigaciones una superficie de 100 cm^2, otros (Powell y Attwell, 1997; Aycicek *et al.,* 2006; Reineman y Ruegg, 2000) muestrearon áreas de 10 cm^2. Algunas de las publicaciones consultadas sobre el recuento del ATP mediante bioluminiscencia, expresaron los resultados en URL en referencia al total de la superficie muestreada (Aycicek *et al*., 2006; Moore y Griffith., 2002), la cual suele ser de 100 cm^2. Tebbutt (2007) expresaron los resultados en URL/cm^2, lo cual es más adecuado para realizar estudios comparativos entre los diferentes métodos de control de superficies, y sobre todo teniendo en cuenta que las placas de contacto (20 cm^2) y los laminocultivos (10 cm^2) tienen diferentes medidas de superficie.

La detección mínima de microorganismos (*S. aureus* y *E. coli*) recuperados con ambos métodos, bioluminiscencia e hisopos, dio unos resultados de 10^4 y 10^2 ufc/100 cm^2 respectivamente, influyendo el tipo de microorganismos aislados, condiciones de humedad de la superficie y la siembra sobre las placas de agar (Davidson *et al.*, 1999).

El ATP–bioluminiscencia ha sido usado sucesivamente en las industrias de bebidas para valorar el plan de higiene y apoyar el sistema APPCC (Ogden, 1993). Los beneficios potenciales de esta técnica incluyen el ahorro económico debido al mejor control de calidad, al incremento de confianza de la calidad del producto, incremento de la eficacia de la producción, y a la motivación del equipo (Powell y Attwell, 1997).

Los sistemas rápidos de monitorización de la higiene (Hygiene System Monitorin, HSM), utilizando el ATP- bioluminiscencia han sido desarrollados y demostrado su utilidad como herramientas para evaluar la limpieza de las superficies en contacto con los alimentos. El uso de esta técnica para el seguimiento higiénico de las queserías proporciona rápida información de la presencia de restos orgánicos y contaminación microbiana, permitiendo así instaurar las medidas correctoras pertinentes.

I.7.3. Consideraciones sobre criterios de control de superficies

No existe un único patrón para limpieza de superficies alimentarias, sino que cada industria adapta los planes generales de LD a sus instalaciones y a sus necesidades. Algo similar ocurre con los controles de superficies y los niveles de aceptación de resultados, donde cada empresa parte de referencias bibliográficas y establece sus límites según las exigencias requeridas por el producto final (Tebbutt, 1999).

Pocos valores de referencia o valores guía han sido publicados de forma oficial sobre los niveles aceptables de la contaminación microbiológica de superficies mediante métodos tradicionales microbiológicos. La Comisión Europea mediante normativa (Anónimo, 2001) regula estos controles en establecimientos del procesado de carne, dictaminando para las superficies limpias el nivel de 0-10 ufc/cm^2, para aerobios totales y para Enterobacterias totales 0-1 ufc/cm^2.

En la Tabla 15 se muestran los criterios de referencia para unidades formadoras de colonias por cm^2 y URL adoptados en algunos estudios realizados sobre medición de carga microbiana en superficies de diversos establecimientos alimentarios, citando el área muestreada.

Tabla 15. Criterios microbiológicos adoptados en control de superficies.

Autor	Lugar de muestreo	Área cm^2	UFC/cm^2 Aerobios total	URL
Biotrace	Lácteas	100		<150; 150-300; >300
Orion Diagnostic	En general	10	< 5; >5	
2001/471/CE 2004/379/CE	Mataderos y salas de despiece		<10; >10	
Murphy	Láctea	50	<1; 1-50; >50	<100; 100-150; >150
Powell	Locales de comida	10		<300; >300
Leon Maritza	Tablas laboratorio	25		
Hasan Aycek	Cocina hospital	10	<10	
Patricia Costa	Lácteas	100	<2; >2	<150; 150-300; >300
Ginny Moore	Varios estable	100	<2,5; >2,5	<500; >500
Americ Public H.	En general		<2; >2	
Worl Healt Org.	En general		<50; >50	
Reineman	Laborat/Láctea	10		
Tebbutt	Local comidas	100	<10; >10	<400; >400
Páez	Sala de ordeño	100	<320; >320	<150;151-300;>301

I.8. Sistemas de evaluación de higiene (HAS)

El sistema HAS se empezó a aplicar oficialmente a partir de febrero de 1995, y sus datos se han hecho públicos desde enero de 1998. Durante este tiempo ha demostrado ser un sistema dinámico, eficaz y aceptado tanto por industriales como por los consumidores, ya que éstos disponen mensualmente de la información de las puntuaciones obtenidas.

La aplicación de este sistema en queserías industriales y artesanales tiene como objetivo la creación de una herramienta de trabajo que facilite la implantación del sistema de autocontrol APPCC. El "Sistema de Evaluación de la Higiene" o "Hygiene Assessment System" (HAS), pretende introducir unos parámetros coherentes de valoración de la higiene alimentaria de una manera sistemática, ordenada, lógica y razonada a lo largo del flujo de manipulación. De esta forma, mediante el procedimiento de ponderación de las secciones de control sanitario, se obtendrá una valoración más objetiva del nivel de higiene alimentaria en las queserías industriales y artesanales (Martínez y Vendrell, 1999).

Mediante la encuesta HAS se valoran todos los procesos, operaciones y aspectos concretos de la manipulación, obteniéndose una puntuación según supongan un mayor o menor riesgo higiénico sanitario. Se alcanza así una puntuación ponderada global que mide el nivel de higiene en el establecimiento, reduciendo el factor de subjetividad en la aplicación de los criterios sanitarios.

Este sistema dinámico evoluciona con la implantación de la nueva legislación alimentaria aplicable a las queserías y con las mejoras o el empeoramiento de cualquiera de los apartados evaluados en esta encuesta y que están directamente relacionados con la seguridad de la calidad higiénica del producto final.

Los objetivos de las encuestas HAS son los siguientes:

- Armonizar los criterios de inspección, asegurando una supervisión e inspección uniforme y consistente reduciendo la subjetividad.
- Crear una herramienta de trabajo que facilite un sentido coherente en la valoración de la higiene.
- Tener puntos de referencia en cuanto al nivel de higiene en las queserías.
- Facilitar la comparación entre los distintos niveles de higiene de los establecimientos inspeccionados.
- Asegurar una mejora constante y ascendente del nivel de higiene en las queserías, garantizando nuevos umbrales en la seguridad alimentaria de los quesos y detectar posibles deficiencias para posteriormente instaurar medidas correctoras.
- Mediante sucesivas valoraciones de las queserías se pretende comprobar la evolución de los niveles de higiene de las diferentes zonas inspeccionadas.

I.9. Conocimientos de los manipuladores de alimentos

Se debe tener en cuenta que toda formación debe incluir conocimientos suficientes sobre el funcionamiento del APPCC, ser capaz de transferir los conocimientos al manipulador y también capacidad de evaluación de los conocimientos adquiridos.

A pesar de la aceptación general de que el esfuerzo de la formación debe ser sistemáticamente evaluado, pocos estudios han investigado los beneficios que la formación en la higiene alimentaria aporta a la industria. Este hecho quedó patente en una inspección de la industria de la hostelería (lodging) de USA, donde menos del 10% de las compañías hospitalarias llevaron a cabo evaluaciones por escrito en sus programas de formación (Conrade *et al.,* 1994).

En referencia a la adquisición de conocimientos, en la práctica es aceptado que sólo el conocimiento es insuficiente para desencadenar unas prácticas preventivas y que algún mecanismo es necesario para motivar la acción y la motivación de actitudes positivas (Tones y Tilford, 1994). Para que la formación de la higiene de los alimentos sea efectiva, necesita cambios objetivos en aquellos comportamientos más relacionados con las toxiinfecciones alimentarias. Se ha desmostrado que cuando las toxiinfecciones de origen alimentario son investigadas, frecuentemente los establecimientos de pequeño y mediano tamaño son focos de las fuentes de contaminación (Walker *et al.,* 2002).

Walker *et al.* (2002), elaboraron un cuestionario para manipuladores en establecimientos de restauración colectiva, evaluando los conocimientos sobre las toxiinfecciones alimentarias, higiene personal, grupos de comidas de alto riesgo, control de temperatura, contaminación cruzada y limpieza. La estructura de los cuestionarios fue similar a la seguida por Bas *et al*. (2006), que diseñaron una encuesta que constaba de 24 preguntas para conocer los conocimientos higiénico sanitarios y 9 más sobre los datos personales de los manipuladores de establecimientos alimentarios. Los cuestionarios inferiores al 50% de aciertos los consideraron como no adecuados.

El modelo de encuesta HAS y el test de manipulador de alimentos utilizado en este estudio se presentan en el Anexo, Tablas VIII.6. y VIII.7.

Dentro de los hábitos higiénicos de los manipuladores de alimentos de las queserías, tiene especial importancia el lavado de las manos, hecho demostrado por numerosos estudios que se han publicado referente tanto a queserías industriales como artesanales. En estas últimas, la contaminación cruzada entre las manos y la cuajada o el queso puede ser mayor al haber más manipulación y menor grado de mecanización.

Muchos autores coinciden en la importancia de la temperatura del agua durante el lavado de manos, la cual debe ser tibia o caliente, entre 35º y 43ºC, pues la actividad de los jabones, la fricción y el aclarado llegan a ser crucial para la eliminación de los microorganismos, ya que la temperatura del agua no proporciona una destrucción térmica de los microorganismos patógenos. No en vano, es requisito indispensable que los lavamanos dispongan de agua caliente y fría. Cuando el agua tibia o caliente es combinada con el jabón bactericida, la temperatura alta de la disolución aumenta la velocidad de las reacciones químicas y mejora el poder bactericida de los jabones (Michaels *et al*., 2002). La concentración de jabón necesario para cada lavado de manos oscila entre los 2,5 y 5 ml, aunque depende del tipo de jabón y su principio activo bactericida: yodo, alcohol, triclosán, QAC, etc.

Price (1938), definió dos tipos de microbiota en las manos de los manipuladores de alimentos, una transitoria y otra residente. La primera no tiene especial adherencia a la piel, y las secreciones y la microbiota competitiva crean un ambiente no adecuado para su crecimiento, lo que hace que se elimine fácilmente con los lavados. Sin embargo, la microbiota residente sí está adaptada al medio de la piel y se elimina más lentamente con los lavados de manos. Aunque un cambio en las condiciones de la piel pueden propiciar que la microbiota transitoria pase a ser residente. Normalmente se trata de bacterias no patógenas, aunque la colonización de microorganismos coagulasa positivo es bastante frecuente. Este tipo de bacterias tiene especial importancia en la contaminación de los quesos, pues es la primera causa de TIAs tras su ingesta.

Todas las queserías artesanales están consideradas como pequeños establecimientos alimentarios, tanto por su producción como por el número de manipuladores empleados en la elaboración de sus productos. Algunos estudios han demostrado una escasa correlación entre la formación higiénica de los manipuladores y la mejora en el comportamiento higiénico, es decir, que el conocimiento no facilita los cambios en las prácticas higiénicas (Walker *et al.,* 2002). Se han propuesto algunas razones para el escaso impacto de la formación, casi todas relacionadas con el estatus socio-económico y el nivel cultural de los manipuladores de alimentos (Oteri *et al.,* 1992). Es por lo tanto uno de los mayores desafíos en la industria alimentaria, motivar a los manipuladores de alimentos a aplicar lo que han aprendido sobre la higiene de los alimentos (Ehiri y Morris, 1996).

Los manipuladores queseros de la isla de GC proceden de ambientes laborales muy diferentes; en las queserías industriales los trabajadores son formados según las directrices de la empresa y cada uno de ellos tiene un cometido determinado, así como una actitud y comportamiento diferente ante las prácticas de higiene alimentaria. No ocurre lo mismo en las queserías artesanales donde la formación es recibida a través de los cursos organizados por las diferentes asociaciones relacionadas con esta actividad y la actitud y el comportamiento son siempre positivos, pues es el propio quesero el que tiene especial motivación por aplicar los conocimientos adquiridos en la elaboración para mejorar su producto. No obstante, los manipuladores de los pequeños establecimientos pueden tener escasos conocimientos y recursos para identificar los peligros microbiológicos de los alimentos y, por lo tanto, problemas para implementar correctamente el APPCC (Panisello *et al*., 2001). La mayoría de los estudios publicados sobre la formación y valoración de los conocimientos de los manipuladores de alimentos, están dirigidos al sector de la restauración colectiva, aunque algunos datos y resultados se pueden extrapolar al sector de las queserías.

I.10. Planteamiento y objetivos

PLANTEAMIENTO

En la Comunidad Autónoma de Canarias y en especial en Gran Canaria, el sector lácteo está muy arraigado, destinándose la mayoría de la leche a la elaboración de queso artesanal y en menor proporción, a la de queso industrial. Para las empresas de este sector constituye un reto la normalización del producto, por lo que se considera fundamental la implantación de sistemas intermedios de calidad APPCC, que exijan la evaluación previa del establecimiento y que aseguren la verificación del nivel de implantación para conseguir y mantener un nivel satisfactorio de seguridad alimentaria en los productos acabados.

Considerando la importancia de las operaciones de limpieza y desinfección en estas industrias y teniendo en cuenta que forman parte del sistema APPCC, como prerrequisito, es fundamental verificar dichas operaciones mediante procedimientos y/o ensayos analíticos normalizados y de contrastada veracidad.

Los controles microbiológicos de superficies suponen para las industrias lácteas, la verificación de las operaciones de limpieza y desinfección, y unos resultados satisfactorios prevendrían la contaminación del producto a lo largo de la cadena de producción. En las queserías artesanales, además de estos controles, supone un indiscutible método de valoración, la determinación de las tasas de contaminación de la leche y el queso.

Se consideró de gran interés por tanto, realizar un estudio de los principales establecimientos lácteos (fundamentalmente queserías artesanales e industriales) en los que a través de diversas encuestas (APPCC, LD, producción, HAS, tests de manipuladores) y mediante la aplicación de controles microbiológicos (de superficies y

productos), permitiera valorar a través de la identificación de los principales riesgos y/o peligros, la calidad higio-sanitaria de estos productos.

OBJETIVOS

El objetivo general que se plantea en el presente trabajo es la evaluación higiénico-sanitaria en queserías industriales y artesanales de Canarias, especialmente, Gran Canaria. Para tal fin se definieron los objetivos específicos que se detallan a continuación:

A. Industrias lácteas

1. Recabar información sobre su estado higiénico-sanitario mediante la realización de encuestas sobre implantación de APPCC y ejecución de los planes de LD.

2. Valorar en las QI la formación higiénica de los manipuladores de alimentos mediante test de conocimientos y evaluar las características higiénico sanitarias mediante encuestas HAS.

3. Control higiénico-sanitario de queserías industriales:

   - ❖ Evaluación de la eficacia de las operaciones de LD mediante el control microbiológico de superficies por dos métodos tradicionales (placas de superficie y laminocultivos) y bioluminiscencia (medición del ATP). Grado de coherencia entre estos sistemas de control.
   - ❖ Identificación de los factores de riesgo relacionados con la contaminación microbiológica de las superficies de las QI mediante el análisis estadístico de los datos.

B. Queserías Artesanales

1. Recabar información sobre la producción mediante la cumplimentación de un formulario sobre múltiples aspectos relacionados con el proceso de elaboración y producción.

2. Valorar la formación higiénica de los manipuladores de alimentos mediante test de conocimientos y evaluar las características higiénico sanitarias de las queserías mediante encuestas HAS.

3. Control higiénico-sanitario de queserías artesanales:

   - Observación del cumplimiento de los criterios microbiológicos de seguridad alimentaria y de higiene en los procesos de elaboración, de la leche empleada y de los quesos artesanos.
   - Identificación de los factores de elaboración de quesos artesanales que influyen en su contaminación biótica, mediante el análisis estadístico de los datos.
   - Evaluación de la eficacia de las operaciones de LD mediante el control microbiológico de superficies con laminocultivos. Asociación con el nivel de conocimientos de los manipuladores.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

II. MATERIAL Y MÉTODOS

En este capítulo se detallan los materiales empleados y la metodología aplicada a los tres aspectos principales que comprenden el presente estudio:

- Industrias lácteas: encuestas y análisis microbiológicos de superficies.
- Queserías Artesanales: encuestas y análisis microbiológicos de productos.
- Análisis estadístico.

II.1. Industrias lácteas

II.1.1. Material experimental

II.1.1.1. Evaluación inicial del sector: encuestas APPCC y encuestas LD

Para conocer el estado inicial de las industrias lácteas frente a la aplicación de las operaciones de LD y el grado de cumplimiento del RD 1679/1994 (Anónimo, 1994 b) (en vigor al comienzo de este estudio y posteriormente derogado por el RD 640/2006 (Anónimo, 2006 c), al entrar en vigor el Reglamento (CE) 853/2004), se elaboró un cuestionario estructurado que permitió conocer el grado de satisfacción y evaluar el nivel de implantación del APPCC.

Para la confección de las encuestas se sometieron a debate todos los items, dentro del grupo de discusión, formado por seis miembros del equipo de trabajo, llegando a consensuar unos modelos fáciles de entender y que aportaran suficiente información al estudio. Cada una de las encuestas realizadas (APPCC y LD) tenía un formato y un contenido específico, cuyo objetivo era conocer la situación higiénico sanitaria de las industrias lácteas una vez analizados los datos.

Con dicho fin, se hicieron visitas a varios establecimientos y se consultó con un grupo de expertos ligados al sector: jefes de producción, maestros queseros, responsables de calidad y técnicos veterinarios pertenecientes a la Sección de Salud Pública del Servicio Canario de Salud. Una vez recabada toda la información, se comentaron

todas las cuestiones de interés dentro del grupo de discusión. De esta forma se elaboró el primer cuestionario que contenía 40 preguntas sobre el APPCC y estaba dividido en cuatro partes: Implantación en la industria (1-15), Funcionamiento (16-26), Rentabilidad (27-32), Aspectos Generales (33-37) y Opinión (38-40).

Previo al cuestionario definitivo se realizó un cuestionario piloto, el cual fue contestado por cinco responsables de industrias lácteas, con el fin de reducir errores en el cuestionario definitivo. Se calculó el tiempo de realización de cada encuesta, así como el grado de comprensión de las preguntas formuladas, evitando así pérdidas de tiempo durante la realización de las mismas (Walter *et al*., 2003).

Una vez elaborada la encuesta definitiva, fue cumplimentada por los responsables de diez industrias lácteas de GC, no siendo necesario el acceso a las instalaciones por parte del equipo de trabajo de este estudio al tratarse de una verificación exclusivamente documental.

Con el objeto de seguir en esta línea de obtención de datos, se realizó otro cuestionario a los responsables de producción o de calidad, sobre la aplicación de los sistemas de limpieza y desinfección en las industrias lácteas. Este cuestionario constaba de 51 preguntas cerradas, dividido en cuatro partes: Producción de la industria (1-3), Operaciones de Limpieza (4-24) y Desinfección (25-32), Depuración de Efluentes (33-38) y Productos Aplicados en la LD (39-51).

Para la confección de este cuestionario se siguió la misma metodología que para el anterior sobre APPCC, con la diferencia que esta vez sí se accedió a las instalaciones de cada una de las empresas participantes (12 industrias lácteas de GC y Tenerife), verificando *in situ* la elaboración de los productos y las operaciones de LD.

Los modelos de las encuestas APPCC y LD están recogidos en el Anexo VIII.1 y VIII.2., respectivamente.

II.1.1.2. Evaluación higiénica de las Queserías Industriales: encuestas HAS y tests de conocimientos de los manipuladores de alimentos

De todas las industrias lácteas integrantes del presente estudio, sólo las que tenían actividad específica como QI, fueron evaluadas en estos aspectos.

Con el fin de diagnosticar el estado de adecuación de las industrias a los requisitos higiénico sanitarios exigidos por la legislación vigente en el momento del inicio del estudio (RD 1679/1994 y Reglamento (CE) 853/2004), se elaboró una encuesta HAS (Sistema de Evaluación de la Higiene), en la que a cada cuestión planteada se le otorgaba una puntuación según el grado de cumplimiento de las QI con una escala predeterminada.

La puntuación otorgada a cada categoría de control sanitario a valorar fue obtenida en base a la normativa vigente, a los conocimientos científicos actuales sobre higiene y tecnología alimentaria y a la propia experiencia profesional durante las visitas a las queserías, dando mayor puntuación a las operaciones de manejo o instalaciones que soportaban mayor riesgo.

La encuesta diseñada a tal efecto, Anexo, Tabla VIII.6., presentaba siete epígrafes: Zona perimetral y accesos: Exteriores (1-5), Instalaciones: Interiores (6-17), Equipos (18-22), Personal: Plan de formación de manipuladores (23-28), Plan de Limpieza (29-41), Elaboración quesera (42-49), Requisitos Administrativos (50-53). La suma de los items correspondientes a los epígrafes anteriores tenía una puntuación máxima de 100. Se consideró un valor de 40 como mínimo excluyente, por debajo del cual no se podría llevar a cabo la implantación de un sistema de APPCC por grave deficiencia en alguna de las áreas representadas por los epígrafes anteriores.

La encuesta fue realizada a partir de la tercera visita al establecimiento, recorriendo todas las instalaciones y comprobando las condiciones de fabricación del queso. Ninguna de las queserías hizo modificaciones de sus instalaciones durante el periodo en el que se desarrolló este estudio, permaneciendo en la encuesta los mismos parámetros para observación.

Para evaluar los conocimientos de los manipuladores sobre las actitudes y prácticas higiénicas relacionadas con la seguridad de los alimentos fabricados en las queserías, se elaboró un test (Anexo VIII.7.) basado en la normativa del RD 202/2000 (vigente hasta el 20 de febrero de 2010, según RD 109/2010 (Anónimo, 2010)). Este cuestionario estaba formado por 40 preguntas cerradas, con tres opciones de respuestas y una sola correcta. Para superarlo, cada manipulador debía responder correctamente a un mínimo de 30 preguntas, equivalente al 75% de aciertos, baremo obtenido de la Norma de Manipuladores de Alimentos de Canarias (Anónimo, 1984).

Previamente a la realización del cuestionario se informó a todos los participantes de la finalidad del mismo y de la confidencialidad de los resultados. Los participantes fueron todos aquellos trabajadores que intervenían en cualquiera de las fases de fabricación de los quesos.

El test contenía 6 epígrafes: Información sobre el manipulador de alimentos (1-5), Microbiología y enfermedades transmitidas por los alimentos (6-15), Actitudes higiénicas (16-22), Higiene de la quesería (23-28), Sistema de autocontrol (29-32) y Limpieza y desinfección (33-40).

II.1.1.3. Selección de industrias lácteas

Para el desarrollo de este estudio se pidió la colaboración de todas las industrias lácteas de Gran Canaria dedicadas a la elaboración de queso o derivados lácteos, que fueron seleccionadas a través del listado de industrias inscritas en el RGSA con la clave 15.

El primer paso fue contactar telefónicamente con los responsables de producción o de calidad y solicitar su participación en las encuestas, accediendo a ello únicamente 10 industrias de GC.

Una vez finalizada la primera encuesta de APPCC, se les expuso el contenido y motivo fundamental del estudio a realizar en cada una de las industrias, siendo el

objetivo la evaluación y eficacia de los mecanismos de limpieza y desinfección en las industrias lácteas de GC.

En la encuesta de LD, participaron siete industrias lácteas de GC, accediendo sólo cuatro a la fase de control de superficies: tres queserías y una central láctea. Ante la escasa participación de las industrias en este proyecto, se decidió ampliar la zona de estudio a la isla de Tenerife. Allí, cinco industrias participaron en la cumplimentación de la encuesta, de las cuales sólo tres se sumaron al estudio de control de superficies: dos queserías y una central láctea.

Finalmente se decidió incluir únicamente en este estudio los controles microbiológicos de superficies realizados en las QI, debido a las diferencias manifiestas de equipos, personal y dimensiones de las instalaciones encontradas entre las cinco QI y las dos centrales lácteas.

En la Tabla 16 se describen de forma breve las características de las 15 industrias lácteas y su participación en el estudio. La número 3 no tenía equipos de limpieza mediante espumas ni CIP porque correspondía a una industria de transformación de productos lácteos en polvo, y en este caso, estos equipos no se consideran los más adecuados. La número 11 estaba dedicada principalmente a la elaboración de derivados lácteos (yogourt, batidos, etc) y a una pequeña producción de queso fresco pasteurizado de vaca.

Tabla 16. Relación de Industrias lácteas que intervinieron en el estudio.

Industria	Isla	Tipo	Implantación APPCC	Equipos LD	Nº M.A.	Participación en el estudio
1	GC	CL	Sí	CIP	>100	1, 2, 3, 4
2	GC	T	Sí	CIP, Espu	>100	1, 2
3	GC	T	Sí	No	5	1
4	GC	Q	Sí	CIP	6	1
5	GC	Q	Sí	CIP, Espu	11	1
6	GC	Q	Sí	CIP, Espu	65	1, 2
7	GC	Q	Sí	CIP	6	1, 2, 3, 4
8	GC	Q	Sí	CIP	4	1, 2
9	GC	Q	Sí	No	5	1, 2, 3, 4
10	GC	Q	Sí	CIP	6	1, 2, 3, 4
11	TF	T, Q	Sí	CIP	72	2
12	TF	Q	Sí	No	6	2
13	TF	Q	Sí	CIP	18	2, 3, 4
14	TF	Q	Sí	CIP	8	2, 3, 4
15	TF	CL	Sí	CIP	25	2, 3, 4

Tipo: quesería (Q), central lechera (CL), transformadora (T)
Equipos LD: CIP, y equipos de espuma (espu)
Nº MA: nº de manipuladores de alimentos (MA)
Participación en el estudio: encuesta APPCC (1), encuesta LD (2), tests de manipuladores (3), control microbiológico de superficies (4)

II.1.1.4. Descripción de las Queserías Industriales

En este estudio participaron cinco queserías industriales, con capacidad superior a 750.000 l de leche procesados al año, tres de ellas ubicadas en la isla de GC y dos en la de Tenerife (TF). Todas estaban en posesión del Registro General Sanitario de Alimentos, para la elaboración y distribución de queso fresco y/o curado.

1. **Quesería A**: quesería ubicada en el sur de TF, en la zona de costa.
   Tipo de queso: a partir de leche pasteurizada de cabra y en menor porcentaje de oveja, elaboran queso fresco y curado, así como queso ahumado de ambos tipos.
   Nº de trabajadores: habitualmente trabajan 7 operarios en la zona de elaboración.
   Producción: diariamente reciben unos 22.000 l de leche para su transformación.
   Equipos de elaboración: lo más destacable es la presencia de dos cubas de cuajado cerradas y la llenadora automática de moldes.
   Equipos de limpieza y desinfección: poseen un CIP automatizado con tres depósitos (disolución alcalina, ácida y agua recuperada), así como unidades de bombeo para la limpieza de todo el circuito de leche y cuajada. No tienen equipos de espuma para la limpieza de superficies.

2. **Quesería B**: quesería ubicada en el norte de TF, en la zona de cumbres.
   Tipo de queso: a partir de leche pasteurizada de cabra y en menor porcentaje de oveja, elaboran queso fresco y curado, así como queso ahumado de ambos tipos.
   Nº de trabajadores: habitualmente trabajan 12 operarios en la zona de elaboración.
   Producción: diariamente reciben unos 20.000 l de leche para su transformación.

Equipos de elaboración: lo más destacable es la presencia de dos cubas de cuajado cerradas, cuyo contenido se vierte en una batea abierta y el llenado de moldes se realiza de forma manual.

Equipos de limpieza y desinfección: poseen un CIP automatizado con tres depósitos (disolución alcalina, ácida y agua recuperada), así como unidades de bombeo para la limpieza de todo el circuito de leche y cuajada. No tienen equipos de espuma para la limpieza de superficies.

3. **Quesería C**: quesería ubicada en el oeste de GC, en la zona de costa.

   Tipo de queso: a partir de leche pasteurizada de cabra y en menor porcentaje de vaca, elaboran queso fresco y curado.

   Nº de trabajadores: habitualmente trabajan 5 operarios en la zona de elaboración.

   Producción: diariamente reciben unos 7.000 l de leche para su transformación.

   Equipos de elaboración: lo más destacable es la presencia de dos cubas de cuajado cerradas y la llenadora automática de moldes.

   Equipos de limpieza y desinfección: poseen un CIP automatizado con tres depósitos (disolución alcalina, ácida y agua recuperada), así como unidades de bombeo para la limpieza de todo el circuito de leche y cuajada.

4. **Quesería D**: quesería ubicada en el noreste de GC, en la zona de costa.

   Tipo de queso: a partir de leche pasteurizada de cabra y vaca, elaboran queso fresco y curado.

   Nº de trabajadores: habitualmente trabajan 4 operarios en la zona de elaboración.

   Producción: diariamente reciben unos 6.000 l de leche para su transformación.

   Equipos de elaboración: el cuajado de la leche lo realizan en una cuba abierta, cuyo contenido se vierte en una batea para el llenado manual de los moldes.

   Equipos de limpieza y desinfección: utilizan el pasteurizador para la limpieza del circuito de leche, desde donde bombean las disoluciones alcalina y ácida. No poseen CIP automatizado.

5. **Quesería E**: quesería ubicada en el sureste de GC, en la zona de costa.
   Tipo de queso: a partir de leche pasteurizada de cabra y en menor proporción leche de oveja, elaboran queso fresco y curado.
   Nº de trabajadores: habitualmente trabajan 6 operarios en la zona de elaboración.
   Producción: diariamente reciben unos 5.000 l de leche para su transformación.
   Equipos de elaboración: el cuajado de la leche lo realizan en una cuba abierta, cuyo contenido se vierte en una batea para el llenado manual de los moldes.
   Equipos de limpieza y desinfección: poseen un CIP automatizado con tres depósitos (disolución alcalina, ácida y agua recuperada), así como unidades de bombeo para la limpieza de todo el circuito de leche y cuajada.

Los litros de leche procesados pueden variar en función de la época del año, con una menor producción durante los meses de verano y octubre.

II.1.1.5. Factores considerados para el análisis de riesgos

Una vez analizadas las características de cada quesería, se realizó una clasificación en torno a los factores que podían influir directamente sobre la contaminación microbiológica de las superficies de los diferentes puntos muestreados.

- Ubicación: zona de localización geográfica de la quesería.

1. La Zona de costa abarca toda la periferia de las islas hasta una cota de altitud de 300 m, donde comienza la zona de medianías. La mayoría de las explotaciones de ganado caprino se concentran en la zona este y sur de la isla de GC y sur de TF.

2. *La Zona de medianías* abarca todo el interior limítrofe con la de costa, entre una cota de altitud comprendida entre los 300 y los 800 m.

3. *La Zona de cumbres* corresponde a la de mayor altitud, abarcando todo el centro de la isla de GC con una cota superior a los 800 m y la zona norte de la isla de TF.

Para este factor se consideró estrictamente la zona de localización de las queserías, no teniéndose en cuenta el lugar de recogida de la leche, pues las QI realizan la recogida en cualquier ganadería de las respectivas islas.

- Grado de manipulación durante la elaboración del queso: esta categoría se basó en el grado de automatización de las queserías y, por lo tanto, en el grado de manipulación de los operarios.

1. *Mínima*: queserías con cubas de cuajado cerradas, llenadora de moldes y saladero. CIP completo.
2. *Media:* quesería con cubas de cuajado cerradas, desuerado semimanual y llenado de moldes manual. CIP completo.
3. *Alta:* queserías con cubas de cuajado abiertas, desuerado y llenado de moldes manual. El sitema CIP no cubre la LD de todos los puntos de fabricación.

- Principal especie productora de la leche utilizada:

1. *Cabra.*
2. *Mezcla binaria de cabra y vaca*.

-Producción de queso: esta categoría se basó en los litros de leche transformados por día.

1. *Producción alta*: entre 20.000 y 30.000 l.
2. *Producción baja*: entre 5.000 y 10.000 l

- Puntuación HAS: resultado de la encuesta de evaluación higiénica de las queserías.

- **Test de conocimientos de los manipuladores**: se consideró el número de fallos obtenidos en el test.

- **Test de conocimientos en LD:** se consideró el número de fallos obtenidos en el apartado de LD, del test global.

II.1.1.5.1. Descripción de las superficies muestreadas en las Queserías Industriales

En la selección de las superficies a muestrear en las QI para su control microbiológico, se consideró necesario que cumplieran los siguientes requisitos:

1. Que fuese un punto de control dentro del programa de LD y que las superficies estuvieran en contacto con la leche, cuajo o queso.
2. Que fueran de fácil acceso para la toma de muestras y con una superficie lisa suficiente para realizar el control mediante los tres métodos escogidos en el diseño del estudio.
3. Que estuvieran presentes en todas las queserías que participaron en este estudio.
4. Que se pudiera realizar una inspección visual antes de la toma de muestras.
5. Que tras su uso en las operaciones de producción, se hubieran limpiado y desinfectado de forma rutinaria.
6. Que hubieran pasado cuatro horas desde la última desinfección antes de tomar las muestras de superficies.

Una vez observadas todas las superficies que cumplían estos requisitos, se decidió que las elegidas para controlar serían:

1. Cuba de cuajado: en dos queserías (D y E), la cuba era abierta y en las otras tres, cerrada.

2. Batea/llenadora de moldes: tres queserías (B, D y E) tenían batea para el desuerado de la cuajada y las otras dos tenían llenadoras automáticas de moldes.
3. Mesa/cintas transportadoras: tres queserías (B, D y E) tenían mesas para el llenado de moldes y las otras dos queserías con llenadoras tenían cintas transportadoras de moldes.
4. Moldes: de varias medidas (desde 0,5 hasta 4 kg.). En las queserías con llenadoras (A y C), los moldes eran microperforados.
5. Tanques de recepción de leche: depósitos verticales de acero inoxidable; la toma de muestras se realizaba por la boca de hombre (trampilla de acceso al depósito situada en la parte inferior).
6. Tubería de entrada en el depósito de nivel de leche del pasteurizador (superficies analizadas sólo mediante técnica de luminiscencia).

II.1.1.6. Material general de laboratorio, reactivos y medios de cultivo

1. Se utilizó el equipo instrumental de laboratorio que a continuación se detalla:

- Dependiendo de la precisión de las pesadas se utilizaron las balanzas PRECISA 220 y Sartorius A200S
- Hornillo calefactor Clatronic Modelo DKP2420 y Selecta Agimatic N
- Baño termostático Indelab modelo IDL y K modelo YCW-035
- Cabina de flujo laminar vertical Telstar BV-100
- Estufas de cultivos microbiológicos Indelab, Rayda y Selecta
- pH-metro digital Crison pH meter GLP 22
- Micropipetas Acura de Socores de diferentes volúmenes
- Luminómetro Uni Lite XCEL Biotrace, con el soporte informático del Software Biotrack +
- Fotómetro Hanna HI95711C para la medición del cloro libre en el agua mediante reactivos DPD1.
- Microscopio Nikon

4. Reactivos y medios de cultivo

- Las soluciones acuosas se prepararon con agua destilada (salvo indicaciones).
- Los medios de cultivo y suplementos añadidos fueron los normalizados en las técnicas empleadas y se describen a continuación (II.1.2.2.).

II.1.2. Métodos

En la Figura 12, se presenta el esquema del plan metodológico y el análisis seguido en el estudio de las industrias lácteas.

II.1.2.1. Toma de muestras

Durante un periodo de 18 meses se realizaron ocho controles en cinco superficies diferentes de las cinco QI estudiadas. En una de las queserías sólo se realizaron 7 controles y en otras dos, la toma de muestras del tanque de leche no se pudo realizar en todas las visitas por encontrarse lleno de leche en el momento del muestreo. Un total de 182 muestras de superficies fueron tomadas mediante dos métodos diferentes (laminocultivos y placas de superficies) y a su vez, cada superficie fue muestreada con tres tipos de medios de cultivo para la investigación de diferentes microorganismos (aerobios totales, enterobacterias, hongos y levaduras) por cada método. Un tercer método de control, bioluminiscencia, fue utilizado complementando a los dos anteriores. Una superficie adicional fue muestreada mediante bioluminiscencia, ya que no se podía acceder a las tuberías de entrada al pasteurizador mediante los otros métodos de placas o laminocultivos. Se tomaron 39 muestras de esta superficie.

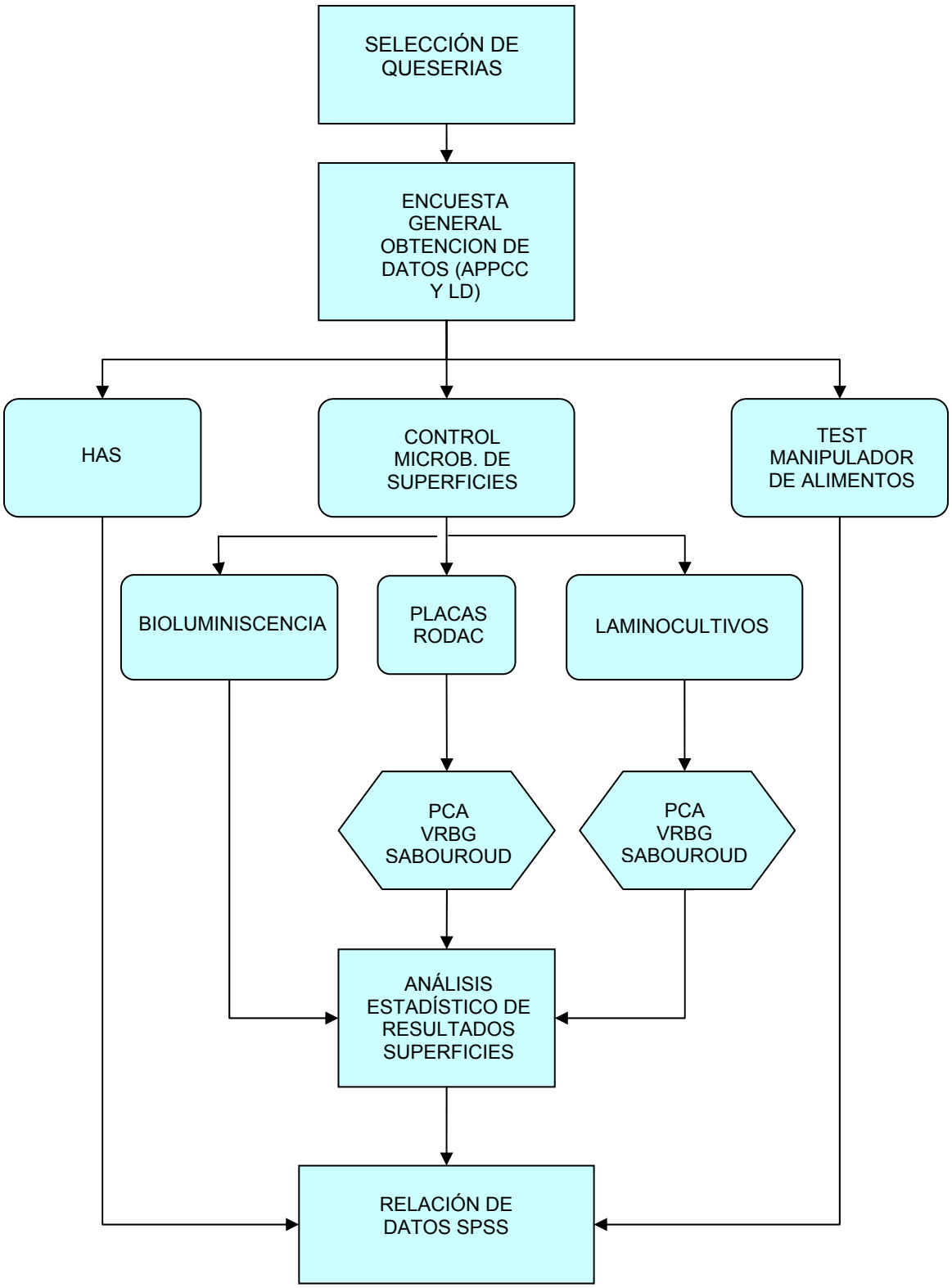
El protocolo para la comparativa de los tres métodos (laminocultivos, placas de superficie e hisopos de bioluminiscencia) se realizó según el procedimiento descrito por Salo *et al*. (2006) y Moore y Griffith (2002), quienes tomaron muestras mediante distintos métodos de evaluación en una industria láctea y en diversas industrias alimentarias (quesería, panadería, carnicería y platos preparados congelados), respectivamente.

Cada visita fue acordada previamente con el responsable de producción (maestro quesero) de cada quesería, con 24 horas de antelación. Se creyó conveniente que no se comunicara el día del control a los operarios, pues este factor podría influir sobre los resultados de las pruebas. Antes de la toma de muestras se procedió siempre a la rutina de inspección de todas las superficies para valorar visualmente el grado de

limpieza. Las superficies elegidas debían estar visualmente limpias para realizar la toma de muestras, si no era así, se le comunicaba al quesero para que procediera a su limpieza y se seleccionaba otra sección de superficie para el muestreo.

Durante la toma de muestras siempre estuvo presente el quesero o un operario de la quesería, al que se le mostraron *in situ* los resultados del test de ATP (bioluminiscencia) y, si era el caso, se comentaba la posible causa de los deficientes resultados, así como las acciones correctoras a tomar. Una vez obtenidos en el laboratorio los resultados de las placas y/o laminocultivos, se le remitía un informe con los mismos y las posibles medidas correctoras.

Figura 12. Diagrama de la metodología seguida en las queserías industriales.



II.1.2.2. Técnicas para el control microbiológico de superficies

1. Análisis microbiológicos tradicionales de superficies por contacto

La toma de muestras se realizó según las indicaciones de uso del fabricante de los laminocultivos (Hygicult TPC, Hygicult E, Hygicult Y&F, de Orion Diagnostica) y el método por placas RODAC empleado por Salo *et al.* (2002) y Salo *et al*. (2000), con una variante respecto al tiempo de presión contra la superficie, ya que que se consideraron insuficientes los 3-5 segundos indicados, por lo que se prolongaron a 10 segundos.

- *Laminocultivos*:

Estos medios de cultivo hidratados están adheridos al soporte de plástico del laminocultivo y no requieren ninguna manipulación previa a la toma de muestras.

- Método Hygicult TPC^R: es un medio preparado de aproximadamente 10 cm^2, por cada cara del soporte, con un agar específico para el recuento de aerobios totales (Total Plate Count Agar (PCA): triptosa, extracto de levadura, D-glucosa, lecitina, Tween 80, agar-agar y agua), el cual fue presionado firmemente durante 10 segundos contra la superficie analizada. Los laminocultivos fueron incubados a 31ºC durante 48 horas.

- Método Hygicult E^R: es un medio preparado de aproximadamente 10 cm^2, por cada cara del soporte, con un agar específico para el recuento de enterobacterias (agar rojo violeta bilis con adición de glucosa, (Hygicult E^R): peptona, extracto de levadura, cloruro sódico, lactosa, D-glucosa, sales biliares, rojo neutro, cristal violeta, agar agar y agua), el cual fue presionado firmemente durante 10 s contra la superficie analizada. Los laminocultivos fueron incubados a 37ºC durante 24-48 h.

- Método Hygicult Yeast and Fungi (Y&F^R): es un medio preparado de aproximadamente 10 cm^2, por cada cara del soporte, con un agar específico para el recuento de hongos y levaduras (agar malta, extracto de levadura, D-glucosa,

ácido láctico, antibióticos, agar agar y agua), el cual fue presionado firmemente durante 10 s. contra la superficie analizada. Los laminocultivos fueron incubados a unos 25ºC entre 3 y 5 días.

- *Placas de contacto (RODAC)*:

Requieren la preparación de los medios de cultivo deshidratados, los cuales se vertieron sobre las placas de contacto quedando listos para su uso una vez solidificados y enfriados.

- Placas de contacto para aerobios mesófilos: son placas de contacto, de 55 mm de diámetro y 23,8 cm^2 de superficie total, las cuales contienen un medio específico para el crecimiento de bacterias aerobias totales, agar (Cultimed) nutritivo de recuento (extracto de levadura, D(+)Glucosa, peptona de caseína y agar). Las placas, al igual que los laminocultivos, fueron presionadas firmemente durante 10 s contra la superficie analizada e incubadas a 31ºC durante 48 h.

- Placas de contacto para la detección de *Enterobacteriaceae* totales: son placas de contacto, de 55 mm de diámetro y 23,8 cm^2 de superficie total, las cuales contienen un agar (Cultimed) específico para el crecimiento de enterobacterias totales (Bilis-Rojo Neutro-Violeta Cristal con Glucosa (VRBG): sales biliares, violeta cristal, rojo neutro, extracto de levadura, D(+)Glucosa, peptona de gelatina, cloruro sódico y agar). Las placas, al igual que los laminocultivos, fueron presionadas firmemente durante 10 s contra la superficie analizada e incubadas a 37ºC durante 24- 48h (Pascual y Calderón, 2002; Salo *et al.,* 2002; Salo *et al.,* 2000).

- Placas de contacto para la detección de hongos y levaduras: son placas de contacto, de 55 mm de diámetro y 23,8 cm^2 de superficie total, las cuales contienen un agar (Cultimed) específico para el crecimiento de levaduras y hongos (medios de glucosa Sabouraud con cloranfenicol: D(+) Glucosa, mezcla de peptonas, agar y cloranfenicol). Las placas, al igual que los laminocultivos,

fueron presionadas firmemente durante 10 s contra la superficie analizada e incubadas a 25ºC entre 3 y 5 días (Pascual y Calderón, 2002).

Previamente a la toma de muestras, los laminocultivos y las placas fueron marcadas y puestas a temperatura ambiente. Una vez realizado el muestreo fueron conservadas en refrigeración a 8ºC, por un periodo máximo de tres horas para las queserías de GC y diez horas para las queserías de TF hasta su incubación en la estufa correspondiente del laboratorio. Tras el muestreo, las superficies testadas fueron desinfectadas con papel y alcohol.

Posteriormente, se realizó el recuento del número total de colonias de las placas de contacto y de cada una de las caras de los laminocultivos como unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado de superficie real de contacto (ufc/cm^2). Para este cálculo se tuvo en cuenta que el área recogida por los laminocultivos fue de 10 cm^2, siguiendo las indicaciones de la tabla comparativa de lectura de resultados del fabricante (Hygicult TPC, Hygicult E e Hygicult F-Y, de Orion Diagnostica) y por las placas RODAC de 20 cm^2, ya que ésta es el área de agar que contacta con la superficie a analizar. Para el recuento de hongos y levaduras, tanto en laminocultivos como en placas RODAC, se realizó el recuento sobre el mismo agar teniendo en cuenta la morfología de las colonias.

2. Bioluminiscencia:

Se utilizó el Hisopo *Clean Trace UXL 100* de Biotrace, para detectar la presencia de ATP de las superficies de contacto con los alimentos. Las muestras fueron tomadas según el protocolo descrito (Davidson *et al*., 1999) y el fabricante del aparato mencionado. El lector de ATP fue puesto en marcha siguiendo las instrucciones del fabricante, Biotrace Uni Lite EXCEL.

En este estudio no se consideró la posible influencia sobre la lectura de la bioluminiscencia de los restos de agentes alcalinos, ácidos o desinfectantes utilizados en la limpieza de las superficies, ya que todas las superficies estaban aclaradas con agua.

Los hisopos Clean Trace fueron marcados y puestos a temperatura ambiente unos minutos antes de la medición del ATP. La toma de muestras se llevó a cabo según Davison *et al.* (1999), cogiendo el hisopo por el mango azul, retirando el protector de plástico y frotando contra la superficie, cubriendo toda el área a muestrear con movimientos rotatorios del hisopo y en zigzag en diferentes direcciones. El hisopo debía presionarse de forma inclinada sobre la superficie, para asegurar un buen contacto superficial y una toma de muestra representativa.

En este estudio se valoraron áreas entre 10 y 20 cm^2, asemejándose así a la superficie muestreada por las placas de contacto y laminocultivos. Mediante un aro de goma de 20 cm^2 de área, se delimitó la superficie a muestrear. El aro se lavó y desinfectó con alcohol antes de cada toma de muestras. Tras el muestreo, las superficies testadas eran desinfectadas con papel y alcohol.

Posteriormente, los hisopos fueron introducidos en los envases de plástico y una vez finalizados todos los muestreos, se procedió a poner en contacto el reactivo del Clean Trace con la muestra contenida en el hisopo, al presionarlo fuertemente y romper la lámina protectora de la parte inferior. Tras una breve agitación del envase de 10 s, se introdujo en el luminómetro para la lectura del ATP, la cual fue leída en 30 s. Los datos fueron expresados en unidades relativas de luz (URL).

El luminómetro (Foto 16) tenía incorporado el Software Biotrack +, el cual permitía ver el protocolo de muestreo de todas las superficies. Las lecturas de cada superficie fueron guardadas en la base de datos del aparato y posteriormente grabadas en el ordenador.

Foto 16. Luminómetro.

II.1.2.2.1. Criterios para la valoración higiénica de superficies

Para determinar el porcentaje de superficies catalogadas como limpias o aptas, primero se debe elegir el método de control y posteriormente fijar el umbral de aceptación para cada método. En el presente estudio además, se consideró la opinión experta del grupo de investigación en el sector lácteo, en el campo de las operaciones básicas de limpieza y desinfección.

1. Laminocultivos y placas de contacto.

En este estudio, una cantidad ≤5 ufc/cm^2 fue considerada como satisfactoria para el control de aerobios totales y ≤1 ufc/cm^2 para las enterobacterias totales, siguiendo así las recomendaciones del fabricante de los laminocultivos utilizados. Para el recuento satisfactorio de hongos y levaduras el fabricante de los laminocultivos no realizó ninguna recomendación, por lo que se tomó como referencia la realizada por Salo *et al.* (2006) (≤1 ufc/cm^2), la cual redujimos a ≤0,5ufc/cm^2 para hongos, por considerar que en las zonas cerradas y de elaboración, la contaminación debe ser reducida.

Estos mismos criterios fueron aplicados a las placas de contacto de acuerdo con los estudios de Salo *et al*. (2000).

2. Bioluminiscencia.

De acuerdo con las recomendaciones del fabricante del ATP-bioluminómetro Biotrace, las mediciones inferiores a 150 URL se consideraron superficies limpias (aptas) y superiores a 150 URL, contaminadas (no aptas) en una superficie total de 20 cm^2.

Ante los buenos resultados obtenidos en los primeros controles del presente estudio y tomando como referencia los estudios de Murphy *et al*. (1998), se optó por reducir el criterio a 100 URL para la categoría de superficies limpias, entre 100 y 150 URL para las superficies de limpieza deficiente y un valor superior a 150 URL para las superficies sucias o muy deficientes. El posterior análisis estadístico de los datos aconsejó considerar la variable en dos categorías, según el recuento de URL fuera o no superior a 100.

II.1.2.3. Medición del cloro libre en el agua de abasto de las queserías industriales

En cada visita se valoró el cloro libre del agua empleada en las operaciones de limpieza de las queserías, mediante medición fotométrica con pastillas DPD1. Las muestras de agua fueron recogidas siempre del mismo grifo situado en la zona de elaboración y usado habitualmente por los operarios para las operaciones de limpieza. Tras dejar caer los primeros chorros de agua, se recogieron las muestras en una pequeña cubeta de plástico y se colocaron en el fotómetro para su lectura automática.

Los resultados fueron comunicados al maestro quesero de forma inmediata. Se consideraron valores normales los comprendidos entre 0,3 y 1 ppm de cloro libre, según el valor orientativo especificado en el RD 140/2003 (Anónimo, 2003).

II.1.2.4. Análisis estadístico de las Queserías Industriales

II.1.2.4.1. Comparación de los métodos de control de superficies empleados

Concordancia de métodos de medición. La concordancia entre los métodos de laminocultivo, placas RODAC (de superficie) y bioluminiscencia (URL) fue evaluada utilizando el estadístico kappa (K). Se realizó un primer análisis de concordancia considerando las correspondientes variables categorizadas como aptas (ufc/cm^2 ≤5) y no aptas (ufc/cm^2 >5) para los dos métodos de análisis de superficies tradicionales. Los datos obtenidos de la técnica de bioluminiscencia aconsejaron posteriormente considerar la variable en dos categorías según el recuento URL fuera o no superior a 100 URL/20 cm^2. Posteriormente, se analizó la coherencia utilizando una categorización más fina de ambas variables. De acuerdo con Landis y Koch (1977), una concordancia es moderada cuando el valor del estadístico kappa (K) está comprendido entre 0,41 y 0,60, buena cuando está entre 0,61 y 0,80 y finalmente muy buena si el valor de este estadístico es superior a 0,8.

II.1.2.4.2. Tasas ajustadas de contaminación en superficies

Estimación de tasas ajustadas de contaminación. Para los tres métodos de recuento microbiológico en superficies considerados, las tasas ajustadas de contaminación se resumieron por quesería y lugar de evaluación. Éstas se compararon entre las queserías utilizando el test de razón de verosimilitudes y se utilizó su descomposición para analizar las causas de significación. La comparación de las referidas tasas entre los lugares de producción dio lugar a una reclasificación de los mismos en las categorías *cuba-llenado*, *tanque* y *molde-mesa* comparándose finalmente las tasas correspondientes a la nueva clasificación a través del test de asociación lineal. Se obtuvieron asimismo las odd-ratios ajustadas por quesería correspondientes, tomándose como categoría de referencia la de *cuba-llenado* (mínima tasa de contaminación) las cuales se estimaron por el método logístico y dándose además un intervalo de confianza al 95%. Se consideró que un contraste de hipótesis fue

estadísticamente significativo cuando el correspondiente p-valor fue inferior a 0.05. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS, 15.5.

II.1.2.4.3. Factores de riesgo de contaminación de superficies en Queserías Industriales

Los datos de producción de las QI se obtuvieron de la encuesta de Limpieza y Desinfección. Estos datos junto con los obtenidos de los tests de manipuladores y las encuestas HAS, fueron analizados para determinar su influencia en los resultados de los controles microbiológicos de superficies.

Con dicho fin se evaluó en 5 queserías industriales la contaminación de diferentes superficies por aerobios totales, enterobacterias, hongos y levaduras, mediante placas RODAC. Se optó por agrupar las superficies en tres clases, a saber: *tanque, cuba/llenado y molde/mesa*. El objeto de estudio considerado fue el ***tipo de superficie-quesería***. Dado que el número de queserías evaluadas fue de cinco y el tipo de superficie simplificado en tres clases, el número de objetos estudiados fue de 15. El número de superficies evaluadas mediante placas RODAC en cada industria se muestra en la Tabla 17.

Variables de valoración. Para cada objeto de estudio (quesería-tipo de superficie) se consideraron como variables principales del estudio las tasas de contaminación en el objeto por cada uno de los gérmenes considerados (aerobios totales, enterobacterias, hongos y levaduras). Como covariables se consideraron el nivel de manipulación de la quesería (mínimo, medio, alto), el de producción (dos categorías), la puntuación HAS, el test de conocimientos de manipuladores en higiene, el test de conocimientos en LD, la zona de ubicación de la quesería (costa, medianías y cumbre) y el tipo de leche (cabra, cabra/vaca).

Tabla 17. Número de controles de superficies en las QI.

Nombre de la quesería	Superficie			Total
	Tanque	Cuba / llenado	Molde / mesa	
A	1	16	15	32
B	8	16	16	40
C	8	16	16	40
D	7	14	14	35
E	3	16	16	35
Total	27	78	77	182

Análisis estadístico. En orden a evaluar el efecto de cada factor *F* con niveles $F_1,\cdots,F_r$ (F_1 corresponde a la categoría referencial) sobre la tasa de productos contaminados en cada quesería, se consideró para $\mu_{i,k}$, número esperado de objetos contaminados expuestos al nivel de riesgo F_k en la *i*-ésima quesería, el modelo de Poisson de efectos mixtos:

$$\log \mu_{i,k} = \log N_{i,k} + \alpha + \beta_k + Q_i \ : \ k = 1,\cdots,r \quad ; \ \beta_1 = 0$$

siendo $N_{i,k}$ el número de productos expuestos a F_k y Q_i el efecto aleatorio de la quesería (éste recoge las peculiaridades de la industria diferentes al factor de estudio) (Lee y Nelder, 2004). A partir de los modelos ajustados, se obtuvieron las tasas de contaminación esperadas para el nivel de exposición F_k como $100 \times \exp(\alpha + \beta_k)$ y los correspondientes riesgos relativos (respecto de la categoría referencial) como $\exp(\beta_k)$. El análisis fue llevado a cabo usando el procedimiento GLMER perteneciendo al paquete estadístico R versión 2.7.1 (The R Foundation for Statistical Computing).

II.2. Queserías Artesanales

II.2.1. Material experimental

II.2.1.1. Evaluación inicial del sector artesanal: encuestas de producción (APPCC y LD)

Al igual que en las Queserías Industriales, la evaluación del sector se hizo a través de encuestas que nos dieran una información real del estado higiénico sanitario de las QA. Las encuestas sobre el APPCC y LD fueron sustituidas respecto a las de las industrias lácteas, por un cuestionario cerrado de Producción, donde se recogió información de todos aquellos aspectos relacionados con la elaboración del queso (Ver Anexo VIII.8.):

- Datos personales del elaborador
- Datos sobre los ingredientes del queso
- Datos sobre la elaboración y maduración
- Datos sobre las instalaciones y utensilios
- Datos sobre las operaciones de LD
- Datos sobre el sistema de autocontrol aplicado en la quesería

A partir de estos datos se intentó obtener información sobre los aspectos tecnológicos utilizados en la elaboración de los quesos artesanales de las diferentes zonas de GC y su posterior comparación entre las diferentes queserías, así como determinar las diferencias con las queserías industriales.

En el inicio del estudio, se convocó a todos los queseros participantes a una reunión informativa donde se les explicó en qué consistía, los objetivos, beneficios para las queserías y cómo se llevaría a cabo la toma de muestras durante las visitas a cada establecimiento.

Para la elaboración del cuestionario cerrado se visitaron varias queserías artesanales de diferentes zonas de GC y en base a ello, posteriormente se sometió a discusión el formato y contenido del mismo, de tal forma que se pudiera recabar la mayor información posible para el presente estudio sin emplear demasiado tiempo en la realización de la encuesta.

II.2.1.2. Evaluación higiénica de las queserías artesanales: encuestas HAS y tests de cocimientos de los manipuladores de alimentos

Las encuestas HAS y el test de manipuladores de alimentos empleados en la valoración de las industrias lácteas se adaptaron a las características productivas de las QA, manteniendo el número de preguntas y bloques temáticos de los contenidos.

Se elaboró una encuesta HAS tomando como base el "Sistema de Evaluación de la Higiene" y la legislación de referencia, de tal forma que sirviera como una herramienta útil a la hora de valorar las condiciones higiénico-sanitarias de partida antes de la implantación de un sistema de APPCC.

Durante las visitas, se ejecutaron las encuestas HAS por los miembros del equipo de este trabajo y el test de manipuladores fue cumplimentado por todas las personas relacionadas con la elaboración del queso y la obtención de la leche.

El test de manipulador de alimentos se llevó a cabo en la cuarta visita, tras la cual ya se había establecido cierto nivel de confianza entre el quesero y el equipo de trabajo.

La encuesta HAS fue realizada en las primeras visitas y al finalizar el periodo de toma de muestras. Como durante el periodo de estudio no se realizaron cambios en las QA que afectaran a los epígrafes de las encuestas HAS, la puntuación permaneció invariable.

A partir de los resultados obtenidos del análisis de esta información, se pudo identificar a los factores que supuestamente podrían influir en la contaminación microbiológica de la leche y de los quesos.

El modelo de encuesta HAS y test de manipulador de alimentos, se muestra en el Anexo, Tablas VIII.6. y VIII.7.

II.2.1.3. Selección y descripción de las Queserías Artesanales

Las queserías que participaron en este estudio se encontraban adscritas a un programa de investigación aplicada relativa a la evaluación comparada de la instauración de los sistemas de autocontrol en queserías artesanales de GC. Este estudio formaba parte de un proyecto de dos años financiado por el Cabildo de GC y por AIDER GC.

Participaron 40 queserías artesanales ubicadas en 14 municipios de GC, estando todas en posesión del RGSA para la elaboración de queso fresco y/o curado, pero dada la gran diversidad de tipos de instalaciones de las queserías, se consideró necesario encuadrarlas en varias categorías según la influencia de los factores considerados (descritos en II.2.1.4.)

La Tabla 18 muestra la distribución por municipios de las QA con RGSA en la isla de GC y las queserías participantes en este estudio.

Tabla 18. Distribución de queserías por municipio.

Municipio	*Total queserías*	*Queserías analizadas*	*Municipio*	*Total queserías*	*Queserías analizadas*
Agaete	6	2	San Mateo	12	2
Agüimes	12	3	La Aldea	3	2
Artenara	2	2	Santa Brígida	1	0
Arucas	3	0	Santa Lucía	7	2
Firgas	1	0	Sta. Mª Guía	9	0
Gáldar	21	2	Tejeda	6	2
Ingenio	5	5	Telde	13	1
Mogán	2	0	Teror	2	0
Moya	21	5	Valleseco	2	0
Las Palmas de GC	24	2	Valsequillo	14	6
S.Bartolomé. de T.	10	4			
			Total	**176**	**40**

Fuente: Dirección General de Salud Pública. (2008)

En el momento de realizar este estudio, años 2006 y 2007, todavía estaba en vigor el RD 1679/1994, por lo que ninguna quesería podía utilizar leche procedente de otra explotación ganadera que no fuera la suya. Por lo tanto, la producción de leche propia destinada a la elaboración de queso era el factor limitante para el tamaño y producción quesera.

En la Figura 13 se muestran todas las QA (176) de la isla de GC por municipios y en la Figura 14 se muestra la ubicación de las 40 queserías que participaron en este estudio, lo que supone un 22,7% del total de las queserías de GC.

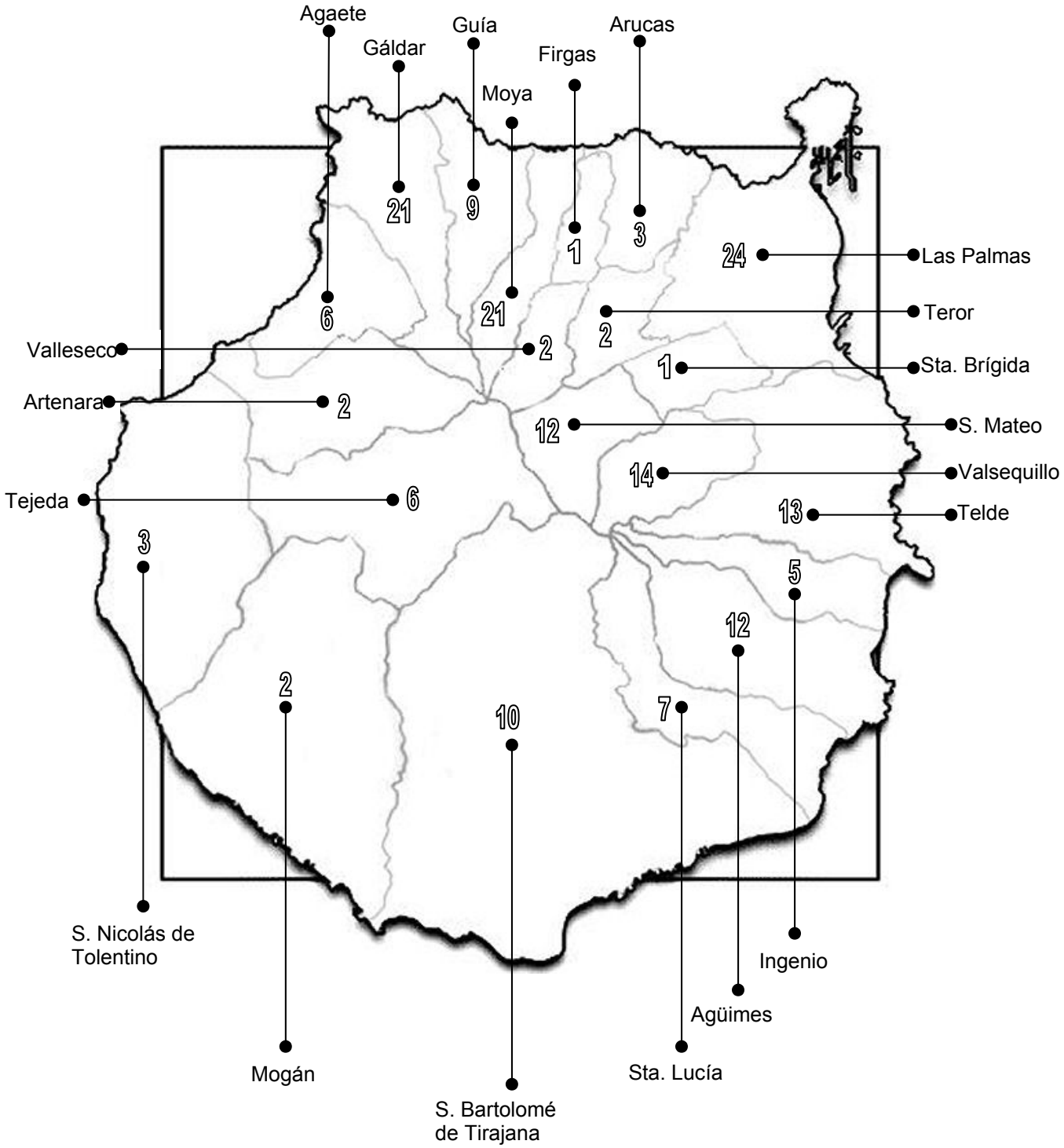


Figura 13. Plano de ubicación y enumeración por municipios de las QA con RGSA en la isla de Gran Canaria.

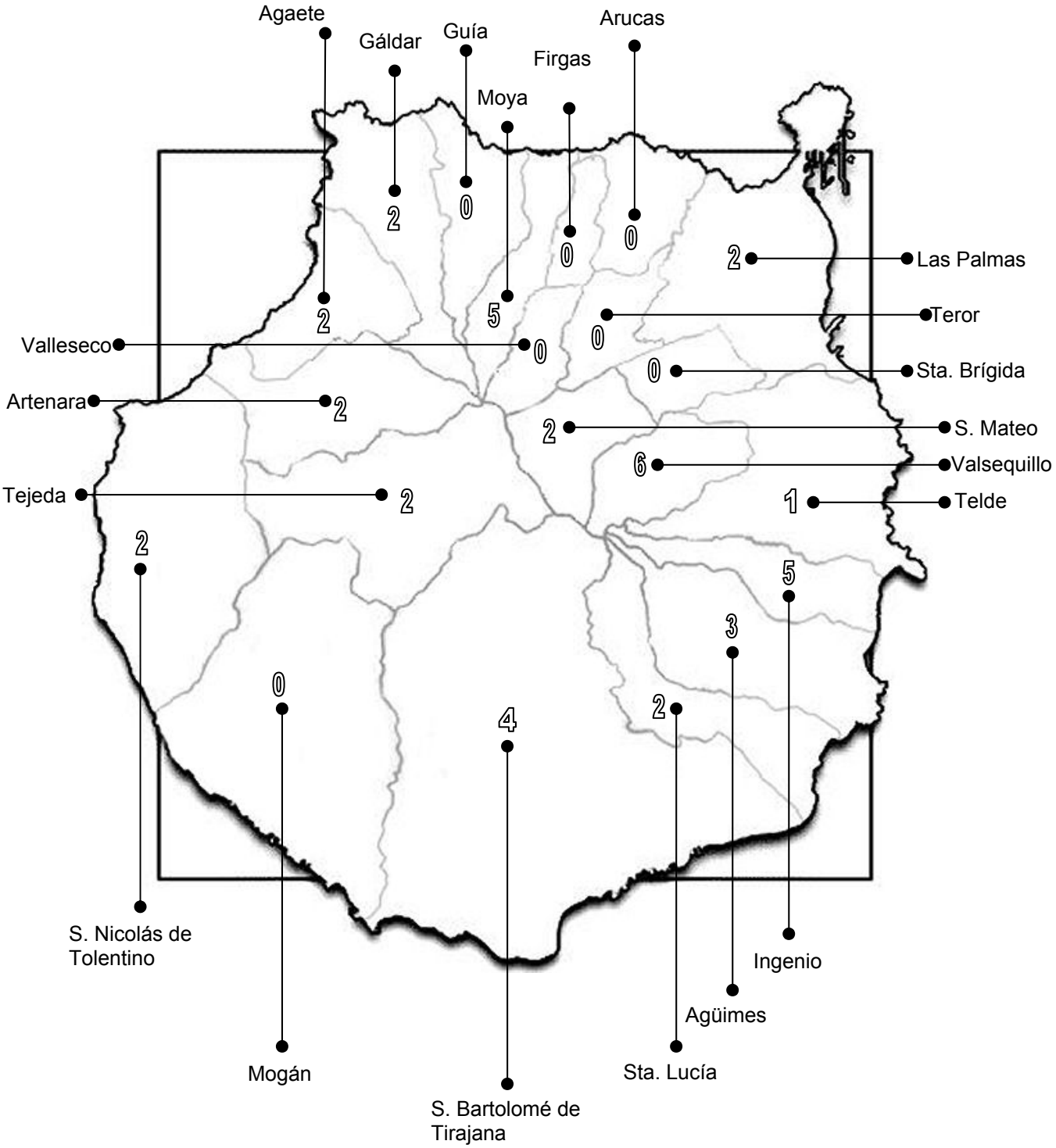


Figura 14. Plano de ubicación y enumeración por municipios de las QA que participaron en el estudio.

II.2.1.4. Clasificación de las queserías. Descripción de los factores para el análisis de riesgos

Una vez analizada la información de cada quesería, se realizó una clasificación en torno a los datos que podían influir directamente sobre la calidad microbiológica de los quesos y de la leche. Esta clasificación obedeció a la necesidad de definir cada una de las queserías y encuadrarlas en grupos de similares características higiénico sanitarias y de producción. Esta clasificación fue similar a la realizada por AIDER en el año 2003.

Los factores considerados para la clasificación fueron:

- Ubicación, zona de localización geográfica de la quesería:

1. Zona de costa
2. Zona de medianías
3. Zona de cumbre
4. Zona de Moya

La división de la isla en 4 zonas geográficas obedece a un patrón ligado a la climatología, altitud y, por lo tanto, a la adaptación de las diferentes especies productoras de leche y al tipo de explotación ganadera.

1. *La zona de costa* abarca toda la periferia de la isla hasta una cota de altitud de 300 m, donde comienza la zona de medianías. La mayoría de las explotaciones se concentran en la zona este y sur de la isla. Son explotaciones con un número de animales entre 200 y 1000 cabezas, principalmente cabras y en menor porcentaje ovejas. El clima es árido y seco.

2. *La zona de medianías* abarca todo el interior limítrofe con la de costa, entre una cota de altitud comprendida entre los 300 y los 800 m. La mayoría de las explotaciones tienen entre 50 y 300 animales, siendo en su mayoría cabras y

en menor porcentaje ovejas, pudiendo haber varias vacas por explotación. La pluviometría es mayor que en costa.

3. *La zona de cumbres* corresponde a la de mayor altitud, abarcando todo el centro de la isla con una cota superior a los 800 m. Las explotaciones ganaderas son muy diferentes según la zona, pero en general son pequeñas, con menos de 100 animales, en su mayoría cabras, aunque la presencia de las ovejas es mayor que en las zonas anteriores. Muchas de estas explotaciones hacen pastoreo e incluso trashumancia, llevando los animales a diferentes zonas de la isla en el periodo estival. La producción está muy marcada por la estación del año. En los meses comprendidos entre agosto y octubre la elaboración de queso es mínima o nula en la mayoría de las queserías. En la vertiente sur de la zona de cumbres hay explotaciones ganaderas con más de 300 animales, en su mayoría cabras. Esta zona es similar a la zona sur de costas. El clima es árido.

4. La *zona de Moya* es donde se elabora el *Queso Flor*, queso con DO de características peculiares y diferentes al resto por utilizar coagulante vegetal, *Cynara cardunculus*. Las explotaciones son pequeñas y la mayoría tienen más ovejas que cabras y varias vacas. Clima húmedo y lluvioso.

- Producción diaria de queso, tanto el fresco como el curado destinados para la venta, expresados en kg:

1. < 10 kg/día.
2. Entre 10 y 50 kg/día.
3. > 50 kg/día.

La producción viene marcada por los litros de leche producidos en la explotación y, por lo tanto, del nº de animales en ordeño. Otro factor relacionado con la producción son las dimensiones de la quesería, así como la presencia de maquinaria para elaborar el queso. Se considera la producción

mínima de queso en < 10 Kg/día, porque esto supone elaborar entre uno y tres quesos diarios, para lo cual no se requieren casi útiles específicos.

- Grado de manipulación durante la elaboración del queso. Esta categoría se basó en el grado de automatización de las queserías, es decir, cuanta más manipulación se emplee en la elaboración del queso, menor grado de tecnificación se le otorgó a la quesería, entendiendo por tecnificación la tenencia de todos aquellos útiles o aparatos que faciliten la elaboración del queso y que reduzcan la manipulación directa del quesero.

1. *Mínima*: queserías con pasteurizadores, cubas de cuajado con liras automáticas, prensas, saladero y cámaras de maduración.
2. *Media:* queserías con cubas de cuajado de tamaño medio (100-200 l) sin agitación mecánica, prensas neumáticas y con o sin cámaras de maduración.
3. *Alta:* queserías con cubas muy pequeñas o recipientes de plástico para coagular la leche, sin posibilidad de calentarla para su coagulación. Desuerado y prensado del queso a mano.

- **Especie principal productora de la leche:**

1. Cabra.
2. Oveja.
3. Vaca.
4. Mezcla binaria o ternaria de las anteriores.

El queso producido en GC se elabora mayoritariamente a base de leche de cabra, incorporando una pequeña proporción de leche de oveja. La presencia de leche de vaca es aún más reducida, a excepción de los quesos elaborados en la zona de Moya.

- Tipo de queso producido mayoritariamente:

1. Fresco.
2. Tierno.
3. Semicurado.

Para la clasificación de los diferentes tipos de quesos se tomaron como referencias las categorías citadas en el RD 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos.

Tres tipos diferentes de quesos se presentan en las Fotos 17, 18 y 19.

Foto 17. Queso fresco de cabra.

Foto 18. Queso artesanal semicurado de cabra.

Foto 19. Queso artesanal curado de cabra.

Tras el análisis de los primeros resultados, los datos aconsejaron agrupar las variables queso fresco y queso tierno en una única variable, fresco/tierno.

- **Tratamiento térmico aplicado a la leche para la elaboración del queso:**

1. Leche cruda o termizada.
2. Leche pasteurizada.

- Puntuación HAS: resultado de la encuesta de evaluación higiénica de las queserías.

- Test de conocimientos de los manipuladores: se consideró el número de fallos obtenidos en el test.

- Test de conocimientos en LD: se consideró el número de fallos obtenidos en el apartado de LD, del test global.

II.2.1.5. Material general de laboratorio, reactivos y medios de cultivo

1. Se utilizó un equipo instrumental de laboratorio similar al de las industrias lácteas a excepción del luminómetro y de los siguientes aparatos que sólo se utilizaron en esta fase del estudio:

- Homogenizador Stomacher IUL Tipo 0400
- Agitador de tubos Velp

2. Reactivos y medios de cultivo.

- Las soluciones acuosas se prepararon con agua destilada (salvo indicaciones).
- Los medios de cultivo y suplementos añadidos fueron los normalizados en las técnicas empleadas y se describen a continuación (II.2.2.2).

II.2.2. Métodos

En la Figura 15, se presenta un diagrama con el proceso metodológico seguido en el estudio de las queserías artesanales.

II.2.2.1. Toma de muestras

a) Muestras de queso y leche.

Durante un periodo de dos años se recogieron un total de 804 muestras (398 de leche y 406 de queso) para su posterior análisis microbiológico en el laboratorio.

En el primer año participaron en el estudio 34 queserías y durante el segundo 19, de las cuales 6 se incorporaron al estudio este año y las 13 restantes repetían. En la Tabla 19 se observa el número de muestras recogidas en cada quesería y la zona de ubicación.

Las seis zonas de recogida de muestras de las queserías que aparecen en la Tabla 19, no coinciden con las cuatro zonas de clasificación del apartado II.2.1.4. pues esta clasificación zonal se realizó exclusivamente con el fin de facilitar la recogida de muestras por ruta, es decir se agruparon las queserías atendiendo a su proximidad sin tener en cuenta otros factores.

Figura 15. Diagrama de la metodología seguida en Queserías Artesanales.

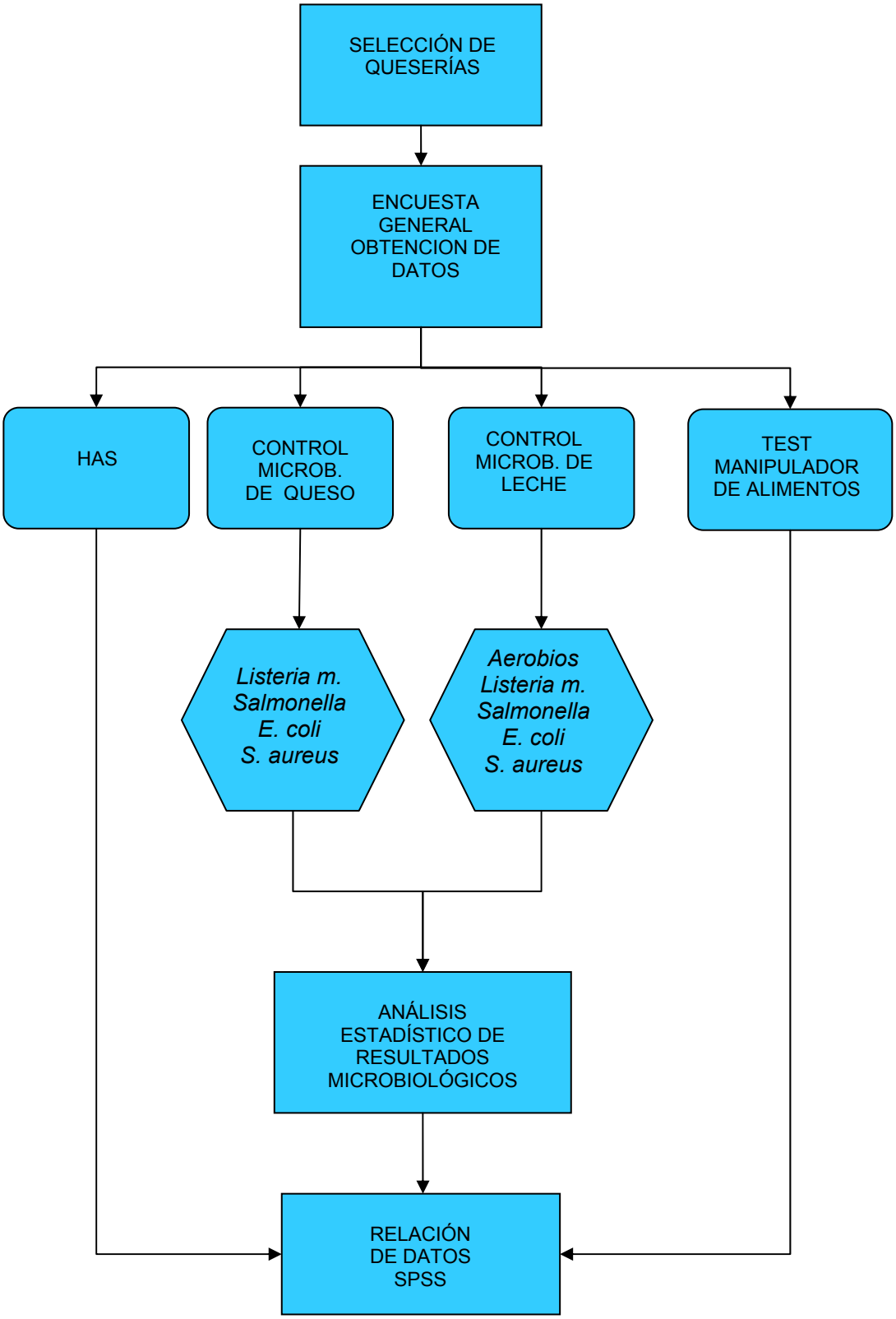


Tabla 19. Recogida de muestras en las QA.

	Zona de recogida	Muestra		Total
		Leche	Queso	
Quesería	1. Agaete- Moya	8	8	16
	2. Agaete- Moya	15	16	31
	3. Agaete-Moya	8	8	16
	4. Agaete-Moya	8	8	16
	5. Agete -Moya	8	8	16
	6. Agete-Moya	17	17	34
	7. Valsequillo	8	8	16
	8. Valsequillo	17	17	34
	9. Valsequillo	17	17	34
	10. Valsequillo	8	8	16
	11. Valsequillo	8	8	16
	12. Valsequillo	12	13	25
	13. Aldea- Artenara	5	5	10
	14. Aldea- Artenara	1	1	2
	15. Aldea Artenara	8	8	16
	16. Aldea- Artenara	8	8	16
	17. Aldea- Artenara	8	8	16
	18. Aldea -Artenara	8	8	16
	19. Las Palmas	15	16	31
	20. Las Palmas	8	8	16

Con 24 h de antelación se comunicó por teléfono al quesero el día de la toma de muestras. Las muestras de leche se tomaron directamente del tanque de frío, extraídas por la tapa de la parte superior o por el grifo de la parte inferior, desechándose los primeros chorros de leche antes de la toma de muestra. Si el ganadero no tenía tanque de frío la leche se retiraba directamente de la cántara. En aquellos casos en que la leche procedía de varias especies, se recogió muestra de la leche ya mezclada, y cuando no fue posible, de cada tipo de leche para su análisis individual.

Tabla 19. Recogida de muestras en las QA (Continuación).

Zona de recogida	Muestra		Total
	Leche	Queso	
21. Las Palmas	16	16	32
22. Las Palmas	2	2	4
23. Agüimes	8	8	16
24. Agüimes	17	17	34
25. Agüimes	16	15	31
26. Agüimes	8	8	16
27. Agüimes	8	8	16
28. Agüimes	15	16	31
29. Sur	8	8	16
30. Sur	8	8	16
31. Sur	15	17	32
32. Sur	17	17	34
33. Sur	8	8	16
34. Sur	17	17	34
35. Aldea- Artenara	7	8	15
36. Agaete- Moya	9	9	18
37. Agaete- Moya	5	6	11
38. Valsequillo	8	8	16
39. Agaete- Moya	4	4	8
40. Aldea- Artenara	7	8	15
Total	398	406	804

La leche se recogió en dos botes estériles, tomando un volumen total de unos 400 ml, introduciendo un cazo propio, previamente lavado y desinfectado con alcohol, en las cántaras de leche.

Los quesos fueron elegidos al azar de la cámara o de las salas de maduración, siendo la muestra global representativa de los tipos de quesos (frescos, tiernos y semicurados), producidos en el momento del control de cada quesería. Así el número de muestras de cada tipo fue, 88 (22,1%) de queso fresco, 40 (10%) de queso tierno y 270 (67,8%) de

queso semicurado. La muestra más representativa del tipo de queso que se elaboraba en cada quesería fue el de queso semicurado.

Si las muestras eran quesos tiernos o frescos, se retiraban quesos enteros en su envase original. Siempre se procuró elegir los quesos de tamaño inferior a medio kilo para los frescos-tiernos e inferior a 1,5 Kg para los semicurados. Los quesos con alteraciones o defectos en su corteza fueron rechazados para el análisis. Para la obtención de las muestras de queso semicurado, se cortó una cuña de unos 400 g y se introdujo en bolsas de plástico estériles. El corte se hizo en forma de cuña desde el centro hacia el exterior, mediante un cuchillo propio, el cual se desinfectaba antes de cada corte con alcohol.

Todas las muestras de leche y queso se mantuvieron a una temperatura inferior a 10ºC durante el transporte hasta el laboratorio, no transcurriendo un periodo superior a 4 h desde su recogida hasta la recepción al laboratorio.

b) Control microbiológico de superficies.

Durante el segundo año de toma de muestras en las QA se realizó un control microbiológico de superficies mediante laminocultivos Hygicult TPC e Hygicult E, a 18 de las 19 queserías que en este periodo formaban parte del estudio. El control se realizó en las superficies de la cuba de cuajado y en los moldes, una vez finalizadas las operaciones de LD. La técnica metodológica seguida para estos controles fue la misma que la empleada en las QI (II.1.2.2.1.).

Los queseros fueron informados de los resultados microbiológicos de la leche, del queso y de las superficies controladas, mediante la entrega de un informe en la siguiente visita. Esta información se facilitó personalmente al responsable de la quesería, al tiempo que se le explicó, si era el caso, cuáles podían ser las causas de incumplimiento con la legislación vigente y las medidas correctoras a aplicar.

II.2.2.2. Técnicas para determinaciones microbiológicas de la leche y del queso

II.2.2.2.1. Preparación de las muestras analíticas

En la preparación de las muestras para el análisis microbiológico se siguieron en todo momento las normas de manipulación asépticas y se utilizaron material y diluyentes estériles, evitando la contaminación de las mismas. Todos los medios de cultivo se prepararon en la campana de flujo laminar y las muestras se sembraron por duplicado, a excepción de las analizadas mediante el sistema mini Vidas® .

La preparación de las diluciones decimales se realizó según el método de Pascual y Calderón (2002).

Se pesaron 25 g de queso de cada muestra en las bolsas estériles previamente taradas, tomando dicha cantidad asépticamente del centro de la muestra y desechando las partes externas del queso. A continuación se añadieron 225 ml de agua de peptona tamponada (Cultimed), los cuales se homogenizaron con la muestra en el Stomacher, para dilacerar el queso y provocar la suspensión de las bacterias sin dañar su estructura celular. De esta forma se obtuvo una dilución 1/10 (dilución madre), a partir de la cual se prepararon las diluciones decimales sucesivas hasta 10^{-7}. El resto de las muestras sobrantes de queso se guardaron en refrigeración hasta el final del análisis microbiológico.

Para el análisis de la leche se tomaron 10 ml de muestra y se diluyeron en 90 ml de agua de peptona tamponada (Panreac) y se siguió el mismo proceso que para las muestras de queso.

La siembra en los medios de cultivo, se realizó en los treinta minutos siguientes a la preparación de las diluciones, evitando así la proliferación microbiana en los tubos que alteraría el resultado.

II.2.2.2.2. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos

Se realizó según Norma ISO 4833-2003.

Recuento por siembra en masa: a partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, se depositó con una pipeta estéril 1 ml de cada dilución en otras tantas placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro.

Se añadieron a cada placa unos 15 ml de PCA (Plate Count Agar, Cultimed), previamente licuado y atemperado a unos 47ºC. Posteriormente se mezcló perfectamente el medio y el inóculo con suaves movimientos circulares de la placa en ambas direcciones y en forma de cruz. Se dejó solidificar el agar antes de introducirlo en la estufa a 31ºC durante un período de 48-72 horas. Transcurrido este tiempo se contaron las colonias en aquellas placas que mostraron crecimiento entre 30 y 300 colonias aisladas. Calculando la media de los recuentos obtenidos en las dos placas (duplicado) y multiplicando por el inverso de la dilución correspondiente, el resultado se expresó en ufc/ml.

II.2.2.2.3. Recuento de *Escherichia coli*

Para el recuento de *E. coli* se empleó la técnica del número más probable (NMP), según Pascual y Calderón (2002).

Se prepararon por duplicado tres series de tres tubos cada una, conteniendo 10 ml de VGBL (Caldo Lactosado Biliado Verde Brillante, Cultimed) autoclavado a 121ºC durante 20 minutos. Cada tubo estaba provisto de la correspondiente campana de Durham.

En cada tubo de la primera serie se sembró 1 ml de la dilución de la muestra 1:10, se hizo lo propio con la segunda y tercera serie, sembrando las diluciones 1:100 y 1:1000, respectivamente. Los tubos se incubaron a 44ºC, haciendo lecturas a las 24 y 48 horas. La presencia de gas en la campana y la turbidez en el medio se contabilizó como positivo. Para confirmar la presencia de *E. coli* en los tubos positivos, se hicieron

siembras sobre agar Levine, con el fin de obtener colonias aisladas. Las placas se incubaron a 44ºC con lecturas a las 24 y 48 horas. Con el número de tubos confirmados como positivos en cada serie, se recurrió a la tabla del NMP donde se obtuvo el recuento por g o ml de muestra.

II.2.2.2.4. Recuento de *Staphylococcus aureus*

Se realizó según Norma ISO 6888-1 (1999) y AFNOR VO8 057-2 (1994).

Método de recuento en placas: a partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, se depositó con pipeta estéril 1 ml de cada dilución sobre la superficie bien seca de agar Baird-Parker contenido en otras tantas placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro. Posteriormente se diseminó la muestra con asa de vidrio estéril, dejándola secar durante 15 minutos a temperatura ambiente y se incubó a 37ºC durante 24 horas.

Se seleccionaron aquellas placas con un recuento comprendido entre 30 y 300 colonias características sobre agar Baird Parker, es decir redondas, de bordes lisos, convexas, de 2-3 mm de diámetro, húmedas, brillantes, negras, con borde blanco fino, rodeadas de una zona opaca y de un halo claro de 2-5 mm.

Para su confirmación se realizaron las pruebas de la catalasa y de la coagulasa.

- Catalasa: se tomó una colonia típica y sobre un porta se le añadió una gota de agua oxigenada, se consideró como positiva si apareció un burbujeo instantáneo. Si esta prueba fue positiva, se realizó la prueba de la coagulasa.

- Coagulasa: se empleó plasma de conejo estéril, y 2 *eppendorf* por muestra positiva. Se tomaron cinco colonias típicas por placa y se añadieron a un tubo *eppendorf*, el cual contenía 0,3 ml de plasma de conejo EDTA reconstituido. El tubo se incubó a 37ºC durante 6 horas. La reacción fue positiva cuando el coágulo formado fue firme (3+, 4+). Además, se empleó

un *eppendorf* de control, en el cual no se introdujo colonia alguna, para comprobar que el plasma de conejo no se encontraba contaminado.

Se contaron como *Staphylococcus aureus* todos los recuentos en placas que tenían colonias características entre 30 y 300, y además fueron positivas a las pruebas de la catalasa y de la coagulasa.

II.2.2.2.5. Recuento de *Salmonella spp.*

Se siguió el protocolo de enriquecimiento de vía simple validado por AFNOR Bio 12/10-09/02.

Se pesaron 25 g de queso o 25 ml de leche de forma aséptica y se introdujeron en bolsas estériles del Masticador, previamente taradas, a las cuales se les añadió 225 ml de agua de peptona. Se homogenizaron en el Stomacher durante 2 minutos y se incubaron a 37ºC durante 20 h. Se transfirió 0,1 ml de suspensión inicial a un tubo de 10 ml con caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS), que se incubó a 41,5ºC durante 6 horas. Tras ello, se transfirió un ml de suspensión RVS a un tubo de 10 ml de Caldo M que se reincubó a 41,5ºC durante 20 horas. Tras este post-enriquecimiento se homogeneizó el caldo M durante 20 s y se transfirió un ml a un tubo estéril que se cerró y se hirvió durante 15 minutos en el baño María. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se mezcló su contenido, tras lo cual se transfirieron 0,5 ml al pocillo de la muestra del cartucho VIDAS.

Las muestras que dieron un resultado positivo mediante mini Vidas® se confirmaron en un medio selectivo Hektoen (24 h/35-37ºC) y las colonias de color verde se les realizó una prueba bioquímica mediante API 20 E.

II.2.2.2.6. Detección de *Listeria monocytogenes*

Se realizó según método LM 02 de Biomérieux validado por AFNOR (BIO 12/11-03/04).

Se pesaron 25 g de queso o 25 g de leche de cada muestra en las bolsas estériles del Stomacher previamente taradas, tomando dicha cantidad del centro y de la corteza del queso ya que la probabilidad de encontrar listerias en la parte externa es mayor. Posteriormente se añadió a las bolsas 225 ml de caldo Fraser-semi, homogeneizando su contenido durante 2 minutos en el Stomacher. Una vez mezclado se incubó la bolsa en la estufa a una temperatura de 30ºC durante 24 horas. Posteriormente, se agitó bien su contenido y se transfirió 1 ml de la suspensión a un tubo de 10 ml de caldo Fraser, el cual se incubó a 30ºC durante 24 horas. Tras este periodo se realizó el ensayo mini Vidas, del cual se obtuvieron los resultados en 70 minutos.

Las muestras que dieron un resultado positivo mediante mini Vidas® se confirmaron en un medio selectivo Oxford o Palcam (24 h/37ºC) y las colonias de color gris.verdoso se les realizó una prueba bioquímica mediante API Listeria.

II.2.2.2.7. Técnica de detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* mediante el uso del sistema Mini Vidas y tests listos para usar

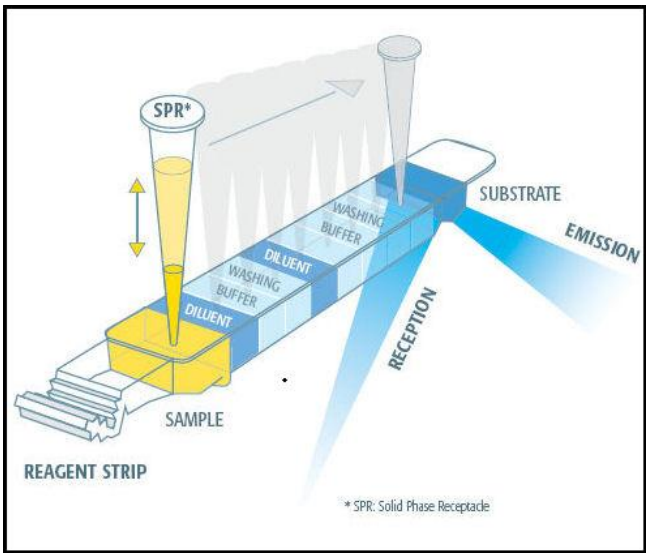
Este sistema está basado en métodos automatizados de inmunoensayo mediante la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescene Assay), con nuevos anticuerpos, los cuales optimizan la captura y la detección del antígeno.

Esta técnica desplaza el Fragmento FC del conjugado enzima-anticuerpo, aumentando considerablemente el rendimiento. La eliminación del Fragmento FC reduce la posibilidad de interferencia con matrices del alimento y fragmentos no específicos de otras bacterias, los cuales tienen capacidad de generar falsas señales. La liberación

de los dos fragmentos Fab más pequeños optimiza el empleo de anticuerpo y favorece el reconocimiento. Este resultado mejora la sensibilidad.

Esta técnica comienza al introducir el contenido, ya preparado de la pipeta (SPR, solid phase recep tacle), con anticuerpos anti *Listeria monocytogenes* o anti *Salmonella spp.*, en el receptáculo del Mini Vidas®. Una alícuota de la muestra a analizar con posibles *L. monocytogenes* o salmonelas es introducida en la tira de pocillos sellados (cartucho) los cuales se mezclan mediante diversos ciclos y se unirán a los anticuerpos del interior del SPR. Los anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina se unirán a los antígenos ya unidos a la pared del SPR. El sustrato fluorescente (4-metil-umbelliferyl fosfatasa) es introducido en el SPR. La enzima sobrante sobre la pared del SPR cataliza la conversión del sustrato a un producto fluorescente, metil-umbilleferone; la intensidad de la fluorescencia es medida a 450 nm por el escáner óptico del aparato y expresado en RFV (valores relativos de fluorescencia). El resultado es negativo si el valor del test es menor de 0,05 y es positivo si es mayor a 0,05 (Vaz-Velho *et al.*, 2000). La Figura 16 muestra el procedimiento de procesado de las muestras.

Figura 16. Introducción de muestra en el mini Vidas®.



II.2.2.2.8. Criterios microbiológicos de referencia en leche y quesos

La Tabla 20 muestra los criterios microbiológicos para los diferentes tipos de quesos especificados en el Reglamento (CE) nº 2073/2005.

Para el presente estudio, y por las características de las muestras de queso obtenidas, los criterios microbiológicos de referencia aplicados, fueron los fijados por el Reglamento para quesos elaborados con leche cruda o pasteurizada.

Como este Reglamento no indica la investigación de la contaminación por *E. coli* en quesos elaborados con leche cruda, se optó por mantener el mismo criterio que para los quesos elaborados con leche sometida a tratamiento térmico (1000 ufc/g).

Para todas las muestras se tomó como valor de referencia el valor *M* de cada parámetro microbiológico.

En cuanto a la leche, el único criterio microbiológico recogido en la legislación vigente (Reglamento (CE) nº 853/2004) se refiere a los gérmenes aerobios mesófilos totales. Con el fin de obtener mayor información de las muestras recogidas, se optó por investigar la presencia de los mismos microorganismos que en el queso, tomando como referencia los mismos criterios.

Dado que las muestras de leche siempre fueron mezcla de leches procedentes de varias especies, se tomó como criterio microbiológico para aerobios totales, el correspondiente a la leche de otras especies diferentes a la de vaca (5 10^5ufc/ml).

Tabla 20. Resumen de los criterios microbiológicos de los diferentes tipos de quesos según el Reglamento (CE) nº 2073/2005, Anexo I, capítulos 1 y 2.

	Criterios seguridad alimentaria		Criterio higiene de los procesos			
	L. monocytogenes	***Salmonella***	***S. aureus***		***E. coli***	
			m	M	m	M
Queso leche tto térmico	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	100	1000	100	1000
Queso leche cruda	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	10^4	10^5		
Queso leche < pasterización	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	100	1000		
Quesos frescos leche paster o >tto	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	10	100		

La Tabla 21 muestra los criterios microbiológicos de leche y queso aplicados en el presente estudio para los 5 parámetros microbiológicos analizados.

Tabla 21. Criterios de calidad microbiológica aplicados en este estudio.

	Criterios seguridad alimentaria		Criterio higiene de los procesos		
Muestras	*L. monocytogenes*	*Salmonella*	*S. aureus*	*E. coli*	Aerobios total
Queso	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	100*/10^5**	1000	
Leche	Ausencia 25 g	Ausencia 25 g	10^5	1000	5 10^5

*Quesos frescos a base de leche sometida a pasteurización
**Quesos a base de leche cruda

II.2.2.3. Análisis estadístico de las Queserías Artesanales

II.2.2.3.1. Factores de riesgo de contaminación de productos lácteos elaborados en Queserías Artesanales de Gran Canaria

El objetivo de este análisis fue identificar factores asociados con la contaminación por aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Staphilococus aureus* en productos lácteos producidos en las 40 queserías artesanales de GC que integran esta parte del estudio.

Los factores predictores de contaminación considerados en leche y en queso fueron: la zona geográfica de ubicación de la quesería (costa, medianías, cumbre y Moya), volumen de producción (1-10 kg, 10-50 kg, >50 kg), tipo de queso (fresco/tierno y semicurado), grado de manipulación (alta, media mínima), tratamiento de la leche (cruda y pasteurizada), tipo de muestra (leche, queso), tipo de leche (cabra, cabra-vaca, cabra-oveja, vaca, cabra-oveja), fallos en el test de conocimientos, fallos en el LD test y puntuación HAS.

El *outcome* fue la tasa de productos contaminados en las queserías por *E. coli*, *S.aureus* y aerobios mesófilos. Para *E.coli* y *S. aureus*, las tasas se midieron como número de productos contaminados por 100 producidos, mientras que para los aerobios mesófilos se consideró el número de productos contaminados por 10 producidos.

Análisis estadístico. Todos los factores evaluados en el estudio se categorizaron en la forma en que aparecen en el epígrafe II.2.1.4. Para un factor con categorías $\left(C_0, C_1, \cdots, C_K\right)$ (C_0 representa el grupo de referencia), se consideró que el número de productos contaminados en el grupo C_i fue una variable aleatoria con distribución de Poisson de parámetro μ_i, siendo, $\log \mu_i = \log N_i + \beta_0 + \beta_i$ y N_i el número de productos evaluados. De esta forma, el número esperado de productos contaminados por 10^n observados se obtiene por $10^n \times \mu_i / N_i$. La significación de cada factor se

obtuvo a través del test de razón de verosimilitudes. Los factores que mostraron significación estadística con p<0,1 en el análisis univariado se introdujeron en un análisis de Poisson multivariante, pero ahora, las variables ordinales (puntuación de los diferentes tests) se consideraron en la escala original. Se llevó a efecto una selección retrospectiva basada en el criterio de información de Akaike (AIC). El modelo resultante se expresó en p-valores y riesgos relativos (para los factores categóricos, respecto de la categoría referencial, y para los ordinales, aumento de la tasa por unidad de aumento en el factor predictor). La bondad de ajuste de los modelos de Poisson se evaluó mediante el coeficiente de sobredispersión el cual se consideró óptimo para valores próximos a la unidad y aceptable cuando fue inferior a 2. Un contraste de hipótesis se consideró estadísticamente significativo cuando el correspondiente p-valor fue inferior a 0,05.

II.2.2.3.2. Asociación entre los conocimientos de manipulación de alimentos y los niveles de contamainación de superficies en las Queserías Artesanales

Para evaluar la asociación entre los conocimientos de manipulación de alimentos de los manipuladores de quesos y los niveles de contaminación de superficies de las queserías artesanales, se consideraron como unidades de estudio las zonas *cuba* y *moldes*. Se obtuvieron las frecuencias y porcentajes de contaminación por aerobios totales y enterobacterias, y se buscó la asociación con el número de fallos obtenido por los manipuladores queseros en los tests globales de conocimientos, y específicamente en el apartado de LD. Se contrastó la diferencia entre los porcentajes utilizando el test de la ji-cuadrado. Un contraste de hipótesis se consideró estadísticamente significativo cuando el correspondiente p-valor fue inferior a 0,05.

Para el análisis de los datos se utilizó el programa SPSS 15.5.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1. Resultados descriptivos de las encuestas en las Queserías Industriales y Artesanales

III.1.1. Implantación y funcionamiento del APPCC en las industrias lácteas

Una vez realizadas las encuestas sobre el APPCC a los responsables de las diez industrias lácteas, se obtuvieron los resultados que se muestran en el Anexo, Tabla VIII.3. De forma resumida, por cada bloque temático de preguntas, las respuestas de las diez industrias dieron la siguiente información:

1. En el bloque referente a la ***Implantación del APPCC en la industria*** (items 1-15), de todas las industrias encuestadas:

- El 100% respondió que conocía la legislación vigente sobre los sistemas de autocontrol.
- En el momento de la encuesta, el 100% de las industrias tenían implantado el APPCC.
- El 30% lo tenía desde hacía 3-4 años, el 40% hacía menos de 2 años.
- En el 60% de las industrias, éste fue implantado por técnicos de la propia empresa, en un 10% por expertos externos y en un 30%, por una combinación de ambos.
- En el 80%, los registros de APPCC se hacían diariamente.
- El 80% consideró que los registros de los Puntos de Control Críticos eran fundamentales en el sistema APPCC, al igual que su implantación.
- Un 60% afirmó que el APPCC fue implantado para mejorar la calidad del producto final, un 20% por imperativo legal y un 10% por exigencia de los clientes.
- Respecto a la valoración de su APPCC, el 50% lo valoró como bueno, un 30% como muy bueno y un 20% como regular; un 40% afirmó que le gustaba la eficacia del APPCC y un 20% que facilitaba la trazabilidad de los productos.

- Para un 40 % de las industrias lo que menos les gustaba del APPCC era la cumplimentación de la documentación.
- Un 20 % de las industrias de los encuestados mejoraría el sistema de control de datos de su APPCC.

2. En el bloque de ***Funcionamiento del APPCC*** (items 16-26), de todas las industrias encuestadas:

- El 70% manifestó que el departamento de Calidad gestionaba el APPCC y un 20%, que lo hacían conjuntamente varios departamentos.
- Un 80%, comentó que no tenía manual de buenas prácticas antes de la implantación del APPCC y un 20% sí lo tenía.
- Un 50% no realizaba formación a los operarios antes de la implantación del APPCC, frente a un 10% que sí la hacía de forma continua y otro 10% la realizaba de forma puntual.
- Un 50% no realizaba formación a los operarios tras la implantación del APPCC.
- El 40% de las industrias valoraba como regular el trabajo de los operarios antes de la implantación y otro 40% lo consideraba como bueno. Tras su implantación, el 60% lo consideraba como bueno, un 20% como excelente y otro 20% como regular.
- El 40% afirmó que los operarios cooperaban con el sistema de autocontrol.

3. En el bloque de ***Rentabilidad de la implantación del sistema de autocontrol*** (items 27-32), de todas las industrias encuestadas:

- El 50% afirmó que todos lo departamentos implicados se beneficiaron por igual.
- El 50% manifestó que la calidad del producto final mejoró mucho y el 30% bastante.
- La aceptación por parte de los clientes de estos cambios había sido buena en el 50%, regular en un 10% y muy buena en un 10%.

- La cantidad de productos defectuosos disminuyó bastante para un 40%, mucho para el 30% y nada para el 20%.

4. En el bloque de ***Aspectos generales del sistema APPCC*** (items 33-37), de todas las industrias encuestadas:

- El 70% afirmó que el sistema era bueno y un 30% muy bueno.
- El grado de cumplimiento del APPCC según lo esperado fue mucho para el 60% y todo para el 20%.

5. En el bloque de ***Opinión general sobre el APPCC*** (items 38-40), de todas las industrias encuestadas:

- El 70% manifestó que la implantación del APPCC era difícil y poco económica, mientras que para el 20% era difícil y económica y para el 10% restante era fácil y económica.
- El funcionamiento del APPCC para el 50% era sencillo y precisaba de una formación específica, para el 30% era complicado y precisaba de una formación específica.
- Para el 70% el APPCC proporcionó una alta calidad del producto final y un ahorro económico, para otro 20% proporcionó una alta calidad pero sin ahorro económico.

III.1.2. Limpieza y Desinfección de las industrias lácteas

Mediante esta encuesta se obtuvo la información necesaria para valorar los sistemas de LD de las industrias lácteas y conocer los datos de la producción de los 12 establecimientos participantes. Los resultados completos se muestran en el Anexo, Tabla VIII.4. De forma resumida por cada bloque temático de preguntas, las industrias lácteas dieron la siguiente información:

1. En el apartado de ***Producción de la industria*** (items 1-3), de todas las industrias lácteas:

- En el momento de realizar la encuesta, los litros de leche procesados por el 25% de las industrias encuestadas eran entre 1.000 y 3.000 l, por el 16,7% entre 3.000 y 6.000 l, por el 25% entre 6.000 y 20.000 l y por el 33,3%, más de 20.000 l.
- El rendimiento quesero para el 41,7% era de 6, para el 16,7% de 7 y para el 16,7% de 8 litros de leche por kg de queso elaborado.
- El 33,3% de las industrias elaboraban productos con leche de vaca, otro 33,3% con leche de cabra y vaca, un 25% con leche de cabra y un 8,3% con leche de las tres especies.

2. En el apartado de las ***Operaciones de limpieza y desinfección*** *(items 4-24),* de todas las industrias lácteas:

- El 100% tenía un programa de LD, el cual estaba implantado antes del APPCC en un 91,7% de las industrias y además fue modificado parcialmente para adaptarlo al APPCC en un 41,7% de las industrias, mientras que en un 33,3% no fue necesario.
- La implantación del programa de LD fue realizada en el 50% de las industrias por técnicos propios, en el 8,3% por técnicos externos y en 41,7% por una combinación de ambos.

- Esta implantación se realizó de forma parcial en el 33,3%, de forma global en el 33,3% y de forma progresiva desde las zonas de mayor a menor riesgo en el 33,3%.
- Consideraron que estaba implantado al 100% el 58,3% y al 75% el 41,7%.
- Todos opinaron que el LD mejoró la calidad del producto final, el 50%, que no afecta a la calidad microbiológica final, frente a un 40% que sí lo creyeron.
- La aplicación de los productos de LD se llevó a cabo mediante varios métodos (CIP, espuma, manual) en el 25% y en el 75% restante no aplicaban espuma para limpiar.
- Los problemas para la aplicación del programa de LD fueron de tipo económico para el 16,7%, de adaptación del personal para el 33,3%, limitación de la maquinaria de producción y diseño para el 25% y no representaron ningún problema para el 16,7%.
- Respecto a la valoración del programa de LD, para el 41,7% fue bueno y para el 50%, muy bueno.
- En el 66,7% de las industrias, el departamento de calidad controlaba las operaciones de LD, mientras que en el 16,7% lo hacía el de producción.
- En el 66,7% de las industrias, los operarios tenían acceso a los planes de LD y en el 100% de los casos eran los operarios de producción los que limpiaban las superficies.
- El 91,7% de las industrias realizaban registros de las operaciones de LD, los cuales eran diarios en el 33,3% y semanales en otro 33,3%.

3. En el apartado referente a los ***Controles de superficies*** (items 25-32), de todas las industrias lácteas:

- El 50% de las empresas realizaba controles de superficies, de ellos el 83,3% utilizaba placas RODAC y el 8,3% hisopos. Esta frecuencia del control era inferior a 7 días en el 41,7%, quincenal en el 16,7% y mensual en el 25%. Ante resultados insatisfactorios, todos los encuestados manifestaron que tomaban medidas correctoras sobre los operarios (formación técnica en LD, control de aplicación, etc).

4. En el apartado de ***Depuración de Efluentes*** (items 33-38), de todas las industrias lácteas:

- El 58,3% contestó que sí lo llevaban a cabo, el 25% realizaban sedimentación y un 8,3% aplicaban un tratamiento químico.
- Sobre la cantidad de agua vertida como efluentes, el 41,7% no conocía el volumen de vertidos y el 25% contestaron que más de 10.000 l/día.
- El 66,7% no conocía la relación más adecuada entre DBO_5/DBO_7 de los efluentes vertidos y el 16,7% no contestó.
- El 83,3% manifestó que le preocupaba mucho la calidad de los efluentes y al 16,7% le preocupaba bastante.
- Acerca del nivel de conocimiento de la legislación sobre efluentes, el 25% manifestó que tenía mucho conocimiento, el 33,3% tenía bastante, el 25% poco y el 16,7% la desconocía.

5. En el apartado de ***Productos Aplicados en la LD*** (items 39-51), de todas las industrias lácteas:

- El 33,3 % manifestó que empleó la secuencia de limpieza en el CIP, alcalino-ácido-desinfectante y el 50%, la alcalino-ácido sin desinfectante.
- Sólo el 16,7% empleó fase única para la limpieza del CIP.
- Los sistemas CIP eran centralizados en el 91,7% de las industrias, sólo el 8,3% tenía varios CIP.
- Todos los productos de limpieza y desinfección utilizados en la LD de las industrias eran biodegradables.
- El 50% de los encuestados afirmó que tenía las fichas técnicas y de seguridad de todos los productos de LD y el otro 50%, además de estas fichas tenía otro tipo de documentación de la empresa suministradora.
- Los productos empleados en el CIP fueron sosa cáustica y ácido nítrico en el 16,7% y estos mismos productos aditivados en el 58,3% de las industrias.
- Para la limpieza de las superficies, el 41,7% empleó detergentes alcalino-clorados y el 33,3% sólo detergentes.

- Sólo el 25% de las industrias aplicaba los detergentes de superficies mediante sistema de espuma. Las ventajas de este método de aplicación suponían un ahorro de agua para el 8,3% y en general mejoraba la eficacia de las operaciones de LD para el 50% de los encuestados, un 41,7% no sabían o no contestaron.
- La aplicación de los productos al CIP se realizaba de forma automática en el 25%, mientras que se hacía de forma manual en el 33%. El 41,7% restante utilizaba tanto la forma manual como automática dependiendo del producto.

III.1.3. Factores de producción de las Queserías Industriales y de las Artesanales

III.1.3.1. Queserías Industriales

Una vez realizadas las visitas a las QI y analizados los datos recogidos en la encuesta de LD, los cuales permanecieron invariables a lo largo de todo el estudio, se clasificaron:

Respecto a la *Zona de ubicación*, cuatro de las cinco queserías estudiadas estaban en la *zona de costa* y una en la *zona de cumbre.* La *zona* no fue un factor predictivo de contaminación.

Observando los datos de *Producción* se puede apreciar que hay dos tipos de QI, dos de ellas con mayor producción y tres con menor producción, (aunque la quesería C tenía capacidad para procesar 30.000 l diarios de leche, en el momento de la toma de muestras su producción era mucho menor).

En cuanto al grado de *Manipulación* durante la elaboración del queso:
- Dos de ellas como *manipulación alta*, debido a que hacían el llenado de moldes de forma manual, utilizaban paños y la cuba de cuajado era abierta, además una de ellas no tenía CIP y en la otra, el CIP no cubría todos los requisitos necesarios para realizar una óptima desinfección del circuito de leche.
- Una quesería como *manipulación media,* pues la cuba de cuajado era cerrada, pero el llenado de moldes se hacía a mano, el funcionamiento del sistema CIP era muy adecuado para dicha quesería.
- Dos queserías como *manipulación mínima* ya que toda la producción estaba automatizada y el sistema CIP era el idóneo para cada quesería.

Tres queserías elaboraban sus productos a base de *leche de cabra* (añadiendo un pequeño porcentaje de leche de oveja) y dos de ellas utilizaban una mezcla de *leche de cabra y vaca*, siendo mayoritaria la primera.

La Tabla 22 muestra las variables observadas en cada una de las QI.

Tabla 22. Variables fijas por quesería industrial.

Industria	Manipulación	Producción l/d	Zona	Leche
A	Mínima	20.000 - 30.000	Tenerife (Costa)	Cabra
B	Media	20.000 - 30.000	Tenerife (Cumbre)	Cabra
C	Mínima	5.000 -10.000	Gran Canaria (Costa)	Cabra y vaca
D	Alta	5.000 -10.000	Gran Canaria (Costa)	Cabra y vaca
E	Alta	5.000 -10.000	Gran Canaria (Costa)	Cabra

III.1.3.2. Queserías Artesanales

Mediante la encuesta de producción de las 40 QA de GC que participaron en el estudio, se recogió la información de los parámetros que pudieran tener relación o influir sobre la contaminación de la leche y el queso.

- Respecto a la *Zona* de ubicación, de las 40 queserías artesanales estudiadas, 15 (37,5%) estuvieron ubicadas en la *Costa,* 15 (37,5%) en la *zona de Medianías*, 5 (12,5%) en la *zona de Cumbre* y 5 (12,5%) en la *zona de Moya*. Por lo tanto, la mayoría se encontraron ubicadas en la *zona de Costa* y *Medianías*, siendo muy similares en cuanto a la disposición y equipamiento.

- La clasificación de las queserías según su *Producción*: 8 (20%) queserías entre 1-10 kg; 15 (37,5%) entre 10-50 kg y 17 (42,5%) con más de 50 kg de queso/día. La mayoría de las queserías con alta producción se encontraron en la zona de Costa y Medianías, concentrándose aquí la mayor parte de la cabaña caprina de la isla.

- Atendiendo al *Tipo de Queso* elaborado en cada una de las queserías en el momento de realizar el estudio, 10 (25%) elaboraban *queso fresco*, 3 (7,5%) *queso tierno* y 27 (67,5%) *queso semicurado*. Sólo una de las 40 queserías elaboraba de froma exclusiva *queso fresco*, el resto hacían indistintamente *queso fresco, tierno* y *semicurado.*

Como ya se ha indicado (en II.2.2.1.) esta distribución de tipos de quesos fue similar al porcentaje de muestras recogidas y analizadas para el estudio, ya que se tomaron los quesos que estaban en las cámaras en el momento de las visitas de control.

Estos porcentajes contrastan con los datos aportados por Fresno (2000), quien afirmó que el 30% de la producción se destinaba a madurar, vendiéndose el resto como queso fresco o tierno. Este cambio puede obedecer a la aparición de nuevas exigencias higiénico sanitarias indicadas por la legislación actual, cuyo incumplimiento por parte de las quserías puede llevarlas a la no concesión o no renovación de nuevos Registros Sanitarios para la elaboración de queso fresco.

- Para el parámetro de *Manipulación* se comprobó, según la clasificación establecida, que 11 (27,5%) queserías elaboraban quesos mediante una *manipulación alta,* 23 (57,5%) con *una manipulación media* y 6 (15%) con una *manipulación mínima*.

- La clasificación de las queserías atendiendo a la especie animal productora, (*Tipo de leche)* que había en cada granja fue la siguiente, 4 (10%) queserías de mezcla de leche de cabra y vaca, 6 (15%) de leche de cabra, oveja y vaca y 25 (62,5%) de mezcla de leche de cabra y oveja. Las especies están mencionadas en orden decreciente según el porcentaje de leche aportado al queso. Ninguna quesería elaboraba quesos con leche procedente de una sola especie animal, sino que todos se elaboraban con mezcla de leches de diferentes especies, siendo la más abundante la de cabra y oveja.

- Según el *Tratamiento Térmico* de la leche, pasteurizada o cruda, 34 (85%) de las queserías estudiadas elaboraban el queso con leche cruda y 6 (15%), con leche pasteurizada. De estas 6 queserías, 2 sólo pasteurizaban la leche cuando elaboraban queso fresco o tierno mientras que, el queso semicurado lo elaboraban con leche cruda.

La Tabla 23 resume los factores de producción de todas las QA que participaron en este estudio.

Tabla 23. Resultados de la encuesta de producción de las 40 queserías artesanales estudiadas.

Quesería	Zona	Producc	Tipo queso	Manipu	Tipo leche	Tratamiento
1	Medianías	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cabra	Cruda
2	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Va	Cruda
3	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Va	Cruda
4	Moya	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab, ove,vac	Cruda
5	Moya	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab, ove,vac	Cruda
6	Moya	10 - 50 kg	Semicurado	Alta	Cab, ove,vac	Cruda
7	Medianías	> 50 kg	Semicurado	Alta	Cab-Ove	Cruda
8	Medianías	> 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
9	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
10	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
11	Medianías	> 50 kg	Fresco	Media	Cab-Ove	Pasteurizada
12	Medianías	> 50 kg	Fresco	Alta	Cab, ove,vac	Cruda
13	Costa	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
14	Costa	> 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
15	Cumbre	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
16	Cumbre	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab-Ove	Cruda
17	Medianías	> 50 kg	Fresco	Media	Cabra	Pasteurizada
18	Medianías	1 - 10 kg	Fresco	Alta	Cab-Va	Cruda
19	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
20	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda

Tabla 23. Resultados de la encuesta de producción de las 40 queserías artesanales estudiadas. (Continuación).

Quesería	Zona	Producc	Tipo queso	Manipu	Tipo leche	Tratamiento
21	Costa	> 50 kg	Fresco	Media	Cab-Ove	Cruda
22	Costa	> 50 kg	Semicurado	Mínima	Cab-Ove	Pasteurizada
23	Costa	> 50 kg	Semicurado	Mínima	Cabra	Pasteurizada
24	Costa	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
25	Costa	10 - 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
26	Costa	> 50 kg	Semicurado	Mínima	Cab-Ove	Cruda
27	Costa	10 - 50 kg	Fresco	Media	Cabra	Cruda
28	Medianías	10 - 50 kg	Semicurado	Mínima	Cab-Ove	Cruda
29	Costa	> 50 kg	Fresco	Mínima	Cab-Va	Pasteurizada
30	Costa	10 - 50 kg	Tierno	Media	Cab-Ove	Cruda
31	Costa	> 50 kg	Fresco	Media	Cab-Ove	Pasteurizada
32	Costa	> 50 kg	Fresco	Mínima	Cab-Ove	Cruda
33	Costa	> 50 kg	Tierno	Media	Cab-Ove	Cruda
34	Costa	> 50 kg	Tierno	Media	Cab-Ove	Cruda
35	Cumbre	> 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda
36	Moya	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab-Ove-Va	Cruda
37	Medianías	10 - 50 kg	Fresco	Media	Cab-Ove	Cruda
38	Cumbre	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab-Ove	Cruda
39	Moya	1 - 10 kg	Semicurado	Alta	Cab-Ove-Va	Cruda
40	Cumbre	> 50 kg	Semicurado	Media	Cab-Ove	Cruda

Dentro de estas mismas encuestas de producción, los datos recogidos en las QA de GC que hacían referencia al sistema de autocontrol APPCC y al programa de LD, pusieron de manifiesto que no había un seguimiento por escrito de estos apartados, por lo que en el presente trabajo no se incluyen éstos en los resultados de este epígrafe.

III.1.4. Evaluación de los conocimientos higiénicos de los manipuladores de las Queserías Industriales y Artesanales

En los dos siguientes epígrafes se presentan los resultados de los tests de manipuladores de alimentos de las QI y QA, expresados en porcentajes de respuestas correctas y las desviaciones estándar (DS) de cada bloque temático.

III.1.4.1. Queserías Industriales

Una vez finalizadas las encuestas de las QI con el modelo referido en el Anexo VIII.7, se observó que la media del porcentaje de respuestas contestadas correctamente por los MA de las QI fue del 81,51%, valor superior a la puntuación mínima del 75% que debían alcanzar para superar la prueba. Únicamente dos manipuladores no superaron este 75% sobre un total de 25 examinados.

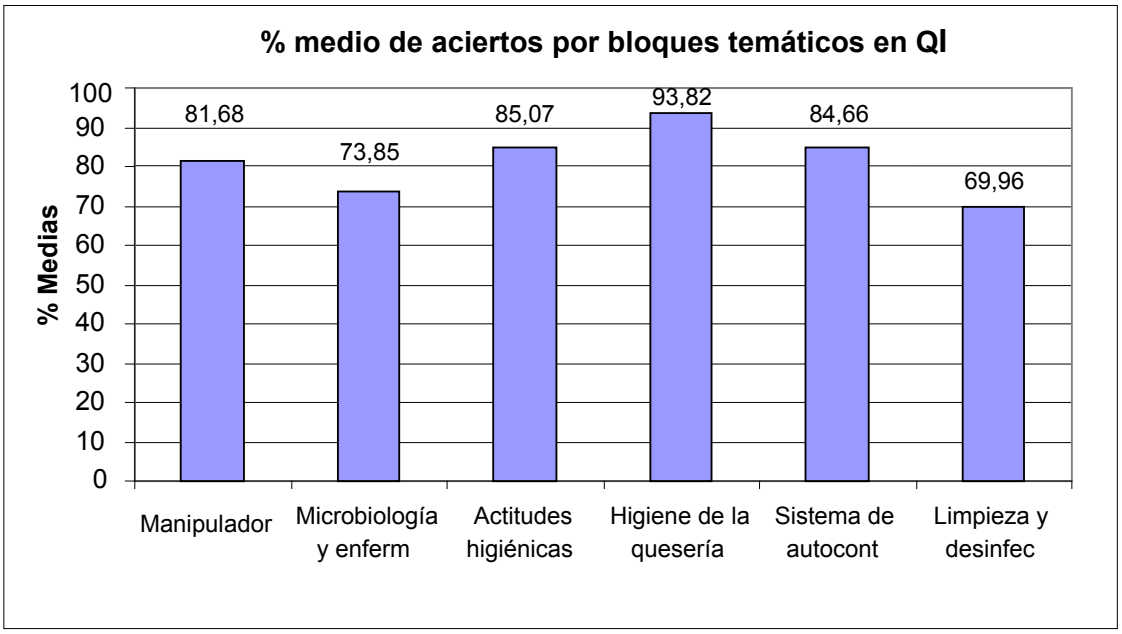
Los bloques de conocimientos considerados en el test fueron: Información sobre el manipulador de alimentos, Microbiología y enfermedades transmitidas por los alimentos, Actitudes higiénicas, Higiene de la quesería, Sistema de autocontrol y Limpieza y Desinfección.

En el análisis por bloques de conocimientos, el referido a *Microbiología y enfermedades relacionadas con los alimentos*, y el bloque de *Limpieza y Desinfección* fueron los peor evaluados, no alcanzando la media de todos los bloques de conocimientos y siendo el porcentaje de aciertos de 73,85% y 69,96% respectivamente. La mejor evaluación, con un 93,82% de aciertos, correspondió al bloque de *Higiene en las queserías*, seguido del bloque de *Actitudes higiénicas*, con un 85,07%.

El valor del *test de manipulador de alimentos* muestra que la quesería D fue la que más errores de media tuvo, 10 sobre un total de 40 preguntas y la quesería A la que menos errores, 4.

Los porcentajes medios de aciertos obtenidos por bloques temáticos se presentan en la Figura 17.

Figura 17. Resultados del test de manipulador de alimentos en las QI.



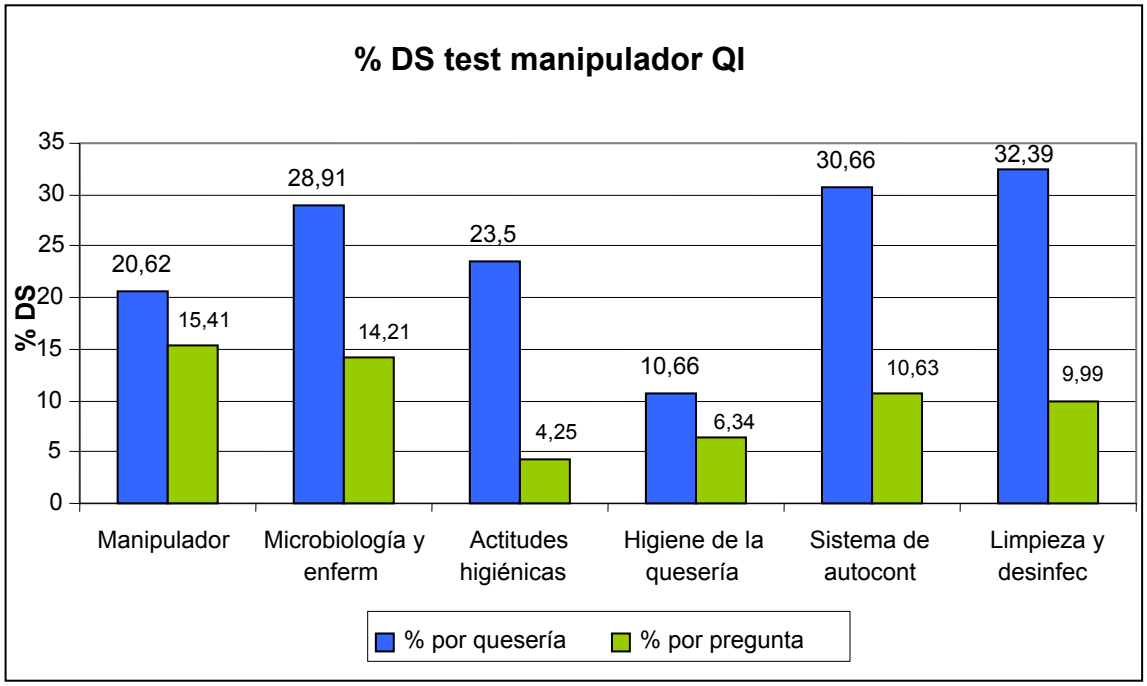
En la Figura 18 se muestran los porcentajes de la Desviación Standard (DS) del test de Manipulador de Alimentos por bloques temáticos, entre las diferentes QI y entre las diferentes preguntas del test. Esta medida (DS) da información de las distancias que tienen los datos respecto de su media aritmética, es decir de la variabilidad de aciertos o fallos por bloque temático, ya que se trata de una medida de dispersión.

En el análisis entre queserías (color azul), alcanzó el menor porcentaje de la DS el bloque de *Higiene de la quesería* con un 10,66%, seguido del bloque de *Manipulador* (20,62%). Por el contrario, esta medida fue máxima en el bloque de LD (32,39%), lo que significa una gran variabilidad entre los manipuladores de las distintas queserías en cuanto a los conocimientos de este bloque.

Respecto al análisis “por pregunta” (color verde), corresponde a la variabilidad de respuestas entre las diferentes preguntas de un mismo bloque temático. La menor DS se obtuvo en el bloque de respuestas de *Actitudes higiénicas de la quesería* con un

porcentaje de 4,25%, seguido del bloque referente a *Higiene de la quesería* (6,34%). Por el contrario, esta medida fue máxima (mayor variabilidad) en el bloque de *Manipulador de alimentos* (15,41%).

Figura 18. % de las DS del test de manipulador de alimentos de las QI.



III.1.4.2. Queserías Artesanales

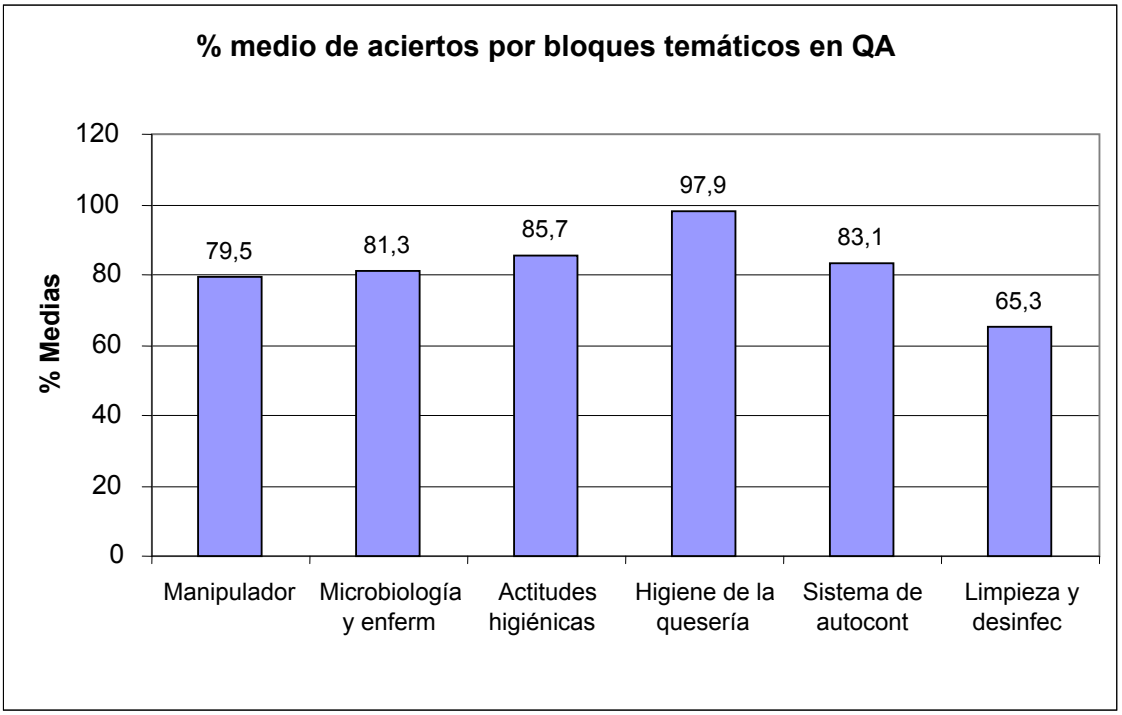
Los datos obtenidos de los tests de conocimientos de los manipuladores de QA (Anexo VIII.7) mostraron que la media del porcentaje de respuestas contestadas correctamente por los manipuladores de alimentos de las QA fue del 82,13%, más de 7 puntos superior al porcentaje del 75% necesario para superar el test de conocimientos. Este porcentaje no fue superado por 10 manipuladores sobre un total de 54 manipuladores examinados.

Los bloques de conocimientos valorados en las QA fueron los mismos que para las QI. El análisis por bloques de conocimientos indica que el referido a *Limpieza y Desinfección,* con un porcentaje de 65,3%, fue el único que tuvo una puntuación inferior a la media de porcentajes de los 6 bloques temáticos. El porcentaje más alto

se alcanzó en el bloque de *Higiene en la quesería*, con 97,9%, seguido de *Actitudes higiénicas* con 85,7%.

En la Figura 19 se representan los diferentes porcentajes de los 6 bloques temáticos de preguntas obtenidos por las 40 QA.

Figura 19. Resultados del test de manipulador de alimentos en las QA.

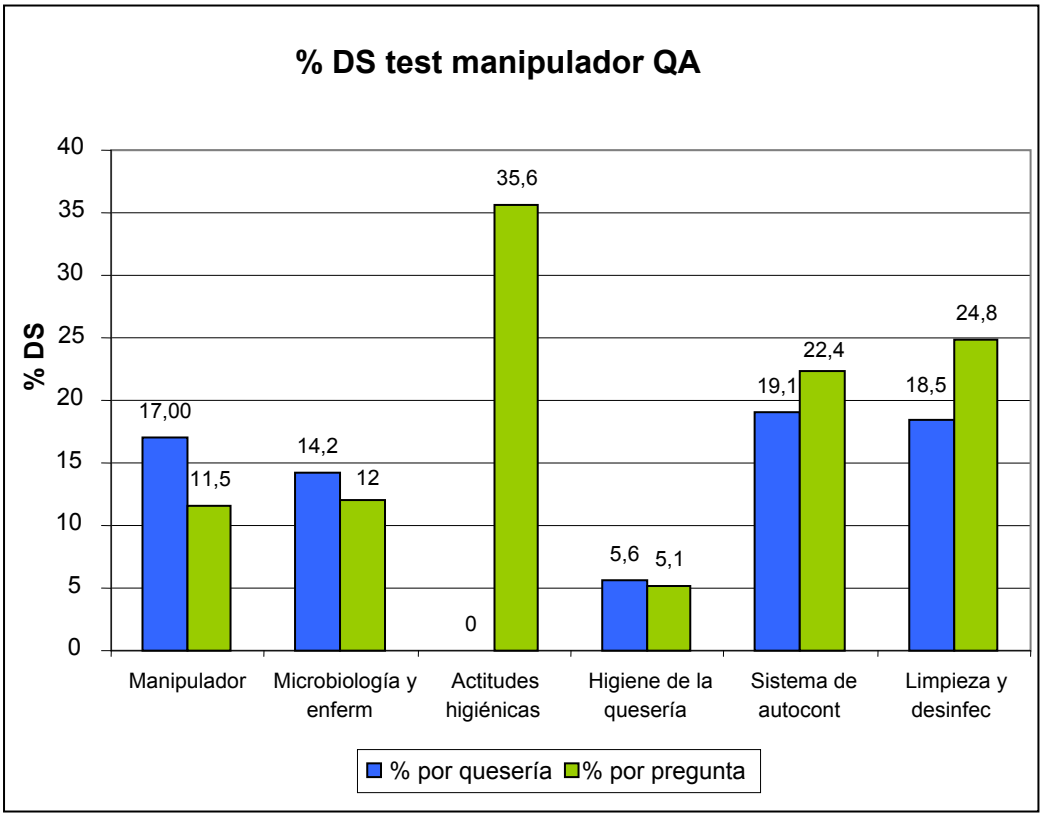


En la Figura 20 se muestran los porcentajes de la DS del test de Manipulador de Alimentos por bloques temáticos, entre las diferentes QA que participaron en este estudio y entre las diferentes preguntas del test. El bloque de *Actitudes higiénicas* no presentó variabilidad de respuestas entre queserías, seguido del bloque de *Higiene de la quesería* (5,6%). Por el contrario, esta medida fue máxima en el bloque de *Sistemas de Autocontrol* (19,1%).

Los porcentajes DS, correspondientes a la variabilidad de respuestas entre las diferentes preguntas de un mismo bloque temático, mostraron que la menor DS se obtuvo en el bloque de respuestas de *Higiene de la quesería* con un porcentaje de

5,1%, seguido del bloque referente al *Manipulador* (11,5%). Por el contrario, esta medida fue máxima en el bloque de *Actitudes higiénicas* (35,6%). Este valor tan elevado fue debido a que este bloque tiene un porcentaje de aciertos muy alto, pero a excepción de dos manipuladores, todos fallaron la pregunta número 16.

Figura 20. % de las DS del test de manipulador de alimentos de las QA.



Si comparamos los resultados de ambas queserías, QI y QA, se puede observar que hay similitud entre ellos. El orden de valoración por bloques fue muy parecido en ambas queserías, no habiendo una diferencia de porcentajes superior a 5 puntos en los diferentes bloques, a excepción del bloque de Microbiología y enfermedades, donde hubo una diferencia de 8 puntos superior en las QA. En las QI dos bloques obtuvieron porcentajes por debajo de la media de los obtenidos en 6 bloques, mientras que en las QA sólo un bloque no alcanzó este valor.

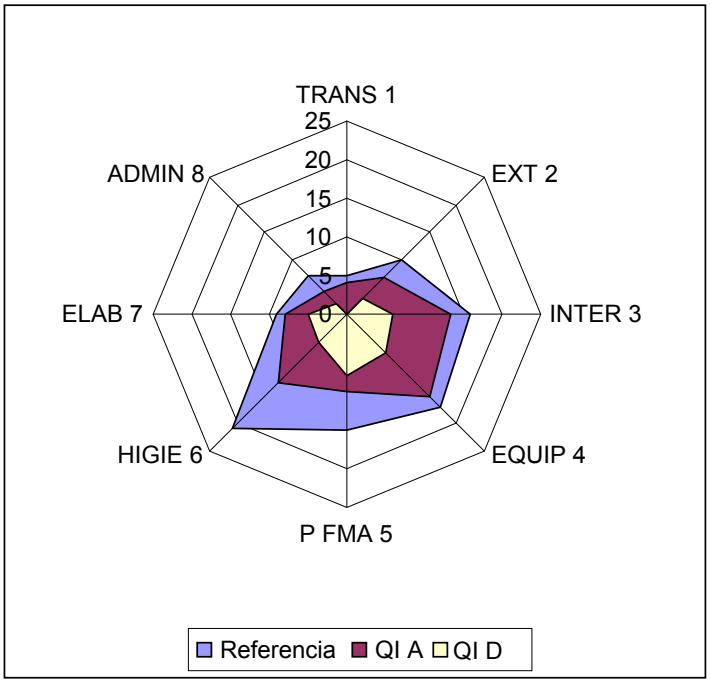
III.1.5. Encuesta Higiénico Sanitaria (HAS) de las Queserías Industriales y de las Artesanales

A continuación se presentan las puntuaciones alcanzadas por las QI y las QA en las encuestas HAS, según se describe en el Anexo, Tabla VIII.6.

III.1.5.1. Queserías Industriales

La Figura 21 representa mediante un diagrama radial las valoraciones obtenidas por la quesería de mayor puntuación (A) y la quesería de menor puntuación (D), respecto a la puntuación de referencia de todos los epítrafes de la encuesta.

Figura 21. Diagrama de valoración HAS de referencia en Queserías Industriales.



1 TRANS: transporte
2 EXT: exteriores
3 INTER: interiores
4 EQUIP: equipos
5 P FMA: plan de formación de manipuladores
6 HIGIE: Plan LD
7 ELAB: elaboración quesera
8 ADMIN: administración

En la Figura 22 se presentan las puntuaciones de los diferentes epígrafes (por colores) evaluados en las 5 QI. En la base de la gráfica se muestran los valores de referencia.

Según se observa en la Figura 22, la mayor puntuación fue alcanzada por la quesería A con 73,5 puntos y la menor, por la quesería D con 36 puntos. La puntuación media de todas las queserías fue de 57 puntos. Si excluimos la quesería D de la media de las cuatro restantes QI, la nueva media de todas las puntuaciones sería de 62,25, sensiblemente superior a la anterior y más acorde con la situación higiénico-sanitaria del resto de las queserías.

Los epígrafes peor valorados para la quesería D fueron, *Transporte* con 0 puntos sobre 5 posibles, *Higiene de la fabricación* con 5 puntos sobre 21 posibles y *Administración* con 2 puntos sobre 7 posibles. Dado que la puntuacióin total no alcanzó los 40 puntos, se consideró que en esta quesería no se podía implantar o desarrollar un sistema de autocontrol por las deficiencias puestas de manifiesto en la encuesta HAS. Cabe destacar que en el epígrafe de *Transporte de Leche* se puntuó con un cero a la quesería D, debido a que parte del transporte de la leche se realizaba en cántaras de leche sin control de la temperatura.

La Tabla 24, muestra las puntuaciones obtenidas en las 5 QI, las medias y las DS por epígrafe de cada una de ellas.

En general, los epígrafes de mayor puntuación con respecto a la puntuación de referencia por orden descendente, fueron los de Elaboración, Interiores, Equipos, Plan de Formación de Manipuladores de Alimentos, Transporte, Administrativo, Exteriores e Higiene.

La DS de la encuesta HAS de las QI alcanzó un valor máximo de 3,17 en el epígrafe de *Equipos,* lo que indica una mayor dispersión en las puntuaciones de las queserías, y un valor mínimo de 0,89 en el *Administrativo*, indicando mayor homogeneidad.

Figura 22. Puntuaciones HAS por sumatorio de epígrafes de las QI.

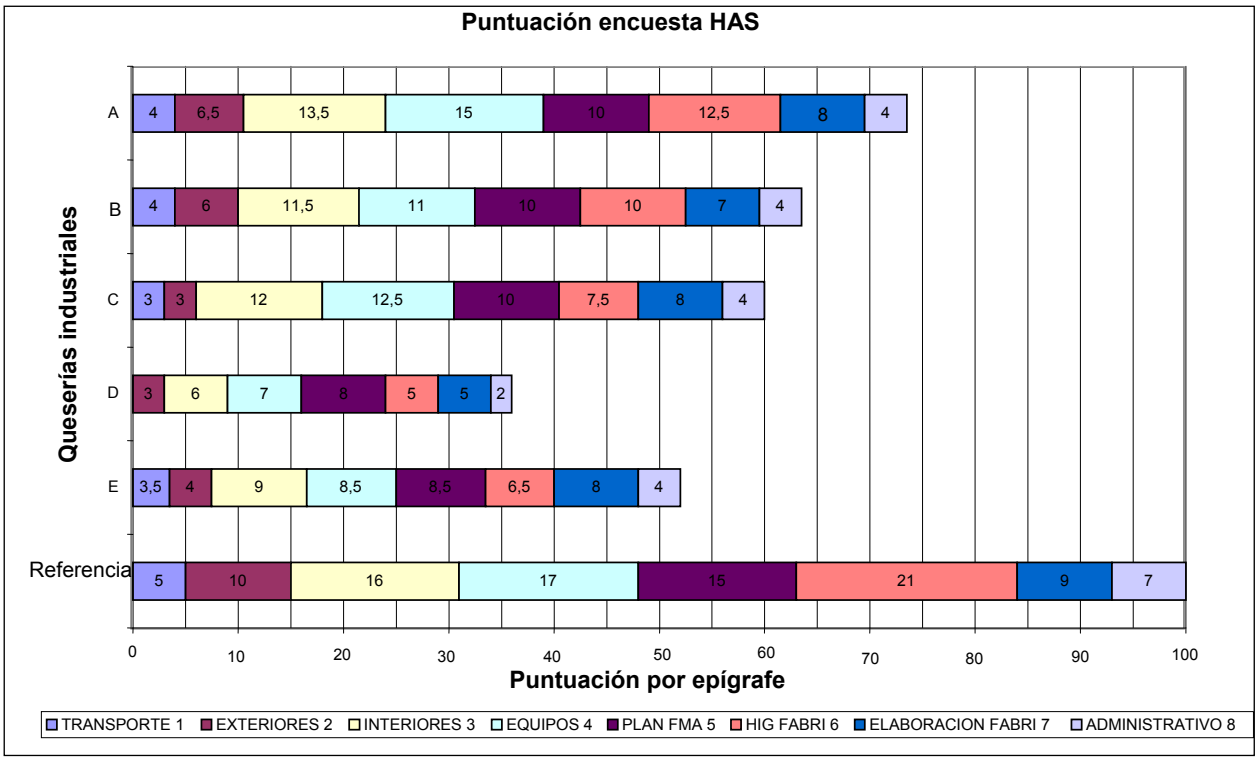


Tabla 24. Puntuación HAS de las QI.

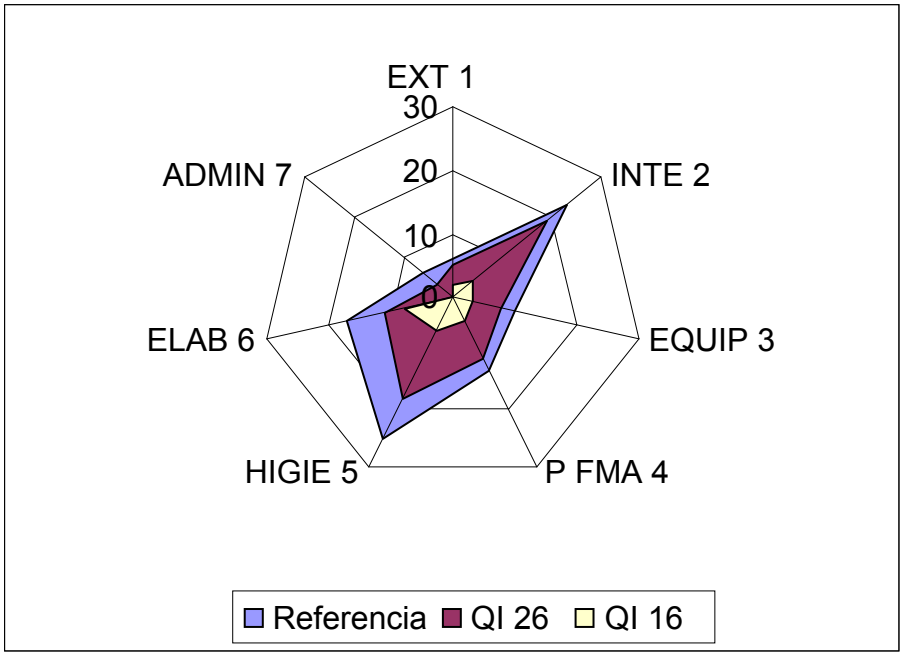
Puntuación de las Queserías Industriales								
EPÍGRAFES	Referencia	A	B	C	D	E	Media	Desvi
TRANSPORTE	5	4	4	3	0	3,5	**2,9**	**1,67**
EXTERIORES	10	6,5	6	3	3	4	**4,5**	**1,65**
INTERIORES	16	13,5	11,5	12	6	9	**10,4**	**2,94**
EQUIPOS	17	15	11	12,5	7	8,5	**10,8**	**3,17**
PLAN FMA	15	10	10	10	8	8,5	**9,3**	**0,97**
HIG FABRI	21	12,5	10	7,5	5	6,5	**8,3**	**2,97**
ELABORACI FABR	9	8	7	8	5	8	**7,2**	**1,30**
ADMINISTRATIVO	7	4	4	4	2	4	**3,6**	**0,89**
TOTAL	**100**	**73,5**	**63,5**	**60**	**36**	**52**	**57**	**14,05**

III.1.5.2. Queserías Artesanales

Las QA que participaron en este estudio tenían la granja junto a la quesería, por lo que no se consideró pertinente incluir en esta encuesta el epígrafe de transporte de la leche, teniendo las QA, por lo tanto, 7 epígrafes frente a la encuesta de las QI que tenían 8.

La quesería que obtuvo mayor puntuación fue la número 26 con 75 puntos, seguida de las número 2 y 17, ambas con 69 puntos. Las queserías con menor puntuación fueron la número 16, 5 y 39, con 27, 35 y 36,5 puntos, respectivamente. El diagrama de la Figura 23 muestra la valoración por epígrafes de la quesería con mayor (26) y menor (16) puntuación con respecto a la puntuación de referencia.

Figura 23. Diagrama de valoración HAS de referencia en Queserías Artesanales.



1 EXT: exteriores
2 INTE interiores
3 EQUIP: equipos
4 P FMA: plan de formación de manipuladores
5 HIGIE: Plan LD
6 ELAB: elaboración quesera
7 ADMIN: administración

Se consideró que la QA 26, con mayor puntuación, tenía los equipos más adecuados para su producción, la LD era óptima y en todas las etapas de manipulación se respetaban las normas higiénicas. Sin embargo, la QA 16, con la menor puntuación, presentaba graves deficiencias que le hacían no cumplir los requisitos mínimos exigidos para una elaboración higiénico sanitaria.

La Tabla 25, muestra las puntuaciones obtenidas en las 40 QA, las medias y las DS por epígrafes de cada una de ellas.

De las 40 queserías artesanales, 6 tuvieron una puntuación inferior a 40 puntos, lo que representó que el 15% de las queserías no superaró la puntuación mínima y 3 queserías (7,5%) obtuvieron una puntuación entre 40 y 50 puntos, es decir, muy baja aunque por encima del umbral de los 40 puntos. El resto de las queserías alcanzó una puntuación entre los 50 y los 75 puntos. La puntuación más alta obtenida por una QA fue de 75 puntos, siendo la media de 56,03 puntos, frente a los 57 puntos de las Queserías Industriales.

En general, los epígrafes más valorados con respecto a la puntuación de referencia por orden descendente, fueron los de *Plan de formación de* m*anipuladores*, *Equipos, Interiores*, *Exteriores, Elaboración en la fabricación, Higiene de la fabricación y Administración,* no coincidiendo este orden con el de las QI.

La DS de la encuesta HAS de las QA alcanzó un valor máximo de 3,91 en el epígrafe de *Higiene* lo que indica una mayor dispersión en las puntuaciones de las 40 queserías, y un valor mínimo de 1,04 en *Exteriores y Administración*, indicando mayor homogeneidad.

En la Figura 24 se presentan las puntuaciones de los diferentes epígrafes (por colores) evaluados en las 40 QA. En la base de la gráfica se muestran los valores de referencia.

Tabla 25. Puntuación de la encuesta HAS de las QA.

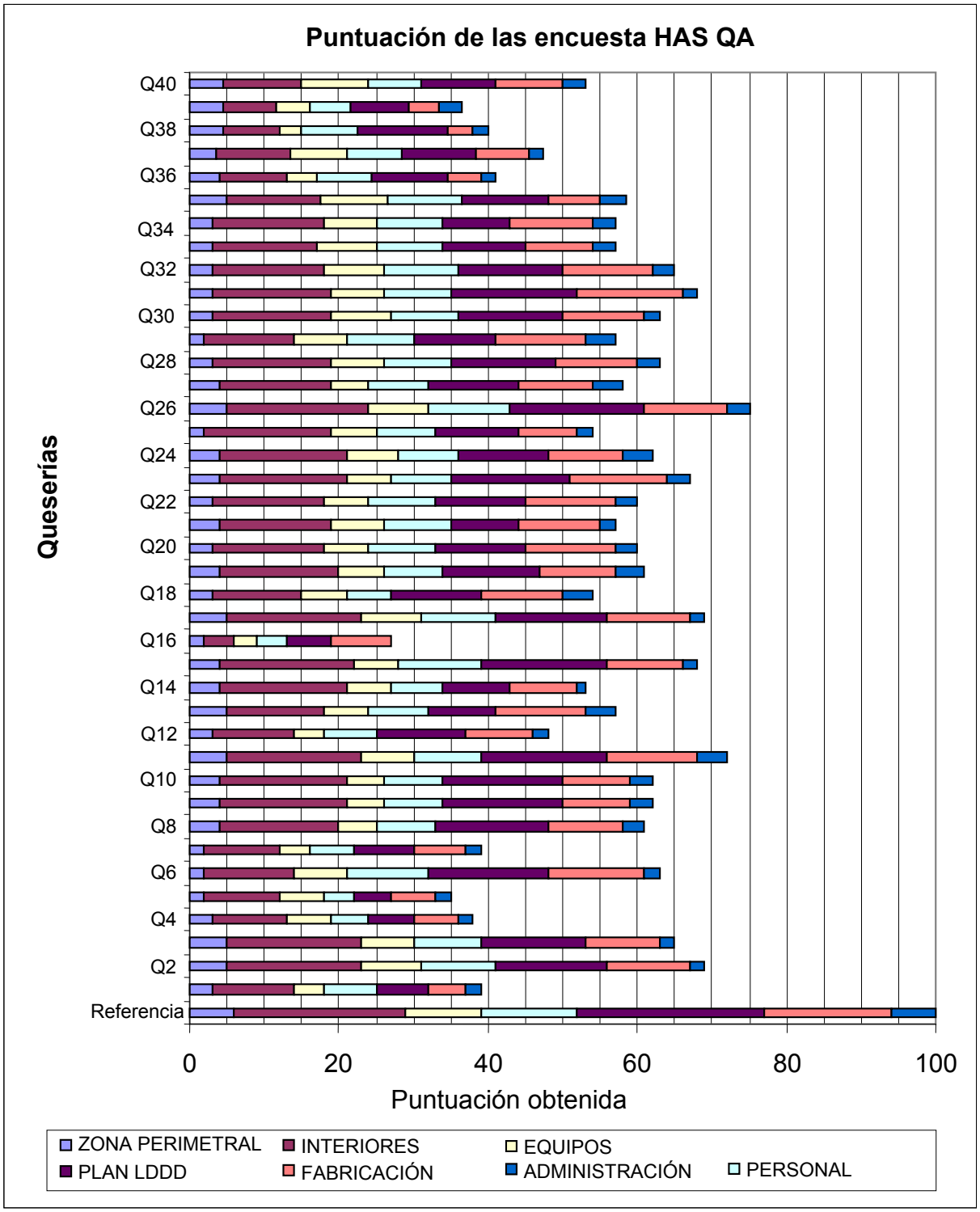
QUESERÍAS	EXTERI	INTERI	EQUIP	PLAN FMA	HIGIENE	ELABOR	ADMIN	Total HAS
Q1	3	11	4	7	7	5	2	39
Q2	5	18	8	10	15	11	2	69
Q3	5	18	7	9	14	10	2	65
Q4	3	10	6	5	6	6	2	38
Q5	2	10	6	4	5	6	2	35
Q6	2	12	7	11	16	13	2	63
Q7	2	10	4	6	8	7	2	39
Q8	4	16	5	8	15	10	3	61
Q9	4	17	5	8	16	9	3	62
Q10	4	17	5	8	16	9	3	62
Q11	5	18	7	9	17	12	4	72
Q12	3	11	4	7	12	9	2	48
Q13	5	13	6	8	9	12	4	57
Q14	4	17	6	7	9	9	1	53
Q15	4	18	6	11	17	10	2	68
Q16	2	4	3	4	6	8	0	27
Q17	5	18	8	10	15	11	2	69
Q18	3	12	6	6	12	11	4	54
Q19	4	16	6	8	13	10	4	61
Q20	3	15	6	9	12	12	3	60

Tabla 25. Puntuación de la encuesta HAS de las QA. (Continuación).

QUESERÍAS	EXTERI	INTERI	EQUIP	PLAN FMA	HIGIENE	ELABOR	ADMIN	Total HAS
Q21	4	15	7	9	9	11	2	57
Q22	3	15	6	9	12	12	3	60
Q23	4	17	6	8	16	13	3	67
Q24	4	17	7	8	12	10	4	62
Q25	2	17	6	8	11	8	2	54
Q26	5	19	8	11	18	11	3	75
Q27	4	15	5	8	12	10	4	58
Q28	3	16	7	9	14	11	3	63
Q29	2	12	7	9	11	12	4	57
Q30	3	16	8	9	14	11	2	63
Q31	3	16	7	9	17	14	2	68
Q32	3	15	8	10	14	12	3	65
Q33	3	14	8	9	11	9	3	57
Q34	3	15	7	9	9	11	3	57
Q35	5	12,5	9	10	11,5	7	3,5	58,5
Q36	4	9	4	7,5	10	4,5	2	41
Q37	3,5	10	7,5	7,5	10	7	2	47,5
Q38	4,5	7,5	3	7,5	12	3,5	2	40
Q39	4,5	7	4,5	5,5	8	4	3	36,5
Q40	4,5	10,5	9	7	10	9	3	53
REFERENCIA	6	23	10	13	25	17	6	100
MEDIA	3,6	13,91	6,225	8,12	12,03	9,5	2,63	56,03
DESV ESTAN	1,04	3,84	1,62	1,85	3,91	2,82	1,04	13,20

La baja puntuación en el apartado de Administración fue debida a que muy pocas queserías realizaban registros de los controles de temperaturas, lotes de los quesos, trazabilidad, etc.

Figura 24. Puntuaciones HAS por sumatorio de epígrafes de las QA.



III.1.6. Parámetros de elaboración de las Queserías Industriales y de las Artesanales

Fruto de la observación y recopilación de información por parte del equipo de trabajo de este estudio durante las visitas de control a las QI y QA, se obtuvieron los datos más representativos de cada quesería en los aspectos de elaboración del queso. Siempre desde un punto de vista higiénico sanitario, se consideró que las etapas y variables que más podían influir en la contaminación final y a su vez aportar un elemento diferenciador entre las diferentes queserías, serían: la coagulación (temperatura, tiempo de maduración de la leche, pH de la cuajada y tamaño del grano), el prensado (kilos de presión, tiempo de prensa y pH final) y tipo de salado (concentración de la salmuera, temperatura y tiempo).

En la Tabla 26 se presentan las variables observadas para la elaboración del queso fresco y en la Tabla 27, para la elaboración del queso semicurado. En ambas se incluyen los datos de procesado de las cinco queserías industriales (QI A, QI B, QI C, QI D y QI E) y de cinco (QA1, QA2, QA3, QA4, QA7) (Tabla 26) y siete (QA1, QA2, QA3, QA4, QA5, QA6, QA7) (Tabla 27), grupos de queserías artesanales clasificadas en función de su similitud en la forma de elaboración, grado de maduración y zona de producción de GC para el mismo grupo.

Dada la variabilidad de explotaciones mixtas en Gran Canaria, al igual que detectaron Fresno *et al.* (1992), fue muy difícil establecer un intervalo adecuado para determinar el rendimiento quesero y demás parámetros de elaboración.

Tabla 26. Parámetros de elaboración del queso fresco.

Queserías	Coagulación				Prensado				Salado		
	Tº C	min	pH	Grano mm	kg	t min	pH	Sal%	TºC	t hora	pH
QI A	29-30	30	6,8	5-10	1-2,5	40	-	20	8-10	5-8	6,7
QI B	32-34	30	6,4	5-10	2	45	-	20	8	1-8	6,4
QI C	32-33	40	-	10	1-1,5	20	-	18	4	1/2	-
QI D	30-33	45-60	-	10	1,5	15	-	20	<15	1	-
QI E	34-35	25-35	-	5-10	2	60	5,4	20	<10	1	5,4
QA 1 Costa	30	35	-	6	*	-	-	Superf	<18	10	-
QA 2 Costa	30-32	40-45	-	10	2-2,5	45	-	Superf	<18	10	-
QA 3 Costa	32	20-30	-	6	2,5-4	40	-	Superf	<18	10	-
QA 4 Medi	34	40	-	7	2,5	60	-	Superf	<18	10	-
QA 7 Cumb	30	30-50	-	10	1-4	60	-	Superf	<18	10	-

*Prensado manual sobre la quesera.

Tabla 27. Parámetros de elaboración del queso semicurado.

Queserías	Coagulación				Prensado				Salado		
	Tº C	t min	pH	Grano mm	kg	t hora	pH	Sal%	TºC	t hora	pH
QI A	32	30	6,7	5-10	2,5	2-3	-	20	8-10	9-12	5-5,5
QI B	34	30	6,4	5-10	2,5	2-3	-	20	8	6-12	5-5,5
QI C	34-37	40	-	7	2-2,5	60	5,7	18	4	1/2	-
QI D	34-36	45-60	-	10	1,5	1/4	-	20	<15	12 h	-
QI E	36-37	25-35	-	5-10	2	10 h	5,4	20	<10	10	5,6
QA1 Costa	36	35	-	6	2,5-4	1/2	-	Superf	<18	10	-
QA 2 Costa	37	40-45	-	5	2,5-4	1	-	Superf	<18	10	-
QA3 Costa	32	20-30	-	5	2,5-4	3/4	-	Superf	<18	10	-
QA 4 Medi	34	40	-	5	2,5	1	-	Superf	<18	10	-
QA 5 Medi	32	40-45	-	6	2-4	3	-	Superf	9	24	-
QA 6 Moya	32	40-60	-	6	*	24	-	Superf	<9	10	-
QA 7 Cumb	32-34	40-60	6,3	6	0,5-5	2-6	-	Superf	<18	10	-

*Utiliza una prensa vertical manual.

Coagulación

- Temperatura y tiempo de coagulación de la leche.

Las malas condiciones microbiológicas iniciales de la leche producen ácido láctico, que junto con el tiempo que transcurre entre su recogida y la elaboración del queso, provocan una bajada del pH. El método de producción artesanal es más adecuado para evitar esta bajada de pH, porque el artesano utiliza únicamente la leche de su granja y el tiempo transcurrido entre el ordeño y la elaboración es muy corto, menos de 2 horas.

Un gran porcentaje de los queseros mantenían constante la temperatura de la leche tras el ordeño, evitando así tener que calentarla para la coagulación, por lo que no tenían ningún control técnico sobre este parámetro. Estos eran los de menor producción y carecían de un tanque de frío, aunque algunos, aún teniéndolo, sólo lo utilizaban para almacenar la leche de los días que no elaboraban queso. Se debe tener en cuenta que si la leche ha sido enfriada con anterioridad, los tiempos de coagulación aumentan.

La temperatura de coagulación en las QI osciló entre los 29 y 35ºC para el queso fresco y entre 32 y 37ºC para los quesos semicurados. En las QA las temperaturas oscilaron entre los 30 y 34ºC para el queso fresco y 32 y 37ºC para los quesos semicurados. En ambos tipos de queserías la temperatura para el queso seimicurado fue 2ºC superior a la del fresco. Ninguna quesería sobrepasó la temperatura de 40ºC.

El periodo de coagulación de las QA era de unos 40 minutos, ligeramente superior al empleado en las QI, de unos 30 minutos. Ambas mantenían los mismos tiempos, ya se tratara de la elaboración de queso fresco o curado.

Similar práctica es llevada a cabo en la DO Queso Palmero, los cuales cuajan a una temperatura entre 27º y 33ºC, tras un tiempo mínimo de coagulación de 45 minutos. Estos valores son similares a los de otros quesos españoles (Moro y Pons, 1987;

Arroyo y García, 1988; Mas-Mayoral *et al*., 1991) e inferiores al señalado por Le Jaouen y De Simiane (1986) para quesos artesanos de cabra franceses.

De forma similar se elabora en la DO Queso Majorero, que tras el ordeño a una temperatura de coagulación entre 28º y 32ºC, se coagula la leche durante 1 hora como mínimo.

En el queso de Valdeteja la temperatura de coagulación es de 37ºC, y tras un periodo de 1 ó 2 horas se corta la cuajada.

El tiempo de cuajado que con más frecuencia se encontró en un estudio realizado en las queserías artesanales de Tenerife fue en torno a los 30 minutos (de 21 a 30 minutos un 47%, y de 31 a 40 minutos un 20%), (Peláez *et al*., 2003).

En La Palma, Fresno *et al*. (2002), encontraron que de 63 queseros, el 66% empleaban un tiempo de coagulación entre 30 y 45 minutos.

Las QI A y QI B al final del periodo de coagulación aumentaban la temperatura de la cuajada dos grados; de esta forma se producía una mayor sinéresis de la micela y aumentaba el desuerado. Ninguno de los queseros artesanos elevaba la temperatura al final de la coagulación por limitaciones tecnológicas de la cuba de coagulación.

Es muy importante la temperatura de la leche en el momento de añadir los cultivos iniciadores, pues estas bacterias necesitan una temperatura mínima de 30ºC para su multiplicación, necesaria también para la actividad enzimática del coagulante.

- Adición de cultivos iniciadores.

Normalmente a los quesos frescos no se les suele añadir cultivos iniciadores, aunque algunos artesanos sí lo hacen para aumentar el periodo de consumo preferente de estos quesos.

En el presente estudio, todos los queseros artesanales e industriales añadían cultivos iniciadores comerciales, con la excepción de los artesanos de la zona de Moya (Fontanales), que no los utilizaban en la elaboración de los quesos curados o semicurados. También el queso de cabra de Valdeteja se elabora sin adición de cultivos iniciadores (Alonso-Calleja *et al*., 2002).

La adición de los cultivos liofilizados a la leche en la cuba se hace de forma manual. En las cubas automáticas la distribución es más homogénea, sin embargo, si la agitación es manual pueden quedar zonas con excesiva concentración de fermentos y la cuajada quedará con zonas más duras, grumosas y ácidas que en otras. Todos los queseros artesanales e industriales añadían los cultivos de forma manual.

El tiempo de maduración de la leche puede oscilar entre 30 minutos y 2 horas. Depende de las características del cultivo iniciador y de la acidez deseada de la cuajada. Si se prolonga mucho pueden crecer coliformes. Solamente las queserías industriales tenían controlado este periodo de tiempo. Las queserías artesanales no les daban demasiada importancia a este periodo de multiplicación de los cultivos iniciadores, quizás por desconocimiento de lo que sucede en esta etapa.

Ninguno de los queseros encuestados añadía conservante (Na NO_2) ni colorantes.

- Adición del cuajo.

El cuajo utilizado por todos los queseros encuestados fue cuajo comercial de quimosina y pepsina en diferentes porcentajes de riqueza según la marca utilizada, si bien en visitas posteriores a los queseros artesanales se comprobó que algunos comenzaban a utilizar coagulante de *Mucor mihei*.

Una mayor cantidad de cuajo produce cuajadas más firmes, invirtiéndose este efecto al sobrepasar cierta cantidad. La coagulación está muy influenciada por la temperatura de la leche, pues el grado de firmeza de la cuajada aumenta progresivamente hasta los 40ºC; pasada esta temperatura se invierte y se vuelve elástica.

El cuajo se diluye previamente en agua para añadirlo posteriormente a la leche ya madurada. Se debe mezclar bien con la leche para evitar coagulaciones irregulares que provoquen que la grasa ascienda a la superficie perdiendo volumen de cuajada.

La adición de cloruro cálcico se realiza únicamente cuando la leche es pasteurizada, aumentando la tensión de las cuajadas.

La relación grasa/proteína también afecta a la firmeza de las cuajadas: un exceso de grasa produce cuajadas menos firmes. Dada la heterogeneidad de las leches recogidas en las diferentes granjas que se recepcionaban en las QI, se realizaron análisis para comprobar el contenido de grasa y proteína de la leche recibida recibían. Este control también servía para efectuar el pago de la leche en base a su composición físico-química. No ocurrió así en las QA donde los artesanos no realizaron análisis de grasa y proteína, pero adaptaron su receta de elaboración a los contenidos de materia seca de su leche la cual era constante.

- pH de la cuajada.

Ninguna de las QA realizaba medición del pH, por el contrario todas la QI utilizaban la lectura de este parámetro para determinar el estado de coagulación final.

Las diferencias de pH durante la elaboración entre el queso fresco y el queso semicurado se deben principalmente, a que un mayor contenido de suero de la cuajada provoca mayor retención de lactosa y ácido láctico, y por consiguiente una disminución del pH.

El pH de la cuajada también influye sobre la textura, así un pH bajo hasta 5,8 produce cuajadas más firmes, pero valores inferiores producen cuajadas elásticas. La coagulación de la leche se produce a pH de 5,5-5,35. Alonso-Calleja *et al*. (2002), detectaron en los quesos de Valdeteja, un pH medio de la cuajada de 5,39.

En una segunda fase, la cuajada comienza a asentarse, liberándose ácido láctico y aumentando la degradación enzimática, adquiriendo cada vez más firmeza la cuajada.

Corte de la cuajada

El corte de la cuajada debe ser limpio, pues de no ser así se perdería parte de la grasa y proteína atrapada en el coágulo. Las cubas cerradas tienen un doble sistema de agitación, en un sentido agitan con los bordes romos de las liras y en sentido opuesto con bordes afilados cortan la cuajada. La mayoría de los artesanos cortaban la cuajada con liras provistas de hilos de acero o láminas verticales de acero inoxidable. El tamaño del grano variaba mucho entre las quesería artesanales, desde una judía hasta el tamaño de una lenteja (5-10 mm) para el queso fresco, siendo más pequeño para el queso semicurado (5 mm). El tamaño del grano era mucho más uniforme en las QI, siendo tanto para queso fresco o semicurado, de unos 5-10 mm.

El tamaño del grano en el queso de la DO Queso Majorero y en la DO Queso de La Palma es de 5 a 15 mm de diámetro. En el queso de Valdeteja la cuajada se corta en cubos alargados de 10 cm (Alonso-Calleja *et al.*, 2002).

Prensado de la cuajada

El prensado del queso mediante prensa neumática se realizaba de forma progresiva, aumentando poco a poco la presión sobre los quesos, partiendo de 1 kg hasta los 2,5 kg en las prensas industriales y hasta los 4 kg de algunos artesanos. La presión aplicada sobre los quesos es inversamente proporcional al tiempo de permanencia en la prensa y proporcional al peso de los quesos, es decir a mayor peso de los quesos, mayor presión.

En la zona de Moya no se utilizaban prensas neumáticas convencionales, sino prensas verticales manuales. Dos queserías prensaban el queso a mano sobre las queseras de madera.

Todas las queserías industriales utilizaban prensas neumáticas para el prensado del queso.

Salado

En general, el contenido final de cloruro sódico de los quesos varía entre 1,5 y 2,5%.

La mayoría de los queseros artesanales salaban en superficie. Solamente 4 queseros lo hacían mediante salmuera. En cambio, los queseros industriales salaban siempre en salmuera. La duración en general puede ser de hasta 24 horas, aunque la media es de unas 10 horas. Ninguno de los queseros encuestados añadía sal a la leche.

La sal detiene el crecimiento de los microorganismos iniciadores y evita que el pH siga bajando por un exceso de ácido láctico. Mediante el salado en superficie, la sal se difunde de forma lenta y se corre el riesgo del crecimiento de bacterias coliformes en el interior del queso.

Maduración

La maduración del queso en las QI se realizaba en cámaras de maduración mientras que en las QA se hacía en pequeñas cámaras de refrigeración o en cuartos de maduración. Las QA de mayor producción y de la zona de Costa maduraban en cámaras de refrigeración y las de pequeña producción y de la zona de Moya, Medianías y Cumbres lo hacían mayoritariamente, en cuartos de maduración muy ventilados.

La temperatura, humedad y pH del queso son factores muy importantes en la maduración del queso.

Olarte *et al.* (1999), encontraron que tras cinco días de maduración del queso de Cameros, el pH descendió de 6,78 en el día 0 a 4,89 el día 5, debido a la producción de ácido por los microorganismos, alcanzando un pH final de 4,7 el día 60. Este rápido descenso pudo ser debido a que los lactococos (principal productor de ácido láctico) fueron el grupo microbiano dominante en el comienzo del periodo de maduración. A partir del día 15 se encontró un ligero incremento del pH, que podría explicarse por el bajo nivel de bacterias ácido lácticas encontradas y la alta cantidad de levaduras y

hongos (Poullet *et al*., 1991; Tornadijo *et al*., 1995), y la metabolización microbiana del ácido láctico y producción de amoniaco por las desaminaciones (Sanjuán *et al*., 2002)

El pH del queso de Valdeteja a los 5 días de maduración fue 4,64 y al final de la maduración 4,48 (Alonso-Calleja *et al*., 2002). Gómez *et al.* (1991), encontraron un pH de 5,06 ±0,21 en muestras de queso Palmero semiduro y Castelo *et al.* (1995), para quesos de Fuerteventura curados obtuvieron unos valores de 4,96 ±0,26.

Son las propias bacterias ácido lácticas de la leche las que influyen sobre el proceso de maduración mediante la producción del ácido láctico, la disminución del potencial óxido-reducción, la producción de dicarbonilos (diacetilos), la proteolisis (principalmente secundaria) y el catabolismo de los aminoácidos (Steele, 1995).

Comparativa QA y QI

Los parámetros de elaboración estudiados entre las cinco QI estudiadas tuvieron muy poca variabilidad, pues su metodología y los medios empleados fueron muy similares.

No ocurrió así en las QA, donde la variabilidad del producto final entre éstas, fue debida, a las características particulares de la leche con la que elaboraban sus quesos, a los útiles empleados, y a la aplicación de las recetas personales de cada quesero y al propio método de elaboración.

III.2. Resultados analíticos en Queserías Industriales

III.2.1. Datos descriptivos

III.2.1.1. Control microbiológico de superficies

III.2.1.1.1. Control de superficies mediante laminocultivos

a) Aerobios Totales:

Para el análisis de los resultados del control de superficies de las queserías industriales mediante laminocultivos Hygicult TCA se presentaron cuatro categorías diferentes (≤2, 2-5, >5-10 y >10 ufc/cm^2) expresadas en forma de recuentos y porcentajes según las ufc /cm^2 obtenidas.

Según diversos autores (Houhala *et al.,* 1999) y las recomendaciones del fabricante de los laminocultivos Orión Diagnostica, los resultados inferiores o iguales a 5 ufc/cm^2, se consideran como superficies limpias y recuentos superiores a 5 ufc/cm^2 como superficies sucias. La mayoría de las superficies muestreadas se concentraron en la categoría ≤2 y en la categoría >10.

En la Tabla 28 se presentan los recuentos medios de aerobios mesófilos por queserías.

La quesería A obtuvo el mayor porcentaje de resultados favorables (≤2 y >2-5) con un total de 87,6 %, seguida de la quesería E con un 71,5%. La quesería con peor resultado fue la D, con un 60% de superficies catalogadas como sucias.

Tabla 28. Resultados del recuento de aerobios totales (ufc/cm^2) por QI mediante laminocultivos.

	Aerobios Totales Laminocultivos n(%)			
Quesería (N)	≤2	>2-5	>5-10	>10
A (32)	26 (81,3)	2 (6,3)	1 (3,1)	3 (9,4)
B (40)	23 (57,5)	3 (7,5)	2 (5)	12 (30)
C (40)	21 (52,5)	6 (15)	2 (5)	11 (27,5)
D (35)	14 (40)	0	2 (5,7)	19 (54,3)
E (35)	22 (62,9)	3 (8,6)	0	10 (28,6)
Total (182)	**106(58,2)**	**14 (7,7)**	**7,8 (3,8)**	**55 (30,2)**

La media de los resultados favorables de todas las queserías fue de 65,9%, resultado que podemos considerar bastante aceptable, en comparación con los de otros autores como Moore y Griffith (2002), quienes detectaron mediante laminocultivos que el 40% de las superficies evaluadas en una quesería fueron catalogadas como aceptables, con un criterio de <2,5 ufc/cm^2. En el presente estudio se obtuvo el 58,2% de superficies aceptables con este mismo criterio. Utilizando un nivel de aceptación como superficies limpias de <2,5 ufc/cm^2, Costa *et al.* (2006), mediante la técnica de hisopos en superficies de una central láctea, obtuvieron un 50% de resultados aceptables, con una reducción de la carga microbiana del 99,1% del recuento efectuado antes y después de la limpieza y desinfección. Con la técnica de hisopos y considerando como aptos los resultados <1ufc/cm^2, Murphy *et al*. (1998), encontraron en una central láctea que el 36,1% de las 86 superficies muestreadas tenían resultados catalogados como aptos. Salo *et al.* (2006) evaluaron tres industrias lácteas mediante laminocultivos Hygicult, determinando que el 72,7% de las superficies de los equipos y el 50% de los utensilios en contacto con los alimentos se consideraron limpias, sin embargo sólo el 16% de las superficies sin contacto con los alimentos se consideraron limpias. Estos autores tomaron como criterio para superficies limpias los valores <2 ufc/cm^2, inadecuadas 2-5 ufc/cm^2 y contaminadas >5 ufc/cm^2, según las recomendaciones de Houhala *et al.* (1999).

La bibliografía consultada muestra que los resultados son dispares según el tipo de industria, el procedimiento de limpieza y desinfección, la técnica de medición aplicada y el criterio de aceptabilidad.

La Tabla 29 muestra los resultados obtenidos mediante la técnica hisopos o laminocultivos de algunos autores en superficies de industrias diferentes a las lácteas.

Tabla 29. Resultados del control de superficies de diferentes autores.

Autor	Año	Establecimiento	Técnica empleada	Resultados aptos (%)	Criterios aceptabilidad
Kaskova, A	2006	Matadero	Hisopos	22	<1ufc/100cm^2
Moore, G	2002	Ind. cárnica	Laminoc/Luminis	94	<2,5ufc/100cm^2
Moore, G	2002	Panaderías	Laminoc/Luminis	78	<2,5ufc/100cm^2
Moore, G	2002	Platos prepara	Laminoc/Luminis	80	<2,5ufc/100cm^2
Aycicek, H	2006	Cocina	Luminis/Hisopos	87,5	<10 ufc/cm^2
Tebbutt, G	2007	Cocina	Luminis/Hisopos	*	*

* Cataloga los resultados ufc/cm^2 sin aplicar criterio.

Tomando como referencia la superficie muestreada en lugar de la quesería, podemos observar, en la Tabla 30, que la superficie menos contaminada fue la cuba de cuajado con un porcentaje de superficies limpias de 89,8%, seguida de la llenadora o batea con un 79,5%. Por otro lado, las superficies más sucias fueron las *mesas* (o cintas transportadoras) y los *moldes,* con un 55,2% y 51,3% de superficies sucias respectivamente; por lo tanto, estas superficies fueron catalogadas más veces sucias que limpias. Esta contaminación pudo deberse a varios factores relacionados con la aplicación de los detergentes y desinfectantes, que fueron diferentes según la quesería. Así se encontró que la Quesería A, tuvo el mayor recuento de *moldes* aptos (limpios), el 87%. Esta quesería utilizaba moldes microperforados que eran lavados con productos ácidos y desinfectados con ácido peracético en un tren de lavado para moldes; una vez utilizados, eran sumergidos en un baño de ácido peracético hasta su nuevo uso. Se consideró que éste fue el programa de LD de moldes más adecuado, frente al resto de queserías que emplearon un lavado manual de moldes y su posterior

inmersión en recipientes con hipoclorito sódico, cuya concentración de cloro libre iba disminuyendo en contacto con la materia orgánica de los moldes.
Los moldes tienen las superficies más porosas de todos los útiles que hay en las queserías, lo que facilita la incrustación de la materia orgánica y la formación de biolóminas microbianas (Verdés, 2004). La otra superficie más contaminada fue la mesa/cinta transportadora, cuya limpieza se realizó de forma manual frente al resto de superficies que se limpiaron mediante el CIP. Esta pudo ser una de las causas de la mayor contaminación de las superficies *molde* y *mesa* frente al resto de superficies.

Murphy *et al.* (1998), obtuvieron una media de 150 ufc/100 cm^2 en el tanque de leche fría y de 0,67 ufc/100 cm^2 en el tanque del pasteurizador, mediante hisopos y considerando como aptos los resultados <1ufc/cm^2. En el presente estudio el 51,9% de los controles realizados en el tanque dieron por debajo de 2 ufc/cm^2, lo que supone una media de 108 ufc/10cm^2; si extrapolamos este dato a una superficie de 100 cm^2 como en el estudio de Murphy *et al.* (1998), la media sería de 540 ufc/100 cm^2.

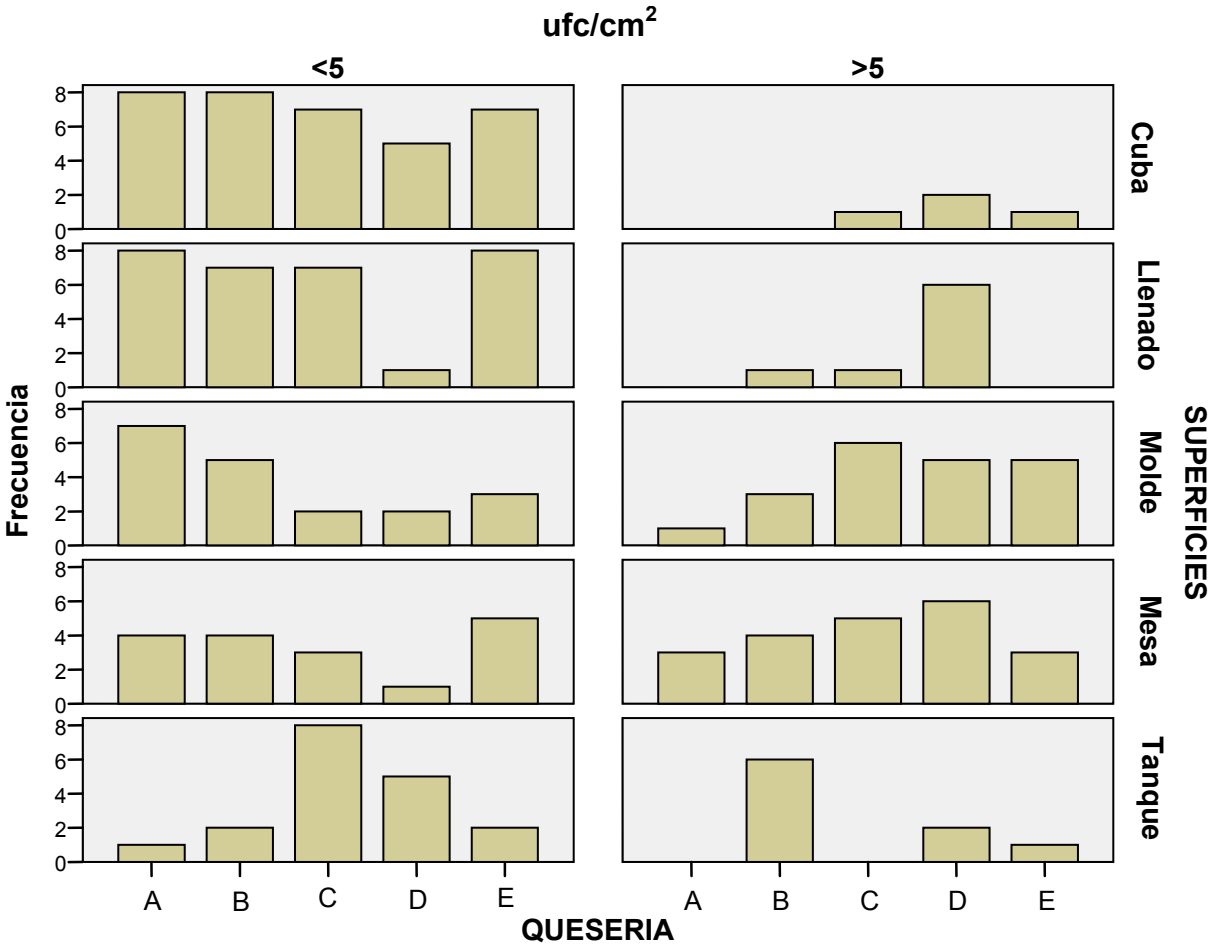
Tabla 30. Resultados del recuento de aerobios totales por superficies (ufc/cm^2) mediante laminocultivos.

	Aerobios Totales Laminocultivos n (%)			
Superficie (N)	≤2	>2-5	>5-10	>10
Cuba (39)	34 (87,2)	1 (2,6)	0	4 (10,3)
Llenado (39)	28 (71,8))	3 (7,7)	2 (5,1)	6 (15,4)
Molde (39)	16 (41,0)	3 (7,7)	1 (2,6)	19 (48,7)
Mesa (39)	14 (36,8)	3 (7,9)	4 (10,5)	17 (44,7)
Tanque (27)	14 (51,9)	4 (14,8)	0	9 (33,3)
Total (182)	**106 (58,2)**	**14 (7,7)**	**7,8 (3,8)**	**55 (30,2)**

En la Figura 25 se muestra la contaminación por aerobios totales, de cada una de las diferentes superficies de las cinco QI. En el bloque de la izquierda se muestran las superficies limpias (≤5 ufc/cm^2) y en de la derecha las superficies contaminadas (>5 ufc/cm^2). En el eje de ordenadas se encuentran marcadas las 8 repeticiones de los

controles realizados en cada una de las superficies y en el eje de abscisas se representan cada una de las cinco queserías de este estudio.

Figura 25. Número de superficies limpias y contaminadas mediante laminocultivos para aerobios totales.



En ella se observa el superior número de controles en los que las superficies *molde* y *mesa* aparecen con recuentos >5 ufc/cm^2 en todas las QI con respecto a las demás.

b) Enterobacterias:

En la Tabla 31 se muestra cómo la media de la contaminación por enterobacterias <1 ufc/cm^2 (considerado como apto), de todas las queserías fue de 83%, superando esta

media las queserías A y B con valores de 90,6% y 90% respectivamente y la C con 87,5%. El resto de las queserías tuvieron unos valores inferiores, siendo la más baja la quesería D con un 68,6%, y por tanto, la que presentó mayor contaminación.

Tabla 31. Resultados del recuento de enterobacterias (ufc/cm^2) por QI mediante laminocultivos

	Enterobacterias laminocultivos n (%)	
Quesería (N)	≤1	>1
A (32)	29 (90,6)	3 (9,4)
B (40)	36 (90)	4 (10)
C (40)	35 (87,5)	5 (12,5)
D (35)	24 (68,6)	11 (31,4)
E (35)	27 (77,1)	8 (22,9)
Total (182)	**151 (83,0)**	**31 (17)**

Tabla 32. Resultados del recuento de enterobacterias (ufc/cm^2) por superficies mediante laminocultivos

	Enterobacterias laminocultivos n (%)	
Superficie (N)	≤1	>1
Cuba (39)	35 (89,7)	4 (10,3)
Llenado (39)	35 (89,7)	4 (10,3)
Molde (39)	31 (79,5)	8 (20,5)
Mesa (38)	29 (76,3)	9 (23,7)
Tanque (27)	21 (77,8)	6 (22,2)
Total (182)	**151 (83,0)**	**31 (17)**

Salo *et al*. (2006), determinaron en industrias lácteas que el 90,9% de las superficies de los equipos en contacto con los alimentos estaban libres de enterobacterias considerando un criterio diez veces más estricto que en el presente estudio (<0,1 ufc/cm^2); este porcentaje disminuyó al 33,3% cuando valoraron las superficies sin contacto con los alimentos.

La Tabla 32 muestra la contaminación de enterobacterias por superficies muestreadas, donde las menos contaminadas (limpias) fueron la *cuba* y la *llenadora,* ambas con un 89,7 % de contaminación (<1), seguidas del *molde* con un 79,5%. Las superficies más contaminadas fueron el *tanque* y la *mesa* con un 77,8 y 76,3% respectivamente. Estas superficies coincidieron con los resultados encontrados sobre la contaminación por aerobios donde también la mesa fue una de las más contaminadas junto a los moldes, y las más limpia fueron la cuba y llenadora.

Esto hace pensar que la contaminación por aerobios totales va asociada a la contaminación por enterobacterias. Resultado similar obtuvieron Salo *et al.* (2006), donde las superficies aptas por enterobacterias en industrias lácteas también lo fueron para los aerobios totales y para hongos.

c) Hongos:

En el recuento por laminocultivos de hongos que se detalla en la Tabla 33, la quesería con menor porcentaje de crecimiento de hongos fue la B con un 87,5% de superficies por debajo del valor <0,5 ufc/cm^2 (considerado como apto), seguido de la C con 72,5%. La más contaminada fue la quesería D con un 62,8% de superficies limpias. El porcentaje medio de las cinco queserías con ausencia de contaminación fúngica fue de 73,6%. El estudio de Salo *et al*. (2006), determinó que las superficies con ausencia de contaminación fúngica fueron del 54,5% en las superficies de equipos en contacto con los alimentos; en los equipos sin contacto con los alimentos, del 25%; en los utensilios en contacto con los alimentos, del 50%; en los utensilios sin contacto con los alimentos, del 16%; ambiental, del 27,27%. Estos recuentos en las superficies en contacto con los alimentos fueron muy superiores a los obtenidos en el presente estudio, donde todas las superficies muestreadas estaban en contacto con la leche, queso o cuajada, teniendo en cuenta además que en este estudio se utilizó un criterio más estricto para considerar las superficies limpias ≤≤0,5 ufc/cm^2, frente al de Salo *et al.* (2006) que fue de <1 ufc/cm^2.

Sampayo *et al.* (2002), observaron que en la contaminación por hongos *Aspergillus* y *Penicillium* aislados de las superficies de los locales de las queserías, (cámaras de maduración de los quesos de Arzúa-Ulloa elaborados con leche de vaca cruda o pasteurizada), no habían diferencias significativas ($p<0,05$) entre las cepas contaminantes en los quesos y las aisladas del ambiente. Por lo tanto, la contaminación fúngica ambiental podía ser reflejo de la contaminación de los quesos debiéndose tener en cuenta la higiene de las instalaciones, porque los hongos son responsables de problemas comerciales (olores extraños, manchas, etc.) y pueden llevar asociado un riesgo sanitario debido a la producción de metabolitos fúngicos tóxicos de ciertas especies de hongos como son las micotoxinas (Pohland, 1994).

Tabla 33. Resultados del recuento de hongos (ufc/cm^2) por QI mediante laminocultivos

	Hongos laminocultivos n (%)	
Quesería (N)	≤0,5	>0,5
A (32)	23 (71,8)	9 (28,1)
B (40)	35 (87,5)	5 (12,5)
C (40)	29 (72,5)	10 (0,25)
D (35)	22 (62,8)	13 (37,1)
E (35)	25 (71,4)	10 (28,6)
Total (182)	**134 (73,6)**	**48 (26,3)**

Tabla 34. Resultados del recuento de hongos (ufc/cm^2) por superficie mediante laminocultivos

	Hongos laminocultivos n (%)	
Superficie (N)	≤0,5	>0,5
Cuba (39)	31 (79,5)	8 (20,5)
Llenado (39)	31 (79,5)	8 (20,5)
Molde (39)	34 (87,2)	5 (12,8)
Mesa (38)	22 (57,9)	16 (42,1)
Tanque (27)	16 (59,2)	11 (40,7)
Total (182)	**134 (73,6)**	**48 (26,3)**

La Tabla 34 muestra los resultados de los recuentos de hongos por superficies analizadas, donde se observa que las superficies menos contaminadas fueron los *moldes,* con el 87,2% de superficies ≤0,5 ufc/cm^2, seguido de la *cuba* y *llenado* ambas con 79,5%, siendo la superficie más contaminada la *mesa*.

d) Levaduras:

El porcentaje medio de superficies contaminadas por levaduras consideradas como aptas, ≤1ufc/cm^2, por quesería fue de 88,9%, como se muestra en la 35. La quesería con menor contaminación por levaduras fue la E (94,1%), seguida de la quesería B (92,5%), de la quesería A (90,6%) y de la C (87,5%). La más contaminada fue la quesería D (80%), con un porcentaje de superficies limpias muy inferior al resto de las queserías.

Por superficies muestreadas, como figura en la Tabla 36, *llenado* fue la que tuvo mayor recuento de superficies no contaminadas (97,4%), seguida de *tanque* (96,3%), *cuba* (94,8%), *molde* (86,8%) y *mesa* (73,6%).

Las áreas que no tuvieron crecimiento para enterobacterias tampoco estuvieron contaminadas con aerobios u hongos o levaduras.

Tabla 35. Resultados del recuento de levaduras (ufc/cm^2) por QI mediante laminocultivos.

	Levaduras laminocultivos n (%)	
Quesería (N)	≤1	>1
A (32)	29 (90,6)	3 (9,4)
B (40)	37 (92,5)	3 (7,5)
C (40)	35 (87,5)	5 (12,5)
D (35)	28 (80)	7 (20)
E (34)	32 (94,1)	2 (5,9)
Total (181)	**162 (88,9)**	**20 (11,06)**

Tabla 36. Resultados del recuento de levaduras (ufc/cm^2) por superficies mediante laminocultivos.

	Levaduras laminocultivos n (%)	
Superficie (N)	≤1	>1
Cuba (39)	37 (94,8)	2 (5,2)
Llenado (39)	38 (97,4)	1 (2,6)
Molde (38)	33 (86,8)	6 (13,2)
Mesa (38)	28 (73,6)	10(36,4)
Tanque (27)	26 (96,3)	1 (3,7)
Total (181)	**162 (88,9)**	**20 (11,06)**

Los resultados obtenidos por el método de laminocultivos para todos los microorganismos investigados, pusieron en evidencia que:

- Con respecto a la contaminación por queserías: la D fue la que presentó los niveles de recuentos no aptos más elevados, debido tal vez a que fue la única quesería en la que el sistema CIP de limpieza tenía graves deficiencias.
- Con respecto a las superficies: *mesa* apareció como una de las más contaminadas en todas las QI, probablemente como reflejo de la ineficacia del sitema de LD aplicado de forma manual frente a los programas automatizados del resto de las superficies (*cuba, llenado y tanque*).

III.2.1.1.2. Control de superficies mediante placas de contacto

Otra aplicación como método de control microbiológico de superficies se realizó mediante placas de superficies (RODAC) de unos 20 cm^2 de contacto. Para esta técnica se hicieron los mismos muestreos y categorías de resultados, que con los laminocultivos.

a) Aerobios Totales:

Considerando como resultado válido el recuento ≤5 ufc/cm^2, se obtuvo una media de superficies limpias del 54,4%, un 10% inferior a los resultados obtenidos mediante laminocultivos.

En la Tabla 37 se observa que las queserías con mayor número de superficies consideradas limpias fueron las queserías C y A con 67,5% y 62,5% respectivamente, y con peor resultado, la quesería D con 31,5%, diez puntos menos que el valor obtenido con laminocultivos.

Tabla 37. Resultados del recuento de aerobios totales (ufc/cm^2) por QI mediante placas de superficie.

	Aerobios Totales placas RODAC n(%)			
Quesería (N)	≤2	>2-5	>5-10	>10
A (32)	19 (59,4)	1 (3,1)	4 (12,5)	8 (25)
B (40)	15 (37,5)	6 (15)	5 (12,5)	14 (35)
C (40)	23 (57,5)	4 (10)	2 (5)	11 (27,5)
D (35)	8 (22,9)	3 (8,6)	5 (14,3)	19 (54,3)
E (35)	15 (42,9)	5 (14,3)	0	15 (42,9)
Total (182)	**80 (44)**	**19 (10,4)**	**16 (8,8)**	**37 (36,8)**

Utilizando la misma técnica de placas de contacto frente a los diferentes tipos de superficies, podemos ver en la Tabla 38 que la superficie con mayor número de resultados considerados como aptos (≤5 ufc/cm^2) fue la *llenadora de moldes* o *batea* seguido de la *cuba,* con 71,8% y 66,7%, respectivamente. Las superficies más contaminadas fueron los *moldes* y las *mesas* con 41,1% y 39,4 % de resultados aptos.

En la Figura 26 se muestra la contaminación por aerobios totales mediante placas de contacto, de cada una de las diferentes superficies de las cinco QI. En el bloque de la izquierda se muestran las superficies limpias (≤5 ufc/cm^2) y en el de la derecha las superficies contaminadas (>5 ufc/cm^2). En el eje de ordenadas se encuentran

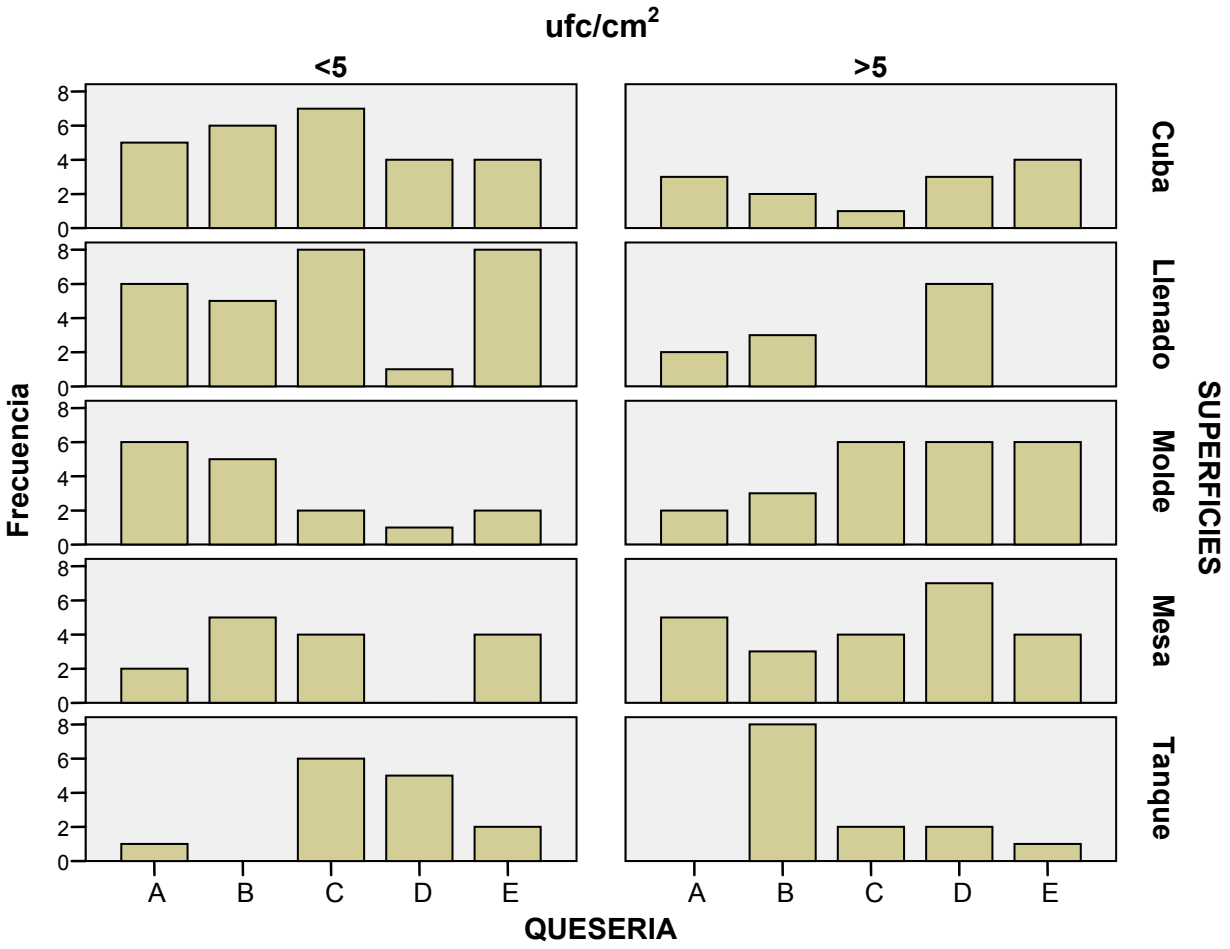
marcadas las 8 repeticiones de los controles realizados en cada una de las superficies y en el eje de abscisas se representan cada una de las cinco queserías de este estudio.

Al igual que ocurrió con el método de laminocultivos, destacan en las superficies *molde* y *mesa* de las cinco queserías, un elevado número de controles en los que los recuentos obtenidos las catalogan como no aptas.

Tabla 38. Resultados del recuento de aerobios totales (ufc/cm^2) por superficies mediante placas de superficie.

Superficie (N)	Aerobios Totales placas RODAC n (%)			
	≤2	>2-5	>5-10	>10
Cuba (39)	22 (56,4)	4 (10,3)	3 (7,7)	10 (25,5)
Llenado (39)	23 (59)	5 (12,8)	5 (12,8)	6 (15,4)
Molde (39)	12 (30,8)	4 (10,3)	4 (10,3)	19 (48,7)
Mesa (38)	11 (28,9)	4 (10,5)	2 (5,3)	21 (55,3)
Tanque (27)	12 (54,4)	2 (7,4)	2 (7,4)	11 (40,7)
Total (182)	**80 (44)**	**19 (10,4)**	**16 (8,8)**	**37 (36,8)**

Figura 26. Número de superficies limpias y contaminadas mediante placas de contacto para aerobios totales.



b) Enterobacterias:

Los resultados obtenidos mediante el método de placas de superficie para enterobacterias y referidos a las queserías muestreadas se presentan en la Tabla 39. En dicha tabla puede verse cómo la media total de la contaminación ≤1 ufc/cm^2 para enterobacterias fue de 65,4%, no alcanzando esta media las queserías E, C y D con valores de 62,9%, 62,5% y 57,1% de superficies limpias. Las queserías B y A tuvieron unos recuentos de 72,9% y 71,9%, lejos de los valores obtenidos con los laminocultivos 90% y 90,6% respectivamente. La media de resultados aptos fue de

65,4% frente a 83% del método anterior, lo que parece hacer más permisivo a los laminocultivos frente a la contaminación.

Tabla 39. Resultados del recuento de enterobacterias (ufc/cm^2) por QI mediante placas de superficie.

	Enterobacterias placas RODAC n (%)	
Quesería (N)	≤1	>1
A (32)	23 (71,9)	9 (28,1)
B (40)	29 (72,9)	11 (27,5)
C (40)	25 (62,5)	15 (37,5)
D (35)	20 (57,1)	15 (42,9)
E (35)	22 (62,9)	13 (37,1)
Total (182)	**119 (65,4)**	**63 (34,6)**

Tabla 40. Resultados del recuento de enterobacterias (ufc/cm^2) por superficie mediante placas de superficie.

	Enterobacterias placas RODAC n (%)	
Superficie (N)	≤1	>1
Cuba (39)	30 (76,9)	9 (23,1)
Llenado (39)	28 (71,8)	11 (28,2)
Molde (39)	20 (51,3)	19 (48,7)
Mesa (38)	20 (52,6)	18 (47,4)
Tanque (27)	21 (77,8)	6 (22,2)
Total (182)	**119 (65,4)**	**63 (34,6)**

La contaminación de enterobacterias por superficies se presenta en la Tabla 40, donde se observa que las que tuvieron mejores resultados aptos fueron *tanque* (77,8%), *cuba* (76,9%) y *llenado* (71,8%). Las superficies más contaminadas fueron *mesa* y *moldes* con 52,6% y 51,3% respectivamente. Los laminocultivos detectaron unas tasas de contaminación un 17% inferior que en las placas de contacto.

Las dos superficies más contaminadas, *molde* y *mesa* también lo fueron para aerobios totales mediante placas de superficies, por lo que podría haber relación entre estos dos tipos de recuentos microbiológicos, al igual que ocurrió con los laminocultivos.

c) Hongos:

La Tabla 41 muestra la media total de la contaminación por hongos ≤0,5 ufc/cm^2 de las queserías, la cual fue de 77,8%, superando esta media las queserías B y D con valores de 87,5% y 79,4% con una menor contaminación. El resto de las queserías mostraron unos valores inferiores, la quesería A 71,9% y la quesería E un 70%.

Esta distribución de la contaminación por hongos difiere en cuanto a la obtenida por los laminocultivos, aunque las medias de ambos métodos fueron muy parecidas, (4,2 puntos superior la de las placas de superficies).

Por superficies muestreadas, la Tabla 42 muestra que la *cuba* fue la que tuvo mayor recuento de superficies no contaminadas (92,1%), seguida de *llenado* (89,5%), *mesa* (73%), *tanque* (65,4%) y *molde* (64,9%). No se observa correspondencia respecto a este orden de contaminación con el método de los laminocultivos.

Tabla 41. Resultados del recuento de hongos (ufc/cm^2) por QI mediante placas de superficie

	Hongos placas RODAC n (%)	
Quesería (N)	≤0,5	>0,5
A (32)	23 (71,9)	9 (28,1)
B (40)	35 (87.5)	5 (12,5)
C (40)	31 (77,5)	9 (22,5)
D (34)	27 (79,4)	7 (20,6)
E (30)	21 (70)	9 (30)
Total (176)	**137 (77,8)**	**39 (22,2)**

Tabla 42. Resultados del recuento de hongos (ufc/cm^2) por superficies mediante placas de superficie

	Hongos placas RODAC n (%)	
Superficie (N)	≤0,5	>0,5
Cuba (38)	35 (92,1)	3 (7,9)
Llenado (38)	34 (89,5)	4 (10,5)
Molde (37)	24 (64,9)	13 (35,1)
Mesa (37)	27 (73)	10 (27)
Tanque (26)	17 (65,4)	9 (34,6)
Total (176)	**137 (77,8)**	**39 (22,2)**

Hay que tener en cuenta que dadas las condiciones ambientales de las queserías (temperatura, humedad, etc.) y que los hongos forman parte de la microbiota de maduración de los quesos, la presencia de estos en determinadas zonas de las queserías se considera normal. No así, la contaminación de las superficies cerradas de las zonas previas al cuajado de la leche y de las cubas de cuajado, donde la presencia de hongos indicaría algún fallo en la LD del sistema CIP y la posible contaminación fúngica interna del queso.

d) Levaduras:

Para el recuento de levaduras mediante placas de superficie, se utilizó el mismo criterio que para los laminocultivos. La contaminación media de las queserías fue de

77,8%, frente a 79,6% obtenida por os laminocultivos. Los resultados del recuento por queserías se muestran en la Tabla 43, donde las que mostraron menor contaminación por levaduras fueron la A y la B (87,5%), seguida de la quesería C (82,5%) y de las queserías D y E, ambas con (80%).

Por superficies muestreadas, como se observa en la Tabla 44, la *cuba* fue la que tuvo mayor recuento de superficies no contaminadas (92,1%) seguida por *llenado* (89,5%), *tanque* (88,5%), *molde* (81,6%) y *mesa* (67,6%). Este orden por nivel de contaminación de superficies es muy similar a la contaminación observada mediante laminocultivos. El valor medio observado de las superficies limpias fue un 11,1% superior en los laminocultivos que en las placas de superficies.

Tabla 43. Resultados del recuento de levaduras (ufc/cm^2) por QI mediante placas de superficie

	Levaduras placas RODAC n (%)	
Quesería (N)	≤1	>1
A (32)	28 (87,5)	4 (12,5)
B (40)	35 (87.5)	5 (12,5)
C (40)	33 (82,5)	7 (17,5)
D (35)	28 (80)	7 (20)
E (30)	24 (80)	6 (20)
Total (177)	**137 (77,8)**	**39 (22,2)**

Tabla 44. Resultados del recuento de levaduras (ufc/cm^2) por superficies mediante placas de superficie

	Levaduras placas RODAC n (%)	
Superficie (N)	≤1	>1
Cuba (38)	35 (92,1)	3 (7,9)
Llenado (38)	34 (89,5)	4 (10,5)
Molde (38)	31 (81,6)	7 (18,4)
Mesa (37)	25 (67,6)	12 (32,4)
Tanque (26)	23 (88,5)	3 (11,5)
Total (176)	**137 (77,8)**	**39 (22,2)**

Los resultados obtenidos por el método de placas de contacto para todos los microorganismos investigados, pusieron en evidencia que:

- Con respecto a la contaminación por queserías: la D fue la que presentó los niveles de recuentos no aptos más elevados (excepto para hongos), debido tal vez a que fue la única quesería en la que el sistema CIP de limpieza tenía graves deficiencias.
- Con respecto a las superficies: *mesa* y *moldes* aparecieron como las más contaminadas en todas las QI, probablemente como reflejo de la ineficacia del sistema de LD aplicado de forma manual frente a los programas automatizados del resto de las superficies (*cuba, llenado y tanque*).

III.2.1.1.3. Control de superficies mediante bioluminiscencia

El tercer método empleado para el control microbiológico de superficies fue la bioluminiscencia. Mediante hisopos Clean Trace se muestrearon las mismas superficies que en los dos métodos anteriores, además de otra superficie a la que sólo se podía acceder mediante hisopos, que fue el interior de la tubería de entrada de la leche al depósito del *pasteurizador* BDT.

Otros resultados en diferentes industrias alimentarias fueron aportados por Moore y Griffith (2002), donde obtuvieron unos porcentajes de superficies aptas para industrias cárnicas de 75%, en panaderías de 67% y en platos preparados congelados de 20%. Estos resultados fueron sensiblemente inferiores a los obtenidos en el mismo estudio mediante la técnica de laminocultivos. La técnica de bioluminiscencia se vio más influida que los métodos microbiológicos, por el resto de factores ambientales que pueden contribuir sobre los resultados de URL.

Como muestra la Tabla 45, en los resultados (expresados en URL por superficie total de 20 cm^2) del recuento por queserías, la quesería B fue la que obtuvo mayor número de muestras aptas, (65%), seguida de la quesería C con 52,5%. Por otro lado, la quesería A obtuvo el mayor número de muestras no aptas (71,9%), seguida de la quesería D, (62,9%). Estos resultados no coinciden con los métodos anteriores, lo que sugiere que la presencia casual de restos orgánicos o de productos para la limpieza y desinfección presentes en las superficies en el momento del muestreo, pudieron incrementar el recuento mediante la bioluminiscencia.

Tabla 45. Resultados del recuento de aerobios totales por QI mediante bioluminiscencia

	Bioluminiscencia n (%)	
Quesería (N)	≤100	>100
A (32)	9 (28,1)	23 (71,9)
B (40)	26 (65)	14 (35)
C (40)	21 (52,5)	19 (47,5)
D (35)	13 (37,1)	22 (62,9)
E (35)	18 (51,4)	17 (48,6)
Total (182)	**85 (46,7)**	**97 (53,3)**

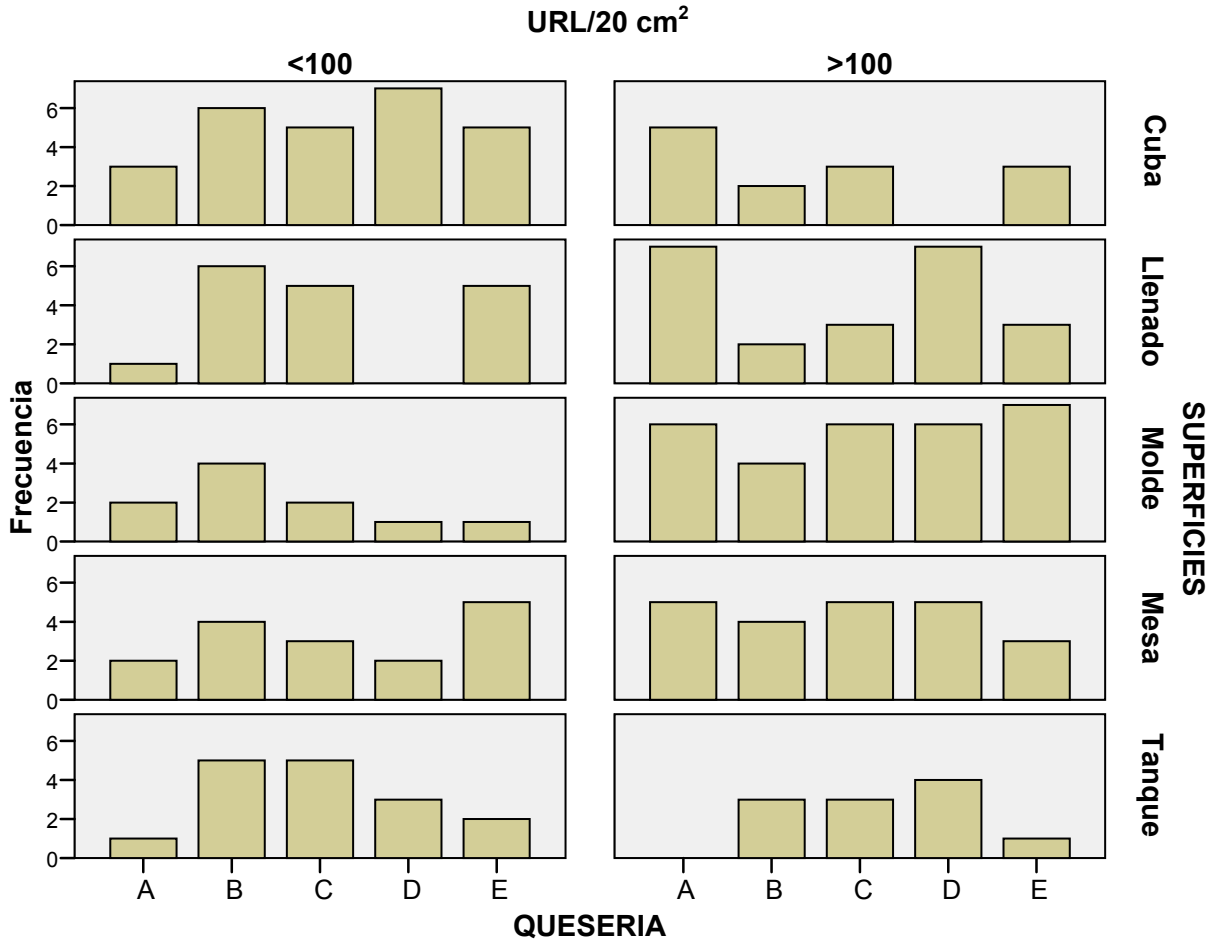
Tabla 46. Resultados del recuento de aerobios totales por superficies mediante bioluminiscencia

	Bioluminiscencia n (%)	
Superficie (N)	≤100	>100
Cuba (39)	26 (66,66)	13 (33,3)
Llenado (39)	17 (43,5)	22 (56,4)
Molde (39)	10 (25,6)	29 (74,3)
Mesa (38)	16 (42,1)	22 (57,9)
Tanque (27)	16 (59,25)	11 (40,7)
Total (182)	**85 (46,7)**	**97 (53,3)**

Los resultados por superficie muestreada mediante bioluminiscencia se observan en la Tabla 46 donde se catalogaron como las superficies más sucias, *molde* 74,3% y *mesa* 57,3%, al igual que con las dos técnicas anteriores, las más limpias fueron *cuba* y *tanque*, con el 33,3% y 40,7% respectivamente de superficies contaminadas (>100 URL/20 cm^2). La excepción fue la *llenadora*, con 56,4% de superficies contaminadas frente a las 18,2% detectadas mediante laminocultivos y 28,2% mediante placas de superficies.

En la Figura 27 se representa la contaminación por bioluminiscencia, de cada una de las diferentes superficies muestreadas en las cinco QI. En el bloque de la izquierda se muestran las superficies limpias (URL <100), y en el bloque de la derecha las superficies contaminadas (URL >100). En el eje de ordenadas se encuentran marcados los 8 controles de tomas de muestras realizados en cada una de las superficies y en el eje de abscisas se representan cada una de las cinco queserías de este estudio.

Figura 27. Número de superficies limpias y contaminadas mediante bioluminiscencia para aerobios totales.



En general, para la mayoría de las queserías se observan mayores recuentos de contaminación (bloque de la derecha) para las superficies de molde, mesa y llenado.

Los recuentos para el pasteurizador, como muestra la Tabla 47, detectaron una media de 48,8% de superficies no aptas, siendo las más contaminadas la quesería A con 87,5% y la C con 62,5% de superficies no aptas, frente a las queserías B y D con el 12,5% y 33,3% de superficies contaminadas. La importancia de los controles en esta superficie radica en que altos recuentos microbiológicos en los conductos del pasteurizador pueden contribuir a una recontaminación cruzada del producto ya tratado térmicamente. Por otro lado, esta técnica no diferencia altos contenidos microbiológicos o restos orgánicos, por lo que estos elevados valores podrían ser

debidos al incremento de cualquiera de los dos. Esto supone una desventaja frente a las dos técnicas anteriores que únicamente miden la contaminación microbiana.

Tabla 47. Recuento (URL/20cm^2) del pasteurizador por Quesería Industrial.

	Bioluminiscencia	
	n (%)	
Quesería (N)	≤100	>100
A (8)	1 (12,5)	7 (87,5)
B (8)	7 (87,5)	7 (12,5)
C (8)	3 (37,5)	7 (62,5)
D (7)	5 (66,6)	2 (33,3)
E (8)	4 (50)	4 (50)
Total (39)	**20 (51,2)**	**19 (48,8)**

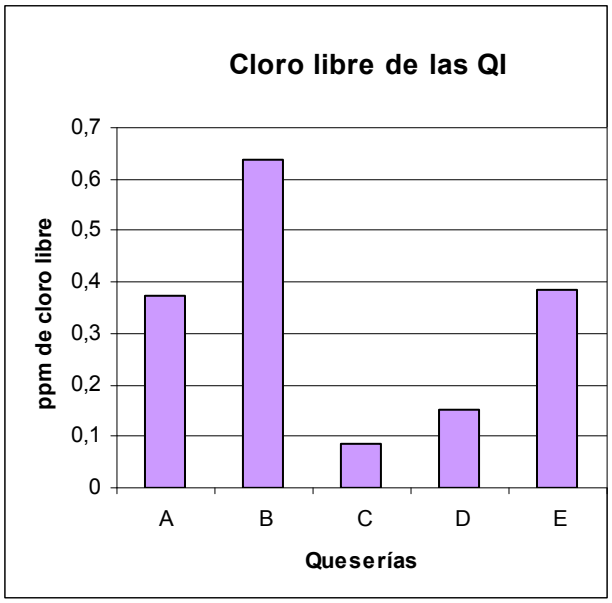
Para Costa *et al.* (2006) los recuentos en una central láctea de superficies consideradas como no aptas (>150 URL/100 cm^2) fueron del 100%; la posible causa de estos malos resultados podría ser la presencia de residuos orgánicos sobre las superficies, ya que los recuentos de URL antes de la limpieza fueron de 9.772 y tras la limpieza fueron de 6.760, (una escasa reducción del recuento de URL). Murphy *et al.* (1998) detectaron mediante luminiscencia que el 31% de las superficies de la central láctea muestreada tenía un valor <100 URL/100 cm^2 y Páez *et al.* (2003), en un estudio realizado en una sala de ordeño encontraron que el 59,9% de las muestras obtenidas del equipo de ordeño, el 66% del tanque de refrigeración y el 48,4% de la cisterna de transporte de leche fueron resultados aptos (<316 URL/ cm^2). Además compararon estos resultados con muestras del agua de enjuagado de estos mismos equipos, obteniendo un 100% de muestras aptas mediante bioluminiscencia, por lo que esta técnica no pareció demasiado fiable para la determinación de la carga microbiana de las superficies. Para Moore y Griffith (2002), el recuento de superficies aptas en una quesería fue del 70%, considerando como aptos, valores <500 URL/100 cm^2.

En general, los resultados obtenidos mediante bioluminiscencia considerados por esta técnica como aptos, suelen ser menores que por las técnicas microbiológicas tradicionales. En este estudio el 46,7% de las superficies muestreadas fueron consideradas como aptas (Tablas 43 y 44), media algo menor que la obtenida mediante placas de superficies para aerobios totales (54,4%) y muy inferior a la de aerobios totales mediante laminocultivos (65,9%), pero siempre se observaron menores recuentos de superficies aptas, porque los restos orgánicos aumentaban la bioluminiscencia (URL).

III.2.1.2. Control del cloro libre en el agua de abasto

Los resultados de la medición del cloro libre mediante fotómetro de las 5 QI se muestran en la Figura 28. Dos de las cinco queserías (C y D) tuvieron un valor inferior a 0,2, valor límite considerado para garantizar una mínima desinfección del agua. La quesería B alcanzó el valor medio de 0,63, el más alto de las cinco queserías. El valor medio de todas las queserías fue de 0,33 ppm de cloro libre.

Figura 28. Valores medios del cloro libre residual en el agua.



III.2.2. Resultados del análisis estadístico en las Queserías Industriales

III.2.2.1. Estudio comparado entre las diferentes técnicas de control de superficies

Se determinó la asociación a través del K-estadístico entre los diferentes métodos de análisis microbiológico de superficies empleados en este estudio (laminocultivos, placas de superficie, y bioluminiscencia) para el recuento de aerobios totales, y se estudió también esta asociación para el recuento de enterobacterias, hongos y levaduras, entre los dos métodos tradicionales de control de supeficies. Además, se estimaron las tasas ajustadas de contaminación resumidas por queserías y por superficies para los tres métodos de análisis aplicados.

a) *Aerobios totales*

La Figura 29 muestra la evolución de porcentajes de contaminación no aptos en aerobios totales, a lo largo de los 8 periodos de observación. En la Figura 29.a se muestran simultáneamente los porcentajes de observaciones no aptos (ufc/cm^2 >5) según los métodos de laminocultivo (———) y placas RODAC (- - - -) mientras que la Figura 29.b corresponde a los niveles de contaminación obtenidos por bioluminiscencia (———) con (>100 URL/20 cm^2). En ninguno de los dos casos se obtuvo evolución significativa de los niveles de contaminación por lo que las fases se consideraron réplicas independientes de las observaciones.

La Tabla 48 muestra las coherencias entre los métodos de laminocultivos y placas RODAC para la categorización apto (ufc/cm^2 ≤ 5) y no apto (ufc/cm^2 > 5). El valor del estadístico kappa obtenido fue de K = 0,565 ± 0,062 lo que supone una concordancia moderada.

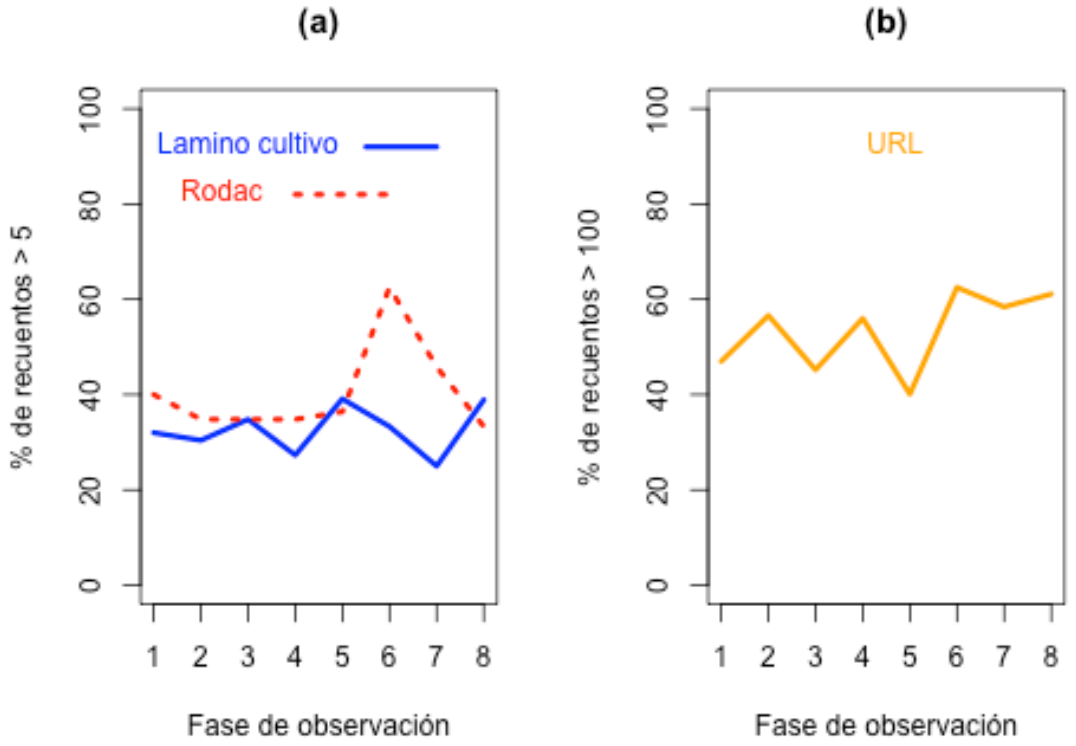


Figura 29. Evolución de los porcentajes de contaminación en aerobios totales; (a) contaminación no apta (ufc/cm^2 >5) para laminocultivos (————) y placas RODAC (- - -); (b) contaminación no apta (URL>100) (————).

Tabla 48. Recuento microbiológico (ufc/cm^2) de placas RODAC frente a laminocultivos.

		RODAC n (%)		
		0-5	>5	Total
Laminocultivos n(%)	0-5	97 (53,3)	26 (14,3)	123 (67,6)
	>5	11 (6,0)	48 (26,4)	59 (32,4)
	Total	**108 (59,3)**	**74 (40,7)**	**182 (100)**

Resultados similares mediante el análisis ANOVA obtuvo el estudio de Salo *et al.* (2000), no encontrando diferencias notables entre los laminocultivos Hygicult TPC, placas de contacto para aerobios e hisopos, aunque podría afirmarse que las placas de contacto tuvieron unos valores más bajos de repetibilidad y reproductibilidad. Donde concluyen que ambos métodos (laminocultivos y placas de contacto) no difieren en la práctica en el rendimiento y en la precisión, si bien el fabricante de los

laminocultivos Orion Diagnostica no recomienda que los resultados obtenidos por diferentes métodos se comparen entre sí. Sólo se deben hacer comparaciones válidas entre resultados obtenidos con la misma técnica en el mismo tipo de producto.
También mostraron que la temperatura y el tiempo de incubación no tuvieron significación estadística sobre los rendimientos de recuperación de bacterias pulverizadas sobre una placa de acero inoxidable. Para este estudio se pulverizó una concentración conocida de bacterias sobre una superficie y posteriormente se realizó el recuento mediante tres técnicas hisopos, laminocultivos y placas de superficies para el recuento de microorganismos aerobios. La recuperación de bacterias de forma experimental fue aproximadamente del 20% sobre el rendimiento teórico, siendo mayor, cuando la superficie contaminada tenía menor número de bacterias que otras con mayor número, por tanto, estas técnicas de control de superficies aportan una información limitada sobre su higiene (Salo, *et al*., 2000) demostrando que sólo son capaces de arrancar una pequeña parte del biofilm y de las células atrapadas en él (ISO 5725-6, 1994) (Anónimo, 1994 a).

El rendimiento de recuperación de bacterias depende de varios factores como son: el material de la superficie, la rugosidad, consistencia de los restos sólidos bacterianos, número y edad de las bacterias, etc. (Wirtamen, 1995, Bower *et al*., 1996).

Se exploró otra coherencia mediante la categorización de los criterios de contaminación que se muestra en la Tabla 49.

Tabla 49. Recuento microbiológico (ufc/cm^2) de aerobios totales en placas RODAC frente a laminocultivos categorizado en 4 grupos.

		RODAC n(%)				
		<2	2-5	5-10	>10	Total
Laminocultivos	<2	82 (45,1)	13 (7,1)	6 (3,3)	15 (8,2)	116 (63,7)
	2-5	1 (0,5)	1 (0,5)	0 (0)	5 (2,7)	7 (3,8)
	5-10	7 (3,8)	0 (0)	3 (1,6)	3 (1,6)	13 (7,1)
	>10	2 (1,1)	2 (1,1)	6 (3,3)	36 (19,8)	46 (25,3)
	Total	**92 (50,5)**	**16 (8,8)**	**15 (8,2)**	**59 (32,4)**	**182 (100)**

Para este caso, el estadístico kappa tomó un valor más reducido (K = 0,438 ± 0,051) lo que sigue indicando también una moderada coherencia entre ambas formas de medida.

La Tabla 50 muestra la distribución de unidades no aptas por queserías estudiadas y determinadas por ambos métodos de recuento. Para el método de placas RODAC, el test estadístico de razón de verosimilitudes fue de 9,621 (p = 0,047). Los datos sugieren que esta significación es atribuible a una tasa de unidades no aptas superior en la quesería D (62,9). Por tal motivo, se analizó la distribución de unidades no aptas excluyendo la quesería D, siendo ahora el test estadístico de razón de verosimilitudes de 0,905 (p = 0,824) no existiendo, por tanto, diferencia entre las cuatro queserías. Estos resultados se presentan en la Tabla 51. Obviamente, el agregado de las queserías de A, B, C y E mostró una menor tasa de unidades no aptas, de 35,4% frente a la tasa de 62,9% en D, correspondiendo a esta comparación un test estadístico de razón de verosimilitudes de 8,715 (p = 0,003), lo que indica una evidencia de mayores tasas de contaminación en la quesería D que en el resto.

Igualmente, mediante el método de laminocultivos, se detectó que la tasa de contaminación en la quesería D fue la mayor (57,1), mostrando el análisis de esta quesería frente al resto, un valor en el test de razón de verosimilitudes de 11,419 (p = 0,001). Por tanto, se concluye que hay coherencia entre estos dos métodos de análisis de superficies.

Tabla 50. Porcentaje de contaminación no apta por quesería.

Quesería	Número de unidades procesadas	Número (%) de unidades no aptas (ufc/cm^2 > 5)	
		RODAC (*)	Laminocultivo (**)
A	32	12 (37.5)	4 (12.5)
B	40	14 (35.0)	14 (35.0)
C	40	12 (30.0)	13 (32.5)
E	35	14 (40.0)	8 (22.9)
D	35	22 (62.9)	20 (57.1)

(*) 0.01 < P < 0.05 ; (**) P < 0.01

Tabla 51. Análisis de la significación entre queserías (métodos placas RODAC y laminocultivos).

Comparaciones	Método			
	RODAC		Laminocultivos	
	Test de razón de verosimilitudes	P	Test de razón de verosimilitudes	P
Todas las queserías	9.621	0.047	17.524	0.002
Excluyendo D	0.905	0.824	6.105	0.107
D frente al resto	8.715	0.003	11.419	0.001

Se muestra en la Tabla 52, la distribución de las tasas de contaminación consideradas como no aptas, por lugar de procesado o superficie.

Tabla 52. Porcentaje de contaminación no apta por lugar de procesado.

Lugar	Número de unidades procesadas	Número (%) de unidades no aptas (ufc/cm^2 > 5)	
		RODAC (**)	Laminocultivo (**)
Cuba	39	8 (20.5)	4 (10.3)
Llenado	39	10 (25.6)	8 (20.5)
Molde	39	23 (59.0)	18 (46.2)
Mesa	37	22 (59.5)	20 (54.1)
Tanque	28	11 (39.3)	9 (32.1)

(*) 0.01 < P < 0.05 ; (**) P < 0.01

Los datos de la Tabla anterior sugieren una reagrupación de categorías en la forma dada en la Tabla 53.

Tabla 53. Porcentaje de contaminación no apta por lugar de procesado agrupados.

Lugar	Número de unidades procesadas	Número (%) de unidades no aptas (ufc/cm^2 > 5)	
		RODAC (***)	Laminocultivo(***)
Cuba-llenado	78	18 (23.1)	12 (15.4)
Tanque	28	11 (39.3)	9 (32.1)
Molde-mesa	76	45 (52.9)	38 (50.0)

(***) P < 0.001 (asociación lineal)

El contraste consignado en la Tabla 53 fue el de asociación lineal, indicando la significación que la menor tasa de unidades no aptas corresponde a la categoría combinada *cuba-llenado* y la mayor a *molde-mesa*, siendo *tanque* una categoría intermedia. Los grados de asociación lineal se resumen en la Tabla 54 a través de odd-ratios (OR: cociente entre la probabilidad de que un evento suceda y la probabilidad de que no suceda; es una medida de tamaño de efecto), tomando como categoría de referencia la combinada *cuba-llenado*. Para ambos métodos de medición, la tasa de unidades no aptas en *tanque* no resultó ser significativamente superior a la obtenida para la categoría combinada *cuba-llenado*, pero la correspondiente a molde-*mesa* fue significativamente superior a la de referencia con una odd-ratio de 5,288 (IC 95% = 2,558;10,934) para el método placas RODAC y de 6,332 (IC 95% = 2,820;14,216) para el de laminocultivo.

Tabla 54. OR de contaminación no apta por lugar de procesado.

Lugar	OR (IC 95%) (*)	
	RODAC	Laminocultivo
Cuba-llenado	1	1
Tanque	1.054 (0.789 ; 5.350)	2.499 (0.872 ; 7.166)
Molde-mesa	5.288 (2.558 ; 10.934)	6.332 (2.820 ; 14.217)

(*) Obtenidas por el método de regresión logística con ajuste por quesería.

En la Tabla 55 se resume el análisis de contaminación evaluado por el método de bioluminiscencia para las cinco queserías, expresando los resultados en tres categorías según los recuentos de las URL/20cm^2. Se obtuvo un p valor de 0,026 lo que indica que se detectaron diferencias entre las distribuciones de las tasas de contaminación.

Tabla 55. Resumen del recuento URL por quesería con tres categorías.

Quesería	Unidades procesadas	Recuento URL 0-100	100-150	>150	P
A	32	9 (28,1)	1 (3,2)	22 (68,7)	
B	40	26 (65,0)	4 (10,0)	10 (25,0)	
C	40	21 (52,5)	4 (10,0)	15 (37,5)	0,026
D	35	13 (37,1)	1 (2,8)	21 (60,0)	
E	35	18 (51,4)	1 (2,8)	16 (45,7)	

Los datos de los recuentos de la Tabla anterior aconsejaron redefinir la variable en dos categorías, apto ≤100 URL/20 cm^2 y no apto >100 URL/20 cm^2, eliminando la categoría de *precaución* o *limpieza insuficiente* comprendida entre 100-150 URL/20 cm^2 como muestra la Tabla 56.

Tabla 56. Resumen del recuento URL por quesería con dos categorías.

Quesería	Unidades procesadas	Recuento URL/20 cm^2 0-100	>100	P
A	32	9 (28,1)	23 (71,9)	
B	40	26 (65,0)	14 (35,0)	
C	40	21 (52,5)	19 (47.5)	0.026
D	35	13 (37,1)	22 (62,9)	
E	35	18 (51,4)	17 (48,6)	

Las distribuciones de las tasas de contaminación siguen mostrando a lo largo de las 5 queserías, diferencias estadísticamente significativas (p = 0,026). A través de la descomposición del test de razón de verosimilitudes (Tabla 57), se observa que entre las queserías B, C y E, las referidas tasas no muestran diferencias significativas (p = 0,319), pero el agregado de estas tres industrias muestra diferencias significativas frente al agregado A-D (p = 0,006).

Tabla 57. Análisis de la significación entre queserías (método bioluminiscencia).

Comparación	Bioluminiscencia	
	Test de razón de verosimilitudes	P
Todas las queserías	11,022	0,026
Excluyendo A y D	3,513	0,319
A y D frente al resto	7,509	0,006

La Tabla 58 muestra la distribución de las tasas de contaminación no aptas por lugar de procesado o superficie mediante bioluminiscencia.

Tabla 58. Recuentos URL > 100.

Lugar	Número de unidades procesadas	URL > 100	P
Cuba	39	13 (33,3)	
Llenado	39	22 (56,4)	
Molde	39	29 (74,3)	0.050
Mesa	37	22 (59,4)	
Tanque	28	11 (39,2)	

(*) 0.01 < P < 0.05; (**) P < 0.01

De la misma forma que se realizó para los métodos de placas RODAC y laminocultivos, las categorías anteriores las simplificamos en *cuba-llenado*, *tanque* y *molde-mesa*. La distribución de tasas de unidades con URL > 100 queda resumida en la Tabla 59, en la cual se incluye el análisis logístico multidimensional.

Las tasas de contaminación no aptas mostraron diferencias significativas entre *cuba-llenado, tanque* y *mode-mesa* (p = 0,025). Las odd-ratios ajustadas por quesería muestran que entre *cuba-llenado* y *tanque* las tasas son similares, pero entre *cuba-llenado* y *mode-mesa*, la tasa fue significativamente superior en esta última (OR = 3,144 : IC 95% = 1,563 ; 10,396).

Tabla 59. Resumen de las tasas de alta contaminación por lugar de procesado.

Lugar	Número de unidades procesadas	URL > 100	P (*)	OR (IC 95%) (**)
Cuba-llenado	78	25 (32,1)		1
Tanque	28	11(39,2)	0.025	1.287 (0.289 ; 5.736)
Molde-mesa	75	51 (68,0)		3.144 (1.563 ; 10.396)

(*) Test de asociación lineal ; (**) Obtenidas por el método de regresión logística con ajustes por quesería

Al igual que se analizó la concordancia entre los métodos de laminocultivos y placas RODAC para el recuento de aerobios totales, utilizando el estadístico kappa (K), se determinó la concordancia por superficie analizada con los diferentes métodos de control entre placas RODAC y bioluminiscencia y laminocultivos y bioluminiscencia. Estos resultados se recogen en las Tablas 60 y 61. En ambos casos Kappa (SE) tomó unos valores de 0,235 (0,071) para RODAC-URL y 0,193 (0,067) para laminocultivos-URL, por lo que no hubo concordancia, de acuerdo con Landis y Koch (1977).

Tabla 60. Concordancia entre laminocultivos y bioluminiscencia (URL/20cm^2) para recuento de aerobios totales.

Aerobios totales		URL (20cm^2)		Kappa (SE)
Laminocultivos	Aceptabilidad	Si	No	0,193 (0,067)
	Si	65	55	
	No	20	42	

Tabla 61. Concordancia entre placas RODAC y bioluminiscencia (URL/20cm^2) para recuento de aerobios totales.

Aerobios totales		URL (20cm^2)		Kappa (SE)
Placas RODAC	Aceptabilidad	Si	No	0,235 (0,071)
	Si	57	42	
	No	28	55	

Se calculó también, la coherencia entre los diferentes métodos empleados para el recuento de aerobios totales en las distintas superficies muestreadas, obteniendo una

concordancia moderada entre laminocultivos y placas RODAC en *molde-mesa* y *cuba-llenado*, con unos valores kappa de 0,500 y 0,428, respectivamente. Para la superficie *tanque* se obtuvieron unos valores K = 0,691, lo que significó una concordancia buena, según Landis y Koch (1977). Para el resto de combinaciones de técnicas para comparación, laminocultivos-URL y RODAC-URL, K tomó unos valores inferiores a 0,213 en todas las superficies analizadas, por lo que no hubo concordancia entre los métodos para cada una de las superficies analizadas, como muestra la Tabla 62.

Con estos resultados de K por superficies, se confirmaron los resultados anteriores entre los tres métodos de muestreo laminocultivos-RODAC-bioluminiscencia, que indicaron que sólo hubo coherencia entre laminocultivos-RODAC.

Tabla 62. Valores Kappa (SD) de asociación entre las diferentes técnicas de medición por superficie muestreada.

	Lugar de muestreo		
Técnica de recuento	Molde-Mesa	Tanque	Cuba-Llenado
Laminocultivos-RODAC	**0,500 (0,098)**	**0,691 (0,141)**	**0,428 (0,125)**
Laminocultivos-URL	0,169 (0,112)	0,08 (0,193)	0,213 (0,100)
RODAC-URL	0,191 (0,106)	0,105 (0,186)	0,144 (0,89)

Similares resultados obtuvieron Moore y Griffith (2002), en las superficies analizadas, donde encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos usando las técnicas de laminocultivos, detección de proteínas y bioluminiscencia (χ^2= 16,32; p<0,05). Igualmente, Costa *et al.* (2006), no encontraron acuerdo entre los resultados obtenidos mediante bioluminiscencia e hisopos. Murphy *et al*. (1998), determinaron que hubo una coincidencia de resultados del 74% entre ambas técnicas de medición, apuntando que las diferencias (26%) pudieron ser debidas a que la bioluminiscencia detectó ATP de origen no microbiano y que las muestras se tomaron de áreas adyacentes pero no de las mismas áreas. Resultados similares encontraron otros autores como, Bautista *et al*. (1993), Ogden (1993) y Seeger *et al.* (1994).

Reineman y Ruegg (2000), obtuvieron un coeficiente de correlación (R^2) de 0,73, entre los resultados del control de superficies mediante hisopos y luminiscencia, para un estudio de laboratorio sobre contaminación en útiles de una industria láctea. Esta correlación fue más alta que la citada por Poulis *et al.* (1993), que obtuvieron unos valores de R^2 <0,40 con la misma metodología del anterior autor. Esta pobre correlación pudo ser debida a que el trabajo se llevó a cabo en una industria láctea, frente al estudio de Reineman que se ejecutó en un laboratorio, donde se minimizaron los posibles factores ambientales que pudieron influir sobre el resultado para la valoración del ATP residual.

En un estudio llevado a cabo sobre diferentes superficies de una cocina mediante hisopos y bioluminiscencia, Tebbutt *et al.* (2007), encontraron una correlación significativa entre ambos métodos en las muestras tomadas de las tablas de corte (p<0,0001), recipientes de plástico (p<0,0001) y en los grifos (p=0,0099); por el contrario no hubo correlación en las muestras tomadas de los tiradores de los frigoríficos (p=0,88). También sobre las superficies de una cocina Ayciek *et al.* (2005), determinaron que había una correlación estadísticamente significativa (χ^2= 30,886; p<0,0105; K: 0,249) entre los resultados obtenidos mediante hisopos y bioluminiscencia. Ambos métodos reconocieron más superficies limpias que sucias y los hisopos determinaron más superficies limpias que la bioluminiscencia, siendo ambos compatibles.

b) Enterobacterias, hongos y levaduras

Para determinar la concordancia entre los métodos de placas RODAC y laminocultivos con respecto a los recuentos de enterobacterias totales, de hongos y de levaduras, se analizaron los resultados utilizando el estadístico kappa (K). Se obtuvieron unos resultados de (K)=0,283 entre estos dos métodos para enterobacterias totales, (K)=0,350 para hongos y (K)=0,219 para levaduras. No hubo concordancia entre los dos métodos de control, por tener (K) valores inferiores a 0,41. En las Tablas 63, 64 y 65 se presentan los resultados obtenidos.

Resultados contrarios fueron publicados por Salo *et al.* (2002), quienes concluyeron que de acuerdo a los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio, los métodos de laminocultivos Hygicult E, placas de contacto para enterobacterias e hisopos no difieren en términos prácticos, ni en rendimiento o en precisión. Las diferencias con el presente estudio pudieron ser debidas a que este estudio fue realizado sobre las superficies de las industrias, frente al estudio anterior que se realizó en un laboratorio, con las mismas condiciones ambientales para todas las muestras.

Tabla 63. Concordancia entre laminocultivos y placas RODAC para detección de enterobacterias.

Enterobacterias		RODAC		Kappa (SE)
Laminocultivo	Aceptabilidad	Si	No	0.283 (0.071)
	Si	109	42	
	No	10	21	

Tabla 64. Concordancia entre laminocultivos y placas RODAC para detección de hongos.

Hongos		RODAC		Kappa (SE)
Laminocultivo	Aceptabilidad	Si	No	0.350 (0.084)
	Si	120	21	
	No	17	18	

Tabla 65. Concordancia entre laminocultivos y placas RODAC para detección de levaduras.

Levaduras		RODAC		Kappa (SE)
Laminocultivo	Aceptabilidad	Si	No	0.219 (0.087)
	Si	122	17	
	No	25	12	

III.2.2.2. Influencia de los factores de riesgo sobre la contaminación de superficies

La Tabla 66 muestra las tasas de contaminación ajustadas al modelo de efectos mixtos (mostrado en II.1.2.4.3) por cada uno de los cuatro microorganismos analizados y para los factores de riesgo considerados. Dado que para todos los microorganismos estudiados (excepto hongos), las mayores tasas de contaminación se detectaron en *molde/mesa* (debido sin duda al mayor grado de manipulación y a la limpieza manual), se compararon las tasas de contaminación en *cuba/llenado* y *tanque* con respecto a *molde/mesa*. El resto de las categorías referenciales fueron: *manipulación mínima*, *producción* de *5.000-10.000 l*, puntuación *HAS inferior a 55*, y empleo de la *leche de cabra.*

Tabla 66. Tasas de contaminación estimadas por el modelo (IC 95%).

	Aerobios	Enterobacterias	Hongos	Levaduras
Superficie				
Molde/mesa	56,8 (41,6; 77,6)	48,1 (34,8; 67,0)	29,9 (19,9; 44,6)	24,7 (15,7; 38,9)
Cuba/llenado	34,4 (23,4; 50,9)	25,6 (16,7; 39,9)	9,0 (4,3; 18,6)	9,0 (4,2; 18,9)
Tanque	47,5 (27,1; 82,8)	22,2 (9,9; 48,9)	33,3 (17,2; 63,9)	11,1 (3,6; 34,0)
Manipulación				
Mínima	38,9 (26,9; 56,3)	33,3 (22,3; 49,7)	25,0 (15,8; 39,7)	15,3 (8,5; 27,6)
Media	45,0 (28,4; 71,4)	27,5 (15,2; 49,7)	12,5 (5,2; 30,0)	12,5 (5,2; 30,0)
Alta	54,3 (39,5; 74,6)	40,0 (27,6; 57,9)	22,9 (14,0; 37,3)	18,6 (10,8; 32,0)
Producción				
5 – 10	47,0 (34,6; 63,9)	39,1 (29,0; 52,7)	22,7 (15,4; 33,6)	18,2 (11,7; 28,2)
20 – 30	44,1 (29,9; 65,2)	27,8 (17,9; 43,1)	19,4 (11,5; 32,8)	12,5 (6,5; 24,0)
HAS				
< 55	54,3 (39,5; 74,6)	40,0 (27,6; 57,9)	22,9 (14,0; 37,9)	18,6 (10,8; 32,0)
> 55	41,1 (30,8; 54,8)	31,2 (22,4; 43,5)	20,5 (13,6; 30,9)	14,3 (8,8; 23,3)
Leche				
Cabra	41,9 (30,8; 57,1)	30,8 (21,9; 3,4)	21,5 (14,3; 32,3)	14,0 (8,5 ; 23,3)
Cabra y vaca	51,9 (37,1; 72,7)	40,0 (28,0; 57,2)	21,3 (13,1; 34,8)	18,7 (11,1; 31,5)

Los riesgos relativos de la Tabla 67, muestran la disminución de la contaminación por los diferentes microorganismos analizados frente a las superficies muestreadas.

La Tabla 67 muestra los riesgos relativos deducidos del modelo estimado.

Tabla 67. Riesgos relativos de contaminación (IC 95%). (Para cada variable, la categoría referencial es la que aparece con la unidad).

	Aerobios	Enterobacterias	Hongos	Levaduras
Superficie				
Molde/mesa	1	1	1	1
Cuba/llenado	0,61 (0,37;0,98)**	0,53 (0,31; 0,92)**	0,30 (0,13; 0,70)***	0,36 (0,15 ;
Tanque	0,83 (0,45; 1,56)	0,46 (0,19; 1,10)*	1,12 (0,52; 2,41)	0,87)** 0,45
				(0,13 ; 1,52)
Manipulación				
Mínima	1	1	1	1
Media	1,16 (0,62; 2,09)	0,82 (0,40; 1,68)	0,50 (0,18; 1,35)	0,82 (0,28; 2,35)
Alta	1,40 (0,86; 2,27)	1,20 (0,70; 2,07)	0,91 (0,47; 1,79)	1,22 (0,54; 2,71)
Producción				
5 – 10	1	1	1	1
20 – 30	0,94 (0,57; 1,55)	0,71 (0,42; 1,21)	0,86 (0,44; 1,65)	0,69 (0,31; 1,51)
HAS				
< 55	1	1	1	1
> 55	0,76 (0,49; 1,16)	0,78 (22,4; 43,4)	0,90 (0,47; 1,70)	0,77 (0,37; 1,60)
Leche				
Cabra	1	1	1	1
Cabra y vaca	1,24 (0,79; 1,96)	1,30 (0,79; 2,13)	0,99 (0,52; 1,88)	1,33 (0,64; 2,76)

(*) P < 0,1; (**) P < 0,05; (***) P < 0,01

Tomando como referencia a *molde/mesa* con el valor de 1, *cuba/llenadora* tiene un riesgo de contaminación por aerobios un 39% menos que *molde*, habiendo diferencias significativas entre ambos (p<0,05). De igual forma, tiene un riesgo de contaminación por enterobacterias un 47% menos que *molde* (p<0,05); el riesgo de contaminación por hongos fue un 70% menos que molde (p<0.01) y el riesgo relativo de contaminación por levaduras fue un 64% menos que *molde*, con un p valor <0,01.

También la superficie *tanque* tuvo una disminución del riesgo de contaminación por enterobacterias del 54% cuasi significativa, (p<0,1). Para el resto de los factores estudiados, no se encontró significación estadística.

La Tabla 68 resume el efecto de la puntuación HAS considerada en la escala original sobre la contaminación estimada en los controles de superficies. Sólo este marcador mostró asociación estadística (p < 0,1) con la contaminación por aerobios. De la Tabla 68 se deduce que por cada incremento de 10 unidades en esta puntuación, el riesgo de contaminación por aerobios disminuyó un 14%. Aunque el efecto no es significativo para el resto de gérmenes, los datos apuntan una posible disminución del riesgo de contaminación según se incrementa el HAS.

Tabla 68. Reducción porcentual del riesgo de contaminación por cada 10 unidades de aumento de la puntuación HAS.

	P	Riesgos Relativos (por cada 10 und)
Aerobios	0,083	0,86 (0,73; 1,02)
Enterobacterias	0,203	0,88 (0,73; 1,07)
Hongos	0,722	1,04 (0,81; 1,36)
Levaduras	0,359	0,88 (0,66; 1,16)

III.3. Resultados analíticos en Queserías Artesanales

III.3.1. Datos descriptivos

III.3.1.1. Recuento microbiológico en la leche y en el queso

En el presente estudio se analizaron un total de 398 muestras de leche, obteniéndose un 18,6% (74) de muestras contaminadas por encima del criterio establecido (II.2.2.2.8.). Casi las dos terceras partes de este resultado fueron aportadas por la presencia de muestras contaminadas por aerobios mesófilos; el resto procedía de la contaminación por *S. aureus* con un 4,77% y un 0,50% por *E. coli*. Se detectó la presencia de *Salmonella spp.* y de *L. monocytogenes* en un 0,27% y en un 0,5% de las muestras analizadas, respectivamente.

Se controlaron un total de 406 muestras de queso, de las cuales un 9,6 % (39) tuvieron un recuento superior al permitido por la legislación europea (Reglamento 2073/2005), distribuyéndose de la siguiente forma: *S. aureus*, un 2,46 % y *E. coli*, un 5,91%. Se detectó la presencia de *Salmonella spp.* y de *L. monocytogenes* en un 0,8% y en un 0,53%, respectivamente.

En este estudio no se ha considerado pertinente determinar los microorganismos aerobios mesófilos totales del queso, ya que éstos no son indicativos del estado higiénico de las instalaciones, ni de su calidad higiénica, puesto que a todas las muestras de quesos analizadas, a excepción de las de quesos frescos, se les habían añadido cultivos iniciadores.

En la Tabla 69 se muestra el resumen de las contaminaciones microbiológicas de la leche y del queso analizadas.

Tabla 69. Resumen de los resultados de las contaminaciones microbiológicas de las muestras de leche y queso.

Muestra	*S. aureus*	*E. coli*	*Salmonella*	*Listeria m.*	Aerobios	Total
(N)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Leche (398)	19 (4,77)	2 (0,50)	1 (0,27)	2 (0,55)	50 (40)	74 (18,6)
Queso (406)	10 (2,46)	24 (5,91)	3 (0,80)	2 (0,53)	-	39 (9,60)
Total (804)	29 (3,60)	26 (3,23)	4 (1,07)	4 (0,54)	50 (40)	113 (14,0)

Siendo: para *Salmonella* en leche N=365 en leche y en queso N=374.

Para *L. monocytogenes* en leche N=365 y en queso N=375.

Para aerobios mesófilos totales en leche, N=125.

a) Aerobios mesófilos

Un 40% (50) de las 125 muestras de leche analizadas para determinar el número de aerobios mesófilos totales, estaba por encima de 500.000 ufc/g (criterio legal), porcentaje que se considera bastante elevado. La mayoría de los estudios consultados citan la media de los recuentos microbiológicos obtenidos, no facilitando el porcentaje de resultados que sobrepasan los valores permitidos; así, los valores medios (log) de aerobios mesófilos detectados en la leche para la elaboración de diferentes tipos de quesos, se muestran en la Tabla 70.

Tabla 70. Recuentos microbiológicos de aerobios en distintos tipos de queso.

Tipo de queso	Leche	Recuento(log)	Referencia
Armada (verano)	Cabra	6,72	Tornadijo *et al.* (1995)
Armada (otoño)	Cabra	7,55	Tornadijo *et al.* (1995)
Ibores	Cabra	6,73	Mas-Mayoral *et al.* (1991)
Gredos	Cabra	4,75	Medina *et al*. (1992)
Tenerife	Cabra	5,54	Zárate *et al*. (1997)
Cendrat del Montsec	Cabra	7,24	Mor-Mur *et al*. (1994)
Cameros*	Cabra	6,75	Olarte *et al*. (2000)
Majorero	Cabra	6,30	Fontecha *et al*. (1990)
Valdeón	Cabra, vaca	6,17	López-Díaz *et al*. (1995)
Valdeteja	Cabra	7,66	Alonso-Calleja *et al.* (2002)

*Los quesos frescos o semicurados se elaboran con leche pasteurizada.

Todos los quesos citados en la tabla anterior se elaboran con leche de cabra cruda a excepción del queso de Valdeón que se puede elaborar con leche de cabra o vaca o mezcla de ambas. Todos, a excepción del queso de Gredos y TF presentaron un recuento medio de aerobios superior a 10^6 ufc/g, no pudiéndose determinar el porcentaje de muestras que sobrepasaban este criterio.

Irkin (2010), determinó que la leche cruda para la elaboración del queso Dil, elaborado de forma industrial con leche pasteurizada de vaca, contenía unos recuentos de 6,3 10^7, 1000 y 1584 ufc/ml, de bacterias mesófilas totales, *E. coli* y *Staphylococcus aureus,* respectivamente.

b) *S. aureus*

Como se muestra en la Tabla 69, el número de muestras de leche contaminadas por *S. aureus* fue casi el doble que en el queso. Esta reducción encontrada en el queso, contrasta con los resultados obtenidos por Gil *et al*. (2007), donde se produjo un incremento de toda la carga microbiana analizada en quesos de 2 días de maduración, justificándose este aumento por la retención de las bacterias en el entramado del cuajo y su posterior multiplicación durante las 12 horas de elaboración, si bien se redujeron los recuentos en posteriores análisis a los 60 y 150 días.

Los recuentos de *S. aureus* en un estudio realizado en leche y queso de Tenerife mostraron un valor medio de 380 y 1380 ufc/g respectivamente, disminuyendo estos valores en los quesos en posteriores análisis a los 30 y 60 días (Zárate *et al.*,1997). Irkin (2010), determinó una contaminación por *S. aureus* en queso Dil de 190 ufc/g. En diversas inspecciones en Suiza, *S. aureus* fue detectado en el 32% y 33% en los tanques de leche de cabra y oveja, respectivamente (Muehlherr *et al*., 2003). El valor medio fue de 1778 ufc/ml, con un máximo de 2,20 10^4 ufc/ml para la leche de cabra y de 436 ufc/ml, con un máximo de 3,60 10^3 ufc/ml para la leche de oveja (Scherrer *et al*., 2004).

En un estudio sobre el queso de Cameros a lo largo de 60 días de maduración, se analizaron varios lotes, uno de queso con leche cruda sin la adición de cultivos iniciadores (R), otro con cultivos iniciadores (RS), frente a un tercer lote elaborado con

leche pasteurizada y con cultivos iniciadores (PS). Los datos mostraron una evolución descendente de *S. aureus* en los lotes R y RS, mínimizándose los recuentos en el segundo, a partir de los 15 días de maduración. En el lote PS la contaminación fue mínima a lo largo de todo el periodo estudiado. Estos resultados podrían estar relacionados con los valores más bajos de pH y mayor concentración de cultivos lácticos iniciadores en los lotes RS y PS (Olarte, *et al*., 1999).

Otros estudios (Godínez *et al*., 1999) en queso de Tetilla elaborado con leche cruda, determinaron que el 20% de las muestras (3 de 15) tuvieron un recuento superior a 10.000 ufc/g de *S. aureus* y en queso de Tetilla elaborado con leche pasteurizada no se detectó la presencia de esta bacteria. Castelo *et al.* (1992), en un estudio realizado en 5 variedades de quesos canarios observaron recuentos de *S. aureus* 3.981 ufc/g para el queso Herreño y de 3.311 10^4 ufc/g para el queso de la Gomera, habiendo obtenido una media de todas las variedades de 251 10^3 ±8,5 ufc/g.

c) *E. coli*

Al contrario de lo que ocurrió con *S. aureus*, en nuestro estudio, los recuentos de *E. coli* se multiplicaron por 12 en las muestras de queso, respecto a las de leche. Aún siendo bajos estos valores, son indicativos de unas deficientes condiciones higiénicas durante su elaboración y contaminación cruzada con superficies contaminadas. También se debe a que los factores físico-químicos como el pH y concentración de sal (2–4%) son incapaces de inactivar esta bacteria, pues puede tolerar hasta 8,5% de sal (Glass *et al*., 1992) y pH de 4,5.

En un estudio realizado por Zárate *et al*. (1997) durante la maduración del queso, las *Enterobacteriaceae* y coliformes diminuyeron en 3-4 unidades logarítmicas respecto al primer o segundo día de elaboración. Varios factores contribuyeron a este descenso: el incremento de la concentración de NaCl y la inhibición de estas bacterias por el ácido láctico bacteriano, el cual reduce el pH del queso (Núñez *et al*., 1995).

Los recuentos microbiológicos de *E. coli* del queso fueron bastante más bajos que los detectados en diversos quesos por otros autores, quienes concluyeron que el 40% de las muestras de queso “blanco pickled turco” elaborado con leche cruda, contenía

valores superiores a 1,1 10^3 (Öksüz *et al.,* 2004), el 58% en quesos tiernos y semiduros (Ansay y Kaspar, 1997) también aparecieron contaminados por *E. coli*, al igual que el 38,8 % en queso Daimetta y 20,8 % en queso Kareish a base de leche cruda en Egipto (Aman *et al*., 1998). En el queso de Carra elaborado con leche cruda de cabra Aygun *et al*. (2005) determinaron que el 18% de las muestras tenían valores superiores a 10^4/g.

Gil *et al*. (2007), determinaron al segundo día de maduración una media de 446 ufc/g de *E.coli* en quesos elaborados de forma artesanal con leche de oveja cruda de la D.O.P. Idiazábal. Este recuento fue superior al de leche, no habiendo diferencias significativas (P<0,05). No se detectó esta contaminación en análisis posteriores a 60 y 150 días y observaron que la disminución inicial del pH inhibíe el crecimiento de las enterobacterias.

En el estudio de Godínez *et al*. (1999), se encontró que un 13,3% de las muestras de queso de Tetilla elaborado con leche cruda estaban contaminadas con *E. coli* por encima del límite máximo (M) de 10^5 ufc/g. Según los autores, estos resultados fueron debidos a la deficiente calidad microbiológica de la leche y a la falta de higiene durante el proceso de elaboración. Esta contaminación se puede esperar en quesos de corta maduración, cuando aún no se ha manifestado el efecto inhibitorio del pH.

En los quesos de Tetilla elaborados con leche pasteurizada, (Godínez *et al*., 1999) encontraron que el 16,7% de las muestras sobrepasaron el límite de 1000 ufc/g de *E. coli.*

Irkin (2010), determinó una contaminación por *E. coli* en queso Dil de 2,64 log ufc/g, no detectando la presencia de *Salmonella*.

En un estudio bastante amplio en cuanto a número de muestras (1819) y variedades de quesos analizados, Little *et al*. (2007), encontraron que en los quesos elaborados con leche cruda y aplicando el criterio de la Recomendación CE 24/2004, el 96% de las muestras fueron satisfactorias, un 2% estaban en el límite y otro 2% lo

sobrepasaba, de los cuales el 0,71% estaba contaminado por *S. aureus*, el 1,37% por *E. coli*. Si bien estos resultados fueron inferiores a los obtenidos en nuestro estudio, tenemos que decir que el valor límite para *E. coli* fue de 10^4 frente a los 10^3 ufc/g fijados en nuestro estudio.

d) *Salmonella spp.* y *Listeria. monocytogenes*

Los resultados microbiológicos de recuentos en *Salmonella spp.* y *L. monocytogenes* detectados en los diferentes estudios son más uniformes. Godínez *et al*. (1999) no detectaron su presencia en quesos de Tetilla elaborados con leche pasteurizada, pero sí detectaron la presencia de *L. monocytogenes* en un queso elaborado con leche cruda de 15 analizados (6,66%).

En otro estudio sobre quesos Arzúa elaborados con leche cruda (Centeno *et al*., 1994) detectaron la presencia de estos dos microorganismos en 2 de los 11 lotes de queso analizados (18,20%). En el queso de Cameros elaborado con leche cruda de vaca, se encontró 1 (5,55%) queso contaminado de 18 con *L. monocytogenes* y ninguna muestra contaminada con *Salmonella spp.* (Olarte *et al*., 1999). Gil *et al*. (2007), no detectaron *Salmonela spp.*, ni *Listeria monocytogenes* en su estudio sobre queso Idiazábal. Castelo *et al.* (1995), no detectaron la presencia de *Salmonella spp*. en quesos curados de Fuerteventura.

Según el estudio realizado por Alonso-Calleja *et al.,* 2002, en el queso de Valdeteja no se encontraron bacterias patógenas (*Salmonella spp., E. coli, S. aureus* y *L. monocytogenes*).

Salmonella spp. y *L. monocytogenes* fueron detectadas en un 2,4% y 4% respectivamente en queso Tulum elaborado con leche cruda de cabra y oveja (Colak *et al.,* 2007). Little *et al*. (2007) encontró en quesos elaborada con leche cruda el 0,05% por *L. monocytogenes*, no encontrándose contaminación por *Salmonella spp.* Para *L. monocytogenes*, cuando el valor límite era hasta 100 ufc/g, se detectó un 0,89% de muestras por debajo de este valor, mientras que en la actualidad el límite permitido es de *ausencia en 25 g.*

III.3.1.2. Resultados y comparativa de los controles de superficies en Queserías Industriales y Artesanales mediante laminocultivos

Los resultados de los controles microbiológicos de superficies (*moldes* y *cubas de cuajado*) mediante laminocultivos realizadas en las QA y QI se muestran en la Tabla 71. Los recuentos de aerobios en superficies, aptos para los *moldes* en ambas queserías, fueron de un 48,7% para las QI y un 40,3% para las QA, sensiblemente superior la contaminación en los moldes de las QA. En ambos casos el porcentaje de superficies limpias es más bajo que en las cubas. Los *moldes* fueron, junto con las *mesas*, las superficies más contaminadas en el estudio de las QI.

Se debe tener en cuenta la diferencia de rugosidad de ambos tipos de superficie, siendo la composición de los moldes de polietileno o polipropileno o incluso de madera para las empleitas, frente al acero inoxidable de las cubas.

Desde el punto de vista de las operaciones de limpieza de los moldes, las diferencias pueden deberse a que sólo 3 de las 5 QI tenían tren de lavado específico, el resto realizaba el lavado a mano mediante estropajo y detergente. La desinfección se realizaba por inmersión de los moldes en una solución de hipoclorito sódico y sólo una aplicaba el desinfectante en línea a la salida del tren de lavado.

La limpieza de los moldes en las QA era manual.

Tabla 71. Resultados de los recuentos de aerobios en QI y QA (%) por laminocultivos.

	Aerobios cuba	Aerobios molde	Enterobacterias cuba	Enterobacterias molde
Q. Limpia	89,8	48,7	89,7	79,5
QA Limpia	56,9	40,3	79,2	54,2
QI Contami	10,3	51,3	10,3	20,5
QA Contami	41,7	59,7	20,8	45,8

Al igual que ocurrió con los aerobios totales, el porcentaje de superficies contaminadas por enterobacterias, aunque en menor grado, aumentó en los *moldes*, (20,5% y 45,8% para las QI y QA, respectivamente).

Los resultados de los controles microbiológicos en las cubas de las QI y QA fueron muy diferentes. Se obtuvieron unos resultados aptos para los recuentos de aerobios en las cubas de las QI de casi el 90% de media. Esta fue la superficie más limpia de todos los útiles examinados en el estudio de las QI, frente a un 57% de las cubas de las queserías artesanales. El resultado de los controles de superficies para enterobacterias en *cuba*, indica una mayor igualdad entre QI y QA, con un 89,7% y 79,2%, de superficies aptas para enterobacterias, respectivamente.

Estos resultados pudieron deberse a que en tres de las cinco QI las cubas eran cerradas y se limpiaban con sistema CIP de forma automática, con agua caliente, sosa cáustica y periódicamente, ácido nítrico, frente a la limpieza de las QA que era completamente manual, con estropajo y detergente neutro y no todas usaban desinfectante clorado. La temperatura del agua no superaba los 40ºC, al ser la limpieza manual. También hay una gran diferencia en cuanto al tipo de superficies, pues algunas QA utilizaban recipientes de plástico para cuajar la leche.

III.3.2. Resultados del análisis estadístico en las Queserías Artesanales

III.3.2.1. Determinación de los factores de riesgo de contaminación en la leche y el queso

La Tabla 72 muestra los resultados del análisis microbiológico en los productos de las QA agrupadas por los factores de riesgo (variables) considerados en la producción.

Los valores de esta tabla se presentan como número de muestras (leche y queso) contaminadas con *S. aureus, E. coli* y aerobios mesófilos totales y el porcentaje de cada uno de ellos respecto al total de cada categoría.

Cabe destacar las diferencias dentro de cada una de las categorías estudiadas para cada uno de los recuentos de las tres bacterias estudiadas.

- *Factor Zona*: fue la de Moya la más contaminada para los tres tipos de microorganismos estudiados.

- *Factor Producción*: las queserías más contaminadas por *S. aureus* y aerobios totales fueron las que elaboraron entre 1 y 10 kg de queso, en cuanto a *E. coli* fueron las de producción intermedia de 10 a 50 kg.

- *Factor tipo de queso:* el queso tierno fue el más contaminado con *S. aureus* aerobios totales, mientras que la mayor contaminación por *E. coli* se encontró en el queso semicurado, no hallándose ninguna muestra de queso tierno contaminada.

- *Factor Manipulación:* una misma categoría, manipulación alta, fue la que recogió los valores más elevados para el recuento de *S. aureus* y aerobios totales, encontrándose los recuentos más elevados de *E. coli* en la categoría de manipulación media.

- *Factor leche:* los recuentos más elevados de *S. aureus* y aerobios totales correspondieron a la categoría de leche de cabra, oveja y vaca y para los de *E. coli,* a la de leche de cabra y vaca.

- *Factor tratamiento de la leche:* el mayor número de muestras contaminadas con *S. aureus* y *E. coli,* estuvieron dentro de la categoría de leche cruda, detectándose una diferencia de más de tres puntos entre ambas categorías.

Tabla 72. Incidencia de contaminación en la producción de las Queserías Artesanales.

Parámetros	Queserías n (%)	N_1	*E.coli*	*S. aureus*	N_2	Aerobios
			N (%)	N (%)		N(%)
Zona	Costa 15 (37,5)	309	6 (1,94)	8 (2,59)	45	18 (40,0)
	Medianías 15 (37,5)	325	12 (3,69)	12 (3,69)	42	18 (42,8)
	Cumbre 5 (12,5)	78	3 (3,85)	3 (3,85)	19	4 (21,0)
	Moya 5 (12,5)	92	5 (5,43)	6 (6,5)	19	10 (52,6)
Producción	1-10 kg 8 (20,0)	122	4 (3,28)	7 (5,74)	16	9 (56,25)
	10-50 kg 15 (37,5)	342	15 (4,39)	12 (3,51)	53	23 (43,40)
	>50 kg 17 (42,5)	339	7 (2,06)	10 (2,95)	56	18 (32,14)
Tipo de queso	Fresco 10 (25)	177	3 (1,69)	5 (2,82)	29	11(37,93)
	Tierno 3 (7,5)	77	0	4 (5,19)	7	3 (42,86)
	Semicurado 27(67,5)	549	23 (4,19)	20 (3,64)	89	36 (40,45)
Manipulación	Alta 11 (27,5)	163	4 (2,45)	8 (4,91)	20	13 (65,0)
	Media 23 (57,5)	489	21 (4,29)	18 (3,68)	91	34 (37,36)
	Mínima 6 (15)	151	1 (0,66)	3 (1,99)	14	3 (21,43)
Tipo leche	Cabra 5 (12,5)	209	10 (4,78)	6 (2,87)	13	6 (46,15)
	Cabra, vaca 4 (10,0)	79	6 (7,59)	4 (5,06)	6	3 (50,0)
	Cab, ov, va 6 (15,0)	117	5 (4,27)	7 (5,98)	23	14 (60,87)
	Cab, oveja 25 (62,5)	382	5 (1,31)	12 (3,14)	83	27 (32,53)
Tto. leche	Cruda 34 (85,0)	714	25 (3,50)	28 (3,92)	118	47(39,83)
	Pasterizada 6 (15,0)	89	1 (1,12)	1 (1,12)	7	3 (42,86)
Muestra	Leche 397 (49,4)	397	2 (0,50)	19 (4,79)	125	50 (40,0)
	Queso 406 (50,56)	406	24 (5,9)	10 (2,46)		

N_1 804: muestras de leche y queso; N_2 125: muestras de leche.

La Tabla 73 describe el número de productos evaluados por quesería (relacionadas según la ubicación) y los contaminados por *E. coli* y *S. aureus*.

Tabla 73. Distribución de muestras por quesería e incidencia de contaminación.

Quesería	N	***E.coli***	***S.aureus***
1. Agaete- Moya	16	2 (12.50)	0
2. Agaete- Moya	31	4 (12.9)	2 (6.5)
3. Agaete-Moya	16	0	0
4. Agaete-Moya	16	0	2 (12.5)
5. Agete -Moya	16	0	2 (12.5)
6. Agete-Moya	34	5 (14.7)	2 (5.9)
7. Valsequillo	16	0	0
8. Valsequillo	34	1 (2.9)	3 (8.8)
9. Valsequillo	34	0	0
10. Valsequillo	16	1 (6.3)	1 (6.3)
11. Valsequillo	16	0	0
12. Valsequillo	25	0	1 (4.0)
13. Aldea- Artenara	10	0	0
14. Aldea- Artenara	2	1 (50.0)	0
15. Aldea Artenara	16	3 (18.8)	1 (6.3)
16. Aldea- Artenara	16	0	0
17. Aldea- Artenara	16	0	0
18. Aldea -Artenara	16	2 (12.5)	1 (6.3)
19. Las Palmas	31	0	2 (6.5)
20. Las Palmas	16	2 (12.5)	0

Tabla 73. Distribución de muestras por quesería e incidencia de contaminación. (Continuación).

Quesería	N	*E.coli*	*S.aureus*
21. Las Palmas	32	4 (12,5)	2 (6,3)
22. Las Palmas	4	0	0
23. Agüimes	16	0	0
24. Agüimes	34	0	0
25. Agüimes	31	0	0
26. Agüimes	16	0	0
27. Agüimes	16	0	1 (6,3)
28. Agüimes	31	0	3 (9,7)
29. Sur	16	0	0
30. Sur	16	0	1 (6,3)
31. Sur	32	1 (3,1)	1 (3,1)
32. Sur	34	0	0
33. Sur	16	0	0
34. Sur	34	0	2 (5,9)
35. Aldea- Artenara	15	0	0
36. Agaete- Moya	18	0	0
37. Agaete- Moya	11	0	0
38. Valsequillo	16	0	2 (12,5)
39. Agaete- Moya	8	0	0
40. Aldea- Artenara	15	0	0
Total	**804**	**26 (3,2)**	**29 (3,6)**

Los valores esperados de productos contaminados por *E. coli* y *S. aureus* por 100 producidos se muestran en la Tabla 74. Para *E. coli*, los factores que mostraron significación inferior a 0,1 en el análisis univariado fueron el grado de manipulación (p = 0,023), el número de fallos del test de conocimientos de los manipuladores (p = 0,015) y la puntuación HAS de la quesería (p = 0,093).

Tabla 74. Contaminación por *E. coli y S. aureus* en productos de QA.

	E.coli		*S.aureus*	
	Nº esperado por 100 productos	P	Nº esperado por 100 productos	P
Zona				
Costa	1.95		2.61	
Medianías	3.69	0.356	3.69	0.439
Cumbre	3.85		3.84	
Moya	5.43		6.52	
Producción (Kg)				
< 10	3.28	0.242	5.74	0.424
10 – 50	4.37		3.50	
> 50	2.08		2.97	
Tipo				
Fresco/Tierno	2.65	0.508	3.79	0.858
Semicurado	3.53		3.53	
Manipulación				
Mínima	0.67	0.023	2.01	0.221
Media/Alta	3.83		3.98	
Tratamiento				
Pasteurizada	2.38	0.629	1.19	0.156
Cruda	3.34		3.90	
Fallos test				
< 4	0	0.015	1.04	0.211
4 – 6	2.31		3.24	
> 6	4.29		4.29	
LD: nº de fallos				
≤ 2	3.72	0.477	2.93	0.331
> 2	2.82		4.23	
Puntos HAS				
< 45	1.64	0.093	4.91	0.667
45 – 65	2.79		3.54	
> 65	6.29		2.80	

Como muestra la Tabla 75, en el análisis multivariante, los factores que mostraron asociación significativa independiente con la tasa de contaminación por *E. coli* fueron:

- El nivel de manipulación medio/alto (RR = 20,0 ; IC-95% = 2,40 ; 166), lo que muestra que los quesos elaborados en las queserías con una *manipulación media/alta*, tienen un riesgo de contaminarse por *E. coli* 20 veces superior a los quesos elaborados en las queserías de *manipulación mínima*.

- El número de fallos en el test (por cada fallo, RR = 1,23; IC-95% = 1,05 ; 1,44), lo que indica que por cada fallo del test (unidad) el riesgo de contaminación aumenta 1,23 veces.

- La puntuación HAS (por cada punto de incremento RR = 1,17 ; IC-95% = 1,08 ; 1,44), indicando que por cada unidad de valoración de la encuesta *HAS* de las queserías, el riesgo de contaminación por *E. coli* se incrementa 1,17 veces. En principio este nivel de riesgo sería una contradicción, pues nos indica que a mayor puntuación HAS mayor riesgo de contaminación.

- El nivel de producción (RR = 6,14 ; IC-95% = 1,34 ; 28,2); las queserías con una *producción inferior a 10 kg/día* tienen un riesgo de contaminación de sus quesos unas 6,14 veces superior a los elaborados en las queserías con una *producción superior a los 50 kg/día*.

Por tanto, la tasa de riesgo indica cuántas veces es mayor el riesgo de contaminación en el grupo (factor) evaluado, respecto a otro grupo considerado como valor de referencia. El coeficiente de sobredispersión para este modelo fue de 1,158, lo que supone un buen ajuste de los datos al modelo de Poisson.

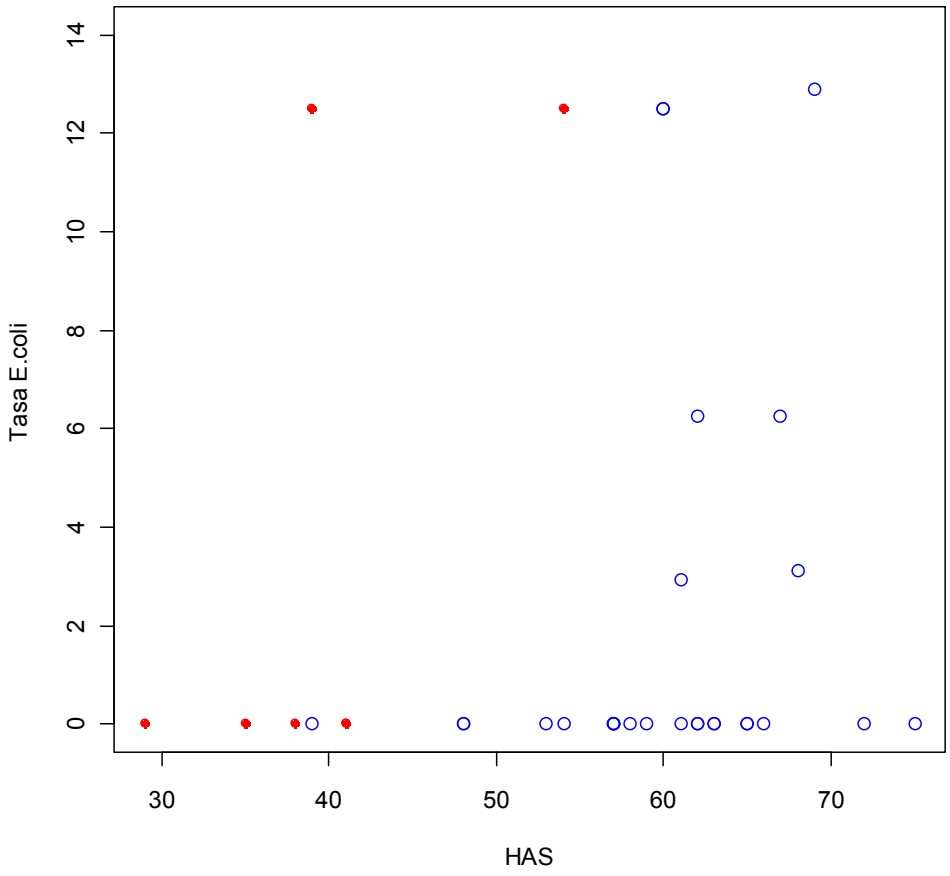
La Figura 31 confirma los resultados del modelo, a saber: la tasa de contaminación (nº de unidades contaminadas por 100 producidas) es mayor en las queserías con nivel de *producción inferior a 10 kg/día* asociándose además las tasas positivas de contaminación con valores de HAS elevados. Es decir, la mayor tasa de

contaminación por *E. coli* se encuentra anidada en las queserías de *producción inferior a 10 kg/día*, pero con un HAS elevado.

Tabla 75. Análisis multidimensional de Poisson para *E.coli.*

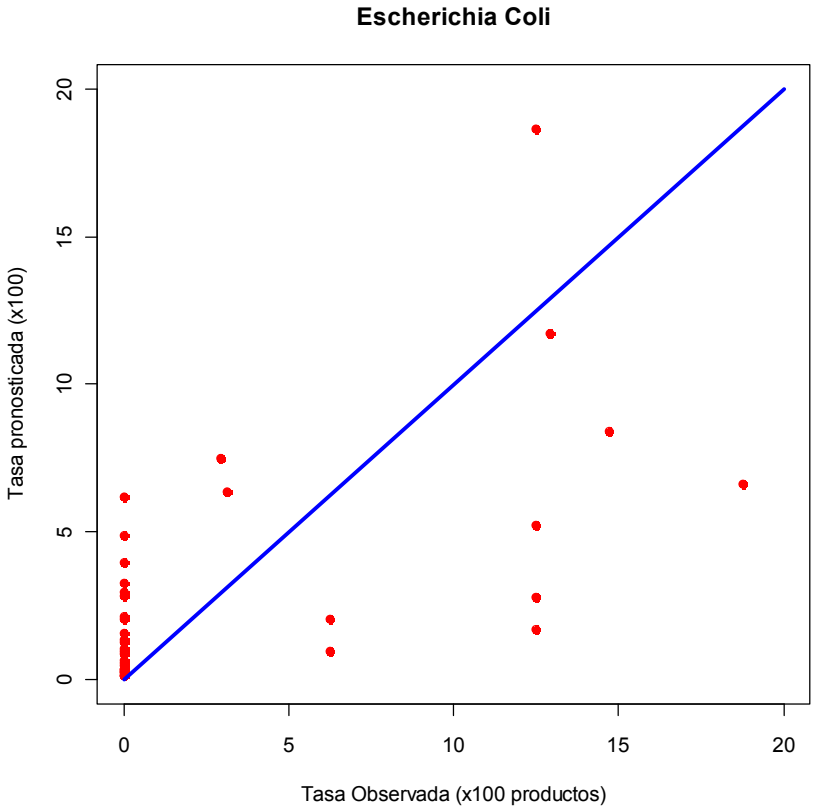
Factor	P	RR (95% CI)	Coeficiente de sobredispersión
Manipulación media/alta	0.006	20.0 (2.40 ; 166)	1.158
Test (por cada fallo)	0.011	1.23 (1.05 ; 1.44)	
HAS (por unidad)	< 0.001	1.17 (1.08 ; 1.28)	
Producción inferior a 10 kg/día	0.020	6.14 (1.34 ; 28.2)	

Figura 31. Tasas observadas de E. *coli* según HAS y nivel de producción; ● inferior a 10 kg/día; ○ superior a 10 kg/día.



La Figura 32 muestra las tasas de contaminación por *E. coli* predichas por el modelo frente a las observadas, mostrando un buen ajuste.

Figura 32. Tasas de contaminación por *E. coli* pronosticadas por el modelo multivariante frente a las observadas.



Se observó en muestras de leche de 19 QA, la contaminación por aerobios mesófilos (Tabla 76). El modelo multivariante mostró un buen coeficiente de sobredispersión. El análisis inferencial, que muestra la Tabla 77, sólo detectó asociación con el grado de *manipulación*, aunque sorprendentemente, fue mayor la contaminación cuando la manipulación fue mínima. Este dato puede deberse a que la categorización en función de la manipulación estaba referida únicamente a las queserías, no valorando aquellos factores que podían contribuir a un aumento de aerobios totales en la leche, factores como tipo de ordeño, manejo de los animales o el estado de limpieza de la sala de ordeño.

Tabla 76. Contaminación en leche por aerobios mesófilos.

Quesería	Nº productos analizados	Nº de productos contaminados
2 Agaete- Moya	6	3
6 Agete-Moya	8	3
8 Valsequillo	8	3
9 Valsequillo	8	1
12 Valsequillo	4	4
19 Las Palmas	6	3
21 Las Palmas	7	1
24 Agüimes	8	4
25 Agüimes	7	5
28 Agüimes	6	2
31 Sur	7	3
32 Sur	8	1
34 Sur	8	4
35. Aldea- Artenara	7	2
36. Agaete- Moya	8	4
37. Agaete- Moya	4	2
38. Valsequillo	5	2
39. Agaete- Moya	3	3
40. Aldea- Artenara	7	0

Tabla 77. Contaminación por *aerobios mesófilos.*

	Aerobios mesófilos	
	Nº esperado por 10 productos	P*
Zona		
Costa	4.00	
Medianías	4.29	0.418
Cumbre	2.11	
Moya	5.26	
Producción (Kg)		
< 10	5.62	0.366
10 – 50	4.34	
> 50	3.12	
Tipo		
Fresco/Tierno	3.95	0.951
Semicurado	4.02	
Manipulación		
Mínima	6.84	0.049
Media/Alta	3.49	
Fallos test		
< 4	2.73	0.484
4 – 6	4.72	
> 6	4.03	
LD: nº de fallos		
≤ 2	4.32	0.680
> 2	3.83	
Puntos HAS:		
< 45	5.62	0.505
45 – 65	3.65	
> 65	4.62	

(*) Test de razón de verosimilitudes

Los análisis por producto (queso y leche por separado) mostrados en el Anexo, Tabla VIII.9, sólo tienen un valor descriptivo y dudosamente inferencial.

Irkin (2010), tras un estudio de identificación de las fuentes de contaminación (*E.coli, S. aureus, Salmonella spp.*), del queso Dil concluyó, que la mejora de las condiciones higiénicas durante el ordeño, la pasteurización de la salmuera después del salado del queso, la preparación de los cultivos iniciadores bajo condiciones higiénicas, la formación del personal y las rutinas de limpieza y desinfección de los manipuladores de alimentos, los equipos, las salas de producción y también en el filtrado de estas salas, serían acciones para eliminar las contaminaciones para este tipo de queso o similares quesos procesados en la industria.

Del mismo modo, el análisis de los datos del presente estudio ha mostrado la clara influencia en la disminución de la contaminación de los productos, en aquellas queserías con mayores conocimientos de los manipuladores, con la manipulación *mínima* (y la necesidad de considerar otros factores que afectan al proceso de obtención de la leche), con las prácticas adquiridas en una producción de más de 10 kg/día y con una mayor puntuación HAS en queserías artesanales.

III. 3.2.2. Asociación entre conocimientos de manipulación de alimentos y niveles de contaminación en superficies

Los resultados del análisis estadístico para determinar la asociación entre los conocimientos de los manipuladores de alimentos (tests globales de higiene y de LD) y las dos superficies muestreadas (*cuba* y *molde*) de las queserías artesanales, se presentan en la Tabla 78. Sólo se halló asociación estadística entre los resultados del test de LD y las superficies de la *cuba* para el recuento de aerobios totales, con un p-valor = 0,032. Se observó una clara diferencia de superficies contaminadas entre las queserías con un valor < 2 fallos del test (37,0%) y las queserías con > 2 fallos (66,7%). Para la superficie *molde* no hubo asociación estadística, pues el p-valor fue superior a 0,05 tanto para aerobios totales como para enterobacterias.

Para el test global de higiene con < 3 fallos, también en el recuento de aerobios en la misma superficie (*cuba*), el porcentaje de superficies contaminadas fue de 52,9% frente a los 66,7% de los test con >10 fallos. Esta diferencia es muy reducida si se compara con la del test LD, donde, como se ha mencionado, las superficies

contaminadas en queserías con manipuladores de < 2 fallos fueron casi la mitad que aquellas en las que se cometieron > 2 fallos.

Tabla 78. Recuento (%) de contaminación según superficie de la quesería y fallos en los tests de manipuladores.

Test	Fallos*	Aerobios				Enterobacterias			
		Cuba		Molde		Cuba		Molde	
		n / N (%) **	P	n / N (%)**	P	n / N (%)**	P	n / N (%)**	P
Global	> 10	10 / 15 (66.7)	0.091	6 / 15 (40.0)	0.570	4 / 15 (26.7)	0.122	5 / 15 (33.3)	0.095
	7 – 10	2 / 10 (20.0)		5 / 10 (50.9)		0		2 / 10 (20.0)	
	4 – 6	8 / 22 (36.4)		12 / 22 (54.5)		5 / 22 (22.7)		6 / 17 (35.3)	
	0 – 3	9 / 17 (52.9)		11 / 17 (64.7)		7 / 17 (41.2)		11 / 17 (64.7)	
LD	> 2	12 / 18 (66.7)	**0.032**	8 / 18 (44.4)	0.384	4 / 18 (22.2)	0.748	8 / 18 (44.4)	0.696
	< 2	17 / 46 (37.0)		26 / 46 (56.5)		12 / 46 (26.1)		16 / 41 (39.0)	

(*) Fallos cometidos por el manipulador de la quesería; (**) n /N = superficies contaminadas / total de superficies analizadas

IV. CONCLUSIONES

IV. CONCLUSIONES

PRIMERA

Los resultados de las encuestas sobre la eficacia de la implantación de un sistema APPCC en las industrias lácteas, muestra mayoritariamente por parte de los responsables, un reconocimiento de su valía calificándolo como bueno o muy bueno, que mejora el trabajo de los operarios y la calidad del producto final suponiendo además un ahorro para la empresa. No obstante, muchos de ellos califican esta implantación como difícil y complicada en cuanto a cumplimentación de documentos, llevándola a cabo simplemente por imperativo legal o por exigencias de los clientes.

Sería por tanto de interés y beneficio para este sector, establecer programas de implantación de fácil ejecución en los que se minimice la dificultad de la gestión documental y donde se priorice la información y formación para responsables y operarios.

SEGUNDA

Mediante las encuestas sobre la implantación de los programas de LD, se constata que los responsables de producción o calidad de las industrias lácteas los valoran como buenos o muy buenos, aceptando que en general, mejoran la calidad del producto final, y mostrando preocupación por la calidad de los productos empleados y de los efluentes generados, si bien detectan problemas de diseño y de adaptación del personal.

Dado que en todas las industrias no queseras se realiza el control microbiológico de superficies cuya LD se lleva a cabo por el personal de producción, se consideraría de alta efectividad la formación integrada de los operarios para su comprensión y ejecución de las acciones correctoras indicadas, derivadas de su actividad.

TERCERA

Las encuestas de producción recogen que el perfil mayoritario de los quesos artesanos de GC sería el elaborado a base de leche cruda de mezcla (cabra-oveja) con un grado de maduración de semicurado y manipulación media, procedente de queserías de alta producción situadas en las zonas de costa y medianías. Los quesos industriales en Canarias en cambio, suelen ser de leche de cabra, o mezcla de cabra-vaca, y con un grado de manipulación que depende de los equipos e instalaciones disponibles.

No obstante, el estudio de los parámetros tecnológicos de producción muestra mayor homogeneidad en la fabricación de los quesos industriales que en la elaboración de los quesos artesanales, en la cual intervienen múltiples factores particulares que dan una impronta característica a cada producto elaborado por el quesero.

CUARTA

Los tests de manipuladores de alimentos de las queserías industriales y de las queserías artesanales para la evaluación del rendimiento teórico de su formación, pusieron de manifiesto que hubo diferencias a favor del bloque temático de conocimientos de *Higiene en la Quesería* y en las *Actitudes higiénicas*, en detrimento de los conocimientos sobre *LD*, aunque no siendo manifiesta la diferencia entre los distintos bloques de conocimientos evaluados, ni entre el tipo de quesería (industrial o artesanal).

Se hace pues patente la importancia de implementar en los programas de formación de manipuladores de quesos en Canarias, los conocimientos acerca de los programas de LD.

QUINTA

La evaluación global de las QI y QA mediante la encuesta HAS, superó los mínimos establecidos en la mayoría de los establecimientos, considerándose un umbral límite inferior de calidad, de 40 puntos. Este límite fue superado por el 80% de las QI y el 85% de las QA.

Por este motivo, se propone, en aras de una mejora del nivel higiénico sanitario de las QA y QI, aumentar las exigencias ampliando el umbral a 60 puntos. Dado que en ambos tipos de queserías, uno de los epígrafes peor valorados fue *la higiene de los procesos*, se podría conseguir atenuarlo con una razonable inversión en infraestructura y equipos y con la mejora de la formación del personal manipulador.

SEXTA

El control microbiológico de superficies en las QI, evidenció que 4 de las 5 QI contaron con unas tasas de superficies limpias, para todos los microorganismos estudiados, superiores al 50%, fruto de la eficaz implantación del programa LD, ya que la otra quesería fue la única en carecer de un sistema CIP automatizado.

SÉPTIMA

Los dos métodos tradicionales de control (laminocultivos y placas RODAC) mostraron en su estudio comparado, una concordancia moderada en la detección de aerobios totales. El método de bioluminiscencia fue el que detectó el mayor número de superficies no aptas en las QI, debido a la baja especificidad de la técnica al no diferenciar contenidos microbianos de restos orgánicos.

OCTAVA

El riesgo relativo de contaminación detectado en las QI mediante los 3 métodos de control en las superficies *molde-mesa,* fue significativamente superior en aerobios totales, enterobacterias, hongos y levaduras, frente al de las *cubas-llenadora.*

Puesto que difieren los métodos de LD aplicados en estos dos tipos de superficies, parece evidenciarse una mayor eficacia de la LD mecanizada (CIP) frente a la limpieza manual.

El único factor de riesgo que mostró asociación estadística con la contaminación por aerobios en las superficies de las QI fue la *puntuación HAS*, mientras que en las QA, esta contaminación detectada en las *cubas* estuvo asociada a los *fallos LD* cometidos por los queseros.

NOVENA

Analizados los productos del 25% de las QA de GC, sólo aproximadamente el 0,5% de las muestras de leche y queso mostraron contaminación por *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp*. El bajo recuento de los microorganismos responsables de los criterios de seguridad alimentaria se considera muy satisfactorio respecto al control higiénico del queso y como reflejo de la ejecución de las operaciones básicas de LD.

La investigación de *S. aureus* y *E. coli,* como criterios microbiológicos de falta de higiene en los procesos, aún reflejando los recuentos un elevado cumplimiento legal, mostró una mayor contaminación de *S. aureus* en la leche y de *E. coli* en el queso.

A pesar de la elevada tasa de contaminación inicial por aerobios mesófilos detectada en las muestras de leche, las condiciones de elaboración y maduración seguidas por los queseros, redujeron los riesgos a un nivel aceptable, obteniendose finalmente un producto con razonables garantías de salubridad.

DÉCIMA

El estudio de la influencia de los factores de riesgo en la contaminación de la producción de las QA, puso de manifiesto que la manipulación *media/alta* en la elaboración del queso, *los fallos en los conocimientos de higiene* de los manipuladores de alimentos y en *el rango de producción de queso inferior a 10 kg/día,* incrementaron el riesgo de contaminación final del queso por *E. coli* con respecto a las otras categorías de referencia de cada grupo analizado. Contrariamente a lo esperado, también influyó en este incremento una mayor *puntuación HAS*, así como una *manipulación mínima* en la contaminación de la leche por aerobios mesófilos.

Se propone por tanto que las prácticas de higiene y su valoración a través de las encuestas no sólo se centren en las instalaciones de las queserías, sino que incluyan el proceso de obtención y mantenimiento de la leche hasta su transformación, por ser esta etapa una de las más susceptible de contaminación microbiológica.

V. RESUMEN

V. RESUMEN

En las empresas del sector lácteo de la Comunidad Autónoma Canaria, constituye un reto la normalización del producto, por lo que se considera fundamental la implantación de sistemas intermedios de calidad APPCC, que exijan la evaluación previa del establecimiento y que aseguren la verificación del nivel de implantación para conseguir y mantener un nivel satisfactorio de seguridad alimentaria y de calidad contrastada que demanda la sociedad en los productos acabados.

Por ello, con el objetivo general de realizar una evaluación higiénico-sanitaria en queserías industriales y artesanales de Canarias, se consideró de gran interés realizar un estudio de los principales establecimientos lácteos en los que a través de diversas encuestas (APPCC, LD, producción, HAS, tests de manipuladores) y mediante la aplicación de controles microbiológicos (de superficies y productos), se permitiera valorar a través de la identificación de los principales riesgos y/o peligros, la calidad higio-sanitaria de estos productos.

- El trabajo llevado a cabo en las industrias lácteas consistió:

- En un total de 10 industrias lácteas de Gran Canaria y Tenerife, se llevó a cabo la cumplimentación de encuestas sobre la implantación del APPCC, ejecución de los planes de LD, formación higiénica de los manipuladores de alimentos mediante test de conocimientos y evaluación higiénico-sanitaria mediante encuestas HAS.
- En un total de 5 queserías industriales de Gran Canaria y Tenerife, se evaluó la contaminación microbiológica (aerobios totales, enterobacterias totales, hongos y levaduras) de superficies situadas en las líneas de producción y consideradas puntos de control en su sistema de autocontrol (cuba, batea/llenadora, molde, mesa/cinta y tanque de recepción de leche). Este control se realizó empleando dos métodos tradicionales (laminocultivos y placas de superficies) y bioluminiscencia (medición del ATP) para determinar el grado de coherencia entre los tres sistemas de control y con los microorganismos valorados.

- Además, en estas queserías se investigó la posible contribución de diversos factores ligados a la producción, a la contaminación de superficies; tales parámetros fueron: grado de manipulación durante la elaboración del queso, volumen de producción, resultados de la encuesta HAS, puntuación de los test de manipuladores, ubicación de la quesería y tipo de leche procesada.

- El trabajo desarrollado en las 40 queserías artesanales de Gran Canaria consistió en:

- Llevar a cabo la cumplimentación de encuestas sobre las condiciones de producción y elaboración de los productos, formación higiénica de los manipuladores de alimentos mediante test de conocimientos y evaluación higiénico-sanitaria mediante encuestas HAS.
- Evaluar la presencia de diferentes grupos microbianos en la leche utilizada como materia prima (aerobios mesófilos, *E. coli, Salmonella spp., Listeria monocytogenes, Stafilococcus aureus*) y en el queso (*Salmonella spp., Listeria monocytogenes, E. coli, Stafilococcus aureus)*, según criterios de seguridad alimentaria y de higiene de los procesos (Rgto. 2073/2005).
- Determinar la posible contribución de diversos factores de la producción quesera (grado de manipulación durante la elaboración del queso, volumen de producción, resultados de la encuesta HAS, puntuación de los test de manipuladores, ubicación de la quesería, tipo de leche procesada, tipo de queso elaborado y tratamiento térmico de la leche) con la contaminación microbiológica de la leche y del queso.
- Observar, en 18 de las queserías estudiadas, la eficacia de las operaciones de LD mediante el control microbiológico (aerobios totales y enterobacterias) de superficies (molde y cuba) mediante la técnica de laminocultivos.

Los resultados mostraron para las industrias lácteas que los responsables valoraron satisfactoriamente la implantación del sistema APPCC, aunque destacaron su grado de dificultad, se relacionó la instauración de los planes de LD con una mejoría de la calidad del producto final y se alcanzaron puntuaciones satisfactorias en la encuesta HAS. Los tests de manipuladores de alimentos mostraron déficit de conocimientos en en el apartado de LD. El análisis microbiológico de superficies en las queserías

detectó tasas de superficies limpias superiores al 50%, siendo en *cuba-llenadora* significativamente menores que en *molde-mesa* para todos los microorganismos estudiados. El factor *Puntuación HAS* fue el único que mostró asociación con la contaminación por aerobios. Se determinó una concordancia moderada entre los métodos de laminocultivos y placas de superficies para recuento de aerobios totales, detectando la bioluminiscencia una mayor contaminación.

En las queserías artesanales, un 15% no obtuvo una puntuación satisfactoria en la encuesta HAS y los tests de manipuladores mostraron también déficit de conocimientos en el apartado de LD. En los análisis microbiológicos de leche y quesos, se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp*. en una tasa muy reducida (0,5%), mientras que la de aerobios mesófilos en leche fue del 40%. La contaminación por *S. aureus* en leche y queso superó los criterios establecidos en un 3,60% y la de *E. coli* en un 3,2%. Los factores identificados como favorecedores del riesgo de contaminación en los quesos por *E. coli* fueron: la *manipulación media y alta* de la elaboración del queso, los falllos en *los conocimientos de higiene de los manipuladores de alimentos* y el *rango de producción de queso inferior a 10 kg/día.* El análisis microbiológico de superficies, mostró mayor contaminación por aerobios totales en las *cubas*, estando asociado a los *fallos en LD* cometidos por los queseros.

Se define el perfil del queso artesano como semicurado, de leche cruda de cabra-oveja (en el industrial intervienen cabra y vaca), procedente de queserías de alta producción de la costa y medianías y con grado de manipulación medio.

VI. SUMMARY

VI. SUMMARY

The normalization of products in the canaries companies dairy sector is a business challenge. For reaching this goal is very important the implementation of HACCP quality intermediate systems, which require assessment of the establishment to maintain a satisfactory level of food safety and quality contrasted demanded by society on finished products.

The purpose of this work was to make an evaluation of industrial and artisanal Canaries cheeses through a study of the major dairy establishments (by HACCP, LD, HAS, food handlers tests) and with the application of microbiological control (on surfaces and products), showing the identification of key risks and / or hazards, and the hygienic-sanitary quality of these products.

- The study carried out in the dairy industry consisting of:

- Surveys on the implementation of HACCP, plans LD, hygienic training of food handlers and hygiene assessment by HAS health surveys in a total of 10 dairies in Gran Canaria and Tenerife.

- Evaluation of the microbiological contamination (total aerobic, Enterobacteriaceae, yeasts and molds) from areas in the production lines and control points considered in its system of self-control (cask , batting / filler, mold, food / tape and dump tank milk) of five industrial dairies from Gran Canaria and Tenerife. This examination was performed using two traditional methods (slides, and plates surfaces) and bioluminescence (ATP measurement) to determine the degree of coherence between the three control systems and the microorganisms evaluated.

- In addition, we investigated the possible contribution of various factors linked to production and surface contamination such as handling during cheese production, production volume, HAS survey results, test to score manipulators, dairy location and type of processed milk.

- The work developed in the 40 artisanal cheese makers of Gran Canaria was:

- To carry out the completion of surveys on the conditions of production and processing of products, hygienic training of food handlers, using a test of knowledge and health and hygiene assessment surveys (HAS).- Evaluate the presence of different microbialogic groups in milk used as raw material (aerobic mesophiles, *E. coli*, *Salmonella spp. Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*) and cheese (*Salmonella spp., Listeria monocytogenes, E. coli* and *Staphylococcus aureus*) based on criteria of food safety and hygiene processes (Rules (EU) 2073/2005).

- Determine the possible relation of several factors of cheese production (handling during cheese production, production volume, HAS results, score test of manipulators, dairy location and type of processed milk) with microbiological contamination of milk and cheese.

- Analyze, the effectiveness of operations in 18 of the dairies studied controlling LD microbiological (total aerobic and Enterobacteriaceae) surface (mold and cask) by the technique of slides.

The results obtained with this study showed that dairies makers successfully assessed the implementation of the HACCP system, but they stressed the degree of difficulty. The establishment of plans of LD was related with an improvement in product quality. The tests showed food handlers knowledge deficit in the section of LD. Microbiological testing of surfaces in dairies found that the contamination rate in barrel/cask-filler was significantly lower than in mold-table for all organisms studied. In tank, contamination by Enterobacteriaceae was significantly lower than in mold-table pan. The HAS score factor was the only significant association with aerobic totals contamination. We determined a moderate agreement between slides methods and surface plates, detecting more contamination with bioluminescence.

A 15% of traditional cheese makers had not a satisfactory score on the HAS survey, showing the manipulative tests a lack of knowledge in the LD section. In the microbiologic analysis of milk and cheese, the presence of *Listeria monocytogenes* and

Salmonella spp. was detected in a very low rate (0,5%), while the total plate count in milk was 40%. Contamination by S. aureus in milk and cheese exceeded the normal parameters in 3.60%, whereas in the case of *E. coli* in 3.2%. The factors identified as predisposing risks of contamination by *E. coli* in cheese were the upper and middle manipulation of cheese, failures in knowledge of hygiene for food handlers and the low production of cheese (below 10 kg / day). Microbiological testing of surfaces showed greater total aerobic contamination in the tanks.

The profile of artisanal cheese is definied as semihard, raw goat milk (industrial is goat and cow milk), from high production located in coast and centre, with middle level manipulation.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

Adams, M. R. y Moss, M. O. (1997). Microbiología de los Alimentos. *Edt. Acribia*, Zaragoza. Bourgeosis, C. M. (Edt.) (1997).

Alais, C. H. (1985). Ciencia de la leche. *Edt. Reverté, S. A*. Barcelona.

Allison, D. G.y Gilbert, P. (1992). Bacterial biofilms. *Science Progress*, 76, 305–321.

Alonso-Calleja, C., Carballo, J., Capita, R., Bernardo A. y García-López, M. L. (2002). Changes in the Microflora of Valdeteja Raw Goat's Milk Cheese throughout Manufacturing and Ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, Volume 35, Issue 3, May. 222-232.

Altekruse, S. F., Cohen, M. L. y Swerdlow, D. L. (1997). Emerging foodborne diseases. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 285–293.

Alvarez, N., Gesan-Guiziou, G.y Daufin, G. (2007).The role of surface tension of re-used caustic soda on the cleaning efficiency in dairy plants. *International Dairy Journal*, 17 (4), 403-411.

Aman, I. M., Knappstein, K. y Hahn, G. (1998). Examination of verotoxin producing *Escherichia coli* in some Egyptian dairy products with special reference to serotype O157:H7. *Milchwissenschaft,* 53 12, 676–679.

Andrews, W. H. (1996). Validation of modern methods in food microbiology by AOAC International collaborative study. *Food Control*, 7, 19–29.

Anifantakis, E. (1976). Influence dune pre ´sure dagneau sur la qualite ´du formage Kefalolyri. *Le Lait*, 56, 76–83.

Anifantakis, E. y Green, M. L. (1980). Preparation and properties of rennets from lambs and kids abomasa. *Journal of Dairy Research,* 47 2, 221–230.

Anónimo. (1980). Behaviour of pathogens in cheese. *Federation Internationale de Laiterie-Int Dairy Fed Doc,* 122, 3-16.

Anónimo. (1984). Orden de 23 de julio de 1984 de la Consejería de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, sobre manipuladores de alimentos.

Anónimo. (1986). Glossary of terms relating to disinfectants (CEN/TC 216 HWG N 2). British

Standard 5283.

Anónimo. (1988 a). ICMSF. Microorganisms in Foods, Application of HACCP System to Ensure Microbiological Safety and Quality 4*, Blackwell Scientific Publications*, Oxford, UK.

Anónimo. (1988 b). Orden de 14 de enero de 1988 por la que se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinados al mercado interior.

Anónimo. (1992). Ministere de la Sante. Epidemia de listeriosis en Francia. *Bulletin Epidem Hebdomadarie*. 25, 33-38.

Anónimo. (1993). Training Considerations for the Application of the Hazard Analysis Critical Control Points System to Food Processing and Manufacturing, WHO Document, WHO/FNU/FOS/93.3, World Health Organization, Division of Food and Nutrition, Geneva.

Anónimo. (1994 a). ISO 5725-6. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. 41.

Anónimo. (1994 b). Real Decreto 1679/1994, de 22 de julio, por el que se establece las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos.

Anónimo. (1995). Real Decreto 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios.

Anónimo. (1998 a). CDSC, Communicable disease report, CDR Weekly 8. (19), 167.

Anónimo. (1998 b). Directiva 98/8/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de febrero de 1998, relativa a la comercialización de biocidas. (DOUE L 123 de 24/04/1998).

Anónimo. (1998 c). International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Sociètes (ICMSF). Microorganisms of Food 6. Microbial Ecology Commodities. *Aspen Publisher*. Inc. Gaithersburg, Mariland, U.S.A.

Anónimo. (1998 d). Multiestate Outbreak of listeriosis.-United States. MMWR; 47(51-52):1117-8.

Anónimo. (1999 a). CDSC, Communicable disease report, CDR Weekly 9. (15), 134.

Anónimo. (1999 b). CDSC, Communicable disease report, CDR Weekly 9. (13), 116.

Anónimo. (1999 c). Public Helth Agency of Canada. *Salmonella enteritidis* outbreak due to contaminated cheese. *Newfoundland,* Volume February, 25-3.

Anónimo. (1999 d). Quesos de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Gobierno de Canarias.

Anónimo. (2001). 2001/471/CE: Decisión de la Comisión, de 8 de junio de 2001, por la que se establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos, de conformidad con la Directiva 64/433/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca, y con la Directiva 71/118/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carnes frescas de aves de corral.

Anónimo. (2002). Reglamento (CE) Nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.

Anónimo. (2003). Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.

Anónimo. (2004). Reglamento (CE) Nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

Anónimo. (2005). Reglamento (CE) Nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Anónimo. (2006 a). Manual para la implantación de sistemas de autocontrol basados en el APPCC en la industria agroalimentaria. Edita Dirección General de Salut Pública y FEDACOVA. Generalitat Valenciana.

Anónimo. (2006 b). Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos.

Anónimo. (2006 c). Real Decreto 640/2006, de 26 de mayo, por el que se regulan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones comunitarias en materia de higiene, de la

producción y comercialización de los productos alimenticios.

Anónimo. (2006 d). Reglamento (CE) Nº 1662/2006 de la Comisión de 6 de noviembre de 2006 que modifica el Reglamento (CE) Nº 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano.

Anónimo. (2006 e). Guía del queso de Canarias. ICCA. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Gobierno de Canarias.

Anónimo. (2007 a). Queso Artesano de Gran Canaria. AIDER Gran Canaria.

Anónimo. (2007 b). Servicio de Estadística. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Gobierno de Canarias.

Anónimo. (2008). Plan Director para el Desarrollo Ganadero de las Islas Canarias. ICIA. Gobierno de Canarias.

Anónimo. (2009 a). Decisión de la Comisión 2009/600/CE, de 5 de agosto por la que se modifica la Decisión 2003/467/CE en lo que respecta a la declaración de que determinados Estados miembros y sus regiones están oficialmente indemnes de brucelosis bovina.

Anónimo. (2009 b). The Community Summary Report on Food-borne Outbreaks in the European Union in 2007, *The EFSA Journal*, 271.

Anónimo. (2010). Real Decreto 109/2010, de 5 de febrero, por el que se modifican diversos reales decretos en materia sanitaria para su adaptación a la Ley 17/2009, de 23 de noviembre, sobre el libre acceso a las actividades de servicios y su ejercicio y a la Ley 25/2009, de 22 de diciembre, de modificación de diversas leyes para su adaptación a la Ley sobre el libre acceso a las actividades de servicios y su ejercicio.

Ansay, S. E. y Kaspar, C. W. (1997). Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology,* 25 2, 131–134.

Ares, J. L. (1993). Sistemas de elaboración de quesos de oveja en Andalucía. *Mundo ganadero*, 1, 70-75.

Artault, S., Bind, J. L., Delaval, J., Dureuil, Y. y Gaillard, N. (2000). Validation of ALOA of

AFNOR method of detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs. Laboratorie de Touraine.

Arocha, M. M., McVey, M., Loder, S. D., Rupnow, J. H. y Bullerman, L. (1992). Behaviour of enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7 during the manufacture of cottage cheese. *Journal of Food Protection*, 55, 379–381.

Arroyo, M. y García, C. (1988). Quesos de España. *Espasa-Calpe* (Madrid). 222.

Arvanitoyannis, I. S. y Mavropoulos, A. A. (1999). Implementation of the hazard analysis critical control point (HACCP) system to Kasseri/Kefalotiri and Anevato cheese production lines. *Food Control*, 11, 31-40.

Aycicek, H., Oguz, U. y Karci, K. (2006). Comparison of results of ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing methods for the determination of surface cleanliness at a hospital kitchen. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, Volume 209, Issue 2, 17, 203-206.

Aygun, O., Aslantas, O. y Oner, S. (2005). A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *Journal Food Engineering*, 66, 401-404.

Barzaghi, S., Davoli, E., Rampilli, M. y Contarini, G. (1997). Lipolysis in Provolone cheese: effect of rennet-paste. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 48, 2, 146–156.

Baş, M., Ersun, A. y KÂvanç, G. (2006). The evaluation of food hygiene Knowledge, attitudes and practice of food handlers in food businesses in Turkey. *Food control*, 17(4), 317–322.

Battistotti, B. y Corradini, C. (1993). Italian cheese. Cheese: *Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 2, 221-243. In P. Fox (Edt.) *Chapman & Hall*, London.

Bautista, D. A., Vaillancourt, J. P., Clarke, R. A., Renwock, S. y Griffiths, M. W. (1994). Rapid assessment of the microbiological quality of poultry carcasses using ATP bioluminescence. *Journal of Food Protection*, 58, 551-554.

Bautista, D. A., McIntyre, L. y Laleye, L. (1993). Rapid determination of milk quality and factory higiene using ATP bioluminiescence. *Milk Industria*, UK, 95, 9-11.

Bautista, D. A., Mcintyre, L., Laleye, L. y Griffiths M. W. (1992). The application of ATP bioluminescence for the assessment of milk quality and factory hygiene. *J. Rapid Methods and*

Automation in Microbiology, 1:179–193.

Becker, H., Bürk, C., y Märtlbauer, E. (2007). Staphylokokken-Enterotoxine: Bildung, Eigenschaften und Nachweis. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,* 2, 171–189.

Bell, C. y Kyriakides, A. (1998). *Listeria*. Una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. *Editorial Acribia. S.A*. Zaragoza.

Bell, C., Bowles, C. D. y Toszeghy, M. J. (1996). Development of a hygiene standard for raw milk based on the lumac ATP-bioluminescence method. *International Dairy Journal,* 6, 709-713.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition. (1994). Regular, nonspring gram-positive rods. Groups 19. *Edt. Williams & Wilkins*, Baltimore.

Bille, J., Catimel, B., Bannerman, E., Jacquet, C., Yersin, M. N., Caniaux, I., Monget, D. y Rocourt, J. (1992). API *Listeria*, a new and promising one-day system to identify *Listeria* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (6), 1857-1860.

Bird, M. R. y Espig, S. W. (1994). Cost optimisation of dairy claning in place (CIP) cycles. *Trans IChemE*, 72, part C, 17-20.

Bolton, F. J., Crozier, L. y Willamson, J. K., (1996). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from raw meat products. *Letters in Applied Microbiology*, 23 5, 317-321.

Bower, C. K., McGuire, J. Y. y Daeschel, M. A. (1996). *Trends.in Food Science and Technolgy*, 7, 152–157.

Bradshaw, J. G., Peeler, J. T., Corwin, J. J., Hunt, J. M., Tierney, J., T., Larkin, E. P. y Twedt, R. M. (1985). Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in milk. *Journal Food Protection*, 48, 743-745.

Brasca, M., Morandi, S., Vanoni, L., Colombo, L. y Lodi, R. (2005). The influence of different cultural conditions on the development and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus*. *Scienza Tecnica Lattiero Casearia*, 56, 105–115.

Braunig, J. y Hensel, A. (2004). Risk assessment of food born infections. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 111, 304–307.

Bredholt, S. (1996). In 2nd NordFood Conference Future, Culture and Know-How, M. Uusisuo (Edt), Falch Hurtigtrykk, Oslo, Norway, 66–68.

Buchanan, R. L. y Doyle, M. P. (1997). Food borne disease significance of *E. coli* O157:H7 and other enterohaemorragic *E. coli. Food Technology*, 51, 69–76.

Bunning, K., Donnelly, C., Peeler, J., Briggs, E., Bradshaw, J., Crawford, R., Beliveau, C. y Tierney, J. (1988). Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* within Bovine Milk Phagocytes. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 54 ,Nº 2, 364-370

Burgess, K., Heggum, C., Walker, S. y van Schothorst, M. (1994). The Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system. *Bulletin of the IDF,* 292, 5-9.

Burton, H., (1986). Microbiological aspects. *Bulletin of the IDF,* 200, 9–14.

Calvert, R. M., Hopkins, H. C., Reilly M. J. y Forsythe, S. J. (1999). Caged ATP- an internal calibration method for ATP bioluminescence assays. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 223-227.

Caric, M. (1993). Ripened cheese varieties native to the Balkan countries. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd Edition. *Chapman and Hall.* London. 2. 263-279.

Carpentier, B. y Cerf, O. (1993). A review: biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J. Applied Bacteriol*. 75, 499-511.

Castelo, M., Millán, R., Sanjuán, E., Muñoz, M. C., y Cardona, A. (1995). Componentes microbiológicos y fisico-químicos del queso de Fuerteventura. Microbiologie - Aliments – Nutrition, 13, 163-170.

Castelo, M., Muñoz, M., Cardona, A., Salazar, A., Sanjuán, E., Penedo, J. y Millán, R. (1992). Estudio de algunas poblaciones microbianas en cinco grupos de quesos canarios. *Alimentaria.* Marzo, 45-47.

Centeno, A., Rodríguez-Otero, J. L. y Cepeda, A. (1994). Microbiological study of Arzúa cheese (Spain) throughout cheesemaking and ripening. *J. Food Safety,* 14, 229–241.

Chesworth, N. (1997). Food Hygiene Auditing. *Blackie Academic & Professional*, London, UK.

Chisti, Y. y Moo-Young, M. (1994). *J. Industry Microbiology*, 13, 201–207.

Chmielewski, R. A. M. y Frank, J. K. (2003). Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilies. *Comprehensive review in Food Science and Food Safety*, 2, 22-32.

Colak,'H., Hampikyan,'H.', Bingol, E. B. y Ulusoy, B. (2007) Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella spp*. in Tulum cheese. *Food Control,* 18, Issue 5, 576-579.

Collins-Thompson, D. L., Erdman, J. E., Milling, M. E., Burgener, D. M., Durvis, U., Loit, A. y Coulter, R.M., (1977). Microbiological standards for cheese: Survey and viewpoint of the Canadian Health Protection Branch. *Dairy Science Abstracts,* 39 12, 7227.

Conrade, G., Woods, R. H., y Ninemeir, J. D. (1994). Training in the US lodging industry: perception and reality. *Cornell Hotel and Restaurant Administration Quarterly*, 35 (5), 16–21.

Costa, P., Andrade; N.J., Cardoso, S. C.; Vieira, F. J. y Ferreira, N. F. (2006). ATP-bioluminescence assay as an alternative for hygiene-monitoring procedures of stainless steel milk contact surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology*, vol.37, 2006

Cremonesi, P., Pérez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., Brasca, M. y Castiglioni, B. (2007). Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese*. Letters inb Applied Microbiology*, 45, 586-591.

D´Aoust, J. Y. (1994). *Salmonella* and international the food trade. *Internacional Journal of Food Microbiology*, 24, 11-31.

D'Aoust, J. Y. (1989) Manufacture of dairy products from unpasteurized milk: a safety assessment. *Journal of Food Protection,* 52 906–914.

D'Aoust. J. Y., Warburton, D. W y Sewell, A. M. (1985). *Salmonella typhimurium* phage-type 10 from cheddar cheese implicated in a major Canadian foodborne outbreak. *J Food Protection*, 48, 1062-1066.

Daufin, G., Labbé, J. P., Quemerais, A., Brulé, G., Michel, F., Roignant, M. y Priol, M. (1987). Fouling of a heat exchange surface by whey, milk and model fluids. An analytical study. *Le lait*, 67, 339.

Davidson, C. A., Griffith, C. J., Peters, A. C. y Fielding, L. M., (1999). Evaluation of two methods for monitoring surface cleanliness-ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing.

Luminescence, 14 (1), 33–38.

Davis, N. D. y Diener, U. L. (1987). Mycotoxins. Cap 15 de Food and Beverage Mycology, *Ed. Beucht*, Georgia.

De Boer, E. (1998). Update on media for isolation of *Enterobacteriaceae* from food. *International. J. Food Microbiology*, 45 (1), 43-53.

De Buyser, M. L., Dufour, B., Maire, M. y Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 1–17.

De Reu, K., Beuckelaere, D. E., Botteldoorn, N., De Block, N. y Hernan, L. (2002). Hygienic parameters, toxins and pathogen occurrence in raw milk cheeses. *Journal of Food Safety*, 22. 183-196.

De Smedt, J. M. (1998). AOAC validation of qualitative and quantitative methods for microbiology in foods. *International J. Food Microbiology,* 45, 25–28

Delbes, C., Alomar, J., Chougui, N., Martin, J. F. y Montel ,M. C. (2006) *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows raw milk. *J Food Prot,* 69, 2161–2167.

Desenclos J, Bouvet, P.y Benz-Lemoine, E. (1996). Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype paratyphi B infection caused by a goat milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *British Medical Journal*; 312, 91-4.

Dewanti, R. y Wong, A. C. L., (1995). Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7. *Int. J. Food Microbiology,* 26, 147–164.

Dijkers, J. H., Huurnink, T., Pennings, P. P. L.,y van den Berg, M. G. (1995). An example of HACCP application in an existing pasteurized milk plant following the codex alimentarius model. *Bulletin of the IDF*, 302, 11-34.

Doyle, M. P., Zhao, T., Meng, J. y Zhao, S. (1997). *Escherichia coli* O157:H7. *In: Food Microbiology: Fundamental and Frontiers* (edited by M.P. Doyle, L.R. Beuchat & T.J. Montville). 171–191.Washington, DC: American Society for Microbiology.

Dunsmore, D. G., Twomey, A., Whittlestone, W. G. y Morgan, H. W. (1981). Design and

performance of systems for cleaning product contact surfaces of food equipment: a review. *Journal of Food Protection*, 44, 220-240.

Eekhof-Stort, N., (1977). The World atlas of cheese. *Paddington Press Ltd*. New York and London.

Egan, M. B., Raats, M. M., Grubb, S. M., Eves, A., Lumbers, M. L., Dean, M.S. y Adams, M.R, (2007). A review of food safety and food hygiene training studies in the commercial sector. *Food Control*; 18, 1180-1190.

Ehiri, J. E. y Morris, G. P. (1996). Hygiene training and education of food handlers: does it work?. *Ecology of Food and Nutrition*, 35 (4), 243–251

El-Gazzar, F. E. y Marth, E. H. (1992). *Salmonella*, salmonellosis, and dairy foods: a review. *J. Dairy Science*, 75, 2327-2343.

Ernstrom, C. A. y Tritsler, R. P. (1965). Fundamentals of dairy chemistry. *B. H. Webb and H. Hohnson. Avi. Publ. Co.* Inc.Wesport, Connec.

Farber, J. M. y Peterkin, P. I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiology, Rev*, 55, 476-511.

Fenlon, D. R., (1996). The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J. Applied Bacteriology,* 81, 641–650.

Fernández-Salguero, J.; Sánchez, E., Gómez, R., Mata, C., Vioque, M. y Tejada, L. A. (1999). Preliminary study of microbiological quality of cardoons of the genus *Cynara* L. used in manufacture of traditional cheeses. *Michwissenschaft, 54*, 688–690.

Flückiger, E. (1964). Grundzüge der Reinigung und Qualitätssichenrungsistems in Melkmaschinenbetrieben, *Schweiz. Milchzeitung*, 90, 3-16.

Fontecha, J., Peláez, C., Juárez, M., Requena, T. y Gomez, C. (1990). Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *Journal of Dairy Science*, 73, 1150-1157.

Fox, P. F. (1993). Cheese: An overview. In P. F. Fox, (Ed.), *Cheese: Chemistry*, *Physics and Microbiology*, 1-36. London: Chapman & Hall

Fresno, M., Darmanin, N., Capote, J. y García, J. M. (1992). Caracterización del queso Artesanal Canario. *Archivos de Zootecnia*, 41, 657-660.

Fresno, M. (2000). Application of sanitary european policy on the canarian farm cheese. *International Conference on Goats*.

Fresno, M., Álvarez, S., Darmanin, N., Batista, P. y Pino, V. (2002). Caracterización del proceso de ahumado del queso Palmero. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 173, 97-92.

Gallot-Lavalleè, T., Lalande, M. y Corrieu, G. (1984). Cleaning kinetics modeling of holding tubes fouled during milk pasteurisation. *Journal Food Protection. Eng*., 7, 123-124.

García, M. (2001). Queso majorero. *Servicio de Publicaciones del Cabildo de Fuerteventura*, 23.

García, M. C., Michinel, M., Franco, I., Prieto, B. y Carballo, J. (1999). La calidad microbiológica de la leche destinada a la fabricación de queso. *Alimentaria*, 36 (308), 53-60.

Gaya, P., Medina, M. y Núñez, M. (1986). *Enterobacteraceae*, coliforms, faecal coliforms and samonelas in raw ewes milk. *Journal of Applied Bacteriology*, 62, 321-326.

Gil, P., Conde, S., Albisu, M, Pérez, F, Etayo, I., Virto, M y Renobales M. (2007). Hygienic quality of ewes' milk cheeses manufactured with artisan-produced lamb rennet pastes. *Journal of Dairy Research*, 74, 329-335.

Gillespie, I., Little, C. y Mitchell, R. (2000). Microbiological examination of cold ready-to-eat sliced meats from catering establishments in the United Kingdom, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 88, 467-74.

Glass, K. A., Loeffelholz, J. M., Ford, J. P. y Doyle, M. P. (1992). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 8, 2513–2516.

Godínez, R., Menéndez, S., Centeno, J. A. y Rodríguez-Otero, J. L. (1999). Calidad higio-sanitaria del queso Tetilla. *Alimentaria,* 303, 145–150.

Gómez-Lucía, E., Goyache, J., Blanco, L., Vadillo, S., Garayzabal, J. y Suárez G. (1987). *Staphylococcus aureus* growth and survival during curding of Manchego type cheese produced with normal and subnormal starter activity. *Z Lebensm Unters Forsch*, 184, 304-307.

Gómez, R., Fernández-Salguero, J. y Sanjuán, E. (1991). Caracterización química del queso Palmero. *Revista de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 31/2, 187-193.

Grasshoff, A. (1992). Zum einflub des komponenten alkalischer reiniger auf die kinetik der ablosung festverkrusteter beläge aus milschbestandtteilen von erhitzerplatten, *Kieler milschwirtschaftliche forschungsberichete*, 40, 139-177

Green, M.L., Foster, C.L. y Britten, M. (1988). Formation and adhesion of deposit to heated surfaces in contact with milk, in fouling in process plant. Institute of Corrosion. *Science and Technology*, London, 183-186.

Griffith, C. J., Davidson, C. A., Peters, A. C. y Fielding, L. M. (1997). Towards a strategic cleaning assessment programme: hygiene monitoring and ATP luminometry, an options ppraisal. *Food Science Technology Today*, 11, 15–24.

Gutiérrez, L. M., Carballo, J., Vidal, I., González-Prieto, J., Martín-Sarmiento, R. y Bernardo, A. (1988). Evolución de los 10 principales grupos microbianos durante la elaboración y maduración de queso de Valdeteja. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León,* 34, 119-126.

Gutiérrez. L. M., Menes. L., García, M. L. Moreno. B. y Bergdoll. M. S. (1982). Characterization and enterotoxigenicity of Staphylococcus isolated from mastitic ovine milk in Spain. *J. Food Protection*, 45, 1282-1286.

Haines, W. C. y Harmon, L. G. (1973). Effect of selected lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxin. *J. Applied Microbiology*, 25. 436-441.

Harding, F. (1991) Alkaline phosphatase test as a measure of correct pasteurization. *Bulletin of the IDF,* 262, 33-34.

Harrigan, W. F. y Park, R. W. A. (1991). *Making Safe Food*. London: Academic Press

Harvey, J. y Gilmour, A. (1985). Application of current methods for isolation and identification of staphylococci in raw bovine milk. *J. Applied Bacteriology*, 59, 207-221.

Helke D. M. y Wong, A. C. L. (1994). Survival and growth characteristics of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and buna-N rubber. *J. Food Protection*, 57(11), 963-8, 974.

Henck, M. (1995). Recycling of used caustic cleaning solutions in the dairy industry by crossflow

filtration. *Bulletin of the International Dairy Federation, Special Issue* 9504, 175–183.

Henson, S. J. y Caswell, J. (1999). Food safety regulation: an overview of contemporary issues. *Food Policy*, Vol. 24 Nº. 6, 589-603.

Henson, S. J., Holt, G. y Northen, J. (1999). Cost and benefits of implementing HACCP in the UK dairy processing sector. *Food Control*, Vol. 10, 99-106.

Hewelink, A. E., Bleuminck, B., Van Den Biggelaar, F. L., Tegiffel, M. C., Beumer, R. R. y De Boer, E. (1998). Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* 0 1 57 in raw cow's milk in The Nederlands. *J. Food Protection*, 61, 1597-1601.

Hood, S. K. y Zottola, E. A. (1995). Biofilms in food processing. *Food Control*, 6, 9-18.

Houhala, K., Levo, S. Mattila-Sandholm, T., Niemi, V. M., Rahkio, M. Saari S. y Wirtanen, G. (1999). Uusi pintahygieniaopas, Elintarvike ja Terveys-lehti, Pori, 12–17.

Hull, R., Toyne, S., Haynes, I. y Lehmann, F. (1992). Thermoduric bacteria: A re-emerging problem in cheesemaking. *Australian Journal of Dairy Technology*, 47. 91-94.

Ikeda, T., Tamate, N., Yamaguchi, K. y Makino, S. (2005). Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2793–2795.

ILSI (1999). Validation and Verification of HACCP, International Life Sciences Institute.

Ilsley, R. A., Jackson, E. D., Mcrae, K. B. y Feirtag, J. M. (2000). A comparision of commercial ATP bioluminescence hygiene monitoring systems with standard surface monitoring techniques in a baking facility. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 20, 522-526.

Irkin, R. (2010). Determination of microbial contamination sources for use in quality management of cheese industry: Dil cheese as an example. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5, 91-96.

Jackson, A. T. (1985). Cleaning of Food Processing Plant. In: Thorne S, *Developments in Food Preservatio,-3*, Vol. 3. New York. Elsevier Science Publ. Co. 95–125.

Jennings, W. G. (1965). Theory and practice of hard surface cleaning. *Advances in Food*

Research, 14, 325-449.

Jervis, D. I. (1994). A Manufacturer's View on How to Achieve Microbiological End-product Criteria. *Bulletin of the IDF*, 276, 36–43.

Jones, K. y Bradshaw, S. B. (1997). Synergism in biofilm formation between *Salmonella enteritidis* and a nitrogen-fixing strain of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Applied Microbiology,* 82, 663-668.

Jordan, N. K., Oxford, L. y O'byrne, C. P. (1999). Survival of low pH stress by *Escherichia coli* O157:H7 a correlation between alternations in the cell envelope and increased acid tolerance. *Applied and Environment Microbiology*, 65, 3048–3055.

Jordano, R. (1987). Relationship between airbone contamination by yeast and moulds and packaging system in comercial yogurt. *Microbiol. Aliment. Nutr*, v. 5, Nº 3, 253-255.

Joseph, B., Otta, S. K. y Karunasagar, I. (2001). Biofilm formation by *Salmonella spp*. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *Int. Food Microbiology*, 64, 367-372.

Kasková, A., Ondrasovicová, O., Vargová, M., Ondrasovic, A. y Venglovsky, J. (2006). Application of peracetic acid and quaternary ammonium disinfectants as a part of sanitary treatment in a poultry house and processing plant. *Zoonoses and Public Health*, 54, 125-130.

Kosikowski, F. (1977). Cheese and fermented milk foods. 2ª *Edt. Edwards Brothers*, Inc., Ann Arbor, MI. New York.

Kozak, J., Balmer, T., Byrne, R. y K. Fisher. (1996). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods: Incidence in dairy products. *Food Control.* Vol. 7, Issues 4-5, August-October, 215-221.

Kumar, S. y Singh, R., (1994). *Yersinia enterocolitica* as an emerging foodborne pathogena review. *Indian J. Dairy Science.* 47, 537–544.

Kyriakides, A. L. y Patel, P. D. (1994) Luminescence techniques for microbiological analysis of foods. *Rapid Analysis Techniques in Food Microbiology,* 196-231. London: Blackie Academic & Professional.

Landis, R. J. y Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics,* 33, 159-174.

Larpent, J. P. (1994). Leche y productos no fermentados. En Bourgeois, C. M., Mescle, J. F. y Zucca. Microbiología Alimentaria. Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. *Edt. Acribia*. Zaragoza. 472-525.

Le Jaouen, J. C. y Simiane, M. (1986). Breeding Systems of dairy goats with cheese making on the farm in France. *Bull Of FIL*. Nº 202, 5.

Lee Wong, A. C. (1998). Biofilms in Food Processing Enviroments. *Journal Dairy Science,* 81, 2765-2770.

Lee, Y. y Nelder, J. A. (2004). Conditional and Marginal Models: Another View. *Statistical Science*, 19, 219-238.

Leon, M. B. y Albrecht, J. A. (2007). Comparison of adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence and aerobic plate counts (APC) on plastic cutting boards. *Journal of Foodservice.* Vol. 18 Issue 4, 145-152.

Leveau, J. L. y Bouix, M. (2002). Manual Técnico de limpieza y desinfección. Edt. AMV Ediciones y Mundiprensa. Madrid.

Limsowtin, G. K. y Powell, I. B. (1996). Milk quality for cheesemaking. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 51(10), 98-100.

Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D. W., Yonekura, M. L., Hayes, P. y Weaver, R., (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *Journal of Medicine*. Volume 319, 823-828.

Little, C. L, Rhoades, J. R., Sagoo,S. K. Harris, J.,Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K. y McLauchlin, J. (2007). Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*. Vol. 25, Issue 2, 304-312.

Lopes, J. A. (1986). Evaluation of Dairy and Food Plant Sanitizers Against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Dairy Science*. Vol. 69, Issue 11, November 1986, 2791-2796.

López-Díaz, Y., Alonso, M. C., Santos, J., García, M. L. y Moreno, B. (1995). Microbiological changes during manufacture and ripening of a naturally ripened blue cheese (Valdeón, Spain). *Milchwissenschaft*, 50, 381-384.

Lunden, J. M., Miettinen, M. K., Autio, T. J. y Korkeala, H. J. (2000). Persistent *Listeria monocytogenes* strains show enhanced adherence to food contact surface after short contact time. *J. Food Protection*, 63(9), 1204-1207.

Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M., Ataca, M, Mikkola, J, Anttila, V. J., Johansson, T., Rantala, L., Aalto, T., Korkeala, H. y Siitonen, A. (2000). An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J. Infectious Diseases*, May, 181(5),1838-1841.

Mackintosh, R. D. (1990). Hygiene monitoring in the food processing industry. *Eur. Food Drink Rev*. 55-58.

Maher, M. M., Jordan, K. N., Upton, M. E. y Coffey, A. (2001). Growth and survival of *E. coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of a smear-ripened cheese produced from raw milk. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 201–207.

Manis, M. G. Pearson, A. M. y Dutson, T. R. (1995). The HACCP system and how it fits into FSIS programs. HACCP in Meat, Poultry and Fish Processing. 9-35. Blackie Academic and Professional, London.

Marier, R., Wells, J. G., Swanson, R. C., Callahan, W. y Mehlman, I. J. (1973). An outbreak of entero-pathogenic *E. coli* foodborne disease traced to imported French cheese. *Lancet*, 2, 1376-1378.

Martínez, E. y Varela, M. (2008). Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. España, 2004-2007. *Boletín epidemiológico semanal*. Semana 48, volumen. 16. 241-252.

Martínez, F. y Vendrell, J. (1999). Implantación del sistema de evaluación de la higiene en las lonjas pesqueras. *Ciencias Veterinarias*. Marzo.

Mas, M., Timón, J. y González, J. (1991). Queso de Ibores: caracterización productiva, físico-química y microbiológica. *Archivos de Zootecnia*, 40, 103-113.

Matute, C. y Abadía, N. (2008). Epidemiología de la listeriosis en Canarias. Evolución en el periodo 1998-2007. Centro Nacional de Epidemiología.

Maubois, J. L. y Mocquot, G. (1971). L`appréciation des rendements en fromagerie. *Le Lait*, 507, 416-420.

Medina, M., Gaya, P. y Núñez, M. (1992). Gredos goats' milk cheese: microbiological y chemical changes throughout ripening. *Journal of Dairy Research,* 59, 563-566.

Michaels, B., Gangar, V., Schultz, A., Arenas, M., Curiale, M., Ayers, T. y Daryl, P. (2002). Water temperature as a factor in handwashing efficacy. *Food Service Technology.* Blackwell Science Ltd. 2, 139–149.

Mittelman, M. W. (1998). Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. *Journal of Dairy Science*, 81, 2760–2764.

Moatsou, G., Moschopoulou, E., Georgalam, A., Zoidou, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S. y Anifantakis, E. (2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, 88 (4), 517–525.

Moore, G. y Griffith, C. (2002). A comparison of traditional and recently developed methods for monitoring surface hygiene within the food industry: an industry trial. *International Journal of Environmental Health Research*, 12, 317-329.

Morand-Fehr, P., Sanz Sampelayo, M. R., Fedele, Y. V., Le Frileux, Y. Eknaes, M., Chmidely, P. H., Giger Reverdin, S., Bas, P., Rubino, R., Havrevoll, O. y Sauvant, D. (2000). Effects of feeding on the quality of goat's milk and cheeses. In: *Proceedings of the 7th. International Conference on Goats*, 53-58.

Moreno., B. (2003). El sistema HACCP: requisitos previos, elaboración del plan inicial, validación y verificación de su funcionamiento. *Eurocarne*, Nº 115, 79-92

Moro, C y Pons, B. (1987). Los quesos de Castilla y León*. Edit. Agrícola Española*, S.A. Madrid. 124.

Mortimore, S. (2001). How to make rally work in practica. *Food Control*, 12, 209-215.

Mortimore, S. y Wallace, C. (1994). HACCP. *A practical approach.* Chapman and Hall, London.

Mortimore, S. y Wallace, C. (1998). HACCP: A Practical Approach, *Aspen Publishers*, Gaithersburg, MD.

Mossel, D. A. A., Corry, J. E. L., Struijk, C. B. y Baird, R. M. (1995). Essentials of the Microbiology of Foods. *A Textbook for Advanced Studies* John Wiley & Sons, New York.

Motarjemi, Y. y Kaferstein, F. (1999). Food safety, hazard analysis and critical control point and the increase in food borne diseases: a paradox?. *Food Control*, Vol. 10, 325-333.

Muehlherr, J. E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J. E. y Stephan, R., (2003). Microbiological quality of bulk-tank raw milk of goat and ewe in Switzerland. *J. Dairy Science*. 86, 3849–3856

Murphy, S. C., Kozlowski, S. M., Bandler, D. K. y Boor, K. J. (1998). Evaluation of Adenosine Triphosphate-Bioluminescence Higiene Monitoring for Trouble-Shooting Fluid Milk Shelf-Life Problems. *Journal Dairy Science*, 81, 817-820.

Naguib, M. M., Sabbour, M. M. y Nour, M. M. (1979). The effect of salting rate and initial count of *Salmonella typhi* in Domiati cheese milk on its longevity during pickling. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 30, 150–151.

Núñez, M., Gaya, P. y Medina, M. (1995). Influence of manufacturing and ripening conditions on the survival of *Enterobacteriaceae* in Manchego cheese. *Journal of Dairy Science,* 68, 794–800.

Ogden, K. (1993). Practical experience of hygiene control using ATP-bioluminescence. *J. Inst. Brewing,* 99, 389-393.

Oksuz, O., Arici, M., Kurultay, S. y Gumus, T. (2004) Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*, 15 (6), 453-456.

Oksuztepe, B., Patir, B. y Calicioglu, M. (2005). Identification and distribution of lactic acid bacteria during the ripening of Savak Tulum cheese. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 29, 873–879.

Olarte, C., Sanz, S., González, E. y Torre P., (1999). Microbiological and physicochemical characteristics of Cameros cheese. *Food Microbiology*, 16(6), 615-621.

Orth, R. (1998).The importance of disinfection for the hygiene in the dairy and beverage production. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 201-208.

Oteri, T. y Ekanem, E. E. (1992). Food hygiene behaviour of hospital food handlers. *Public Health* 18, 97–100.

Páez, R., Taverna, M. y Charlon, V. (2003). Application of ATP bioluminiscence technique for asessing cleanliness of milking equipment, bulk tank and milk transport tankers. *Food*

Propection Trends, 23, 308-314.

Panisello, P. J. y Quantick, P. C. (2001). Technical barriers to hazard analysis critical control point (HACCP). *Food Control,* 12 3, 165–173.

Parmentier, M. (1997). Conception, conditionnement et utilisation des locaux. *Le fromage* .3rd Edition. 611-643. *Technique and Documentation*. London.

Pascual, M. R. y Calderón, V. (2002). Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. *2º Edición. Edt. Díaz de Santos*. Madrid.

Paulson, B. O. (1989). Removal of Wall Deposits in Turbulent Pipe Flow. PhD Thesis, Univ. Lund, Lund. Sweden

Peláez, P., Fresno, M., Díaz, C. y Darias, J. (2003). Caracterización físico-química de quesos frescos elaborados en la isla de Tenerife. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4, vol. 2, 103-108.

Perlat, M. N., Lalande, M. y Corrieu, G. (1986). Cleaning a UHT milk steriliser. Use of alkaline and acid detergentes and kinetic aspects. *Le lait*, 66, 268-271.

Piredda, G. y Addis, M. (2003). Lamb rennet paste used in sheep milk cheeses manufactured in Sardinia. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 54 (4), 225–235.

Plett, E. y Loncin A. (1981). The rinsing problem in the food industry, En Hallström B, Lund DB, Tragardh C. H., (Edt.), Fundamentals and Applications of Surface Phenomena Associated with Fouling and Cleaning in Food Processing, Lund University, Alnarp, Sweeden, 365-367.

Poda. G., Cesaroni. D., Bucci, M. A., Chetti, L., Rossi, L., Marliani, A. y Bragaglia. B. (1995). Caratterizzazione batteriologica dei ceppi di taglio in uso nelle macellerie. *Igiene Moderna,* 103, 385–403.

Pohland, A. E. (1994). Mycotoxins in review. *Food Additives and Contaminants,* 10, 17-28.

Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E. y Fritz, F. (2002). Characterization of native microbial populations on Swiss chard (*Beta vulgaris*, type cicla) cultivated by organic methods. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.* Vol. 36, Issue 2, 183-188.

Poulis, J. A., de Pijper, M., Mossel, D. A. y Dekkers, P. P. (1993). Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the rapid ATP-bioluminescence technique combined with

the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method. *Int. J. Food Microbiology,* 20 (2), 109-116.

Poullet, B., Huertas, M., Sánchez, A., Cáceres, P. y Larriba, G. (1991).Microbial study of Casar of Cáceres cheese trought ripening. *Journal of Dairy Research*, 58, 231-238.

Powell, S. C. y Attwell,' R. W. (1997). The use of ATP-bioluminescence as an objective measure of food hygiene standards. *International Journal of Environmental Health Research,* 7, 47-53.

Powell, S. C. y Attwell,' R. W. (1995). A comparative study of food retail premises by means of visual inspection and microbiological quality of food. *Epidemiology and Infection*, 114, 143-151.

Price, P. B. (1938). The bacteriology of normal skin; a new quantitative test applied to a study of the bacterial flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. *Journal of Infectious Disease,* 63, 301-18.

Quintanilla, M. A. y Peña, E. (1991). El rendimiento quesero. *Alimentaria,* 3, 39-42.

Ramsaran, H., Chen, J., Brunke, B., Hill, A. y Griffiths, M. W. (1998). Survival of bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in soft cheeses. *J. Dairy Science,* 81. 1810-1817.

REIFF, (1970). Reinigungs-Und Desinfektionsmittel im Lebensmittelbetrieb. J. Schormüller. Handbuch der Lebensmittelchemie. Band IX, S. 703-781, Springer Verlag, Berlín.

Reinemann, D. J., Wolters, G. M. y Billon, P. (2003). Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. *Bulletin of the International Dairy Federation,* 4-18; 37 ref.

Reinemann, D. J. y Ruegg, P. (2000). An investigation of ATP Bioluminescence and quantitave bulk tank cultures to assess cleanliness of milking machines. *Written for presentation at the 2000 ASAE annual International Meeting. Milwaukee*, Wisconsin, USA.

Reitsma, C. J., y Henning, D. R., (1996). Survival of enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7 during the manufacture and curing Cheddar cheese, *Journal of Food Protection,* 59, 460–464.

Robinson, R. K. y Wilbey, R. K. (2002). Fabricación de queso. *Edt. Acribia*. Zaragoza.

Russel, P. (1993). The formation of biofilms. *Milk Industry*, 95(9), 10–11.

Russell, A. D., Hugo, W. B. y Ayuffe, G. A. (1982). Principles and practice of Desinfection, Preservation and Sterilisation. *Oxford, Blackwell Scientific Publications*.

Salo, S. C., Ehavald, H. Raaska, L., Vokk y R y Wirtanen, G. (2006).Microbial surveys in Estonian dairies. *Food Science and Technology,* Volume 39, Issue 5, June, 460-471.

Salo, S., Alanko, T **.** Sjöberg, A. M. y Wirtanen, G. (2002). Validation of the Hygicult® E Dipslides Method in Surface Hygiene Control: A Nordic Collaborative Study. *J. AOAC International,* 85, 388–394.

Salo, S., Laine, A., Alanko, T., Sjöberg, A.-M., y Wirtanen, G. (2000). Validation of the Microbiological Methods Hygicult Dipslide, Contact Plate, and Swabbing in Surface Hygiene Control: A Nordic Collaborative Study. *J. AOAC International*, 83, 1357-1365.

Salo, S., Storgårds, E. y Wirtanen, G. (1999) in 30th R3 Nordic Contamination Control Symposium, VTT Symposium 193, G. Wirtanen, S. Salo, & A. Mikkola (Eds), Libella Painopalvelu Oy, Espoo, Finland, 187–198.

Sampayo, F., Vázquez, C. A., Belda, B., Rodríguez-Otero, J. L., Franco, C., Quinto, E. y Cepeda, A. (2002). Microflora predominante en las queserías de Arzúa (España). Cyta. *Journal of Food,* vol. 3, Issue 5, 271-276.

Sánchez-Serrano, L. (1998). Listeriosis. *Boletín Epidemiológico Semanal*. Vol. 6/nº 31, 297-299.

Sandrou, D. K. y Arvanitoyannis, I. S. (2000). Application of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the cheese-making industry: a review. *Food Reviews International,* Volume, 16, Issue 3, 327-368.

Sanjuán, E., Millán, R., Saavedra, P., Carmona, M. A., Gómez, R. y Fernández-Salguero, J. (2002). Influence of animal and vegetable rennet on the physicochemical characteristics of Los Pedroches cheese during ripening". *Food Chemistry*, 78, 17-25

Savage, R. (1995). HACCP: a review. *Food Rev. Int.* 11:4, 575-595.

Scherrer, D., Corti, S., Muehelherr, J. E., Zweifel, C. y Stephan, R. (2004). Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of

goats and sheep. *Veterinary Microbiology*, 101, 101-107

Schmid, T., Panne, U., Adams, J. y Niessner, R. (2004). Investigation of biocide efficacy by photoacoustic biofilm monitoring, *Water Research* 38, 1189–1196.

Seeger, K., y Griffiths, M. y Mansel, W. (1994). Adenosine triphosphate bioluminescence for Hygiene Monitoring in Health Care Institutions. *Journal of Food Protection*, Vol. 57, Number 6, June 1994, 509-512 (4).

Serrano, C. E, García, C, Medina, L. M, y Serrano, E. (1997). Estudio físico-químico del queso manchego con denominación de origen. *Alimentaria*. Abr. 81-82.

Sharma, M. y Anand, S. K. (2001). Biofilm evaluation as an essential component of HACCP for food/dairy processing industry - a case. *Food control*, 13, 469-477.

Sheridan, J. J. (2000). Monitoring CCPs in HACCP systems. In: "*HACCP in the Meat Industry*, M. Brown (Editor), Woodhead Publising Limited, 203-230.

Silva, I., Almeida, R. C. C., Alves, M. A. O. y Almeida, P. F. (2003). Occurrence of *Listeria spp.* in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 81, Issue. 3, 241-248.

Sperber, W. H., Stevenson, K. E., Bernard, D. T., Deibel, K. E., Moberg, L. J., Hontz, L. R. y Scott, V. N. (1998). The role of prerequisite programs in managing a HACCP system. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 18 (7), 418-423.

Stannard P. A. y Gibbs. (1986). Rapid Microbiology: Applications of Bioluminescence in the Food Industry — A Review, *J. Bioluminescence and Chemiluminescence,* 1, 3–10.

Steele, J. L. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to cheese ripening. *In: E.L. Malin and M.H. Tunick,* Editors, Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese, Plenum Press, New York, 209–220.

Stern J. J. y Kazmi, S. U. (1989). Campylobacter jejuni. In: M. P. Doyle, Editor, *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel Dekker, New York, 71–110.

Teuber, M. (1992). Microbiological problems facing the dairy industry. *Bulletin of the IDF*, 276, 6-9.

Tauxe, R. V. (1997). Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 425–434.

Tebbutt, G. M. (2007). Does microbiological testing of foods and the food environment have a role in the control of foodborne disease in England and Wales?. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 883-891.

Tebbutt, G., M. (1999). Comparison of traditional and rapid methods for assessing the risk of bacterial cross-contamination from cutting boards. *Int. J. Environmental Health Research.* 9 (1), 67–74.

Tebbutt, G. M. y Midwood, C. A. (1990) Journal of Rapid and Traditional Methods of Assessing Cleaning Standards in Food Premises. *Environ. Health,* 98, 235-237.

Tello, O. y Sanchez, L. P. (1992). Vigilancia de la *Listeria*. En *Listeria* en Alimentos, *Conferencia Consenso*. Ministerio de Sanidad y Consumo.167-162.

Tilden Jr., J., Young, W., McNamara, A. M., Custer, C., Boesel, B., Lambert-Fair, M.A., Majkowski, J., Vugia, D., Werner, S. B., Hollingsworth, J. y Morris, J. G. (1996). A new route of transmission for *Escherichia coli*: Infection from dry fermented salami. *American Journal of Public Health,* 86 8. 1142–1145.

Todd, E. (1978). Food-borne diseases in six countries - a comparison. *J. Food Protection*. 41, 559-565.

Todd, E., Szabo, R., Bobern, H., Gleeson, R, Park, C. y Clard, D.S. (1981). *Journal Food Protection*, 44. 839-848.

Tones, B. K. y Tilford, S. (1994). Health education: effectiveness efficiency and equity (2nd ed.), Chapman & Hall, London

Tornadijo, M. E., Fresno, J. M., Bernardo, A., Martin-Sarmiento, R. y Carballo, J. (1995). Microbiological changes throughout the manufacturing and ripening of a Spanish goat's raw milk cheese (Armada variety). *Le Lait* 75.

Trepat, M. (2002). Incidencia de comportamiento de *Salmonella* y *Listeria* en pechuga de pavo curadas. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

Valle. J., Gómez-Lucia, E., Piriz, S., Goyachc. J., Orden, J.A. y Vadillo. S. (1990) Enterotoxin

Production by Staphylococci Isolated from Healthy Goats. *Applied Environ*. *Microbiology,* 56, 1323-1326.

Van den Berg, M. G. (1986). Quality assurance for raw milk in the Netherlands, Neth. Milk Dairy J., 40, 69–84.

Van Schothorst, M. y Kleiss, T. (1994). HACCP in the dairy industry. *Food Control*. Volume 5, Issue 3, 162-166.

Vanne, L., Karwoski, M., Karppinen, S. y Sjöberg, A. M. (1996) *Food Control*, 7, 263–276.

Varnam, A. H. y Sutherland, J. P. (1996). Milk and Milk Products: Technology*,* chemistry and microbiology. *Chapman and Hall*, London.

Vaz-Velhoa, M., Duartea, G. y Gibbs, P. (2000).Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of Listeria monocytogenes from production lines of fresh to cold-smoked fish. *Journal of Microbiological Methods*, 40, 147–151.

Velázquez, M. y Feirtag, J. M. (1996) Quenching and enhancement effects of ATP extractants, cleaners, and sanitizers on the detection of the ATP bioluminescence signal. *Journal of Food Protection,* 60, 799 803.

Verdés, C. (2004). Limpieza de moldes de queso microperforados. *Alimentación equipos y Tecnología,* Septiembre, 92-98.

Vernozy-Rozand, C. (2005). Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of raw goat milk lactic cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 105, Issue 1, 15 November. 83-88.

Walker, E., Pritchard, C. y Forsythe S. (2002). Food handler's hygiene knowledge in small food businesses, Food Control 14 (5), 339–343.

Wallace, C. y Powell, S. (2005). Development of methods for standardised HACCP assessment. *British Food Journal*. Vol. 107, Nº. 10, 723-742.

Wallace, C. y Williams, T. (2001), Pre-requisites: a help or a hindrance to HACCP?, *Food Control*, Vol. 12. 235-240.

Wang, G., Zhao, T. y Doyle, M. P., (1997). Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in

unpasteurized and pasteurized milk. *Journal of Food Protection,* 60 (6), 610–613.

Wigley, R. C. (1996). Cheese and whey. *In industrial Enzymology*. 135-154. (Edt. *T. Godfrey & S. West*). London. Macmillan Press.

Wildbrett, G., (2000). Limpieza y desinfección en la Industria Alimentaria. *Edt. Acribia*, Zaragoza.

Wildbrett, G. (1990). Reinigen in der Milchwirtschatt. *Dtsch. Milchwirtschatt,* 41 229–238.

Wirtanen, G. (1995) Biofilm Formation and Its Elimination. *Edt. Espoo : Technical Research Centre of Finland*. VTT publications, 251.

Wirtanen, G., Nissinen, V. y Tikkanen L. (1995). Use of Photobacterium leiognathi in studies of process equipment cleanability. *International Journal of Food Sceince & Technology*, 30, 523-533.

Wirtanen, G. y Salo, S. (2004). *DairyNET—hygiene control in Nordic dairies* (253-263). VTT Publication 545. Espoo: Otamedia Oy, ISBN 9513864081

Wirtanen, Storgårds, Saarela, Salo, y Mattila-Sandholm (2000). Detection of biofilms in the food and beverage industry. In: J. Walker, S. Surman and J. Jass, *Editors, Industrial biofouling, Wiley, Chichester*, 175–203.

Woolley, Sir Leonard y Hall, H. R. (1931). Ur of the Chaldees, *Ernest Benn* Ltd, London.

Zárate, V., Belda, F., Pérez, C. y Cardell, E. (1997). Changes in the microbial flora of Tenerife goat's milk cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 7, 635–641

Zerfiridis, G. K. (1997). Technology of milk products, Cheese making (vol. 155-163, 165-169, 3rd Edn.). Greece: Thessaloniki.

Zschaler, R. (1989). Good Manufacturing Practice (GMP) in der Lebensmittelindustrie, *Zbl. Bakt. Hyg. B,* 187, S. 546-556.

Zweifel, C., Rusch, M., Corti, S. y Stephan, R. (2006). Determination of variousmicrobiological parameters in raw milk and raw milk cheese produced by biofarms. *Archiv für Lebensmittelhygiene,* 57. 13–16.

VIII. ANEXOS

VIII. ANEXOS

VIII.1. Modelo de encuesta APPCC de las industrias lácteas.

CUESTIONARIO APPCC PARA LAS INDUSTRIAS LÁCTEAS

IMPLANTACIÓN

1. ¿Conoce la normativa del Real Decreto 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios?.
- ❑ Si
- ❑ No
- ❑ NS
- ❑ NC

2. ¿Tiene la empresa implantado el sistema de autocontrol APPCC.?
- ❑ Si
- ❑ No (STOP)
- ❑ NS
- ❑ NC

3. ¿Desde cuándo?
- ❑ Menos de un año
- ❑ De uno a dos años
- ❑ De dos a tres años
- ❑ De tres a cuatro años
- ❑ De cuatro o más años
- ❑ NS
- ❑ NC

4. ¿Quién implantó el APPCC?.
- ❑ Técnicos de la propia empresa.
- ❑ Una empresa especializada externa.
- ❑ Combinación de ambas
- ❑ NS
- ❑ NC

5. En relación a los registros, indique dónde se llevan a cabo:
- ❑ Almacén de materias primas
- ❑ En alguna línea de producción
- ❑ En todas las líneas de producción
- ❑ En almacén de productos terminados
- ❑ Otras. Especificar _____
- ❑ En toda la fábrica
- ❑ No se hacen registros (pasar a pregunta 8)
- ❑ NS
- ❑ NC

6. ¿Con qué frecuencia se realizan los registros?.
- ❑ Por lotes.
- ❑ Diaria.
- ❑ Cada dos días.
- ❑ Otros. Especificar _____
- ❑ Ninguna (pasar a pregunta 8)
- ❑ NS

- ❑ NC

7. ¿Con qué frecuencia se revisan las hojas de registro de los Puntos Crítico de Control?.
- ❑ Diariamente
- ❑ Cada tres días
- ❑ Semanalmente
- ❑ Mensualmente
- ❑ Cuando hay problemas
- ❑ Otros
- ❑ NS
- ❑ NC

8. ¿ Con qué frecuencia revisan los informes sobre acciones correctoras?.
- ❑ Semanalmente
- ❑ Mensualmente
- ❑ Semestralmente
- ❑ Según las exigencias del producto de fabricación
- ❑ Otras
- ❑ NS
- ❑ NC

9. ¿Qué importancia concede usted a los registros de los Puntos de Control Críticos?.
- ❑ Nada importante
- ❑ Poco importante
- ❑ Importante
- ❑ Bastante importante
- ❑ Fundamental
- ❑ NS
- ❑ NC

10. ¿Qué importancia le concede Ud a la implantación del APPCC?
- ❑ No es necesario
- ❑ De poca necesidad
- ❑ Necesaria
- ❑ Bastante necesario
- ❑ Fundamental
- ❑ NS
- ❑ NC

11. ¿Por qué tiene implantado el APPCC ?.
- ❑ Por mejorar la calidad del producto final
- ❑ Exigencias de los clientes
- ❑ Imperativo legal
- ❑ Porque mejora los beneficios
- ❑ Otras
- ❑ NS
- ❑ NC

12. ¿Cómo valoraría el funcionamiento del APPCC en su empresa?
- ❑ Malo
- ❑ Regular
- ❑ Bueno
- ❑ Muy bueno
- ❑ Excelente
- ❑ NS
- ❑ NC

13. ¿Qué es lo que más le gusta del APPCC en su empresa?.
- ❑ Adaptabilidad a su empresa.

- ❑ Realmente es eficaz en la prevención de peligros
- ❑ Rentabilidad
- ❑ Trazabilidad
- ❑ Otros
- ❑ NS
- ❑ NC

14. ¿Qué es lo que menos gusta del APPCC en su empresa?.(Responder tres características por orden de preferencia).

1º _____
2º _____
3º _____

15. ¿Qué mejoraría del APPCC en su empresa?. (Responder tres características por orden de preferencia).

1º _____
2º _____
3º _____

FUNCIONAMIENTO

A continuación, vamos a realizar una serie de preguntas sobre el funcionamiento del APPCC.

16. ¿A qué nivel considera Ud que se encuentra el funcionamiento del APPCC. en su empresa?.
- ❑ Almacén de materias primas
- ❑ Línea/s de producción
- ❑ Almacén de producto terminado
- ❑ Ninguno de los mencionados
- ❑ NS
- ❑ NC

17. ¿Qué departamento gestiona el APPCC?.
- ❑ Departamento de calidad
- ❑ Producción
- ❑ Lo gestiona toda la fábrica
- ❑ Otros.
- ❑ NS
- ❑ NC

18. ¿Qué personal fue contratado?
- ❑ Técnico de grado superior
- ❑ Técnico de grado medio
- ❑ Técnico de F.P.
- ❑ Personal sin formación específica
- ❑ Ninguno
- ❑ NS
- ❑ NC

19. ¿Existía un manual de buenas prácticas de manipulación de los operarios, antes de la implantación del APPCC?.
- ❑ Si
- ❑ No
- ❑ Otros. Especificar _____
- ❑ NS

- ❑ NC

20. En cuanto a la formación de los operarios, ¿cómo fue la formación que recibieron antes de la implantación del APPCC y cómo es actualmente?.

Antes	Actualmente
❑ Continua	Continua.
❑ Periódica	Periódica
❑ Puntual	Puntual
❑ Ninguna	Ninguna
❑ Otras	Otras
❑ NS	NS
❑ NC	NC

21. ¿Qué tipo de formación recibieron los operarios antes de la implantación del APPCC y qué tipo de formación reciben actualmente?

Antes	Actualmente
❑ Teórica	Teórica
❑ Práctica	Práctica
❑ Teórico-Práctica	Teórico-práctica
❑ NS	NS
❑ NC	NC

22. En cuanto a la formación de los técnicos, ¿cómo fue antes de la implantación del APPCC y cómo es actualmente?.

Antes	Actualmente
❑ Formación externa	Formación externa
❑ Formación en la propia empresa	Formación en la propia empresa
❑ Otros. Especificar _____	Otros. Especificar _____
❑ No hubo formación	No hay formación
❑ NS	
❑ NC	

23. ¿ Cómo valoraría el trabajo de los operarios antes y después de la puesta en marcha del APPCC?.

Antes	Actualmente
❑ Malo	Malo
❑ Regular	Regular
❑ Bueno	Bueno
❑ Muy bueno	Muy bueno
❑ Excelente	Excelente
❑ NS	NS
❑ NC	NC

24. ¿Qué destacaría del trabajo de los operarios con el APPCC?
- ❑ Se identificación con la política de la empresa
- ❑ Se sienten parte necesaria del equipo de trabajo
- ❑ Su motivación
- ❑ Su cooperación
- ❑ La mejora en su rendimiento
- ❑ Nada de lo mencionado
- ❑ Todo
- ❑ Otros
- ❑ NS
- ❑ NC

25. Díganos, ¿en qué medida ha cambiado la metodología de trabajo de la empresa tras la implantación del APPCC?.

- ❑ No ha cambiado nada
- ❑ Ha cambiado muy poco
- ❑ Ha cambiado poco
- ❑ Ha cambiado bastante
- ❑ Ha cambiado mucho
- ❑ NS
- ❑ NC

26. ¿Cómo valoraría este cambio?.

- ❑ Nada significativo
- ❑ Poco significativo
- ❑ Significativo
- ❑ Bastante significativo
- ❑ Muy significativo
- ❑ NS
- ❑ NC

FACTOR DE RENTABILIDAD

A continuación vamos a realizarle una serie de preguntas acerca de la rentabilidad derivada del funcionamiento del APPCC.

27. ¿Qué acogida ha tenido entre los clientes la puesta en marcha del APPCC?.

- ❑ Malo
- ❑ Regular
- ❑ Bueno
- ❑ Muy bueno
- ❑ Excelente
- ❑ NS
- ❑ NC

28. ¿Qué departamento se ha beneficiado más de la implantación del APPCC?.

- ❑ Recepción de materias primas
- ❑ Producción
- ❑ Envasado
- ❑ Almacén
- ❑ Otros
- ❑ Todos por igual
- ❑ Ninguno
- ❑ NS
- ❑ NC

29. ¿Cómo evaluaría Ud los siguientes aspectos?:

	Nada	Muy poco	Poco	Bastante	Mucho	NS	NC
• reducción del coste unitario de producción							
la mejora de calidad del producto final							

30. Tras la implantación, díganos en qué medida ha aumentado o ha disminuido los siguientes aspectos:

	Ha disminuido mucho	Ha disminuido algo	Sigue igual	Ha aumentado algo	Ha aumentado mucho	NS	NC

- la eliminación de peligros en los alimentos
- el balance económico

31. ¿Cómo valoraría el grado de satisfacción de los clientes con respecto al APPCC?.

Antes	Actualmente
❑ Malo	Malo
❑ Regular	Regular
❑ Bueno	Bueno
❑ Muy bueno	Muy bueno
❑ Excelente	Excelente
❑ NS	NS
❑ NC	NC

32. De las siguientes afirmaciones, díganos en qué medida está Ud de acuerdo con ellas:

	Nada	Poco	Muy poco	Bastante	Mucho	NS	NC
• el nivel de producción ha aumentado							
• la cantidad de productos defectuosos ha disminuido							
• la devolución de los clientes ha disminuido							

OPINIÓN GENERAL

33. ¿Qué opinión le merece el APPCC como sistema de autocontrol alimentario?
❑ Malo
❑ Regular
❑ Bueno
❑ Muy bueno
❑ Excelente
❑ NS
❑ NC

34. ¿ Qué es lo que más le gusta del sistema APPCC en general? (Citar tres características por orden de preferencia?

1. _____
2. _____
3. _____

35. ¿Qué es lo que menos le gusta del sistema APPCC en general? (Citar tres características por orden de preferencia?.

1. _____
2. _____
3. _____

36. ¿Qué mejoraría del sistema APPCC en general? (Citar tres características por orden de preferencia?

1. _____
2. _____
3. _____

37. ¿En qué grado de cumplimiento, el sistema APPCC satisface con todas las expectativas para lo cuál fue diseñado?
- ❑ En nada
- ❑ En muy poco
- ❑ En poco
- ❑ En mucho
- ❑ En todo
- ❑ NS
- ❑ NC

OPINIÓN

En general, que opinión le merece el sistema de autocontrol APPCC, respecto a:

38. Implantación:
- ❑ Es difícil y costosa económicamente
- ❑ Es difícil y económica
- ❑ Es fácil y costosa
- ❑ Es fácil y económica
- ❑ NS
- ❑ NC

39. Funcionamiento:
- ❑ Operativamente es complicado y precisa de una formación especial de operarios
- ❑ Operativamente es complicado y no precisa de una formación especial de operarios
- ❑ Operativamente es sencillo y precisa de una formación especial de operarios
- ❑ Operativamente es sencillo y no precisa de una formación especial de operarios
- ❑ NS
- ❑ NC

40. Rentabilidad
- ❑ Proporciona una alta calidad del producto final y ahorro económico
- ❑ Proporciona una alta calidad del producto final sin ahorro económico
- ❑ Proporciona una alta calidad del producto final con pérdidas económicas
- ❑ Proporciona una calidad normal del producto final y ahorro económico
- ❑ Proporciona una calidad normal del producto final sin ahorro económico
- ❑ Proporciona una calidad normal del producto final con pérdidas económicas
- ❑ NS
- ❑ NC

OBSERVACIONES:

INCIDENCIAS:

Firma del entrevistador:
El abajo firmante declara bajo su responsabilidad que:
- la persona que ha contestado ha sido seleccionada de acuerdo con las normas establecidas
- las preguntas se han realizado tal como se indican en el cuestionario y según las instrucciones recibidas
- la entrevista se ha realizado de forma personal

Firma: _____

VIII.2. Modelo de encuesta LD de las industrias lácteas.

Encuesta de LD y formación de manipuladores de alimentos

NOMBRE DEL ENCUESTADOR:
NOMBRE DE LA EMPRESA:
NOMBRE DEL ENTREVISTADO:
CARGO EN LA EMPRESA:
TITULACION:
FECHA DE LA ENTREVISTA:
HORA DE INICIO:
HORA DE FINALIZACIÓN:
ENCUESTA Nº:

Producción:

1. ¿Cuántos kg de leche son procesados diariamente en esta planta?

- Menos de 1000 litros de leche
- Entre 1000 y 3000 litros de leche
- Entre 3000 y 6000 litros de leche
- Más de 6000 litros de leche
- N/S
- N/C

2. ¿Qué producción quesera/ otros productos diaria tienen y tipo de leche?

3. ¿Tipo de leche empleada en la producción?.
- Vaca
- Cabra-vaca
- Vaca-oveja
- Cabra
- Vaca-cabra-oveja
- N/S
- N/C

Preguntas L D

4. ¿Contempla el APPCC un programa de LD para esta empresa?

- Si
- No
- N/S
- N/C

5. ¿Tenían un programa de LD antes del APPCC?

- Si
- No
- N/S
- N/C

6. ¿Desde cuando tienen implantado el programa de LD?

- 1 año antes del APPCC
- 2 años antes del APPCC
- Antes de la legislación 2207 de Dic/1995
- Otras fechas
- N/S
- N/C

7. ¿Fue necesario modificarlo para adaptarlo a las exigencias del APPCC?

- No
- Parcialmente.
- Ampliarlo.
- Se hizo uno nuevo.
- N/S
- N/C

8. ¿Quién realizó el programa LD?

- Técnicos de la propia empresa.
- Una empresa especializada en LD.
- Combinación de ambos.
- N/S
- N/C

9. La implantación del programa de LD en las diferentes áreas de la fábrica, se realizó:

- De forma parcial, por áreas de producción
- En toda la fábrica por igual
- Primero en las zonas de mayor riesgo y luego en el resto de áreas
- N/S
- N/C

10. Con respecto a la implantación y desarrollo del plan de LD, ¿Qué grado de implantación cree usted que existe en la fábrica?

- Plenamente implantado (100%)
- Bastante implantado (50-80%)
- Poco implantado (20-50%)
- No está implantado (0%)
- N/S
- N/C

11. ¿Cree usted que la implantación del programa de LD, ha mejorado la calidad del producto final ?

- Si
- No
- N/S
- N/C

12. ¿Cómo cree usted que ha repercutido la implantación del LD en la calidad (microbiológica) del producto final?

- Disminuye el rechazo de los alimentos alterados microbiológicamente
- Aumenta el periodo de vida útil del alimento
- Refuerza la calidad higiénica del alimento
- De forma general ha aumentado la calidad del producto final
- No afecta a ningún parámetro
- N/S
- N/C

13. La aplicación de los productos de LD, ¿ se lleva a cabo por alguno de los siguientes sistemas de limpieza?.

- Manual
- Aplicación de espuma de baja presión (< 25 kg/cm^2)
- Aplicación de espuma de alta presión (100 kg/cm^2)
- Sistema CIP
- Ninguno de los anteriores
- N/S
- N/C

14. ¿Cuáles fueron los motivos que llevaron a la empresa a la realización e implantación del programa LD?

- Legales, aplicación de la legislación vigente
- Mejorar la calidad
- Aumento de la seguridad higiénica del producto
- Otros motivos
- N/S
- N/C

15. La aplicación y puesta en marcha del programa de LD, fue llevada a cabo por:

- Técnicos de la propia empresa
- Por una empresa fabricante de productos de LD
- Técnicos externos, contratados para tal fin
- Mezcla de los anteriores
- N/S
- N/C

16. Cuáles fueron los principales problemas encontrados a la hora de aplicar el programa de LD:

- Económicos: Excesiva inversión
- Adaptación del personal de limpieza
- Limitaciones por el tipo de máquinas existentes en la empresa
- Diseño de las instalaciones
- N/S
- N/C

17. ¿Cómo valoraría usted el programa de LD de su empresa?

- Malo
- Regular
- Bueno
- Muy bueno
- Excelente
- N/S
- N/C

18. ¿Qué departamento gestiona la aplicación y el control de LD?

- Producción
- Control de calidad
- Un departamento independiente
- Ninguno de los anteriores
- N/S
- N/C

19. ¿Tienen los operarios acceso a los planes de LD de forma habitual?

- Si
- No
- N/S
- N/C

20. ¿De qué partes consta el programa LD?

- Procedimientos de limpieza por escrito.
- Cartelería expuesta en las diferentes zonas de la fábrica.
- Controles de limpieza
- Registros
- Medidas correctoras
- N/S
- N/C

21. ¿Quién lleva a cabo la limpieza?

- Los propios operarios de producción.
- Una cuadrilla de limpieza de la empresa.
- Ambos anteriores.
- Una contrata externa.
- N/S
- N/C

22. ¿Realizan registros de control de las diferentes zonas de la fábrica?

- Si
- No
- N/S
- N/C

23. ¿Con qué frecuencia realizan los registros de limpieza?

- Después de la limpieza.
- Diarios.
- Cada semana.
- Otras frecuencias
- N/S
- N/C

24. ¿Con qué frecuencia son revisados los registros de limpieza?

- Diariamente.
- Semanalmente.
- Mensualmente.
- Otras frecuencias:
- N/S
- N/C

Control de superficies

25. ¿Realizan controles de superficies en las diferentes zonas de producción, almacén, etc?.

- Si
- No
- N/S
- N/C

26. ¿Podría decirme en qué puntos toman las muestras de superficie?

Depósitos de recepción de leche.
Tanques de cuajado.
Pasteurizador.
Moldes
Mesas de elaboración.
Cintas transportadoras
Cámaras de refrigeración.
Ambiental
Otros:
- N/S
- N/C

27. Podría decirme, ¿qué tipo de controles de superficies realizan?

- Solo visual
- Mediante placas de Petri
-Laminocultivos
-Bioluminiscencia
-Otros
- N/S
- N/C

28. ¿Quién lleva a cabo los controles de superficies?

- Técnicos de la propia empresa.
- Una empresa especializada en LD.
- Una empresa especializada en higiene alimentaria
- Combinación de los anteriores:
- N/S
- N/C

29. ¿Con qué frecuencia se realizan los controles de superficies?

- Semanal o inferior
- Quincenal
- Mensual
- Más de un mes
- N/S
- N/C

30. Ante unos resultados consecutivos no favorables de los controles de superficies, ¿qué medidas correctoras se aplican sobre el plan de LD?

- Cambio del programa LD
- Cambio de productos de LD
- Se toman medidas correctoras sobre los operarios: formación y mayor control de la aplicación.
- Otras
- N/S
- N/C

31. Se lleva a cabo algún tipo de control para detectar la presencia de restos de productos de LD en las zonas de manipulación de alimentos?

- Si
- No
- N/S
- N/C

32. ¿Qué tipo de medidas se realizan para esta detección?

- Control visual.
- Mediante análisis de laboratorio.
- Pruebas in situ.
- N/S
- N/C

Depuración de efluentes:

33. ¿Posee las empresa algún tipo de sistemas de depuración de efluentes?
- Si
- No

34. ¿Qué tipo de tratamiento?

- Tamizado
- Sedimentación
- Tratamiento químico
- Aireación
- Otros
- N/S
- N/C

35. Podría decirme, ¿ Si conoce la cantidad aproximada de litros de agua vertidos como efluentes?. Teniendo en cuenta que el ratio de agua / leche tratada, es de 2.5/1, siendo óptimo 1/1.

- 2000 - 3000 l/d
- 3000- 6000 l/d
- 6000 – 10000 l/d
- Más de 10.000 l/d
- No conoce la cantidad
- N/S
- N/C

36.¿ Sabría usted decirme la relación DBO_5 / DBO_7 ó DQO, de los efluentes vertidos?, sabiendo que esta relación en una industria láctea es de 1.11 – 1.57.

- < 1.11
- 1.11-1.57
- > 1.57
- N/S
- N/C

37. ¿Le preocupa a usted, como técnico de la empresa, la calidad de efluentes que son eliminados a la red de alcantarillado?

- Mucho
- Bastante
- Poco
- Nada
- N/S
- N/C

38. ¿Conoce usted la legislación vigente sobre efluentes en la industria láctea?.

- Mucho
- Bastante
- Poco
- La desconozco
- N/S
- N/C

Productos de LD

39. Hablando de los productos de limpieza, en la zona de leche fría (antes del pasteurizador), ¿qué tipo de secuencia de limpieza utilizan?

- Agua – alcalino – agua – ácido – agua – desinfectante – agua
- Agua – alcalino – agua - desinfectante – agua
- Agua – alcalino – agua – ácido – agua
- Agua – ácido – agua – desinfectante – agua
- N/S
- N/C

40. ¿Utilizan fase única en alguna de las zonas de producción?.

- Antes del pasteurizador
- Después del pasteurizador
- En otras zonas
- No utilizamos fase única
- N/S
- N/C

41. Los productos utilizados en la fase única, ¿tienen cómo principio activo compuestos?

- Alcalinos
- Ácidos
- Alterno ambos
- Ninguno de los anteriores
- N/S
- N/C

42.¿Qué tipo de sistema CIP tiene la planta elaboradora de lácteos?.

- Centralizado: un único CIP para todas las zonas de producción y almacenamiento de leche
- Dos CIP: uno para la zona leche fría y otro para la zona de leche caliente de leche
- Uno para el pasteurizador y otro para el resto de la planta
- Varios CIP: según la zona
- Ninguno de los anteriores
- N/S
- N/C

43. Los productos de LD para la zona de producción son suministrados por:

-Una única empresa proveedora
-Varias empresas, según el producto
- Cambiamos de empresa con mucha frecuencia
- Ninguna de la anteriores
- N/S
- N/C

44. ¿Realiza la empresa suministradora de productos químicos, otros servicios?. Tales como:

- Diseño del plan de LD
- Control microbiológico de superficies

- Formación de M. A., en temas de LD
- Control de dosificación de los productos
- Asesoramiento del uso de los productos de LD
- Otros
- N/S
- N/C

45. Considerando la legislación vigente sobre el uso de detergentes biodegradables y respetuosos con el medio ambiente, podría decirme si:

- Todos los productos utilizados son biodegradables y cumplen la legislación vigente
- Sólo algunos cumplen este requisito
- Ninguno cumple este requisito
- No tengo conocimiento sobre este tema
- N/S
- N/C

46. Respecto a los productos utilizados en la LD, podría decirme, ¿qué tipo de documentación relacionada con los productos químicos le ha facilitado la empresa proveedora?.

- Fichas técnicas
- Fichas de seguridad
- Registro sanitario de uso alimentario, registro de biocidas y desinfectantes ambientales
- Certificado de la ISO 9000, 14000
- Otros
- N/S
- N/C

47. ¿Podría decirme que tipo de productos de LD utilizan en el CIP?.

- NaOH y HNO_3
- NaOH y HNO_3 aditivados
- Äcido peracético
- Clorados
- Aldehídos
- Otros
- N/S
- N/C

48. Para la limpieza de superficies de la sala de elaboración y aledaños, ¿qué tipo de detergentes – desinfectantes usan?.

- Detergentes alcalinos - clorados
- Desengrasantes alcalinos
- Detergentes ácidos espumantes
- Aldehídos como desinfectantes
- N/S
- N/C

49. El sistema de limpieza de superficies por espuma, ¿dónde se encuentra localizado?.

- Solo en la sala de producción
- En todas las salas (elaboración, recepción de leche, almacén, etc)

- No tenemos sistema de limpieza por espuma
- N/S
- N/C

50. ¿Qué ventajas cree usted que le aporta el sistema de limpieza por espuma frente a sistemas de limpieza convencionales?

- Ahorro de agua
- Ahorro de tiempo
- Mejora la eficacia de la limpieza y desinfección
- Ahorro de productos químicos
- Ninguna de las anteriores
- N/S
- N/C

51. La dosificación de los productos de LD del CIP, ¿Cómo se lleva a cabo?.

- De forma manual, de las garrafas a los depósitos
- De forma automática, mediante bombas
- En algunos automática y en otros manual
- Otros
- N/S
- N/C

Tabla VIII.3. Respuestas de la encuesta APPCC de las industrias lácteas.

Preguntas	Items N = 10	Frecuencia	% respuestas
1. Conoce la normativa vigente sobre APPCC	Sí	10	100
	No	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
2. Tienen implantado el APPCC	Sí	10	100
	No	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
3. Desde cuándo lo tienen	<1 año	2	20
	1-2 años	2	20
	2-3 años	1	10
	3-4 años	3	30
	>4 años	2	20
	N/S	0	0
	N/C	0	0
4. Quién lo implantó	Técnicos de la propia empresa	6	60
	Una empresa especializada externa	1	10
	Combinación de ambas	3	30
	N/S	0	0
	N/C	0	0
5. Dónde se realizan registros	Línea de producción	1	10
	Almacén de productos terminados	1	10
	Otros	1	10
	Toda la fábrica	7	70
	N/S	0	0
	N/C	0	0
6. Frecuencia de los registros	Por lotes	1	1
	Diarios	8	80
	Otros	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
7. Frecuencia de revisión de los registros	Diariamente	3	30
	Mensualmente	5	50
	Cuando hay problemas	1	10
	Otros	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
8. Frecuencia de revisión de las acciones correctoras	Semanalmente	1	10
	Mensualmente	2	20
	Según exigencias del producto	7	70
	N/S	0	0
	N/C	0	0
9. Importancia de los registros de los puntos de control	Importante	1	10
	Bastante importante	1	10
	Fundamental	8	80
	N/S	0	0
	N/C	0	0
10. Importancia de la implantación del APPCC	Necesaria	1	10
	Bastante necesaria	1	10
	Fundamental	8	80
	N/S	0	0
	N/C	0	0

11. Por qué tienen implantado el APPCC	Para mejorar la calidad del producto final		
	Exigencia de los clientes	6	60
	Imperativo legal	1	10
	Otras	2	20
	N/S	1	10
	N/C	0	0
12. Valoración del APPCC de su empresa	Regular	2	20
	Bueno	5	50
	Muy Bueno	3	30
	N/S	0	0
	N/C	0	0
13. Qué es lo que más le gusta del APPCC de su empresa	Realmente es eficaz	4	40
	Rentabilidad	1	10
	Ayuda a la trazabilidad	2	20
	Otros	2	20
	N/S	0	0
	N/C	1	10
14. Qué es lo que menos le gusta del APPCC de su empresa	Su control exhaustivo	1	10
	Dependencia de los operarios	1	10
	Mucho papeleo	4	40
	Difícil cumplimiento	1	10
	Poco reconocimiento por parte del personal	1	10
	La formación del personal	1	10
	N/S	0	0
	N/C	1	10
15. Qué mejoraría del APPCC de su empresa	Sistema de control de datos	2	20
	Sistema de tratamiento de datos	1	10
	Aplicación sistema (Funcionalidad)	1	10
	Más formación del personal	1	10
	Mejores medios de laboratorio	1	10
	Mayor control sobre materia prima	1	10
	Control hasta el final	1	10
	Menos burocracia	1	10
	N/S	1	10
	N/C	0	0
16. Nivel de funcionamiento del APPCC en su empresa	Almacén de materias primas	0	0
	Líneas de producción	2	20
	Almacén de producto terminado	0	0
	Ninguno de los mencionados	1	10
	Todos	7	70
	N/S	0	0
	N/C	0	0
17. Qué departamento gestiona el APPCC	Dpto. de calidad	7	70
	Varios Dptos.	2	20
	Otros	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
18. Qué personal fue contratado	Tecn. Grado superior	6	60
	Técn. Ciclo superior	3	30
	Ninguno	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
19. Existía un manual de Buenas Prácticas de Elaboración antes del APPCC	Si	2	20
	No	8	80
	N/S	0	0
	N/C	0	0

20.1. Formación de operarios antes del APPCC	Continua	1	10
	Puntual	1	10
	Ninguna	5	50
	Otros	1	10
	N/S	1	10
	N/C	1	10
20.2. Formación de operarios después del APPCC	Continua	1	10
	Puntual	1	10
	Ninguna	5	50
	Otros	1	10
	N/S	1	10
	N/C	1	10
21.1. Tipo de formación de los operarios antes del APPCC	Teórica	1	10
	Práctica	2	20
	Práctica-Técnica	1	10
	Otras	5	50
	N/S	0	0
	N/C	1	10
21.2. Tipo de formación de los operarios antes del APPCC	Teórica	2	20
	Práctica	1	10
	Práctica-Técnica	7	70
	Otras	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
22.1. Tipo de formación de los técnicos antes del APPCC	Externa	5	50
	En la propia empresa	1	10
	No hubo formación	3	30
	Otras	0	0
	N/S	0	0
	N/C	1	10
22.2. Tipo de formación de los técnicos después del APPCC	Externa	6	60
	En la propia empresa	3	30
	No hubo formación	0	0
	Otras	0	0
	N/S	1	10
	N/C	0	0
23.1. Valoración del trabajo de los operarios antes del APPCC	Malo	1	10
	Regular	4	40
	Bueno	4	40
	Muy bueno	0	0
	Excelente	0	0
	N/S	1	10
	N/C	0	0
23.2. Valoración del trabajo de los operarios después del APPCC	Malo	0	0
	Regular	2	20
	Bueno	6	60
	Muy bueno	0	0
	Excelente	2	20
	N/S	0	0
	N/C	0	0
24. Qué destacaría del trabajo de los operarios	Se identificaron con la política de la empresa	0	0
	Se sienten parte necesaria del equipo de trabajo	1	10
	Su motivación	0	0
	Su cooperación	4	40
	La mejora en su rendimiento	1	10
	Nada de lo mencionado	2	20
	Todo	1	10

	N/S	0	0
	N/C	1	10
25. Cambio en la metodología de la empresa tras el APPCC	No ha cambiado nada	0	0
	Ha cambiado muy poco	0	0
	Ha cambiado poco	2	20
	Ha cambiado bastante	7	70
	Ha cambiado mucho	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
26. Cómo valoraría este cambio	Nada significativo	1	10
	Poco significativo	1	10
	Significativo	6	60
	Bastante significativo	2	20
	Muy significativo	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
27 Qué acogida ha tenido entre los clientes la implantación del APPCC	Malo	0	0
	Regular	1	10
	Bueno	6	60
	Muy bueno	0	0
	Excelente	0	0
	N/S	3	30
	N/C	0	0
28. Departamento que se ha beneficiado más con el APPCC	Recepción de materias primas	2	20
	Producción	1	10
	Envasado	1	10
	Almacén	1	10
	Otros	0	0
	Todos por igual	5	50
	Ninguno	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
29.1. Evaluación de la reducción del coste unitario de producción	Nada	3	30
	Muy poco	1	10
	Poco	2	20
	Bastante	2	20
	Mucho	1	10
	N/S	1	10
	N/C	0	0
29.2 Evaluación la mejora de calidad del producto final	Nada	0	0
	Muy poco	0	0
	Poco	1	10
	Bastante	3	30
	Mucho	5	50
	N/S	0	0
	N/C	1	10
30.1. Tras la implantación del APPCC la eliminación de los peligros	Han disminuido mucho	2	20
	Han disminuido algo	2	20
	Siguen igual	0	0
	Han aumentado algo	2	20
	Han aumentado mucho	4	40
	N/S	0	0
	N/C	0	0
30.2. Tras la implantación del APPCC, respecto a los costes de producción el balance económico	Han disminuido mucho	0	0
	Han disminuido algo	2	20
	Siguen igual	3	30
	Han aumentado algo	2	20
	Han aumentado mucho	2	20
	N/S	1	10

31.1. Valoración del grado de satisfacción de los clientes antes de la implantación del APPCC	Malo	0	0
	Regular	4	40
	Bueno	2	20
	Muy bueno	0	0
	Excelente	0	0
	N/S	4	40
	N/C	0	0
31.2. Valoración del grado de satisfacción de los clientes después de la implantación del APPCC	Malo	0	0
	Regular	1	10
	Bueno	5	50
	Muy bueno	1	10
	Excelente	0	0
	N/S	3	30
	N/C	0	0
32.1. El nivel de producción ha aumentado	Nada	3	30
	Muy poco	2	20
	Poco	0	0
	Bastante	3	30
	Mucho	1	10
	N/S	0	0
	N/C	1	10
32.2. la cantidad de productos defectuoso ha disminuido	Nada	2	20
	Muy poco	0	0
	Poco	1	10
	Bastante	4	40
	Mucho	3	30
	N/S	0	0
	N/C	0	0
32.3. Las devoluciones de los clientes han disminuido	Nada	3	30
	Muy poco	1	10
	Poco	0	0
	Bastante	4	4
	Mucho	1	1
	N/S	0	0
	N/C	1	1
33. Opinión sobre el APPCC como sistema de autocontrol alimentario	Malo	0	0
	Regular	0	0
	Bueno	7	70
	Muy bueno	3	30
	Excelente	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
34. Qué le gusta más del sistema APPCC	Eficacia	2	20
	Seguridad producto	1	10
	Aumento calidad higiénica	1	10
	Trazabilidad	1	10
	Control tecnológico	2	20
	Información sobre procesos	1	10
	Mejora la formación	1	10
	N/S	1	10
	N/C	0	0
35.Lo que menos le gusta del APPCC	La documentación	3	30
	Implantación	2	20
	Poca participación de los operarios		
	Poca valoración de los técnicos	2	20
	No asegura la calidad comercial del producto	2	20
	N/S	1	10
	N/C	0	0

36. ¿Qué mejoraría del APPCC?	Mayor dependencia del dpto. de calidad	2	20
	Mayor seguimiento	1	10
	Mayor concienciación	2	20
	Poca valoración	1	10
	Poco interés por la implantación	1	10
	Ampliación a gestión de la calidad	1	10
	N/S	1	10
	N/C	1	10
37. Grado de cumplimiento del sistema APPCC, para el cual fue diseñado	En nada	0	0
	En muy poco	0	0
	En poco	1	10
	En mucho	6	6
	En todo	2	20
	N/S	1	10
	N/C	0	0
38. Opinión sobre el APPCC. Respecto a la implantación.	Es difícil y costosa económicamente		
	Es difícil y económica	7	70
	Es fácil y costosa	2	20
	Es fácil y económica	1	10
	N/S	0	0
	N/C	0	0
39. Opinión sobre el APPCC. Respecto al funcionamiento	Es complicado y precisa de una formación especial de operarios	3	30
	Es complicado y no precisa de una formación especial de operarios	0	0
	Es sencillo y precisa de una formación especial de operarios	5	50
	Es sencillo y no precisa de una formación especial de operario	2	20
	N/S	0	0
	N/C		
40. Opinión sobre el APPCC. Respecto a la rentabilidad proporciona	Alta calidad del producto final y ahorro económico	7	7
	Alta calidad del producto final sin ahorro económico	2	20
	Alta calidad del producto final con pérdidas económicas	0	0
	Calidad normal del producto final y ahorro económico	0	0
	Calidad normal del producto final sin ahorro económico	0	0
	Calidad normal del producto final con pérdidas económica	0	0
	N/S	0	0
	N/C	1	10

Tabla VIII.4. Respuestas de la encuesta LD de las industrias lácteas.

Preguntas	Items N = 10	Frecuencia	% respuestas
1. Cantidad de litros. de leche al día	Menos de 1.000 l.	0	0
	Entre 1.000 y 3.000 l.	3	25,0%
	Entre 3.000 y 6.000 l.	2	16,7%
	Entre 6.000 y 20.000 l.	3	25,0%
	Más de 20.000 l	4	33,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
2. Indice de conversión leche/queso	6 litros	5	41,7%
	7 litros	2	16,7%
	8 litros	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	3	25,0%
3. Tipo de leche	Vaca	4	33,3%
	Cabra/oveja	0	,0%
	Vaca/cabra	4	33,3%
	Cabra	3	25,0%
	Vaca/cabra/oveja	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
4. Contempla el APPCC un programa de LD	Si	12	100,0%
	No	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
5. Tenía la empresa un programa de LD antes del APPCC	Si	11	91,7%
	No	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
6. Tiempo del programa LD	Antes del APPCC	4	33,3%
	Antes del RD 2207/95	4	33,3%
	Posterior a 1995	3	25,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	1	8,3%
7. Modificar el LD para adaptarlo al APPCC	No	4	33,3%
	Parcialmente	5	41,7%
	Ampliarlo	1	8,3%
	Se hizo uno nuevo	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	1	8,3%

8. Quien realizo el programa de LD	Técnicos de la propia empresa	6	50,0%
	Una empresa especializada en LD	1	8,3%
	Ambos	5	41,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
9. ¿Cómo se realizó la implantación LD en la fábrica?	De forma parcial por áreas	4	33,3%
	En toda la fábrica por igual	4	33,3%
	Zonas de mayor a menor riesgo	4	33,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
10. Grado de implantación LD	100 %	7	58,3%
	50-80 %	5	41,7%
	20-50 %	0	,0%
	0 %	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
11. El LD, ha mejorado la calidad del producto final	Si	12	100,0%
	No	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
12. Repercusión del LD en la calidad microbiológica final	Disminuye los productos rechazados microbio	1	8,3%
	Aumenta la vida útil del producto	1	8,3%
	Refuerza la calidad higiénica del producto	4	33,3%
	Ha aumentado la calidad del producto final	6	50,0%
	No afecta a ningún parámetro	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
13. ¿Cómo se aplican los productos de LD?	Manual	0	,0%
	Espuma baja presión	0	,0%
	Espuma alta presión	0	,0%
	CIP	0	,0%
	Ninguno de los anteriores	0	,0%
	Varios	3	25,0%
	Varios, no espuma	9	75,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%

14. Motivos para la implantación y realización del LD	Legales	4	33,3%
	Mejorar calidad	0	,0%
	Aumentar calidad higiénica	7	58,3%
	Otros	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
15. Aplicación del LD fue llevada por	Técnicos de la propia empresa	8	66,7%
	Empresa fabricante de productos químicos	0	,0%
	Técnicos externos	2	16,7%
	Ambos	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
16. Problemas al aplicar el LD	Económicos	2	16,7%
	Adaptación del personal	4	33,3%
	Limitación por las máquinas de producción	1	8,3%
	Diseño de las instalaciones	2	16,7%
	Ninguna	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	1	8,3%
17. Valoración del LD	Malo	0	,0%
	Regular	1	8,3%
	Bueno	5	41,7%
	Muy bueno	6	50,0%
	Excelente	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
18. Departamento gestiona y controla el LD	Producción	2	16,7%
	Control de calidad	8	66,7%
	Ninguno de los anteriores	0	,0
	Otros	2	16,7
	N/S	0	0
	N/C	0	0
19. Tienen los operarios acceso a los planes de LD	Si	8	66,7
	No	3	25
	N/S	0	0
	N/C	1	8,3
20. Partes de las que constan el programa LD	Procedimientos de limpieza por escrito.	0	0
	Cartelería expuesta en las diferentes zonas de la fábrica.	0	16,7
	Controles de limpieza	2	8,3
	Registros	1	0
	Varios de los anteriores	9	75%

	N/S	0	0
	N/C	0	0
21. Ejecución LD	Los propios operarios de producción.	12	100%
	Una cuadrilla de limpieza de la empresa.	0	0
	Ambos anteriores.	0	0
	Una contrata externa.	0	0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
22. Registros LD	Si	11	91,7%
	No	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
23. Frecuencia registros LD	Diariamente	6	50,0%
	Semanalmente	3	25,0%
	Después de la limpieza	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	1	8,3%
24. Frecuencia revisión registros de LD	Diariamente	4	33,3%
	Semanalmente	4	33,3%
	Mensualmente	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	2	16,7%
25. Controles de superficies	Si	12	100,0%
	No	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
26. Puntos de muestreo de superficies	Depósitos de recepción de leche	0	,0%
	Tanques de cuajado	0	,0%
	Pasteurizador	0	,0%
	Moldes	0	,0%
	Mesas de elaboración	0	,0%
	Cintas transportadoras	0	,0%
	Cámaras de refrigeración	0	,0%
	Ambiental	3	25,0%
	Todos	9	75,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
27. Tipo de control de superficies	Visual	0	,0%
	Placas RODAC y visual	10	83,3%
	Laminocultivos	0	,0%
	Bioluminiscencia	0	,0%
	Hisopos	1	8,3%
	Otros	1	8,3%

	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
28. ¿Quién lleva a cabo los controles de superficie?	Técnicos de la propia empresa	7	58,3%
	Una empresa de LD	0	,0%
	Una empresa especializada en higiene alimentaria	3	25,0%
	Combinación de todas	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
29. Frecuencia controles de superficies	Semanal o inferior	5	41,7%
	Quincenal	2	16,7%
	Mensual	3	25,0%
	Más de un mes	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
30. Medidas correctoras plan LD	Cambio del programa LD	0	,0%
	Cambio de los productos	0	,0%
	Se toman las medidas correctoras sobre los operarios	12	100,0%
	Otras	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
31. Presencia restos de detergentes	Si	5	41,7%
	No	7	58,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
32. Tipo de medidas se realizan	Control visual	0	,0%
	Análisis de laboratorio	4	33,3%
	Pruebas in situ	0	,0%
	Todas	1	8,3%
	N/S	0	,0%
	N/C	7	58,3%
33. Sistema de depuración de efluentes	Si	7	58,3%
	No	5	41,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
34. Tipo de tratamiento	Tamizado	0	,0%
	Sedimentación	3	25,0%
	Tratamiento químico	1	8,3%
	Otros	2	16,7%
	No tiene tratamiento	2	16,7%
	N/S	1	8,3%
	N/C	3	25,0

35. Litros de agua vertidos efluentes	2000-3000	1	8,3
	3000-6000	1	8,3
	6000-10000	1	8,3
	Más de 10000	3	25,0
	No conoce la cantidad	5	41,7
	N/S	0	0
	N/C	1	8,3
36. Relación DQ5 / DBO7, ó	>1.11	1	8,3%
	1.11-1.57	1	8,3%
	>1.57	0	,0%
	N/S	8	66,7%
	N/C	2	16,7%
37. Calidad de efluentes	Mucho	10	83,3%
	Bastante	2	16,7%
	Poco	0	,0%
	Nada	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
38 Legislación	Mucho	3	25,0%
	Bastante	4	33,3%
	Poco	3	25,0%
	La desconozco	2	16,7%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
39. Secuencia de I.D.	A-Alc-A-Acd-A-D-A	4	33,3
	A-Alc-A-Alc-A	6	50,0
	A-Acd-A-D-A	0	0
	N/S	0	0
	N/C	2	16,7
40. Utilizan fase única	Antes del paster	0	0
	después del paster	2	16,7
	En otras zonas	0	0
	No usamos fase única	10	83,3
	N/S	0	0
	N/C	0	0
41. Los productos de la fase única	Alcalina	1	8,3
	Acida	0	0
	Alterno ambos	1	8,3
	Ninguno de los anteriores	0	0
	No utilizo FU	10	83,3%
	N/S	0	0
	N/C	0	0

42. Tipo de CIP	Centralizado	8	66,7
	Dos CIP: leche fría y caliente	0	0
	Uno para el paster y otro para el resto	3	25,0
	Varios CIP	1	8,3
	N/S	0	0
	N/C	0	0
43. Los productos de LD los suministra	Una única empresa proveedora	2	16,7%
	Varias empresas	10	83,3%
	Cambiamos de empres con frecuencia	0	,0%
	Ninguna de las anteriores	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
44. Servicios de la empresa suministro	Diseño del plan LD	1	8,3%
	Control microbiológico de superficies	0	,0%
	Formación de MA	0	,0%
	Control de dosificación de productos	0	,0%
	Asesoramiento de uso de productos LD	3	25,0%
	Varios anteriores	3	25,0%
	Ninguno	5	41,7%
	N/S	0	,0%
	N/S	0	,0%
45. La legislación vigente de detergente	Los productos son biodegradables y cumplen la legislación vigente	12	100%
	Sólo algunos cumplen este requisito	0	,0%
	Ninguno cumple este requisito	0	,0%
	No tengo conocimiento sobre este tema	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
46. Documentación productos L.D.	Fichas técnicas	0	,0%
	Fichas de seguridad y técnicas	6	50,0%
	Registro Sanitario	0	,0%
	Certificado ISO 9000, 14000	0	0
	Otros	0	0
	Todos	6	50,0
	N/S	0	0
	N/C	0	0
47. Tipo producto CIP	Sosa y nítrico	2	16,7
	Sosa y nítrico aditivados	7	58,3
	Acd. peracético	0	0
	Clorados	0	0
	Aldehídos	0	0
	Varios	3	25,0%
	Otros	0	0
	N/S	0	0

48. Tipo de detergente para superficie	Detergentes alcalinos - clorados	5	41,7%
	Desengrasantes alcalinos	4	33,3%
	Detergentes ácidos espumantes	0	,0%
	Aldehídos como desinfectantes	0	,0%
	Varios	3	25%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
49. El sistema de limpieza por espuma	Solo en la sala de producción	2	16,7%
	En todas las salas de la fábrica	1	8,3%
	No tenemos sistema de espuma	9	75,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%
50. Ventajas sistema de limpieza espuma	Ahorro de agua	1	8,3%
	Ahorro de tiempo	0	,0%
	Mejora la eficacia, LD	6	50,0%
	Ahorro de productos químicos	0	,0%
	Ninguna de las anteriores	0	,0%
	N/S	3	25,0%
	N/C	2	16,7%
51. La dosificación CIP	Manual, de garrafas a CIP	4	33,3%
	De forma automática, bombas	3	25,0%
	En algunos casos automática y otros manual	5	41,7%
	Otros	0	,0%
	N/S	0	,0%
	N/C	0	,0%

Tabla VIII.5. TIAS por agente causal y alimento implicado en España, 2004-2007.

Agente causal y alimento implicado
España. 2004

	Lácteos**	Queso	Huevo y derivados	Carne*	Aves	Pescados	Mariscos	Repostería	Vegetales	Otros	Desconocido	Total
BACTERIAS												
Bacillus (cereus)	0	0	0	1	1	0	1	0	1	4	0	8
Brucella	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Campylobacter	0	0	0	0	5	0	0	0	1	1	0	7
Clostridium botulinum	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Clostridium perfringens	0	0	0	7	2	0	1	0	0	3	3	16
Clostridium sp	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
E. coli (enterohemorrágico)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
E. coli (otros)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
E. coli patogénico, sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
Listeria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Salmonella (total)												
- *Salmonella* Enteritidis	4	1	186	4	8	9	2	12	2	26	61	315
- *Salmonella* Typhimurium	0	0	7	1	0	0	0	0	1	2	1	12
- Otro serotipo	0	0	3	3	2	1	1	0	0	1	1	12
- *Salmonella sp*	3	0	146	7	10	0	4	15	3	27	52	267
- *Salmonella* Typhi y Paratyphi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Shigella	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Staphylococcus	0	13	2	2	1	0	2	3	1	6	3	33
Vibrio parahaemolyticus	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	4
Otras bacterias	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3
PARASITOS												
Anisakis	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Trichinella	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
VIRUS												
Norovirus	0	0	2	1	0	0	5	0	0	4	10	22
Virus hepatitis A	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Otros virus	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	3
SUSTANCIAS TOXICAS												
Biotoxinas marinas	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	14
Plantas tóxicas / Hongos	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	5
Sustancias químicas	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
Desconocido	2	6	45	14	3	16	44	18	8	40	188	384
TOTAL	**9**	**26**	**393**	**43**	**32**	**42**	**67**	**49**	**21**	**121**	**326**	**1129**

* Excluye carne de ave

** Excluye queso y nata

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN · Instituto de Salud Carlos III · GOBIERNO DE ESPAÑA · MINISTERIO DE SANIDAD Y POLÍTICA SOCIAL

Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

Agente causal y alimento implicado
España. 2005

	Lácteos**	Queso	Huevo y derivados	Carne*	Aves	Pescados	Mariscos	Repostería	Vegetales	Otros	Desconocido	Total
BACTERIAS												
Bacillus (cereus)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Brucella	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Campylobacter	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	5	8
Clostridium botulinum	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3
Clostridium perfringens	0	0	0	6	3	0	0	0	3	2	4	18
Clostridium sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E. coli (otros)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E. coli patogénico, sp	0	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	5
Listeria	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	3
Salmonella (total)												
- *Salmonella* Enteritidis	2	0	166	8	9	5	1	15	4	27	56	293
- *Salmonella* Typhimurium	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1	2	6
- Otro serotipo	0	1	4	0	2	0	0	0	0	0	2	9
- *Salmonella sp*	2	1	108	6	7	2	2	10	4	8	31	181
Shigella	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	3	6
Staphylococcus	0	9	2	3	0	1	0	4	4	6	3	32
Streptococcus	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Vibrio parahaemolyticus	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2
Otras bacterias	0	2	0	0	0	1	0	0	2	1	1	7
PARASITOS												
Anisakis	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
VIRUS												
Norovirus	0	0	2	1	0	0	9	3	2	5	15	37
Virus hepatitis A	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	4
Otros virus	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	4	9
SUSTANCIAS TOXICAS												
Biotoxinas marinas	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	17
Plantas tóxicas / Hongos	0	0	0	0	0	0	0	0	16	2	0	18
Sustancias químicas	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	3
Desconocido	1	3	34	10	3	8	33	15	7	38	131	283
TOTAL	**6**	**25**	**318**	**39**	**27**	**36**	**50**	**47**	**45**	**95**	**266**	**954**

* Excluye carne de ave

** Excluye queso y nata

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

Agente causal y alimento implicado
España. 2006

	Lácteos**	Queso	Huevo y derivados	Carne*	Aves	Pescados	Mariscos	Repostería	Vegetales	Otros	Desconocido	Total
BACTERIAS												
Bacillus (cereus)	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1	2	6
Brucella	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4
Campylobacter	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	5
Clostridium botulinum	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Clostridium perfringens	0	0	0	5	0	1	0	1	1	2	1	11
Clostridium sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
E. coli (enterohemorrágico)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
E. coli (otros)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
E. coli patogénico, sp	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
Listeria	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Salmonella (total)												
- *Salmonella* Enteritidis	0	1	101	6	5	1	3	6	4	19	29	175
- *Salmonella* Typhimurium	0	0	9	1	0	0	0	0	0	3	9	22
- Otro serotipo	0	0	1	0	2	1	0	1	1	2	1	9
- *Salmonella sp*	0	0	77	5	7	2	0	6	1	16	34	148
Staphylococcus	0	6	0	5	2	3	0	5	0	4	3	28
Vibrio parahaemolyticus	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Yersinia	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Otras bacterias	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	3	7
PARASITOS												
Trichinella	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5
VIRUS												
Norovirus	0	0	0	0	0	0	6	0	3	4	20	33
Virus hepatitis A	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3
Otros virus	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	3
SUSTANCIAS TOXICAS												
Biotoxinas marinas	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	11
Plantas tóxicas / Hongos	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	19
Sustancias químicas	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Medicamentos	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Desconocido	1	5	29	20	11	20	28	8	10	34	140	306
TOTAL	**1**	**19**	**219**	**52**	**29**	**39**	**43**	**30**	**40**	**89**	**247**	**808**

* Excluye carne de ave

** Excluye queso y nata

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

Agente causal y alimento implicado
España. 2007

	Lácteos**	Queso	Huevo y derivados	Carne*	Aves	Pescados	Mariscos	Repostería	Vegetales	Otros	Desconocido	Total
BACTERIAS												
Bacillus (cereus)	0	0	0	0	1	1	0	0	1	2	0	5
Campylobacter	0	0	0	0	4	0	0	1	0	0	3	8
Clostridium perfringens	0	1	0	3	1	0	0	0	0	3	3	11
E. coli (otros)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
E. coli sp	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	4
Salmonella (total)												
- *Salmonella* Enteritidis	0	1	75	0	2	0	1	7	0	11	26	123
- *Salmonella* Typhimurium	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	2	8
- Otro serotipo	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	4	8
- *Salmonella sp*	0	1	55	2	3	0	0	6	2	9	21	99
Shigella	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	4
Staphylococcus	0	1	0	1	1	2	1	1	2	8	4	21
Vibrio parahaemolyticus	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
Yersinia	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Otras bacterias	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	4
PARASITOS												
Trichinella	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	6
VIRUS												
Norovirus	0	0	0	0	0	1	2	0	2	4	10	19
Virus hepatitis A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Otros virus	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	4
SUSTANCIAS TOXICAS												
Biotoxinas marinas	0	0	0	0	0	18	1	0	0	1	2	22
Plantas tóxicas / Hongos	0	0	0	0	0	0	0	1	3	2	0	6
Sustancias químicas	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
Desconocido	1	1	26	10	7	14	22	8	5	42	125	261
TOTAL	**2**	**6**	**158**	**25**	**21**	**40**	**31**	**26**	**18**	**87**	**206**	**620**

* Excluye carne de ave

** Excluye queso y nata

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

Tabla VIII.6. Modelo de encuesta HAS.

INSTALACIONES: ZONA PERIMETRAL Y ACCESOS	*
1.La zona perimetral externa se encuentra aislada del exterior, pavimentada y en buen estado	1
2.No existen acúmulos de basuras ni residuos sólidos orgánicos en la zona perimetral externa	1
3.La periodicidad de recogida de residuos orgánicos no es superior a 24 horas	1
4.Existe plan de mantenimiento y LDDD de exteriores.	1
5.Existe adecuada separación física entre la zona de estabulación del ganado y la de elaboración	2
INSTALACIONES: INTERIORES *TOTAL EXTERIORES*	**6**
6.Están aisladas del exterior	1
7.Existe diferenciación neta entre zonas limpias y sucias, y se pueden cerrar mediante puertas adecuadas	2
8.Son apropiadas al uso al que se destinan y con dimensiones suficientes, para la producción diaria	2
9.Iluminación suficiente/adecuada	1
10.Los dispositivos de iluminación están debidamente protegidos y son fácilmente limpiables	1
11.El diseño y el material de las instalaciones es adecuado para dicho fin	1
12.Los techos, paredes y suelos presentan un aspecto limpio, sin de desconchados, grietas y humedades, y son fácilmente limpiables	3
13.Las ventanas existentes se encuentran cerradas y/o cristales en perfecto estado	1
14.Ventilación suficiente/adecuada, natural o forzada	1
15.Existen rejillas o mallas en ventanas, puertas o huecos con salida al exterior	2
16.Hay lavamanos de accionamiento no manual, jabón y papel secamanos	3
17.Los suelos tienen suficiente inclinación hacia sumideros o al exterior	1
EQUIPOS *TOTAL INTERIORES*	**21**
18.No se aprecian signos de desgaste en aparatos	2

19.Los equipos y útiles de trabajo son exclusivos para manipulación de alimentos	2
20.Las superficies de trabajo son de fácil limpieza	2
21.Se utilizan materiales y utillaje de acero inoxidable	2
22.Los útiles de madera son los autorizados	2
PERSONAL *TOTAL EQUIPOS*	**10**
23.El personal posee el carnet de manipulador de alimentos en vigor	2
24.No se observan fallos de higiene prácticas en la elaboración y manipulación de alimentos	3
25.Utilizan ropa adecuada de uso exclusivo	2
26.Se utiliza regularmente cubrecabezas	2
27.Globalmente el aseo personal es adecuado	2
28.El nivel de limpieza de la ropa de los manipuladores es globalmente aceptable	2
PLAN DE LIMPIEZA : Agua + LDDD *TOTAL PERSONAL*	**13**
29.Se conocen las características de potabilidad del agua	4
30.Se realizan análisis periódicos de agua	2
31.Realiza cloración del agua	2
32.Disponen de agua potable (fría y caliente) y número de tomas necesarias suficientes	4
33.Las actuaciones LDDD se realizan de forma periódica y según plan LDDD	2
34.Los métodos LD son eficaces y contrastados	2
35.No se aprecia restos de materia orgánica en los distintos útiles y maquinaria	2
36.Hay un plan de limpieza y desinfección de equipos y útiles	2
37.Existen evidencias de la ejecución del plan anterior	2
38.No se producen acumulaciones por retirada de la basura periódicamente	2

39.Existe zona específica para el almacenamiento de los productos de LD	1
40.Existen dispositivos para generar agua caliente (mín. 80ºC) en cantidades suficientes para LD	2
41.Realizan controles periódicos de superficies	2
ELABORACION QUESERA *TOTAL PLAN LIMPIEZA*	**30**
42.Fase de transporte de la leche	2
43.Fase de conservación de leche en tanque de frío o entrada directa	3
44.Fase de calentamiento de la leche (pasteurización)	2
45.Fase corte y desuerado	2
46.Fase de prensado	2
47.Fase de salado	2
48.Fase de maduración (no en los frescos)/almacenamiento en refrigeración (quesos frescos)	2
49.Envasado, etiquetado y transporte	2
REQUISITOS ADMINISTRATIVOS *TOTAL HIGIENE FABRICACIÓN*	**17**
50.Registro Sanitario de la Industria en vigor	1
51.Realiza registros	1
52.Realiza loteado	1
TOTAL REQUISITOS ADMINISTRATIVOS	**3**

PUNTUACIÓN EXCLUYENTE < 40	***** Puntuación de referencia

VIII.7. Test de conocimientos de los manipuladores de alimentos de las queserías industriales y artesanales.

Test de conocimientos básicos sobre la higiene y desinfección en la industria láctea

1. ¿Está usted en posesión del carné de manipulador de alimentos?

a) Sí
b) No

2. ¿Cuándo obtuvo usted por última vez el carné de manipulador de alimentos?

a) Hace un año
b) Entre uno y cuatro años
c) Más de cuatro años

3. Pueden ser considerados manipuladores de alimentos:

a) Las amas de casa.
b) El encargado de una quesería dedicado sólo a tareas administrativas.
c) Una persona dedicada laboralmente al transporte de queso curado

4. Son considerados manipuladores de mayor riesgo:

a) Manipuladores cuyas prácticas de manipulación pueden ser determinantes en relación con la seguridad y salubridad de los alimentos.
b) Los conductores de reparto de alimentos.
c) Únicamente los dedicados a la elaboración de queso.

5. ¿ A qué manipulador de alimentos se le puede considerar como "portador sano"?

a) Al manipulador de alimentos que está enfermo.
b) Al manipulador de alimentos que no está enfermo, pero que lleva en su cuerpo microorganismos patógenos.
c) Al manipulador de alimentos que no tiene la gripe.

6. Para poder proliferar los microorganismos necesitan

a) Alimentos con un alto contenido proteico y muy ácidos.
b) Que haya un ambiente fresco y seco en el lugar de trabajo durante un periodo lo suficientemente prolongado.
c) Unas condiciones de alta humedad con temperaturas intermedias de unos 36ºC durante un tiempo suficiente.

7. ¿Cómo actúan las bajas temperaturas sobre los microorganismos de la leche?

a) Destruyendo a los microorganismos.
b) Impidiendo su desarrollo pero sin matarlos.
c) Favoreciendo su crecimiento.

8. ¿Por qué cree usted que es necesaria la conservación por frío de la leche ?

a) Para evitar que los componentes de la leche (grasa, proteínas, etc), se separan en diferentes fases.
b) Para conservar su color, olor característicos.
c) Para evitar la proliferación de los microorganismos

9. Los quesos frescos se almacenarán siempre a temperaturas ...

a) Inferiores a 20 grados centígrados.

b) Comprendidas entre 2 y 6 grados centígrados.
c) Inferiores a 0 grados centígrados.

10. Los microorganismos pueden pasar a la leche

a) A través del agua potable o de utensilios limpios y en buen estado.
b) Restos de cuajo que quedan sobre la superficies sin limpiar
c) Si la leche está bien pasteurizada es imposible que el queso se contamine

11. En unas buenas condiciones de conservación del queso fresco, ¿qué periodo de caducidad cree usted que tiene?

a) Hasta 7 días
b) De 10 a 20
c) De 20 a 30 días

12. Los microorganismos.

a) Son todos perjudiciales y no hay ninguno cuya presencia en los alimentos sea deseable.
b) Algunos son necesarios para la maduración del queso
c) La limpieza y desinfección no influyen sobre la presencia de los microorganismos en la leche

13. La leche

a) Siempre debe ser pasteurizada para eliminar los microorganismos patógenos
b) No es necesario pasteurizarla
c) Es necesario pasteurizarla para elaborar queso fresco en las queserías industriales

14. Los síntomas típicos de las toxiinfecciones alimentarias son:

a) Fiebre y tos seca.
b) Dolor de huesos y de las articulaciones.
c) Malestar general, vómitos y diarreas.

15. ¿Cuáles son las enfermedades de origen alimentario más frecuentes, producidas por el consumo de quesos en mal estado?

a) El cólera
b) La brucelosis o fiebres de Malta, fiebre Q, toxina del estafilococos aureus y listeriosis.
c) Hepatitis.

16. ¿Qué se puede hacer para evitar la transmisión de los estafilococos por el queso?

a) Mantener una cuidadosa higiene personal.
b) Proteger las heridas y panadizos con cubiertas impermeables,
c) Todas las respuestas anteriores son ciertas.

17. ¿Qué es más higiénico para secarnos las manos?

a) Paños
b) Toallas de papel de un sólo uso.
c) El delantal.

18. ¿Cuáles de las siguientes actitudes no son higiénicas y debemos evitar?

a) Fumar y masticar chicle en el puesto de trabajo.
b) Lavarse las manos con agua caliente, jabón y cepillo de uñas.
c) Emplear guantes de un sólo uso para servir los alimentos.

19. Si tenemos ganas de estornudar, ¿cómo podemos proceder de forma correcta e higiénica?

a) Poniéndonos la mano delante de la nariz para que no caiga encima de los alimentos.

b) Usando un pañuelito de papel y lavándonos las manos después de haber estornudado.

c) Estornudando encima de los alimentos.

20. ¿Por qué se debe utilizar ropa limpia y de uso exclusivo para el trabajo?

a) Para no mancharnos la ropa de la calle.

b) Porque así evitamos la introducción de microorganismos y suciedad al lugar de trabajo.

c) Porque es el uniforme de la empresa.

21. El gorro que se usa en el trabajo sirve para ...

a) Es una prenda opcional del uniforme.

b) Evitar que se nos manche la cabeza.

c) Recoger el pelo y evitar que éste caiga sobre el queso.

22. Los guantes que se usan en el trabajo sirven para ...

a) Que no se nos manchen las manos mientras manipulamos el queso.

b) Evitar el contacto directo de los alimentos con las manos.

c) Para tener que lavarnos menos las manos.

23. El agua utilizada para la limpieza de locales y utensilios debe ser..

a) Potable y proceder de suministros que garanticen su salubridad.

b) De cualquier procedencia siempre que sea caliente.

c) Para la limpieza no es necesario usar agua potable.

24. Para evitar la entrada de insectos en la fábrica debemos ...

a) Fumigar en las ventanas.

b) Instalar mallas mosquiteras.

c) Utilizar *sprays* antiinsectos cuando veamos que hay moscas.

25. Los *sprays* antiinsectos se pueden utilizar ...

a) En los lugares donde se manipulan alimentos.

b) En la cámara de productos curados.

c) Debemos de evitar el uso de estos productos en los lugares donde se manipulan alimentos.

26. Los lavamanos dentro del lugar de trabajo serán ...

a) De color claro, impermeables, lisos y de fácil limpieza.

b) De accionamiento no manual y dotados de agua caliente y fría, así como detergente, cepillo de uñas y toallas de un sólo uso.

c) Debe haber uno por cada 20 manipuladores de alimentos

27. El suelo del lugar de trabajo deberá ser ....

a) Vale cualquier tipo de suelo

b) Antideslizante y con inclinación hacia desagües protegidos por sifones y rejillas.

c) De color claro y rugoso.

28. ¿Por qué están prohibidas las superficies de madera para la manipulación de los alimentos ?

a) Porque se forman hendiduras que son de difícil limpieza y que actúan como foco de contaminación.
b) La madera no está prohibida en las queserías industriales.
c) Porque se limpian fácilmente.

29. Es obligatorio el etiquetado de los queso elaborados, la etiqueta debe incluir:
a) Denominación de venta, lista de ingredientes, fecha de caducidad o consumo preferente, forma de conservar el alimento, (Tª), Identificación de la empresa que lo produce y lugar de origen.
b) Valor nutritivo con la tabla de composición de nutrientes del alimento.
c) Si el alimento es saludable y nutritivo.

30. Los sistemas de autocontrol implantados en las queserías son:
a) Es un sistema de control de calidad de las materias primas.
b) Un sistema de medidas preventivas para evitar la contaminación del queso.
c) No afecta a los manipuladores de alimentos.

31. Los gérmenes patógenos son
a) Peligros alimentarios.
b) Fraudes alimentarios.
c) Riesgos alimentario

32. ¿Qué controles se deben hacer en un sistema APPCC de una quesería?
a) Control de producción diaria y contol de la temperatura de las cámaras de refrigeración
b) Control de la entrada y salida de los operarios
c) Control de la grasa del queso

33. ¿ Cuál es el factor que no interviene en la limpieza y desinfección de las queserías?.
a) Concentración del producto químico.
b) Calidad de la leche.
c) Tipo de superficies a limpiar (acero, plástico, madera).

34. ¿Cuáles son las pautas de limpieza para la los útiles?
a) Detergente, agua, Desinfectante, agua.
b) Agua, Detergente, ácido y agua.
c) Agua, ácido y detergente.

35 Los desinfectantes se aplican sobre las superficies para:
a) Eliminar los insectos.
b) Eliminar las bacterias, hongos y virus.
c) Repeler los roedores.

36. Para hacer una correcta desinfección, debemos:
a) Previamente aplicar el detergente.
b) No es necesario aplicar ningún producto antes.
c) Después de aplicar los desinfectantes, las superficies no deben ser aclaradas con agua.

37. Para eliminar la grasa de las superficies, utilizaremos un producto:
a) Un detergente alcalino.

b) Un detergente ácido.
c) Un detergente neutro.

38. Las cámaras de maduración de los quesos

a) Deben limpiarse una vez al año.
b) Deben limpiarse una vez vacías y cada vez que sea necesario.
c) Cuando se desinfectan interrumpimos la maduración del queso por el uso del desinfectantes.

39. Después de desinfectar las superficies que entran en contacto con los alimentos, ¿qué debemos hacer?.

a) Aclarar las superficies con abundante agua.
b) No es necesario aclarar con agua.
c) Esperar 15 min. Para que haga efecto el desinfectante y aclarar con abundante agua.

40. ¿Cuál de los siguientes productos crees que es un desinfectante?.

a) Sosa cáustica.
b) Lejía.
c) Ácido nítrico.

VIII.8. Modelo de encuesta de producción de las Queserías Artesanales.

Encuesta de Producción de las Queserías Artesanales

DATOS DE LA EMPRESA Y PERSONA DE CONTACTO

Nombre de la Quesería :
_____
Dirección: _____
Nombre del representante:
_____
Tlf. de contacto: _____ **Móvil:**
_____

MEMORIA DESCRIPTIVA DE LA ACTIVIDAD

- **Ordeño:** Mecánico Manual
- **Almacenamiento:** Si ☐ No ☐
  Tiempo:_____
- **Pasteurización:** Si ☐ No ☐
- **Tipo de salado:** Superficie Salmuera
- **Venta de queso:**
  - Directa en la propia explotación: Si ☐ No ☐
  - A madurador Si ☐ No ☐
- **Producción de queso en Kg:**
  - Diario: _____ - Semanal: _____ - Mensual: _____
  Tipo: _____
- **Producción propia de leche en Kg:** _____
- **Procedencia de la leche:**
  - Propia Si ☐ No ☐
  - Ajena Si ☐ No ☐
- **Materias primas:**

  - Leche de vaca ☐ - Leche de cabra ☐ - Leche de oveja ☐

- **Fermentos:** Si ☐ No ☐ Cuáles**:**
  _____

- **Tipo/s de cuajo:**
  _____

- **Condimentos:** Si ☐ No ☐
  _____

- **CLORO** _____

- **TEMPERATURAS (quesos, cámaras)**
  _____

- **PARÁMETROS DE ELABORACIÓN**
  _____

INSTALACIONES

- **Locales**

- Almacén de materias primas:	Si ☐	No ☐	
- Almacén de productos químicos:	Si ☐	No ☐	
- Almacén de productos terminados:	Si ☐	No ☐	
- Baños:	Si ☐	No ☐	
- Vestuarios:	Si ☐	No ☐	
- Sala de elaboración:	Si ☐	No ☐	
- Zona de recepción de materias primas:	Si ☐	No ☐	
- Desagüe con sifón:	Si ☐	No ☐	
- Lavamanos de accionamiento no manual:	Si ☐	No ☐	
- Revestimiento de paredes:	Si ☐	No ☐	Material: _____
- Revestimiento de suelos:	Si ☐	No ☐	Material: _____
- Protección de luces:	Si ☐	No ☐	
- Mosquiteras en ventanas:	Si ☐	No ☐	
- Mosquiteras en puertas:	Si ☐	No ☐	
- Separación física estabulación-zona elaboración:	Si ☐	No ☐	

- **Equipos, utillaje y mobiliario**

  - Tanques de frío: Si ☐ No ☐ Volumen: _____
    Lector de Tª: Si ☐ No ☐
  - Cámaras refrigeración: Si ☐ No ☐ Lector de Tª: Si ☐ No ☐
  - Pasteurizador: Si ☐ No ☐
  - Cuba de cuajado: Si ☐ No ☐
  - Batea: Si ☐ No ☐
  - Mesa: Si ☐ No ☐
  - Prensa: Si ☐ No ☐
  - Nevera Si ☐ No ☐
  - Tipo de moldes:

    _____
  - Útiles de madera: Si ☐ No ☐ Cuáles:

    _____
  - Otros:

    _____

    _

SISTEMA DE AUTOCONTROL

- **Posee carnet de manipulador de alimentos en vigor:** Si ☐ No ☐
- **Realiza registros de:**
- **Plan de Limpieza y desinfección**
- **Trazabilidad**
- **Otros:**

Tabla VIII.9. Resultados de los análisis estadísticos por producto (queso y leche) de los factores asociados a la contaminación microbiológica.

Tabla VIII. 9.1. Factores asociados con la contaminación por *Escherichia coli y Staphilococcus aureus.*

	Escherichia coli		*Staphilococcus aureus*	
	n (%)	P	n (%)	P
Muestra; (N)		< 0.001 Chi		0.079 Chi
Leche (398)	2 (0.5)		19 (4.8)	
Queso (406)	24 (5.9)		10 (2.5)	
Zona (N)		0.336 Chi		0.363 Chi
Costa (309)	6 (1.9)		8 (2.6)	
Medianías (325)	12 (3.7)		12 (3.7)	
Cumbre (78)	3 (3.8)		3 (3.8)	
Moya (92)	5 (5.4)		6 (6.5)	
Kg produc.; (N)		0.234 Lin		0.197 Lin
< 10 (122)	4 (3.3)		7 (5.7)	
10 – 50 (343)	15 (4.4)		12 (3.7)	
> 50 (339)	7 (2.1)		10 (2.9)	
Tipo (N)		0.025 Chi		0.948 Chi
Fresco/tierno (254)	3 (1.2)		9 (3.5)	
Semicurado (550)	23 (4.2)		20 (3.6)	
Manipulación; (N)		0.405 Lin		0.167 Lin
Alta (163)	4 (2.5)		8 (4.9)	
Media (490)	21 (4.3)		18 (3.7)	
Mínima (151)	1 (0.7)		3 (2.0)	
Tratamiento; (N)		0.233 Chi		0.183 Chi
Cruda (715)	25 (3.5)		28 (3.9)	
Pasteurizada (89)	1 (1.1)		1 (1.1)	
Fallos test ; (N)		0.115 Lin		0.201 Lin
> 10 (156)	5 (3.2)		6 (3.8)	
7 – 10 (334)	15 (4.5)		15 (4.5)	
4 -6 (216)	6 (2.8)		7 (3.2)	
0 – 3 (98)	0		1 (1.0)	
LD; (N)		0.267 Chi		0.318 Chi
> 2 fallos (426)	11 (2.6)		18 (4.2)	
≤ 2 fallos (378)	15 (3.9)		11 (2.9)	

Tabla VIII.9.1. (*continuación*). Factores asociados con la contaminación por *Escherichia coli y Staphilococcus aureus.*

	Escherichia coli		*Staphilococcus aureus*	
	n (%)	P	n (%)	P
Puntos HAS: (N)		0.065 [Lin]		0.363 [Lin]
< 45 (122)	2 (1.6)		6 (4.9)	
45 – 65 (539)	16 (3.0)		19 (3.5)	
65 – 85 (143)	8 (5.6)		4 (2.8)	
Cabra		0.460 [Chi]		0.434 [Chi]
Si (788)	26 (3.3)		29 (3.7)	
No (16)	0		0	
Oveja		0.011 [Chi]		0.707 [Chi]
Si (500)	10 (2.0)		10 (3.3)	
No (304)	16 (5.3)		19 (3.8)	
Vaca		0.061 [Chi]		0.150 [Chi]
Si (212)	11 (5.2)		11 (5.2)	
No 592)	15 (2.5)		18 (3.0)	

[Chi] Test Ji-cuadrado ; [Lin] Test de asociación lineal

Tabla VIII. 9.2. Fctores asociados con la contaminación en quesos por *Escherichia coli y Staphilococcus aureus.*

	Escherichia coli		*Staphilococcus aureus*	
	n (%)	P	n (%)	P
Zona (N)		0.222 Chi		0.138 Chi
Costa (155)	5 (3.2)		1 (0.6)	
Medianías (165)	11 (6.7)		5 (3.0)	
Cumbre (40)	3 (7.5)		1 (2.5)	
Moya (46)	5 (10.9)		3 (6.5)	
Kg produc.; (N)		0.188 Lin		0.348 Lin
< 10 (61)	4 (6.6)		3 (4.9)	
10 – 50 (173)	14 (8.1)		4 (2.3)	
> 50 (172)	6 (3.5)		3 (1.7)	
Tipo (N)		0.013 Chi		0.445 Chi
Fresco/tierno (126)	2 (1.6)		2 (1.6)	
Semicurado (280)	22 (7.9)		8 (2.9)	
Manipulación; (N)		0.373 Lin		0.048 Lin
Alta (82)	4 (4.9)		4 (4.9)	
Media (248)	19 (7.7)		6 (2.4)	
Mínima (76)	1 (1.3)		0	
Tratamiento; (N)		0.064 Chi		0.857 Chi
Cruda (358)	24 (6.7)		9 (2.5)	
Pasteurizada (48)	0		1 (2.1)	
Fallos test ; (N)		0.074 Lin		0.470 Lin
> 10 (78)	5 (6.4)		1 (1.3)	
7 – 10 (168)	15 (8.9)		5 (3.0)	
4 -6 (110)	4 (3.6)		4 (3.6)	
0 – 3 (50)	0		0	
LD; (N)		0.487 Chi		0.640 Chi
> 2 fallos (214)	11 (5.1)		6 (2.8)	
≤ 2 fallos (192)	13 (6.8)		4 (2.1)	
Puntos HAS: (N)		0.116 Lin		0.470 Lin
< 45 (61)	2 (3.3)		3 (4.9)	
45 – 65 (272)	15 (5.5)		5 (1.8)	
65 – 85 (73)	7 (9.6)		2 (2.7)	

Tabla VIII.9.2. (*continuación*). Factores asociados con la contaminación en quesos por *Escherichia coli y Staphilococcus aureus.*

		Escherichia coli		*Staphilococcus aureus*	
		n (%)	P	n (%)	P
Cabra (106)		8 (7.5)	0.022 [Chi]	5 (4.7)	0.026 [Chi]
Cabra y oveja (193)		5 (2.6)		1 (0.5)	
Cabra, oveja y vaca (59)		5 (8.5)		4 (6.8)	
Cabra y vaca (40)		6 (15.0)		0	
Vaca (8)		0		0	
Cabra			0.474 [Chi]		0.650 [Chi]
	Si (398)	24 (6.0)		10 (2.5)	
	No (8)	0		0	
Oveja			0.034 [Chi]		0.426 [Chi]
	Si (252)	10 (4.0)		5 (2.0)	
	No (154)	14 (9.1)		5 (3.2)	
Vaca			0.026 [Chi]		0.321 [Chi]
	Si (107)	11 (10.3)		4 (3.7)	
	No (299)	13 (4.3)		6 (2.0)	

[Chi] Test Ji-cuadrado ; [Lin] Test de asociación lineal

Tabla VIII. 9.3. Factores asociados con la contaminación en leches por *Staphilococcus aureus* y aerobios mesófilas.

	Staphilococcus aureus		*Aerobios mesófilos*		
	n (%)	P	N*	n (%)	P
		0.940 Chi			0.236 Chi
Zona (N)					
Costa (154)	7 (4.5)		45	18 (40.0)	
Medianías (160)	7 (4.4)		42	18 (42.9)	
Cumbre (38)	2 (5.3)		19	4 (21.1)	
Moya (46)	3 (6.5)		19	10 (52.6)	
Kg produc.; (N)		0.758 Lin			0.178 Lin
< 10 (61)	4 (6.6)		16	9 (56.3)	
10 – 50 (170)	8 (4.7)		53	23 (43.4)	
> 50 (167)	7 (4.2)		56	18 (32.1)	
Tipo (N)		0.654 Chi			0.872 Chi
Fresco/tierno (128)	7 (5.5)		36	14 (38.9)	
Semicurado (270)	12 (4.4)		89	36 (40.4)	
Manipulación; (N)		0.789 Lin			0.008 Lin
Alta (81)	4 (4.9)		20	13 (65.0)	
Media (242)	12 (5.0)		91	34 (37.4)	
Mínima (75)	3 (4.0)		14	3 (21.4)	
Tratamiento; (N)		0.130 Chi			0.874 Chi
Cruda (357)	19 (5.3)		118	47 (39.8)	
Pasteurizada (41)	0		7	3 (42.9)	
Fallos test ; (N)		0.131 Lin			0.272 Lin
> 10 (78)	5 (6.4)		19	10 (52.6)	
7 – 10 (166)	10 (6.0)		48	17 (35.4)	
4 -6 (106)	3 (2.8)		35	17 (48.6)	
0 – 3 (48)	1 (2.1)		23	6 (26.1)	
LD; (N)		0.376 Chi			0.593 Chi
> 2 fallos (212)	12 (5.7)		44	19 (43.2)	
≤ 2 fallos (186)	7 (3.8)		81	31 (38.3)	
Puntos HAS: (N)		0.705 Lin			0.496 Lin
< 45 (61)	3 (4.9)		16	9 (56.3)	
45 – 65 (267)	14 (5.2)		96	35 (36.5)	
65 – 85 (70)	2 (2.9)		13	6 (46.2)	

(*) Tamaños muestrales para determinación de aerobios mesófilos
Chi Test Ji-cuadrado ; Lin Test de asociación lineal

Tabla VIII. 9.3. (*continuación*). Factores asociados con la contaminación en leches por *Staphilococcus aureus* y aerobios mesófilas.

		Staphilococcus aureus		*Aerobios mesófilos*		
		n (%)	P	N*	n (%)	P
Cabra (103)		1 (1.0)	0.152 [Chi]	13	6 (46.2)	0.087 [Chi]
Cabra y oveja (190)		11 (5.8)		83	27 (32.5)	
Cabra, oveja y vaca (58)		3 (5.2)		23	14 (60.9)	
Cabra y vaca (39)		4 (10.3)		6	3 (50.0)	
Vaca (8)		0		0	-	
Cabra			0.522 [Chi]			
	Si (390)	19 (4.9)		125	50 (40.0)	
	No (8)	0		0	-	
Oveja			0.295 [Chi]			0.476
	Si (248)	14 (5.6)		106	41 (38.7)	
	No (150)	5 (3.3)		19	9 (47.4)	
Vaca			0.289 [Chi]			0.020 [Chi]
	Si (105)	7 (6.7)		29	17 (58.6)	
	No (293)	12 (4.1)		96	33 (34.4)	

(*) Tamaños muestrales para determinación de aerobios mesófilos
[Chi] Test Ji-cuadrado ; [Lin] Test de asociación lineal

VIII.10. Plan de Limpieza y Desinfección en las Queserías Artesanales.

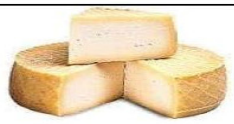
INDICE

1. PLAN DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

Nº DE REGISTRO	ZONA
1.	TANQUES DE LECHE Y LíNEAS DE LECHE CRUDA
2.	CIRCUITO DE ORDEÑO (PROGRAMA ÚNICO)
3.	SALA DE ELABORACIÓN
4.	MOLDES (PROGRAMA NORMAL POR INMERSIÓN)
5.	SUPERFICIES (PAREDES Y SUELOS)
6.	UTENSILIOS
7.	PASTEURIZADOR
8.	PASILLOS Y ZONAS DE ACCESO
9.	CÁMARAS DE REFRIGERACIÓN
10.	HIGIENE DEL MANIPULADOR

El Programa de limpieza y desinfección debe ir acompañado de:

1. TABLAS ESQUEMATICAS- RESUMEN DE LAS OPERACIONES DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN
2. DOCUMENTACIÓN TÉCNICA: BOLETINES TÉCNICOS DE LOS PRODUCTOS
3. CERTIFICACIÓN ISO Y REGISTRO SANITARIO DE LOS PRODUCTOS UTILIZADOS

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

TANQUES DE LECHE Y LíNEAS LECHE CRUDA

REGISTRO 1

ELEMENTOS	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Acido	
• Interior del deposito • Tubería	**D**	**S**	Sistema manual **PRODUCTOS** ALCALINO CLORADO NO ESPUMANTE DETERGENTE ÁCIDO NO ESPUMANTE

INSTRUCCIONES DE L+D

Diariamente:

1. Realizar un enjuague con agua limpia
   - Temperatura: 30 °
   - Tiempo: hasta que salga el agua clara, eliminando la mayor parte de la leche.
2. Aplicar el detergente alcalino mediante estropajo o cepillo.
   - Concentración: 1%
   - Temperatura de aplicación: 35 °C.
   - Tiempo de actuación: 20 minutos
3. Realizar un enjuague intermedio con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: hasta pH neutro o ausencia de espuma.
4. Aplicar el detergente ácido semanalmente sobre la superficie interior.
   - Concentración: 0.5 %.
   - Temperatura de aplicación: ambiente.
   - Tiempo de actuación: 20 minutos
5. Realizar un enjuague final con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: hasta pH neutro

LIMPIEZA ALCALINA

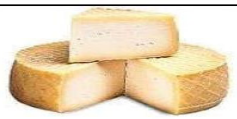
LIMPIEZA ACIDA

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

CIRCUITO DE ORDEÑO (PROGRAMA ÚNICO)

REGISTRO 2

ELEMENTOS	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Acido	Sistema **CIP**
• Colectores • Interior del depósito • Tubería	**D**	**S**	**PRODUCTOS** ALCALINO CLORADO SIN ESPUMA DETERGENTE ACIDO

INSTRUCCIONES DE L+D

Diariamente:

Después del ordeño de la mañana

1. Realizar un enjuague a fondo perdido con agua potable.
   - Temperatura: 40ºC
   - Tiempo: hasta que salga el agua clara
4. Aplicar el detergente alcalino clorado a todo el circuito.
   - Concentración: 0,5-1,5%
   - Temperatura de aplicación: 50-60°C.
   - Tiempo de actuación: 10-15 minutos
5. Realizar un enjuague a fondo perdido con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro.

Semanalmente:

Después del ordeño de la tarde

6. Realizar un enjuague a fondo perdido con agua potable.
   - Temperatura: 40ºC
   - Tiempo: hasta que salga el agua clara
7. Aplicar el detergente ácido a todo el circuito.
   - Concentración: 1-1,5%
   - Temperatura de aplicación: 50-60 °C.
   - Tiempo de actuación: 10-15 minutos

Continúa en la página siguiente...

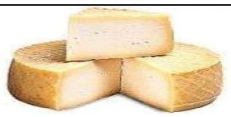
LIMPIEZA ÁCIDA

LIMPIEZA ALCALINA

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** **Conrado Carrascosa Iruzubieta**

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

Viene de la página anterior...

8. Realizar un enjuague final con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro

OBSERVACIONES:

Este programa de limpieza y desinfección se puede aplicar en condiciones normales de trabajo, pero dependiendo de los niveles microbiológicos requeridos o de la existencia de altas contaminaciones, problemas puntuales u otros factores, se recomienda hacer un programa que intensifique la fase ácida, hasta que desaparezcan los restos de sales inorgánicas, repitiendo el siguiente programa dos veces en semana, como se indica a continuación:
Los cinco días restantes aplicar solo detergente alcalino clorado.

Después de cada ordeño

1. Realizar un enjuague a fondo perdido con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo. Hasta que salga el agua clara
2. Aplicar el a todo el circuito el detergente alcalino clorado
   - Concentración: 0,5-1,5%
   - Temperatura de aplicación: 50-60 °C.
   - Tiempo de actuación: 10-15 minutos
3. Realizar un enjuague intermedio con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro
4. Aplicar el detergente ácido a todo el circuito.
   - Concentración: 0,5-1,5%
   - Temperatura de aplicación: 50-60°C.
   - Tiempo de actuación: 10-15 minutos
5. Realizar un enjuague final a fondo perdido con agua potable.
   - Temperatura: ambiente

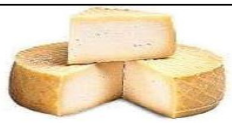
Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

SALA DE ELABORACIÓN

REGISTRO 3

ELEMENTOS	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Acido	
• Mesas • Cuba de cuajado • Prensa • Liras	Al finalizar la producción diaria	Periódicamente	Sistema **manual** **PRODUCTOS** ALCALINO CLORADO ESPUMANTE DETERGENTE ÁCIDO

INSTRUCCIONES DE L+D

Al finalizar la producción diaria:

1. Realizar un enjuague con agua limpia. Arrastrando los restos más groseros, ayudados por un haragán.
   - Temperatura: ambiente
2. Aplicar el detergente espumante alcalino-clorado , mediante estropajo o cepillo.
   - Concentración: 4 %
   - Temperatura de aplicación: 35 °C.
   - Tiempo de actuación: 20-30 minutos
3. Realizar un enjuague con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro o ausencia de espuma.

Periódicamente, según incrustaciones calcáreas (mensual).

4. Aplicar el detergente manual ácido, con estropajo o cepillo.
   - Concentración: 2%
   - Temperatura de aplicación: 35 °C.
   - Tiempo de actuación: 2 horas.
5. Realizar un enjuague final con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: 5-10 minutos o hasta pH neutro o ausencia de espuma.

LIMPIEZA ALCALINA

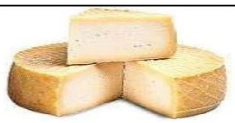
LIMPIEZA ACIDA

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

MOLDES *(PROGRAMA NORMAL POR INMERSIÓN)* — **REGISTRO 4**

ELEMENTOS	**FRECUENCIA**			**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Desinfectante	Acido	Inmersión
• Moldes	Al finalizar la producción diaria	Al finalizar la producción diaria	Cada 8-10 días	**PRODUCTOS** DETERGENTE ÁCIDO ALCALINO CLORADO ACIDO PERACÉTICO

INSTRUCCIONES DE L+D

Al finalizar la producción diaria

1. Fregar uno a uno los moldes con un detergente alcalino clorado. Previamente eliminar los restos de queso adheridos.
   - Temperatura: 30-35ºC
   - Concentración: 2%
   - Tiempo aplicación: 15 minutos

   Aclarar los moldes con agua potable a temperatura ambiente.
2. Sumergir los moldes en un baño con desinfectante con ácido peracético:
   - Temperatura: ambiente
   - Concentración: 0,3-0,5%
   - Tiempo aplicación: 10 horas

   Aclarar los moldes con agua potable a temperatura ambiente.
3. Una vez cada 8 – 10 días sustituir el ácido peracétcio por un detergente ácido, para eliminar los restos de sales inorgánicas (fosfocaeinato).
   - Temperatura: ambiente
   - Concentración: 3%
   - Tiempo aplicación: 24 horas

   Aclarar los moldes con agua potable a temperatura ambiente.

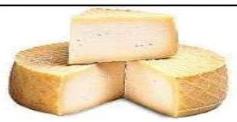
MEDIDAS DE SEGURIDAD:

LIMPIEZA ACIDA LIMPIEZA ALCALINA DESINFECCIÓN

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** **Conrado Carrascosa Iruzubieta**

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

SUPERFICIES

REGISTRO 5

Elementos	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Desinfectante	
• Paredes • Suelos	**D**	**D**	Sistema manual **PRODUCTOS** DETERGENTE ALCALINO CLORADO DESINFECTANTE

INSTRUCCIONES DE L+D

1- Retirar todas las cajas y material que pueda obstaculizar la limpieza.
2 - Enjuagar para eliminar la suciedad más grosera con agua potable a presión.

Diariamente

1- Aplicar el detergente alcalino clorado por baldeo en el suelo y frotar con cepillo.
- Concentración: 3-4 %
- Temperatura de aplicación: 30 °C
- Tiempo de actuación: 10-15 minutos

Transcurrido el período de actuación recomendado, enjuagar con agua potable.

2. Los azulejos de las paredes se limpiarán mediante estropajo.

El último día de la producción de la semana, se pulverizará toda la sala de elaboración y material quesero con un desinfectante aldehídico, para evitar resistencias microbianas al desinfectante usado diariamente.
- Concentración: 1-2 %
- Temperatura de aplicación: ambiente
- Tiempo de actuación: 24 horas

Transcurrido el período de actuación recomendado, enjuagar con agua potable.

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

D: diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico.

LIMPIEZA ALCALINA

DESINFECCIÓN

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

LIMPIEZA DEL PASTEURIZADOR

REGISTRO 7

ELEMENTOS	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Acido	Sistema automático
• Interior del circuito • Tubería	**D**	**D**	**PRODUCTOS** **DETERGENTE FUERTEMENTE ALCALINO** **DETERGENTE FUERTEMENE ÁCIDO**

INSTRUCCIONES DE L+D

Diariamente (cada vez que se use el pasteurizador):

1. Realizar un enjuague con agua limpia
   - Temperatura: 40 °
   - Tiempo: hasta que salga el agua clara, eliminando la mayor parte de la leche.
2. Aplicar el detergente alcalino
3. Concentración: 2% , (50 mS/cm de conductividad) y 1% de alcalinidad.
   - Temperatura de aplicación: 70 °C.
   - Tiempo de actuación: 15 minutos
3. Realizar un enjuague intermedio con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: hasta pH neutro o ausencia de espuma.

4 Aplicar el detergente ácido
   - Concentración: 1.5%, (30 mS/cm conductividad) y 0.7% de acidez.
   - Temperatura de aplicación: 50 °C.
   - Tiempo de actuación: 15 minutos

5. Realizar un enjuague final con agua potable.
   - Temperatura: ambiente
   - Tiempo: hasta pH neutro

Para un depósito de 50 l de agua, añadir 1 litro de detergente alcalino y 0.75 l de detergente ácido.

LIMPIEZA ALCALINA

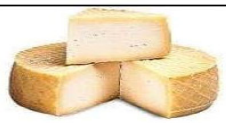
LIMPIEZA ACIDA

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** **Conrado Carrascosa Iruzubieta**

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

PASILLOS Y ZONAS DE ACCESO

REGISTRO 8

Elementos	**FRECUENCIA**	**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	
• Suelos	D	Manual **PRODUCTO** **FREGASUELOS**

INSTRUCCIONES DE L+D

1 - Retirar todos los contenedores, cajas, bandejas o material que pueda obstaculizar la limpieza. Barrer concienzudamente todo el suelo del pasillo y aledaños.

Diariamente,
2 - Aplicar el detergente fregasuelos, mediante cubo y fregona.
- Concentración: 3-5 %
- Temperatura de aplicación: a ser posible a 40-50 °C
- Tiempo de actuación: 15 minutos

3 - Transcurrido el período de actuación recomendado, enjuagar con agua potable mediante la fregona y cubo.

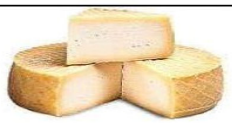
Utilizar el sistema de doble cubo, uno para el agua y otro para el detergente fregajuelos.

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

LIMPIEZA ALCALINA

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

CAMARAS FRIGORÍFICAS

REGISTRO 9

Elementos	**FRECUENCIA**		**SISTEMAS L + D UTILIZADOS**
	Alcalino	Desinfectante	
• Suelos • Paredes • Puertas	Cada vez que se vacíen	Cada vez que se vacíen	Limpieza manual **PRODUCTOS** DETERGENTE ALCALINO CLORADO DESINFECTANTE

INSTRUCCIONES DE L+D

Todos los días se recoge el suelo de las cámaras y se supervisa.

1 - Retirar todas las cajas, bandejas o género que pueda obstaculizar la limpieza.

Periódicamente (mínimo una vez al mes)

2- Aplicar sobre paredes, suelos y puertas, el detergente alcalino clorado, de forma manual, con estropajo.
- Concentración: 3-2 %
- Temperatura de aplicación: 40-50 °C
- Tiempo de actuación: 10-15 minutos

4 - Tras el tiempo de actuación del detergente, enjuagar paredes y suelos con agua potable.

Periódicamente

3- Aplicar sobre paredes y suelos el desinfectante por pulverización.
- Concentración: 1%
- Temperatura de aplicación: ambiente
- Tiempo de actuación: mínimo 30 minutos

4- Tras el período de actuación del desinfectante, enjuagar con agua potable todas las superficies.

MEDIDAS DE SEGURIDAD:

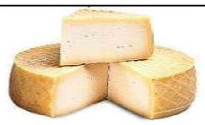
D: Diario; **S:** semanal; **M:** mensual; **T:** trimestral; **P:** periódico

LIMPIEZA ALCALINA

DESINFECCIÓN

FECHA DE IMPLANTACIÓN	**MODIFICACIONES**	**FIRMADO** Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados

 OHAPA	**PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN**	**QUESERÍA ARTESANAL**

HIGIENE PERSONAL

REGISTRO 10

Elementos	FRECUENCIA	SISTEMAS L + D UTILIZADOS
	Neutro	
• Manos de manipuladores de alimentos	Siempre que se considere necesario	Manual
		PRODUCTOS
		JABÓN DE MANOS CON DESINFECTANTE

INSTRUCCIONES DE L+D

1 - A la salida de los servicios, cada vez que se produzca un paro en la elaboración y siempre que se considere necesario, los manipuladores de alimentos se lavarán las manos y los brazos en el lavamanos con agua templada o caliente y el detergente neutro bacteriostático y dermoprotector dosificado puro mediante dosificador.

- Concentración: puro
- Temperatura de aplicación: 30-35 °C
- Tiempo de actuación: 20 segundos

2 - Una vez lavadas las manos deben secarse concienzudamente con papel de un solo uso.

FECHA DE IMPLANTACIÓN	MODIFICACIONES	FIRMADO Conrado Carrascosa Iruzubieta

Este programa de Limpieza y Desinfección solo será vigente si se utilizan los productos Detergentes y Desinfectantes recomendados