

RELATORÍA: EL QUEHACER DE LOS LABORATORIOS DEL SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA (SENASICA)

THE WORK OF THE LABORATORIES OF THE NATIONAL HEALTH SERVICE, SAFETY AND QUALITY OF FOOD (SENASICA)

Zamora-Nava, M.C.¹; Arias-Ruiz, A.¹; Barrera-Andrade, M.G.¹; Acatzi-Silva, A.I.¹; García-López, L.C.¹; González-Ávila, D.

¹Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Av. Municipio Libre No. 377, Piso 7-B, Col Santa Cruz Atoyac, Del. Benito Juárez, México, D.F., C.P. 03370. Tel: +52 (55) 5905 1000, Ext. 51005.

Dirección de contacto: difusion@senasica.gob.mx

RESUMEN

Debido a grandes brotes de enfermedades en animales o plagas que han afectado a México, desde principios del siglo veinte surge la necesidad de crear sistemas de análisis sofisticados en los laboratorios con la finalidad de crear protocolos de diagnóstico, fichas técnicas, manuales y catálogos, así como detectar patógenos, plagas y malezas. El Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) dependiente de la SAGARPA, tiene la misión de regular, administrar y fomentar las actividades de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria, reduciendo los riesgos inherentes en materia agrícola, pecuaria, acuícola y pesquera en beneficio de los productores, consumidores e industria; cuenta con una red de laboratorios que atiende la detección de plagas y enfermedades que ponen en riesgo la viabilidad económica del sector agropecuario acuícola, pesquero y de salud pública.

Palabras clave: sanidad, inocuidad, agroalimentario.



Centro nacional de referencia en detección de organismos genéticamente modificados (CNRDOGM)

La biotecnología moderna, aplicada en especies vegetales, es una herramienta que desde mediados de los años noventa generó los primeros desarrollos de Organismos Genéticamente Modificados (OGMs), también conocidos como transgénicos. Actualmente a nivel mundial se utilizan plantas genéticamente modificadas como soya, algodón, maíz, trigo, canola y arroz, entre otras, que les permiten resistir el ataque de plagas, enfermedades, condiciones climáticas extremas, como heladas o sequías; tolerar herbicidas, aumentar sus propiedades nutrimentales, o bien, combinar varias de estas características en una misma planta. El Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados (CNRDOGM) es el laboratorio oficial de la SAGARPA para el análisis de OGMs desde diciembre de 2011. Cuenta con el reconocimiento por la confiabilidad de sus resultados a través de la acreditación SA-0338-005/11 otorgada por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). Este laboratorio lleva a cabo el análisis de diversos cultivos para detectar, identificar y cuantificar las modificaciones genéticas que pudieran estar presentes en la muestra. Actualmente se analizan principalmente muestras de maíz, algodón, soya, alfalfa y trigo. A continuación se describen los pasos más representativos para el análisis de los OGMs (Figura 1).

Recepción, registro y acondicionamiento de muestras

Durante su registro, a las muestras se les asigna un número único e irrepetible, lo que garantiza su identificación a lo largo del proceso de análisis hasta la emisión del informe



Figura 1. Tipo de muestras que son analizadas en el CNRDOGM.

INTRODUCCIÓN

El Servicio

Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) dependiente de la SAGARPA, tiene la misión de regular, administrar y fomentar las actividades de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria, reduciendo los riesgos inherentes en materia agrícola, pecuaria, acuícola y pesquera en beneficio de los productores, consumidores e industria; cuenta con una red de laboratorios que atiende la detección de plagas y enfermedades que ponen en riesgo la viabilidad económica del sector agropecuario acuícola, pesquero y de salud pública. La red nacional de 50 laboratorios de alta especialización respalda al Sistema de Vigilancia Epidemiológica de México en beneficio del comercio nacional e internacional, así como al desarrollo y evolución sanitaria del inventario pecuario nacional y de salud pública. Los laboratorios cuentan con infraestructura para brindar servicios de diagnóstico y constatación oportunos, confiables y de calidad, ejecutados por personal especializado que emplea técnicas modernas y equipos de vanguardia para la atención de emergencias, lo cual permite tomar decisiones para controlar y erradicar plagas y enfermedades de alto riesgo para la agricultura, ganadería, acuicultura y pesca, al aplicar operativos y medidas sanitarias. El SENASICA lleva a cabo diferentes actividades de monitoreo, inspección y vigilancia de productos agrícolas, pecuarios, acuícolas y pesqueros a lo largo del territorio nacional, con el fin de regular y vigilar la inocuidad de estos alimentos. Para cumplir con esta tarea, se cuenta con el apoyo y la participación de laboratorios oficiales que fungen como Centros Nacionales de Referencia en el análisis de alimentos, identificando la presencia o ausencia de contaminantes químicos y microbiológicos o las modificaciones genéticas que puedan causar daño a la salud, o bien, que éstos se encuentren dentro de los límites permitidos por la regulaciones nacionales e internacionales, asegurando así la entrega de productos inocuos al consumidor.

de resultados. En esta etapa a las muestras de tejido vegetal (hojas o tallos) se le realizan varios cortes y son cristalizadas con nitrógeno líquido (N₂); posteriormente son trituradas. Cuando la muestra consiste en granos o semillas, se muelen hasta obtener harinas; tanto la trituración como la molienda se realizan mecánicamente. La muestra acondicionada es dividida en tres sub-muestras, de las cuales dos son enviadas al área de resguardo en donde permanecerán en congelación por un periodo mínimo de cinco años; con la otra sub-muestra se inicia el proceso de extracción de ADN (Figura 2, 3).

Extracción de ADN

Una vez reducido el tamaño de la muestra, el siguiente paso es hacerla interactuar con algunos componentes químicos (sales y detergentes) y biológicos (enzimas que degradan



Figura 3. Extracción y análisis de ADN de las muestras recepcionadas.

proteínas) que rompen la célula vegetal con el objetivo de liberar el ADN del interior de la misma.

Análisis de secuencias genéticamente modificadas

Este análisis se lleva a cabo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR, por sus siglas en inglés), la cual permite amplificar o “multiplicar” billones de veces los fragmentos de ADN característicos de la modificación genética en la muestra analizada. Esta es una técnica con una alta especificidad, de manera que aunque se tenga muy poca cantidad de ADN es posible detectar pequeñas concentraciones de OGMs. El análisis de secuencias de la muestra consta de los niveles de detección, identificación y cuantificación de dichas secuencias.

Detección, identificación y cuantificación de OGM

La detección permite determinar si existe la presencia o ausencia de material genéticamente modificado en una muestra, mientras que la identificación indica las características introducidas al cultivo (resistencia a insectos, tolerancia a herbicidas, resistencia a sequía, etcétera), inclusive en eventos apilados o “stacks”.

De esta forma se puede identificar variedades genéticas no permitidas para su liberación al ambiente. La cuantificación determina el porcentaje de material genéticamente modificado (GM) de una muestra y se pueden detectar niveles muy bajos de material GM en cualquier caso (herramienta para el etiquetado y monitoreo). Una variación de la técnica de PCR para la cuantificación de OGM es la PCR digital (dPCR), la cual cuenta con mayor exactitud y precisión. Esta técnica trabaja a base de diluciones seriales y es capaz de cuantificar las secuencias genéticamente modificadas en unidades de número de copias, que equivale al número de moléculas de ADN, y se caracteriza por una sensibilidad extraordinaria, pues mide desde 0.6 moléculas de ADN, siendo así la técnica de cuantificación de OGM con mayor jerarquía a nivel mundial (Figura 4).

Secuenciación

Las actividades en el área de secuenciación incluyen la caracterización de OGMs a partir de hojas de tejido vegetal, granos, semillas y plásmidos (moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera), con la finalidad



Figura 2. Recepción y acondicionamiento de muestras.

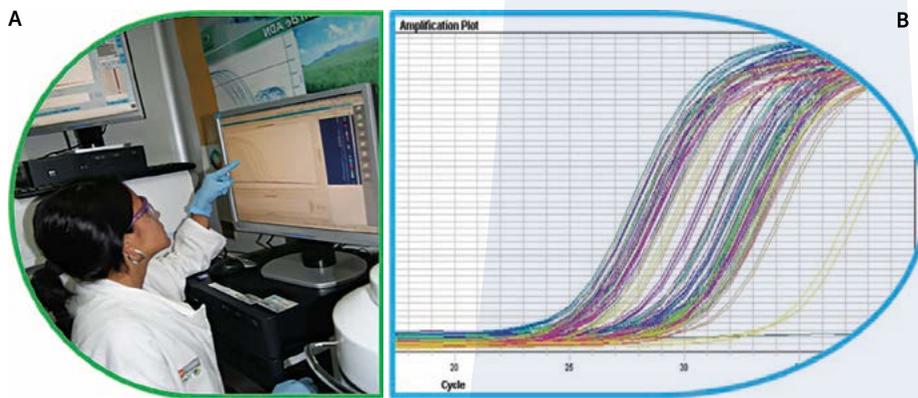


Figura 4. A: Curva de cuantificación de OGM. B: Curva de amplificación por RT-PCR.

El siguiente paso consiste en cargar las esferas en una placa (Figura 6), la cual consta de más de un millón de pocillos de 44 micras de diámetro. Las esferas con ADN se introducen a otro tipo de esferas que contienen las enzimas necesarias para detectar la incorporación de nucleótidos (compuesto orgánico que está formado por una base nitrogenada, un azúcar y un ácido fosfórico) durante la síntesis de la cadena complementaria; y de esta forma se lleva a cabo una cascada enzimática

liberando un pirofosfato y termina con la emisión de luz, como se muestra en la Figura 7.

de monitorear los eventos liberados al campo (Figura 5). A partir de 2013 se inició el proceso de secuenciación masiva para organismos patógenos, con el objetivo de crear una base de datos nacional de cepas patógenas que se encuentran en productos alimenticios de interés.

El secuenciador recoge el patrón de destellos luminosos que se emiten en la placa y los resultados se analizan mediante programas bioinformáticos y se convierten en secuencias. La plataforma Ion Torrent con la que cuenta el CNRDOGM es similar a la pirosecuenciación; la diferencia es que la muestra pasa por una digestión enzimática y, mediante un factor de dilución, inicia el proceso de la muestra en la cual el ADN se liga a los adaptadores, generando la librería que posteriormente se amplifica y se secuencia. El principio de *Ion Torrent* se basa en la incorporación de pequeñas secuencias que adiciona el secuenciador a la muestra de interés y mediante el uso

Las muestras vegetales pasan por un proceso de acondicionamiento y extracción de ADN, mientras que los organismos patógenos quedan exentos de esta etapa ya que se parte directamente del ADN. Ambas muestras pueden llevarse a cabo utilizando el principio de pirosecuenciación, o bien, por secuenciador *Ion Torrent*, a través de un chip semiconductor, como se muestra en la Imagen 2.

El proceso de pirosecuenciación comienza con la adaptación del ADN para obtener una librería de pequeños fragmentos de 600 a 700 pares de bases, lo cual se logra fragmentando el ADN a secuenciar mediante un proceso físico conocido como "nebulización", donde el ADN se rompe utilizando un gas inerte a una presión y tiempo constante. Posteriormente se trabaja con una mezcla de enzimas que cortan las dos hebras de ADN por el mismo lugar, generando dos extremos de doble cadena que permitirán la unión del adaptador (pequeñas secuencias A y B), el cual está diseñado para poder seleccionar, amplificar y secuenciar.



Figura 5. Recolección de muestra en campo. Fuente: SAGARPA.

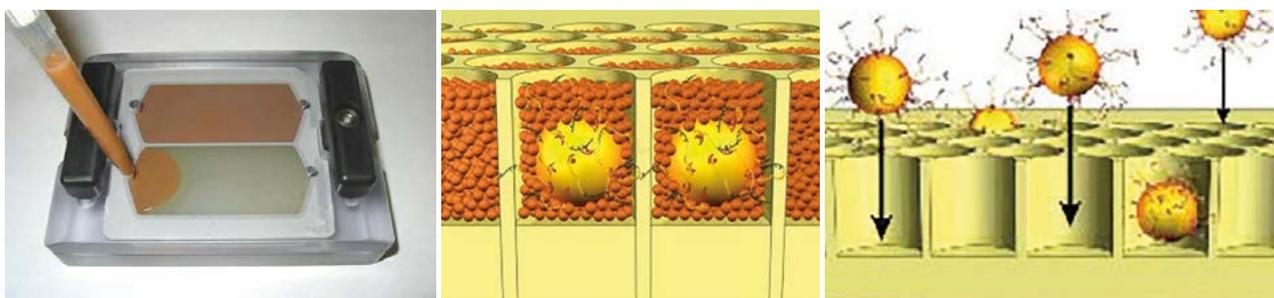


Figura 6. Montaje del llenado de la PPT para la plataforma 454 GS FLX. Fuente: www.roche-applied.science.com.

de un chip semiconductor (Figura 8) se detectan cambios en el pH de la muestra, generando las señales correspondientes que finalmente son captadas por el secuenciador y analizadas mediante una programa bio-informático.

Este tipo de secuenciación es considerada como de nueva generación, ya que proporciona la información necesaria para poder verificar cual-

quier tipo de evento o modificación genética que se presente en diferentes variedades de muestras, además de obtener información masiva para poder identificar la secuencia de interés. Además, el CNRDOGM cuenta con reconocimiento internacional, pues cada año participa en pruebas internacionales, conocidas como ensayos de aptitud, donde compara sus resultados de análisis con los de laboratorios homólogos de otros países coordinados por organismos de Francia y Estados Unidos, comprobando que el trabajo que se realiza en México en materia de análisis de OGM se encuentra al nivel de los mejores laboratorios del mundo. De esta manera, el SENASICA implementa y mejora las acciones regulatorias y operativas que contribuyan a lograr una protección adecuada de la sanidad animal, vegetal, acuícola y pesquera en beneficio de la sociedad, fortaleciendo el compromiso del Gobierno Federal de salvaguardar la bioseguridad en México.

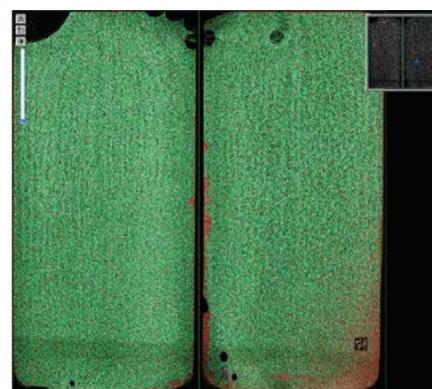


Figura 7. Resultados de la emisión de luz generada en el secuenciador, un color verde que indica incorporación de secuencia y los pocillos rojos, ausencia de ADN.

son las Buenas Prácticas de Producción (BPP) y las Buenas Prácticas de Manejo o Manufactura (BPM) durante la producción y el procesamiento primario de los alimentos agrícolas que permiten asegurar que cada eslabón de la cadena agroalimentaria establezca controles y actividades que eviten riesgos de contaminación y obtener

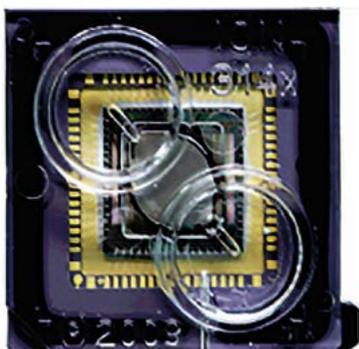


Figura 8. Equipo Ion Torrent que trabaja con un chip semiconductor que es utilizado para validar resultados del 454 GS FLX

Laboratorio de diagnóstico para la detección de organismos patógenos (LDDOP)

Uno de los objetivos del SENASICA es la vigilancia de la aplicación de los Sistemas de Reducción de Riesgos de Contaminación, como



en consecuencia alimentos inocuos, definiéndose esto como **“la característica que tiene un alimento de no causar daño a la salud del consumidor por efectos de algún contaminante”**.

El SENASICA coordina y opera el Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes y Residuos Tóxicos, el cual contempla el monitoreo de alimentos agropecuarios no procesados, producidos en el país, y aquellos que se importan y pudieran presentar existencia de contaminantes físicos, químicos y microbiológicos (Figura 9). Este programa se basa en el análisis de muestras obtenidas de las diferentes regiones agropecuarias del país que reciben los Laboratorios Oficiales de la institución. Estas muestras permiten determinar la condición sanitaria que guardan los alimentos y cumplir con los más elevados y estrictos estándares de sanidad e inocuidad exigidos en el mercado nacional e internacional.

Derivado de los programas, la colaboración entre Laboratorios de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA por sus siglas en Inglés) y el SENASICA, se generó mayor comunicación y entendimiento técnico entre ambas agencias, logrando la alineación de técnicas y metodologías de análisis microbiológico con FDA, que benefician al sector agropecuario al realizar exportación de alimentos frescos con un respaldo de su condición sanitaria emitida por Laboratorios Oficia-



Figura 9. Productos hortofrutícolas

les encargados de Vigilar la Calidad e Inocuidad de los alimentos.

Como resultado de esta colaboración se conforma el Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos (LDDOP) y cuatro Laboratorios Móviles de Inocuidad, cuya finalidad es generar diagnósticos confiables y oportunos

de productos hortofrutícolas, así como fuentes de agua que permitan identificar puntos de contaminación durante todo proceso de producción y empaque, que sus resultados proporcionen información para determinar las acciones preventivas y/o correctivas a implementar para reducir los riesgos por contaminación en las unidades de producción primaria, con la finalidad de brindar productos de calidad e inocuos en los mercados nacional e internacional (Figura 10).

El Laboratorio para la Detección de Organismos Patógenos tiene como misión realizar la detección e identificación oportuna de contaminantes microbiológicos en productos agrícolas de producción primaria, así como contaminantes químicos en fluidos de ganado bovino



Figura 10. Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos (LDDOP).

para satisfacer las necesidades de nuestros clientes bajo el esquema de calidad de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006.

Los procedimientos operativos para la detección e identificación de los organismos patógenos en muestras de productos agrícolas, en agua y en superficies de contacto empleados por el LDDOP, se realizan a través de equipos y metodologías de PCR-RT, los cuales cuentan con un certificado de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC International) y la Association Française de Normalisation (AFNOR). Dichos organismos reconocen que los Métodos Oficiales de Análisis son aceptables, brindan credibilidad y confianza, y son válidos en todo el mundo (Figura 11).

En caso de obtener resultados positivos **"presuntivos"** se aplican métodos convencionales que, mediante pruebas bioquímicas y la utilización de los medios de cultivo apropiados, permiten la diferenciación, selección y aislamiento del patógeno blanco.

Determinación de clembuterol

Adicional al análisis para la identificación de organismos patógenos en productos vegetales se realiza la identificación y cuantificación de residuos de clembuterol en muestras de fluidos de bovinos. Las muestras a analizar son obtenidas por personal oficial y provienen de unidades de producción inscritas al Programa Proveedor Confiable; éste fue establecido por el SENA-

SICA para vigilar y evitar el uso de dicha sustancia. Las muestras son obtenidas en los operativos realizados en conjunto con la Secretaría de Salud, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), la Procuraduría General de la República (PGR) y los Gobiernos Estatales (Figura 12).

El procedimiento operativo para la determinación de Clembuterol en muestras de fluidos de bovinos (sue-ro y orina) empleados por el LDDOP se realiza a través de la técnica de ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas), basada en la reacción antígeno-anticuerpo, con el Kit Ridascreen-Biopharm, metodología aceptada por la Secretaría de Salud y SAGARPA a través de sus órganos desconcentrados COFEPRIS y SENASICA. Consiste en general en la separación del suero sanguíneo de la muestra, centrifugación del suero u orina, sensibilización de la placa, colocación de los estándares, controles, blancos y muestras, aplicación del cromógeno y solución de paro y lectura de absorbancia a 450 nm. El Laboratorio para la Detección de Organismos Patógenos (LDDOP) cuenta con una infraestructura física y humana de primer nivel en materia de diagnóstico microbiológico. Está provisto con áreas diseñadas acorde al proceso analítico y con equipos de vanguardia que permiten brindar un servicio de calidad en el análisis microbiológico de las muestras. Las metodologías implementadas por el Laboratorio permiten obtener resultados presuntivos en 36 horas, una mediante la técnica de PCR-RT (Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real) y otra ELFA (Ensayo de Fluorescencia Ligado a enzimas), ambas altamente sensibles y específicas (Figura 13).



Figura 11. Registro e identificación de la muestra, preparación y homogenización de la muestra, enriquecimiento de la muestra, extracción de Ácidos Nucleídos del patógeno blanco, ejecución de la Reacción en Cadena de la Polimerasa o el Ensayo de Fluorescencia Ligado a Enzimas, interpretación de resultados y emisión de resultados presuntivos.



Figura 12. Toma de muestras de fluidos en animales y procesamiento en laboratorio.



Figura 13. Infraestructura y equipo de laboratorios del SENASICA.

base de datos de PulseNet del CDC (Control Disease Center) para determinar el origen y la distribución mundial del patógeno (Figura 14).

Centro nacional de referencia de plaguicidas y contaminantes (CNPYC)

Este centro realiza los servicios de análisis para identificación y cuantificación de residuos de plaguicidas y contaminantes en alimentos de origen vegetal, con muestras de todos los estados de la República Mexicana con la intención de:

- Coadyuvar en las acciones de vigilancia de la aplicación de sistemas de reducción de riesgos, participando en el análisis de muestras de productos de origen vegetal provenientes de los programas nacionales de monitoreo.
- Satisfacer las necesidades de los usuarios, cumpliendo con las atribuciones y las disposiciones oficiales en la materia.
- Cumplir los requisitos de desempeño técnico en el análisis de residuos de plaguicidas en vegetales establecidos por las autoridades sanitarias de los gobiernos con los que se tienen acuerdos comerciales para la exportación de productos de origen vegetal.
- Coadyuvar a la atención de alertas sanitarias y otras notificaciones sobre embarques originarios de México.

Proceso analítico

Los análisis se llevan a cabo mediante la ejecución de métodos internos basados en el método publicado por la FDA de los Estados Unidos para análisis de plaguicidas PAM (Manual de Análisis de Plaguicidas por sus siglas en inglés)

Por otra parte, los métodos convencionales consisten en utilizar medios selectivos y diferenciales para el aislamiento de la bacteria de interés. Una vez aislada, se procede a la serotipificación mediante la aplicación de sueros somáticos, flagelares y capsulares la cual permite, por aglutinamiento, discriminar la pertenencia de un patógeno a un determinado grupo serológico. Finalmente, en el análisis microbiológico, la implementación de la Técnica de PFGE (Electroforesis de Cam-

pos Pulsados), técnica altamente discriminatoria, estable y reproducible, considerada como el método de elección para la epidemiología molecular de bacterias patógenas, determina la subtipificación molecular (huella genética del patógeno) a través del análisis completo del ácido nucleico de la bacteria con la utilización de enzimas de restricción que digieren el ADN en segmentos y tamaños específicos, generando un patrón único y exclusivo de la bacteria, el cual se compara con la



Figura 14. Métodos convencionales para la detección de patógenos microbiológicos.

que permiten procesar productos con alto contenido de humedad, productos secos y con alto contenido graso para realizar la detección, identificación, confirmación y cuantificación de residuos de plaguicidas de los grupos químicos de organofosforados, organoclorados, organonitrogenados, piretroides y carbamatos. El proceso que sigue de rutina el CNRPyC consta de las siguientes etapas:

Recepción y molienda: En esta etapa se revisan las condiciones de llegada de las muestras y se registra la información que la acompaña, para asegurar la trazabilidad de la misma. En caso de que la muestra no cumpla con las condiciones para el análisis se rechaza y se informa al cliente para considerar la reposición. Con la molienda se reduce el tamaño y se selecciona la porción a analizar. La molienda de la porción analítica nos sirve para homogeneizar la muestra y facilitar la extracción.

Extracción y partición: Se realiza una extracción sólido líquido en la que se va a recuperar la mayor parte posible de plaguicidas de la muestra por solubilidad de éstos en los disolventes orgánicos utilizados. Para este paso se ocupan 50 g de muestra homogénea y en condiciones de



análisis. Una vez realizado el extracto se aplican lavados para eliminar los componentes de la muestra que no son plaguicidas y se eliminan junto con la fase acuosa; esta actividad se realiza mediante agitación manual. En esta etapa se obtiene el extracto final, que debe concentrar-



se para reducir el volumen y maximizar la posibilidad de detección de los plaguicidas recuperados.

Purificación: En caso de observar interferencias en los extractos de las muestras se aplica un proceso de purificación con sales de florisil. Una vez que se tiene el extracto concentrado y, cuando es el caso, purificado, se analiza por métodos cromatográficos para detectar la presencia de algún plaguicida. El primer paso es la búsqueda exhaustiva, ya que el CNRPyC no tiene limitaciones en cuanto al número de plaguicidas que busca; es decir, que va a rastrear cualquier posible plaguicida que se encuentre en el extracto de la muestra hasta tener la certeza de que está o no presente. El CNRPyC puede utilizar el método Quechers para la extracción y detección de posibles plaguicidas, el cual se fundamenta en un principio similar al del PAM, de extracción sólido-líquido, pero con tan solo 15 g de muestra y 15 ml. de solventes. La separación de las fases sólida y líquida es por centrifugación y la inyección es directa en cromatógrafos con detectores de masas. Es importante señalar que no existen los métodos universales para extraer y detectar plaguicidas; en muchas ocasiones se requiere combinar los métodos para asegurar la mejor recuperación y detección posible. Cuando se detecta un candidato a plaguicida se debe confirmar por medio del uso de diferentes tipos de columnas cromatográficas en las que cambia la polaridad de las mismas, lo que modifica el tiempo que un compuesto tarda en pasar a través de ella; si el posible plaguicida se compara con un estándar puro y coincide en los tiempos de permanencia dentro de las diferentes columnas cromatográficas, entonces se confirma;

en caso de que no se pueda hacer por este medio, se utilizan espectrómetros de masas con los que la confirmación se da por pesos atómicos específicos para cada compuesto. La capacidad de detección y cuantificación de plaguicidas con los equipos que cuenta el CNRPyC es del orden de los nanogramos de plaguicida en un kilogramo de muestra, es decir, 0.000000001 gramo por kilogramo.

Confiabilidad de los resultados

La "Asociación de Normalización y Certificación (ANCE) otorgó el certificado en la norma NMX-CC-9001-IM-NC-2008 (ISO-9001 y su equivalente internacional) al Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes. De igual forma, la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) otorgó al Centro otra certificación en la norma NMX-17025. Con esta red de laboratorios SENASICA demuestra que los productos producidos en el país cumplen con todos los estándares de calidad, sanidad e inocuidad, coadyuvando a la seguridad alimentaria y manifestando su responsabilidad con los consumidores.



SENASICA
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,
INOCUIDAD Y CALIDAD
AGROALIMENTARIA

