



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE QUESOS FRESCOS
COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO PRIVADO DE LA
CIUDAD DE MACAS

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA:

MERARI TAHYRI SHICAY CHAVEZ

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE QUESOS FRESCOS
COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO PRIVADO DE LA
CIUDAD DE MACAS

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: MERARI TAHYRI SHICAY CHAVEZ

DIRECTORA: Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Merari Tahyri Shicay Chavez

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

Yo, Merari Tahyri Shicay Chavez, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 04 de julio de 2023



Merari Tahyri Shicay Chavez

060430583-9

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUIMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; tipo Proyecto de Investigación, EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE QUESOS FRESCOS COMERCIALIZADOS EN EL MERCADO PRIVADO DE LA CIUDAD DE MACAS, realizado por la señorita: MERARI TAHYRI SHCAY CHAVEZ , ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Jannet Maria Gallegos Nuñez PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 _____	2023-07-04
Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2023-07-04
Dra. Ana Karina Albuja Landi ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	 _____	2023-07-04

DEDICATORIA

A mi madre por ser mi pilar fundamental y mi apoyo incondicional durante todo el transcurso de mi carrera, a su esfuerzo y valentía, a sus consejos y valores inculcados. A mi abuelita por su amor y comprensión brindada en cada etapa de mi aprendizaje. A mi familia por darme la motivación para continuar en los momentos más difíciles. Finalmente, a Tommy por acompañarme durante cada noche y cada madrugada desvelada.

Tahyri

AGRADECIMIENTO

A mi amada madre por su apoyo y palabras de aliento cuando más lo necesitaba, por su ayuda económica y emocional brindada desde el inicio de mi carrera. A mi maestro el Dr. Galo Insuasti por su enseñanza impartida y la motivación inspirada durante sus clases. A mis amigos Pablo y Santiago por acompañarme durante mi etapa experimental de mi tesis, por su ayuda y guía ofrecida durante todo este proceso.

A la Ing. Violeta Dalgo y Dr. Ana Albuja, por su tiempo y orientación en la elaboración de esta tesis, y a todas aquellas personas que, de una u otra forma, colaboraron y participaron en la realización de esta tesis.

Tahyri

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Limitaciones y delimitaciones.....	4
1.3. Problema general de la investigación.....	5
1.4. Problema específico de la investigación.....	5
1.5. Objetivos.....	5
1.5.1. <i>Objetivo general</i>	5
1.5.2. <i>Objetivos específicos</i>	5
1.6. Justificación.....	6
1.6.1. <i>Justificación teórica</i>	6
1.6.2. <i>Justificación metodológica</i>	7
1.6.3. <i>Justificación práctica</i>	7

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Antecedentes de investigación.....	9
2.2. Referencias teóricas.....	10
2.2.1. <i>Mercado privado</i>	10
2.2.1.1. <i>Descripción</i>	10
2.2.1.2. <i>Ubicación</i>	11
2.2.2. <i>Evaluación microbiológica</i>	11
2.2.3. <i>Queso fresco</i>	11
2.2.3.1. <i>Definición</i>	11
2.2.3.2. <i>Composición microbiana del queso</i>	12

2.2.4.	<i>Clasificación de los quesos</i>	12
2.2.5.	<i>Composición química y valor nutricional del queso fresco</i>	13
2.2.5.1.	<i>Composición química</i>	13
2.2.5.2.	<i>Valor nutricional</i>	13
2.2.6.	<i>Proceso de elaboración del queso</i>	13
2.2.7.	<i>Factores que influyen en el crecimiento microbiano del queso</i>	14
2.2.8.	<i>Control de calidad en la elaboración del queso</i>	15
2.2.8.1.	<i>Calidad alimentaria</i>	15
2.2.8.2.	<i>Higiene de los alimentos</i>	15
2.2.8.3.	<i>Control microbiológico</i>	15
2.2.9.	<i>Enfermedades transmitidas por los alimentos</i>	16
2.2.9.1.	<i>Definición</i>	16
2.2.9.2.	<i>Clasificación</i>	17
2.2.10.	<i>Microorganismos indicadores de calidad en alimentos</i>	17
2.2.10.1.	<i>Aerobios mesófilos</i>	18
2.2.10.2.	<i>Coliformes totales y fecales</i>	18
2.2.10.3.	<i>Escherichia coli</i>	18
2.2.10.4.	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.2.11.	<i>Clasificación de los medios de cultivo</i>	19
2.2.11.1.	<i>Según la naturaleza de sus ingredientes</i>	19
2.2.11.2.	<i>Según la promoción del crecimiento de determinados microorganismos</i>	20
2.2.12.	<i>Medios de cultivo para la identificación de microorganismos en muestras de alimentos</i>	20
2.2.13.	<i>Resistencia antimicrobiana</i>	21

CAPITULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	24
3.1.	Enfoque de la investigación	24
3.2.	Nivel de la investigación	24
3.3.	Diseño de la investigación	24
3.3.1.1.	<i>Según la manipulación o no de la variable</i>	24
3.3.1.2.	<i>Según la intervención en el trabajo de campo</i>	24
3.3.2.	<i>Tipo de estudio</i>	24
3.4.	Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra	25
3.4.1.	<i>Población y planificación</i>	25
3.4.2.	<i>Selección de la muestra</i>	25

3.5.	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación	25
3.6.	Materiales, reactivos, equipos e instrumentos de investigación	28

CAPITULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
4.1.	Cuantificación de Aerobios mesófilos	30
4.2.	Cuantificación de Enterobacteriáceas	31
4.3.	Cuantificación de Escherichia coli	33
4.4.	Cuantificación de Staphylococcus aureus	34
4.5.	Análisis cualitativo de Salmonella	36
4.6.	Aislamiento de microorganismos presente en las muestras de queso fresco	37
4.7.	Identificación de microorganismos patógenos en el queso fresco	40
4.8.	Análisis de la resistencia bacteriana de las cepas Gramnegativas y Grampositivas identificadas en la muestra de queso fresco	41
	CONCLUSIONES	44
	RECOMENDACIONES	45

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Clasificación según la Norma técnica nicaragüense 03 022 99	13
Tabla 2-2: Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados	16
Tabla 3-1: Materiales utilizados en la investigación.....	28
Tabla 3-2: Reactivos utilizados en la investigación.....	29
Tabla 3-3: Equipos e Instrumentos utilizados en la investigación.....	29
Tabla 4-1: Recuento de bacterias aerobias mesófilas	30
Tabla 4-2: Recuento de Enterobacteriáceas	32
Tabla 4-3: Recuento de Escherichia coli.....	33
Tabla 4-4: Recuento de Staphylococcus aureus.....	34
Tabla 4-5: Resultados cualitativos de Salmonella	36
Tabla 4-6: Resultados de bacterias gramnegativas aisladas de muestras de queso fresco	40
Tabla 4-7: Resultados de cocos gram negativos aislados de muestras de queso fresco.....	41
Tabla 4-8: Resultados del antibiograma realizado a los microorganismos identificados en las muestras de queso fresco	42

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1: Mapa de la Ubicación del mercado Privado de la ciudad de Macas- Morona Santiago.....	11
Ilustración 3-1: Etapas de la evolución microbiológica	25
Ilustración 4-1: Identificación de la muestra.....	30
Ilustración 4-2: Morfología de colonias en agar MacConkey	37
Ilustración 4-3: Morfología de colonias en agar Manitol salado.....	37
Ilustración 4-4: Morfología de colonias en agar MacConkey	38
Ilustración 4-5: Tinción gram de cultivo <i>Staphylococcus aureus</i> en agar manitol salado	38
Ilustración 4-6: Tinción Gram de cultivo <i>Escherichia coli</i> en agar MacConkey	39
Ilustración 4-7: Tinción Gram de cultivo <i>Acido lácticas</i> en agar Salmonella-shigella	39

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE QUESO FRESCO
CORRESPONDIENTES AL PUESTO 1

ANEXO C: AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE QUESO FRESCO
CORRESPONDIENTES AL PUESTO 3

ANEXO D: EVIDENCIA DE PROCESO DE ANÁLISIS EMPLEADO EN LA
INVESTIGACIÓN

RESUMEN

El queso fresco es un producto elaborado principalmente de manera artesanal. Su sabor característico se debe especialmente a la presencia de bacterias ácido-lácticas, como *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., y *Enterococcus* spp, las cuales llegan a inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue conocer la carga microbiana que posee dicho producto lácteo comercializado en el mercado Privado de la ciudad de Macas con el fin de determinar su grado de calidad alimentaria. La metodología implementada tuvo un enfoque cuantitativo, se utilizó un diseño no experimental de tipo transversal debido a que no se va a manipular ninguna variable independiente y se realizó dentro del tiempo establecido; la población de estudio fue el mercado Privado de la ciudad de Macas, ubicado en la provincia de Morona Santiago, donde se efectuó la toma de muestras de queso fresco de 5 puestos de venta del mismo, en conjunto con una investigación documental de las Normativas NTE INEN 4, NTE INEN 1529-5 y NTE INEN 1529-13, así como la revisión de documentación proporcionada por MicroFast®. Mediante esta metodología, los resultados obtenidos de la investigación fueron: bacterias aerobias mesófilas (4.15×10^7 UFC/mL); número de *Enterobacteriáceas* (7.34×10^6 UFC/mL); conteo de *Escherichia coli* (6.50×10^4 UFC/mL); conteo de *Staphylococcus aureus* (1.44×10^6 UFC/mL), además se detectó presencia presuntiva de *Salmonella* en las muestras de queso fresco del puesto n°5. Estos resultados fueron comparados con los límites permisibles establecidos en la Norma NTE INEN 1528. El antibiograma reflejó resistencia para ampicilina, tetraciclina y oxacilina. En este contexto, se concluye que los valores obtenidos del recuento microbiano de las muestras de queso fresco superan los límites microbiológicos permisibles, por lo que los productos lácteos no presentan calidad alimentaria aceptable para el consumo poblacional.

Palabras clave: <QUESO FRESCO>, <RECUENTOS MICROBIOLÓGICOS>, <RESISTENCIA BACTERIANA>, <MICROORGANISMOS>, <BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS>.

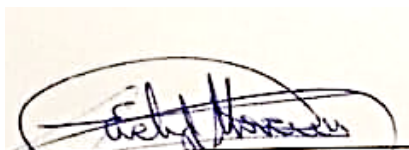
1648-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

The main objective of this research study was to determine the microbial load of dairy products (cheese) sold in the private market of the city of Macas to determine its food quality. Fresh cheese is a product that is mainly produced in an artisanal way. Its characteristic flavor is especially due to the presence of lactic acid bacteria, such as *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., and *Enterococcus* spp., which inhibit the growth of pathogenic microorganisms. The methodology implemented had a quantitative approach, a non-experimental design of transversal type was used because no independent variable was manipulated and it was carried out within the established time; the study population was the private market of the city of Macau, located in the province of Morona Santiago, where samples of fresh cheese were taken from 5 stalls, together with documentary research of the regulations NTE INEN 4, NTE INEN 1529-5 and NTE INEN 1529-13, as well as the review of documentation provided by MicroFast®. Using this methodology, the results obtained from the investigation were: mesophilic aerobic bacteria (4.15×10^7 CFU/mL); the number of Enterobacteriaceae (7.34×10^6 CFU/mL); *Escherichia coli* count (6.50×10^4 CFU/mL); *Staphylococcus aureus* count (1.44×10^6 CFU/mL), and the presumptive presence of *Salmonella* was also detected in the fresh cheese samples from stand no. 5. These results were compared with the permissible limits established in the NTE INEN 1528 Standard. The antibiogram showed resistance to ampicillin, tetracycline, and oxacillin. In this context, it is concluded that the values obtained from the microbial counts of the fresh cheese samples exceed the permissible microbiological limits so that the dairy products do not present acceptable food quality for population consumption.

Keywords: <FRESH CHEESE>, <MICROBIOLOGICAL COUNTS>, <BACTERIAL RESISTANCE>, <MICROORGANISMS>, <ACID-LACTIC BACTERIA>.



Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

INTRODUCCIÓN

La presente investigación se basa en la evaluación microbiológica de los alimentos, la cual se define como aquellas medidas de gestión de riesgos que permiten demostrar la inocuidad de un producto mediante la detección de microorganismos, toxinas u otros indicadores de patogenicidad (FAO, 2016: p. 1). Por otra parte, la resistencia antimicrobiana se puede definir como la capacidad del microorganismo para evadir o anular los efectos de los antibióticos, esta característica puede adquirirse durante un proceso de infección o tras un uso inadecuado del medicamento (Gionocerezo, et al., 2020: p. 173) La característica principal de este tipo de evaluación microbiológica son los requisitos de calidad e inocuidad alimentaria, los cuales están establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN).

Para analizar esta problemática es necesario mencionar cuáles son sus causas. Una de ellas es el alto consumo de queso artesanal en la ciudad de Macas, el mismo que constituye un producto alimenticio de alta ingesta en todo el mundo debido a las diferentes propiedades nutricionales, sensoriales y de textura de cada tipo de queso. Se estima que existen más de 2.000 tipos de queso, entre los llamados maduros, semicurados y frescos. Aunque la producción de queso ha ido evolucionando desde la manera tradicional hasta una tecnología industrial, todavía hay muchos fabricantes artesanales que continúan elaborando productos lácteos (Vásquez, et al., 2018: pp. 45-51). En los últimos años la preferencia del consumidor por los quesos frescos ha aumentado gracias a las propiedades sensoriales como sabor y textura que éstos tienen. El queso fresco tiene una enorme demanda a nivel de todo el Ecuador pues es considerado un producto de la canasta básica familiar y además es un alimento completo por su elevado contenido nutricional de proteínas, grasas y vitaminas (Castellanos, et al., 2018).

El análisis microbiológico se ha convertido en una herramienta para la identificación y control de microorganismos patógenos presentes en alimentos. Durante la producción del queso artesanal se utiliza la leche como materia prima, sin embargo, esta es una fuente de contaminación cuando no se han realizado los procesos de esterilización adecuados. Además, en las etapas de elaboración existen puntos críticos de control que si no son tomados en cuenta puede generar un producto que no sea apto para el consumo de la población (Carrillo, et al., 2021: pp.75-76). El Ministerio de Salud Pública en el 2022 notificó 127 casos de Intoxicación Alimentaria, dentro de los cuales las personas más afectadas se encontraban en un rango de edades de 20-49 años. En la provincia de Morona Santiago se presentaron 5 casos de Salmonelosis, de los 19 notificados a nivel del Ecuador (MSP, 2022). La salmonelosis es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más común, que puede causar desde síntomas leves hasta deshidratación, esta se encuentra principalmente en productos como el huevo crudo, aunque también está presente en la

leche no pasteurizada, misma que se utiliza para la obtención de quesos en empresas artesanales. (Herrera y Jabib, 2015: pp.1-2).

Los objetivos de esta investigación están centrados en la ejecución de la evaluación microbiológica y resistencia antimicrobiana de quesos frescos, para lo cual como primer paso se recolectaron las muestras de queso en el mercado Privado de la ciudad de Macas, con base a los estándares enmarcados en la norma NTE INEN 4. Seguidamente se cuantificaron bacterias aerobias mesófilas, *Enterobacteriaceas*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* (ausencia/presencia) en las muestras de queso fresco, de acuerdo con los requisitos de la NORMA NTE INEN 1528. Esto permitió conocer si los quesos analizados son aptos para el consumo de la población. Y finalmente se realizó un antibiograma de los microorganismos patógenos identificados para conocer su resistencia antimicrobiana.

El resultado de la problemática de esta investigación pretende socializar a la comunidad, la importancia de la inocuidad alimentaria a través de verificación del cumplimiento de los requisitos de calidad del queso fresco. En el ámbito profesional, como Bioquímica Farmacéutica, el interés es conocer cómo influye el alto consumo de alimentos sin control sanitario en la salud humana y como la resistencia antimicrobiana cada día está en aumento, convirtiéndose en una problemática a nivel mundial del área clínica.

CAPITULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

El queso es un producto elaborado mayormente por empresas artesanales y en menorescala por grandes industrias lácteas. El sabor característico del queso fresco se debe especialmente a la presencia de las bacterias ácido-lácticas, como *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, y *Enterococcus spp.*, las cuales además favorecen a la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y *Listeriamonocytogenes* (López, 2021, p.15).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas por la ingestión de alimentos contaminados por bacterias, virus, parásitos, productos químicos y toxinas; en cualquier fase del proceso así sea a partir de la producción hasta el consumo de éstos. Son una fundamental causa de morbilidad, mortalidad y de la dificultad para el desarrollo socioeconómico mundial. En la población suelen generar trastornos gastrointestinales, dolor abdominal, diarreas, náuseas y vómitos; a veces acompañados de fiebre y en ciertos casos tienen la posibilidad de desencadenar en enfermedades graves (MSP, 2020, pp.2-6).

Un problema de salud pública que se ha ido incrementando durante los últimos años constituye las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), debido a que se considera que cada año cobran la vida de 2.200.00 de personas en todo el mundo (Trujillo, 2016: p. 15). Según las estadísticas registradas por el Ministerio de Salud Pública, exponen que en el año 2019 se reportaron 12.203 casos por intoxicaciones alimentarias bacterianas y que además esta cifra se incrementó durante el primer trimestre del año 2020 como consecuencia de los brotes causados por el consumo de alimentos con una mala manipulación, cocción y/o conservación (MSP, 2020: pp. 2-6).

En los estudios realizados para evaluar la calidad microbiológica de quesos frescos, los microorganismos patógenos reportados con mayor frecuencia son; *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *Brucella spp.*, entre otros. En los informes publicados por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) se estableció que una de las fuentes de las ETAs son la leche cruda y el queso, con un porcentaje del 96%, además se manifestó que los productos no pasteurizados causan 840 veces más enfermedades y 45 veces más hospitalizaciones que los productos lácteos pasteurizados (Castellanos et al., 2018).

Las investigaciones sobre los productos lácteos han demostrado que éstos son un óptimo medio de cultivo para una amplia gama de microorganismos, por este motivo en algunas situaciones pueden representar un problema para la salud si no se siguen las medidas de higiene necesarias durante su elaboración. Sin embargo, el consumo por parte de la población no ha cesado, por lo que la finalidad de este trabajo de investigación fue conocer la inocuidad de los quesos artesanales expendidos en el mercado Privado de la ciudad de Macas, a través de una evaluación microbiológica; comprobando así los estándares de calidad alimentaria que presentan, y de esta manera promover el consumo seguro y apto del queso fresco artesanal.

1.2. Limitaciones y delimitaciones

En Ecuador existen industrias lácteas en las diferentes provincias por lo que son una fuente importante para la economía del país. Sin embargo, la mayoría realiza producción de manera artesanal por lo que no existe una implementación de Buenas prácticas de Manufactura (BPM), además no se realizan procedimientos de identificación de bacterias patógenas, las cuales son la principal causa de los problemas de salud de los consumidores (Chiluisa et al., 2017; citado en Pinto, 2020).

Una de las limitaciones presentes en esta investigación es la ejecución de la metodología utilizada para la evaluación microbiológica debido a la baja disponibilidad de reactivos para realizar una identificación serológica de cepas como *Salmonella spp* por lo que la detección de esta cepa bacteriana será de manera presuntiva solamente.

En el mercado ecuatoriano existen marcas de quesos que se han ido implementado a lo largo de los años, actualmente están liderando las plazas de los supermercados y cada día la competencia entre estas marcas se incrementa, dentro de estas empresas se encuentra Kiosko, Alpina, Gloria, Salinerito, entre otras marcas (Carrillo, 2007; citado en Roblez, 2020, p.22).

Las delimitaciones de esta investigación están enfocadas en la situación económica del país, debido a que la mayoría de la población de la ciudad de Macas tiende a consumir en mayor cantidad los quesos artesanales sin registro sanitario que se expenden en el mercado privado, la principal razón es que tienen un menor costo que aquellos que se comercializan en los centros comerciales o en las grandes tiendas. La delimitación espacial de esta investigación es el mercado Privado de la ciudad de Macas ubicado en la calle Guamote a 600 metros del supermercado TIA, Morona Santiago-Ecuador. Para la delimitación temporal se estimó que el periodo de tiempo para el desarrollo del trabajo de investigación ocupa cuatro meses aproximadamente. Finalmente, en la delimitación de contenido se realizó la evaluación microbiológica y resistencia antimicrobiana

de quesos frescos comercializados en el mercado Privado.

1.3. Problema general de la investigación

¿Los quesos frescos comercializados en el mercado Privado de la ciudad de Macas cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos en la NORMA NTE INEN 1528?

1.4. Problema específico de la investigación

- ¿La recolección de las muestras de queso fresco debe seguir algún estándar según la Normativa Técnica Ecuatoriana?
- ¿Cuáles son los microorganismos que están presentes en los quesos frescos que se expenden en el mercado Privado de la ciudad de Macas?
- ¿Existen cepas resistentes y multirresistentes aisladas en los cultivos de las muestras de queso fresco?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Efectuar la evaluación microbiológica y resistencia antimicrobiana de quesos frescos comercializados en el mercado Privado de la ciudad de Macas.

1.5.2. Objetivos específicos

- Recolectar las muestras de queso fresco en el mercado Privado de la ciudad de Macas, con base en los estándares enmarcados en la norma NTE INEN 4.
- Cuantificar bacterias aerobias mesófilas, Enterobacteriaceas, Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Salmonella (ausencia/presencia) en las muestras de queso fresco, de acuerdo con los requisitos de la NORMA NTE INEN 1528.
- Realizar el antibiograma de los microorganismos patógenos aislados e identificados en las muestras de queso fresco.

1.6. Justificación

1.6.1. Justificación teórica

En el año 2015 durante el mes de septiembre la Asamblea General de las Naciones Unidas estableció los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) los cuales buscan una transformación hacia la sostenibilidad económica, social y ambiental. En su segundo objetivo se menciona la seguridad alimentaria para lo cual se exploran metodologías para realizar cambios en el sistema mundial de alimentación (Naciones Unidas, 2018, pp.19-22).

En la Constitución de la República del Ecuador en el capítulo segundo la sección primera; agua y alimentación en el art.-13 se menciona:

“Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria” (CRE, 2008, p.13).

Es por esa razón el valor de la inocuidad alimentaria en el marco de la preparación artesanal de productos lácteos, como es el queso.

En el año 2018, El Ministerio de Salud Pública presentó e implementó el Plan Intersectorial de Alimentación y Nutrición 2018-2025 (PIANE) en 50 cantones del país, el cual tiene como uno de sus objetivos contribuir a la seguridad y soberanía alimentaria. Dentro de este plan también se menciona el cumplimiento del Artículo 16 de la Ley Orgánica de Salud (2006):

“Le corresponde al Estado establecer una política intersectorial de seguridad alimentaria y nutricional que propenda a eliminar los malos hábitos alimenticios, respete y fomente los conocimientos y prácticas alimentarias tradicionales, así como el uso y consumo de alimentos propios de cada región y garantice a las personas el acceso permanente a alimentos sanos, variados, nutritivos, inocuos y suficientes” (MSP, 2018, p.16).

Tomando en cuenta lo mencionado anteriormente, conocer la inocuidad de los alimentos que no cuenten con un control riguroso durante su elaboración es fundamental para llegar a alcanzar los objetivos propuestos dentro del PIANE. Dentro de la Normativa Sanitaria Control y Vigilancia Alimentos de Consumo Humano se menciona que la Ley Orgánica de Salud en el Artículo 132 manda que dentro de las actividades de vigilancia y control sanitario deben estar incluidas actividades de inspección de la calidad, inocuidad y seguridad de los productos procesados de uso

y consumo humano, así como también la verificación del cumplimiento de los requisitos sanitarios por parte de los establecimientos que están dedicados al almacenamiento, distribución y comercialización de dichos productos (ARCSA, 2021, p.1)

Por esta razón este trabajo de investigación está enfocado en la evaluación microbiológica de quesos comercializados dentro del mercado Privado de Macas, con el propósito de verificar si dichos productos cumplen con los requisitos de inocuidad alimentaria y por consiguiente son seguros para el consumo poblacional. La certificación de la calidad e inocuidad de los alimentos es un requisito que se debe cumplir de forma obligatoria por parte de los productores, ya que de esta manera los gobiernos monitorean como medio para prevenir las enfermedades de transmitidas por los alimentos (Martínez et al., 2013: pp.210-213).

En el queso fresco existen bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno, por lo que es importante considerar que la contaminación bacteriana se puede producir durante todo el proceso de elaboración. Los controles microbiológicos se deben efectuar durante la recepción, producción, transporte y almacenamiento del queso fresco para asegurar la inocuidad del producto y que este sea seguro para el consumo humano (Merchán et al., 2019: pp.288-294).

1.6.2. Justificación metodológica

La evaluación microbiológica de los quesos frescos es necesaria para poder comprobar la calidad de los alimentos como es el estado de frescura, la capacidad de conservación, las condiciones de higiene durante la elaboración del producto lácteo y además permite identificar la presencia de microorganismos patógenos. Otro motivo de la ejecución de esta investigación es conocer la calidad que existe en un lote de alimentos, en este caso se evaluarán 5 puestos de queso fresco de los cuales se realizará el análisis por triplicado obteniendo un total de 15 muestras, donde se identificarán los microorganismos patógenos a través de medios de cultivo como agar manitol, agar eosina azul de metileno, agar verde bilis brillante y agar mueller. Finalmente, por medio de un antibiograma se detectará la resistencia de los microorganismos identificados a los antibióticos seleccionados.

1.6.3. Justificación práctica

El queso fresco comercializado en la ciudad de Macas es un producto muy solicitado por gran parte de sus habitantes, éste es elaborado con leche cruda la cual en la mayoría de los casos no cuenta con las medidas de higiene necesarias, tampoco cuenta con un registro sanitario, ni se embalan en un material adecuado para su conservación, además las condiciones en las que se

expende suelen ser insalubres, por lo que no se puede garantizar su inocuidad.

Dentro de esta zona de la provincia de Morona Santiago no existe evidencia bibliográfica de que se hayan efectuado estudios de la calidad microbiológica de quesos frescos, es por ello la importancia de realizar esta investigación para garantizar que el queso fresco comercializado en los mercados sea inocuo y de calidad, con la finalidad de preservar la salud de la población de la ciudad de Macas.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

En Italia, en el año 2019, en la región de Piamonte en la quesería artesanal de Robiola di Roccaverano se realizó la investigación “MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE ROBIOLA DI ROCCAVERANO CHEESE BY MEANS OF TRADITIONAL CULTURING METHODS” donde se evaluó la flora microbiana en los diferentes pasos de producción y fabricación de queso artesanal. Los resultados obtenidos por los métodos de cultivo demostraron ausencia de microorganismos patógenos como *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* tanto en la leche como en el queso, además se observó que tras la adición de un Iniciador de leche Natural (NMS), el número de lactococos y lactobacilos aumentó. Por lo cual, se concluyó que pese a la falta de procedimiento térmico en la producción los quesos Robiola di Roccaverano, estos cuentan con buenos estándares de calidad (Biolcati et al., 2019: pp.209-212).

En México, en el año 2022, en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma Zacatecas, se desarrolló el trabajo de investigación denominado “CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ALGUNOS QUESOS TIPO CHIHUAHUA ELABORADOS EN RIO GRANDE, ZACATECAS” donde se determinó *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales en los utensilios y maquinaria utilizada; además de Mesófilos aerobios, Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* en los diferentes tipos de queso. Los resultados obtenidos evidenciaron una mala higiene en el proceso de elaboración, además de una posible contaminación cruzada. En los quesos analizados se detectó mesófilos aerobios, coliformes fecales, *Escherichia. Coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* en las tres queserías, lo que mostró una deficiente calidad microbiológica de los quesos analizados (Morales et al., 2022: pp.354-358).

En Colombia, en el año 2018, en el laboratorio de Microbiología de alimentos de la facultad de Ciencias Agroindustriales en la Universidad de Quindío, se ejecutó un estudio acerca del “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESO CUAJADA EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL QUINDÍO” donde se encontró en las 18 muestras recolectadas un recuento de coliformes totales y *Staphylococcus Aureus*, entre $7,417 \pm 0.74 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ y $6.450 \pm 0.43 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ respectivamente, siendo estos los más elevados y además se confirmó la presencia de *Eschechichia coli* en todas las muestras analizadas. Por otra parte, para el recuento de mohos y levaduras se obtuvo el mayor valor entre $7.26 \pm 0.81 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$, también se confirmó

la presencia de *Salmonella sp* en un solo municipio analizado. Los resultados obtenidos evidencian que los quesos estudiados presentan condiciones higiénicas deficientes y no cumplen lo establecido en la NTC 750, por lo que representan un riesgo para la salud de los consumidores (Idárraga et al., 2018: pp.49-54).

En Perú, en el año 2016, en la región de Chachapoyas-Amazonas en el Laboratorio de biología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas se realizó la “EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE QUESOS FRESCOS ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE CHACHAPOYAS-AMAZONAS”, donde los resultados obtenidos demostraron que el 100% de los quesos frescos artesanales examinados registró un valor total de coliformes >1100 NMP/g, el cual sobrepasa a los límites establecidos en la NTP 202.195. Por otro lado, la presencia de patógenos como *Eschechichia coli* y coliformes fecales muestran que existe deficiencia en la calidad higiénica y sanitaria del producto que afecta directamente a la salud de los consumidores (Castro et al., 2016: pp.38-43).

En Ecuador, en el año 2020, en la ciudad de Riobamba en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se desarrolló la investigación denominada “EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO DE HOJA TRADICIONAL DE ECUADOR ELABORADO ARTESANAL E INDUSTRIALMENTE” donde se analizaron las muestras recolectadas de queseras artesanales y plantas industriales, los resultados obtenidos para coliformes, *Eschechichia coli* y *StaphylococcusAureus* sobrepasaron los límites establecidos por la normativa ecuatoriana indicando que existe una deficiente calidad higiénica en los procesos de elaboración. Además, se aislaron un total de 32 cepas de bacterias ácido láctico con características fenotípicas similares las cuales podrían influenciar en el sabor y aroma de los quesos elaborados a nivel industrial (Albuja et al., 2020: pp.117-124).

2.2. Referencias teóricas

2.2.1. Mercado privado

2.2.1.1. Descripción

El mercado Privado de la ciudad de Macas, en un recinto donde los habitantes de la región acuden a realizar las compras de los productos frescos de las zonas de Amazonía y sierra. En este lugar existen las secciones de frutas y verduras, pescadería, entre otros.

2.2.1.2. Ubicación

El mercado Privado, MACAS, MORONA SANTIAGO se encuentra ubicado en el centro en la calle Guamote.

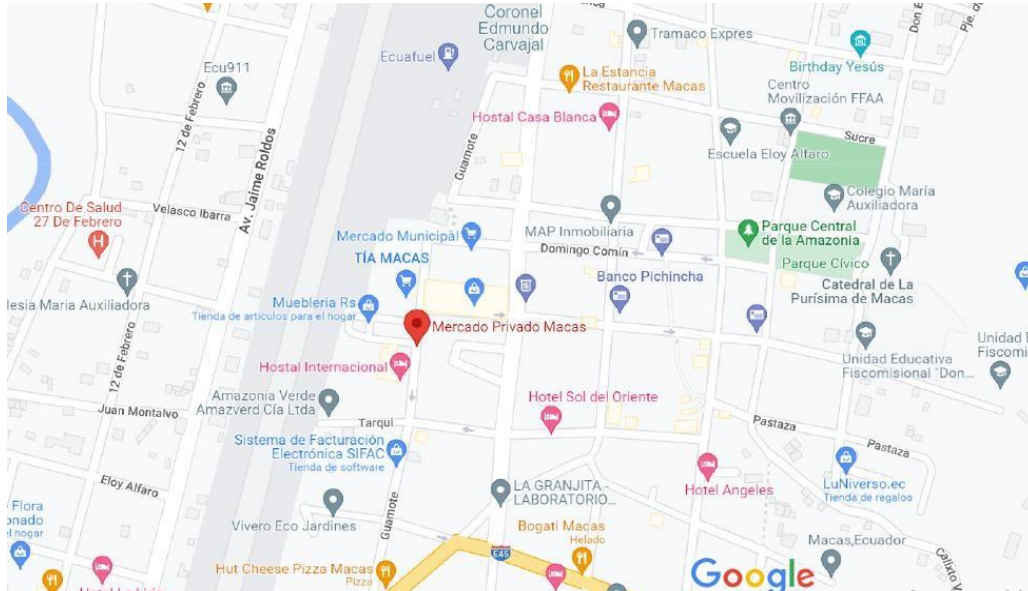


Ilustración 2-1. Mapa de la Ubicación del mercado Privado de la ciudad de Macas- Morona Santiago

Fuente: <https://goo.gl/maps/iuzvY4Yg3nWnLYa16>

Con una atención de domingo a domingo desde las 7:00 hasta las 18:00, los comerciantes trabajan para brindar a la ciudadanía sus productos frescos, con aromas y colores diversos.

2.2.2. Evaluación microbiológica

La evaluación microbiológica puede definirse como medidas de gestión de riesgos que demuestran la aceptabilidad de los alimentos tomando en cuenta el proceso de muestreo y las pruebas adecuadas para la detección de microorganismos, toxinas u otros indicadores de patogenicidad (FAO, 2016, p.1).

2.2.3. Queso fresco

2.2.3.1. Definición

El CODEX ALIMENTARIUS define al queso como un producto sólido o semisólido, madurado o fresco, en el cual el valor de la relación suero proteínas/caseína no supera al valor de la leche, además también establece que es producto obtenido por coagulación total o parcial de la leche

mediante la acción del cuajo o de otros agentes coagulantes apropiados, con un escurrido parcial del lactosuero especial y una consistencia sólida o semisólida en el producto obtenido. (Ramírez y Vélez, 2016: pp.131-148).

Se considera como queso fresco aquel sin envejecer, sin quemar, sin moldear, de textura relativamente firme, levemente granulada, el cual es elaborado con leche entera, leche parcialmente descremada que ha sido cuajado con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se le identifica como quesillo (Haro, 2016, p.23).

2.2.3.2. Composición microbiana del queso

El International Life Sciences Institute (ILSI) define a los alimentos funcionales como aquellos que tienen la capacidad para influir beneficiosamente en las funciones del cuerpo y ayudan a mejorar el estado de bienestar, salud y reducir el riesgo de enfermedades. Dentro de estos se encuentran los alimentos con probióticos, como los productos lácteos; yogures, las bebidas fermentadas o los quesos (Santamarina et al., 2020: pp.248-256).

Los microorganismos presentes en la microbiota del queso pueden proceder de la adición intencionada, pueden estar presentes de manera natural en los ingredientes o provenir del entorno del ordeño. Dentro de esta se encuentran géneros bacterianos mesófilos como *Lactococcus* y *Enterobacter*, además de organismos termorresistentes como *Micrococcus* o *Microbacterium* los cuales pueden sobrevivir durante la elaboración y maduración del queso. La microbiota de este puede ser dividida en dos grandes grupos según su función: bacterias ácido lácticas (BAL) del cultivo iniciador y las BAL no pertenecientes al cultivo iniciador (Santamarina et al., 2020: pp.248-256).

2.2.4. Clasificación de los quesos

El queso es un producto alimenticio producido a nivel mundial. Se ha recopilado en diversos catálogos que existen más de 200 variedades y tipos. El queso fresco presenta distintos nombres según la región de producción y numerosas variantes en cuanto a las técnicas de elaboración, se conoce también como queso blando (Ramírez y Vélez, 2016: pp.131- 148).

Según la Norma NTE INEN 1528-2012 el queso de acuerdo con su composición y características físicas se clasifica en:

Tabla 2-1: Clasificación según la Norma técnica nicaragüense 03 022 99

Tipo o Clase	Humedad % max.	Contenido de grasa en extracto en % en masa
Semiduro	55	
Duro	40	
Semiblando	65	
Blando	80	
Rico en grasa		60
Graso		45
Semigraso		20
Magro		0,1
Semimagro		0,5

Fuente: (Haro, 2016).

Realizado por: Shicay Merari, 2023

2.2.5. Composición química y valor nutricional del queso fresco

2.2.5.1. Composición química

El queso fresco contiene una amplia gama de nutrientes, con un aporte calórico estimado de 103 kcal por cada 100 gramos de queso. Los nutrientes que contiene son; un 80% de la actividad de agua, un 4.51% lípidos, un 12.49% proteínas y un 2.68% hidratos de carbono (Haro, 2016, p.26).

2.2.5.2. Valor nutricional

El queso contiene los nutrientes que se encuentran presentes en la leche, pero en concentraciones más altas. De este modo proporciona un importante suministro de proteínas, lípidos, vitaminas y minerales. Sin embargo, otros componentes nutritivos como la lactosa y las proteínas del suero se deterioran en el transcurso de elaboración (López, 2021, p.18).

Otros componentes que se encuentran en el queso son minerales como sodio, fósforo, potasio, calcio y en menor cantidad el selenio. También poseen en su composición vitaminas que brindan un gran aporte para la salud entre las cuales se tiene: vitamina D, vitamina A, pequeñas cantidades de vitamina B, vitamina B12 y Vitamina E (Haro, 2016, pp.26-27).

2.2.6. Proceso de elaboración del queso

En el proceso de elaboración del queso la leche sufre una transformación que involucra cambios bioquímicos y físicos complejos, estos se llevan a cabo principalmente mediante la fase de obtención de la cuajada y su maduración, la cual se puede dividir en tres pasos esenciales (Baque

y Chugchilán, 2019: p.18):

- a) Formación del gel de caseína; consiste en el cuajado o coagulación de la leche.
- b) Deshidratación parcial de este gel por sinéresis, es decir, por contracción de las micelas que la forman.
- c) Desuerado de la cuajada.

En los procesos de fabricación artesanal la cuajada se obtiene añadiendo el cuajodirectamente en cantidades pequeñas de volúmenes de leche cruda pasteurizada. Después las bacterias lácticas que se encuentran en la materia prima fermentan la lactosa para producir ácido láctico, además la presencia de estas evita que crezcan microorganismos patógenos debido a que disminuyen el pH a 5,05. Las bacterias lácticas también ayudan a la maduración del queso a través de la proteólisis y lipólisis (Baque y Chugchilán, 2019: p.18).

2.2.7. Factores que influyen en el crecimiento microbiano del queso

El crecimiento de los microorganismos en el queso depende de un número de parámetros físicos como la concentración de humedad, la cantidad de pH, la presencia de ácidos orgánicos, la temperatura de conservación, el potencial redox y la adición de nitratos. Además, también influyen otros factores biológicos como la disponibilidad de nutrientes para el metabolismo microbiano y la interacción entre los microorganismos presentes en el producto (Palacios, 2006, pp.38-39).

Uno de los factores que ayudan al control de la multiplicación bacteriana es la actividad del agua que disminuye después del proceso de salado y el desuerado. La actividad de agua mínima para las bacterias lácticas está en el rango de 0,93 a 0,98 dependiendo de las cepas. La mayoría de las bacterias crece en un pH neutro, es por eso que en los quesos donde existe un crecimiento elevado de las bacterias lácticas tienen pH en torno a 4,5 a 5,3 sin embargo, en este rango de pH no hay proliferación de bacterias que crecen en pH más bajo (Palacios, 2006, pp.38-39).

El potencial redox suele ser negativo, el interior del queso es anaerobio por lo que el crecimiento microbiano suele ser flora anaerobia o anaerobia facultativa por lo que microorganismos aerobios no crecen en el centro del queso (Haro, 2016, pp.29-30).

La temperatura es otro factor relevante en el crecimiento bacteriano debido a que los microorganismos implicados en la elaboración de queso son normalmente mesófilos y termófilos

que crecen de forma óptima entre los 30-42 °C, sin embargo, durante la maduración del queso la temperatura es inferior a 12 °C para evitar el crecimiento de microorganismos no deseados (Palacios, 2006, pp.38-39).

2.2.8. Control de calidad en la elaboración del queso

2.2.8.1. Calidad alimentaria

La calidad alimentaria es un concepto que comprende una compleja gama de atributos que influyen en el valor o aceptabilidad para el consumidor. Dentro de estas características se encuentran el valor nutricional, propiedades sensoriales como apariencia, color, aroma, textura y gusto, los métodos de elaboración y propiedades funcionales. La calidad puede estar sujeta a condiciones regulatorias, normativas o contractuales (Arispe y Tapia, 2007: pp.105-118).

2.2.8.2. Higiene de los alimentos

El MSP tiene la responsabilidad de asegurar la protección sanitaria de los alimentos lo cual realiza mediante organismos encargados del control y regulación de la seguridad alimentaria. Es importante que todas las personas involucradas dentro de este proceso cumplan los requisitos necesarios para elevar la calidad de los productos de expendio en mercados y centros comerciales (Haro, 2016, pp.30-31).

Se define como higiene alimentaria al conjunto de condiciones y medidas necesarias para garantizar la inocuidad sanitaria de los alimentos, manteniendo a la vez el resto de las cualidades que les son propias, con especial atención al contenido nutricional. La inocuidad está presente en todas las etapas de producción, almacenamiento, transformación, transporte, conservación y preparación doméstica de los alimentos (Moreno y Alarcón, 2010: pp.749-755).

2.2.8.3. Control microbiológico

El queso fresco es rico en proteínas, grasas, minerales y carbohidratos; por lo que es un medio óptimo para el crecimiento de bacterias y hongos por el contenido de agua que presenta, en algunos casos estos prosperan y se desarrollan rápidamente hasta llegar a niveles en los que pueden infectar o ser causa de enfermedades transmisibles por alimentos (Trujillo et al., 2016: p.28).

Es importante que durante la transformación de leche cruda a queso fresco se consideren la

presencia de bacterias, levaduras y mohos. Algunos de estos microorganismos son indeseables y se originan por una deficiente higiene y prácticas tecnológicas incorrectas (Trujillo, 2016, p.28).

En la Tabla 2-2 se encuentran las normas higiénicas y sanitarias establecidas por las autoridades competentes. En el Ecuador la NTE INEN 1528 se encarga de regular los requisitos técnicos que deben cumplir estos productos, previo a ser distribuidos y comercializados.

Tabla 2-2: Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados

Requisito	N	m	M	c	Método de ensayo
Enterobacteriac easUFC/g	5	2×10^2	10 ³	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia coli</i> UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	5	AUSENC IA			ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25g	5	AUSENC IA		0	NTE INEN 1529-15

Fuente: (NTE INEN 1528, 2012)

Donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

2.2.9. Enfermedades transmitidas por los alimentos

2.2.9.1. Definición

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas principalmente por la ingestión de alimentos que contienen una considerable cantidad de bacterias infecciosas y patógenas, así como también de productos tóxicos producidos por el crecimiento y desarrollo de éstas en el organismo humano. Se manifiesta mediante cuadros de diarreas y vómitos, aunque son capaces de provocar otros síntomas como choque séptico, hepatitis, cefaleas, fiebre, visión doble, etc. (Trujillo, 2016, pp.28-29).

Estas ETA plantean serios problemas de salud pública por su mayor incidencia, aparición de nuevas vías de transmisión, afloración de poblaciones vulnerables, acrecentamiento de la resistencia de los patógenos a los elementos antimicrobianos y el impacto socioeconómico que provocan. La incidencia de estas enfermedades es un indicativo directo de la calidad sanitaria e higiénica de los productos comestibles (BES, 2018, pp.1-2).

2.2.9.2. Clasificación

Un brote de la Enfermedad Transmitida por Alimentos se manifiesta después de la ingestión de un alimento contaminado con microorganismos patógenos causantes de infecciones e intoxicaciones (López, 2021, p.29).

Las Enfermedades Transmitidas por alimentos se pueden clasificar en las siguientes:

- **Infecciones transmitidas por alimentos:** se producen al consumir alimentos contaminados con microorganismos patógenos que colonizan, se multiplican e invaden el cuerpo. Por ejemplo: salmonelosis, hepatitis viral tipo A y toxoplasmosis, entre otros (Haro, 2016, pp.34-35).
- **Intoxicaciones alimentarias:** se producen por la ingesta de toxinas formadas y segregadas en los tejidos de plantas, animales, o productos metabólicos de microorganismos en los alimentos procesados, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental o intencional al momento de su producción, las cuales provocan un daño de forma directa o colateral.
- **Toxiinfección alimentaria:** se produce como resultado de la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos patógenos que se multiplican e invaden el cuerpo, y además liberan toxinas una vez que son ingeridos. Se consideran agentes exógenos aquellos tóxicos o venenos químicos, mientras los agentes endógenos son aquellos que genera el propio organismo por la reacción de otras sustancias (Trujillo, 2016, pp.28-29).
- **Lesiones físicas por alimentos:** es cuando se produce una enfermedad o lesión como resultado de la ingesta de alimentos con objetos físicos como vidrios, metal, entre otros.
- **Alergias causadas por alimentos:** es una reacción adversa que se origina con la ingestión de alimentos o aditivos alimentarios en personas que son sensibles a estos mismos (Haro, 2016, pp.34-35).

2.2.10. Microorganismos indicadores de calidad en alimentos

Los productos frescos como el queso utilizan como materia prima la leche, esta contiene una flora microbiana normal y además microorganismos provenientes de diferentes fuentes de contaminación por la manipulación a la cual debe ser objeto durante su obtención, transporte, procesamiento, embalaje y posterior comercialización. Los quesos frescos producidos artesanalmente no utilizan la leche pasteurizada por lo que son los principales focos de transmisión y contaminación con microorganismos causantes de enfermedades de transmisión

alimentaria como la salmonelosis, enfermedades entéricas, y en general enfermedades graves caracterizadas por fiebres altas, vómito, gastroenteritis y cuadros de diarrea generalizada sustancias (Trujillo, 2016, p.32).

La calidad microbiológica de los alimentos y por ende del queso fresco, debe ser evaluada mediante la ausencia de microorganismos patógenos, por lo que se deben tomar en cuenta la calidad higiénico-sanitaria y la calidad comercial del producto (Trujillo, 2016, p.32).

2.2.10.1. *Aerobios mesófilos*

Son un grupo de microorganismos que tienen la capacidad de crecer en presencia de oxígeno a un rango de temperatura entre 20 – 45 °C y 30 – 40 °C, siendo esta última la más óptima. Los aerobios mesófilos presentes en los alimentos pueden estar conformados por cepas bacterianas no patógenas y patógenas, las cuales representan un riesgo para la salud del consumidor. La cuantificación de aerobios mesófilos es importante puesto que son un indicativo de la calidad sanitaria y las condiciones higiénicas de la materia que presenta el producto alimenticio (Amazará et al., 2022).

2.2.10.2. *Coliformes totales y fecales*

Son un grupo de bacterias que tienen características bioquímicas en común, son capaces de fermentar la lactosa a 44.5°C, por lo que pueden soportar temperaturas elevadas, se conocen también como termotolerantes. Este grupo es importante como indicadores de contaminación de agua y por ende de alimentos. Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en heces fecales, están formados por *Escherichia coli* y ciertas especies de *Klebsiella*, por eso se consideran un indicativo de contaminación fecal del alimento, sin embargo, estas bacterias pueden vivir en ambientes no intestinales como el agua e incluso las instalaciones industriales (Campos, 1993, pp.225-226).

2.2.10.3. *Escherichia coli*

Es un microorganismo que se encuentra de manera normal en el intestino humano y de otros animales. Dentro del organismo ayuda la absorción de algunas vitaminas liposolubles, especialmente la vitamina K. Esta bacteria es capaz de producir enfermedades relacionadas con el tracto gastrointestinal entérico, por eso se usa generalmente como indicador de contaminación fecal en la evaluación higiénica y sanitaria de los alimentos. Se puede transmitir mediante contaminación cruzada o a través de contacto humano durante la manipulación no higiénica en la

elaboración de los productos (Contero, 2017, p.27).

Se han identificado algunas cepas patógenas de *Escherichia coli* entre las cuales destacan: *E. coli enterotoxígena*, *E. coli enteroinvasiva*, *E. coli enterohemorrágica*, *E. coli enteropatógena* (Villacís, 2017, p.30).

2.2.10.4. *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria que coloniza principalmente la piel, las mucosas y la nasofaringe de humanos y animales. La presencia de este microorganismo en los alimentos suele ser producto de la manipulación de operadores debido a prácticas de manufacturas inadecuadas e ineficientes o bien a la utilización de materia prima contaminada como la misma leche de vacas enfermas o infectadas con mastitis. Otras fuentes de contaminación son el contacto del producto alimenticio con superficies expuestas a materia prima contaminada, como son los tanques de cuajado, los mesones, hormas y los sistemas de embalaje. Entre los alimentos implicados en brotes de enfermedades de transmisión alimentaria asociados a *Staphylococcus aureus* se encuentran la leche y sus derivados, como queso, crema, yogur y helados (Villacís, 2017, p.45).

2.2.11. *Clasificación de los medios de cultivo*

Los medios de cultivo se pueden clasificar dependiendo del estado físico en el que se encuentren, es decir, en sólidos, semisólidos y líquidos. Existen diversas clasificaciones las cuales varían según el autor o las casas comerciales que se utilicen (BioCen, 2018).

2.2.11.1. *Según la naturaleza de sus ingredientes*

- **Proteicos:** son aquellos que contienen peptonas, hidrolizados o extractos los cuales derivan del hidrólisis parcial de las proteínas.
- **Sintéticos:** son aquellos que en su composición no tienen ningún producto de naturaleza proteica.
- **Intermedios:** son aquellos que en su composición contienen elementos nitrogenados que tienen un origen proteico y su estructura es conocida. Los aminoácidos junto con otras sustancias de naturaleza orgánica e inorgánica forman parte de estos medios de cultivo (BioCen, 2018).

2.2.11.2. Según la promoción del crecimiento de determinados microorganismos

- **Enriquecimiento:** son aquellos medios que en su mayoría son líquidos o semisólidos, en ocasiones estos estimulan el crecimiento de determinados microorganismos además de ayudar al desarrollo de la población microbiana a partir de una cantidad reducida de células.
- **Selectivos:** son aquellos que mayormente son sólidos, estos contienen sustancias que inhiben o previenen el crecimiento de especies acumuladas indeseables.
- **Electivos:** son aquellos en los que se pueden desarrollar varias especies de microorganismos y además este tipo de medio de cultivo facilita la identificación de bacterias (BioCen, 2018).

2.2.12. Medios de cultivo para la identificación de microorganismos en muestras de alimentos

Para la identificación de un microorganismo es necesario utilizar algunas pruebas bioquímicas y además medios de cultivos especializados que permiten realizar la determinación con mayor facilidad. Los microorganismos tienen requerimientos de macro y micronutrientes y esto puede variar entre una bacteria y otra, por lo que en dependencia de la bacteria que se desee identificar se debe escoger el medio de cultivo selectivo para ésta (Barrero, 2019, p.39).

- **Agar Baird Parker**

Es un medio de cultivo selectivo utilizado para el aislamiento, la enumeración e identificación presuntiva de *Staphylococcus aureus* en muestras de alimentos, aguas, cosméticos y ambientales. Este medio de cultivo contiene peptona, extracto de carne, además de glicina y piruvato que ayudan a promover el crecimiento de estafilococos. Por otro lado, dentro de los componentes se encuentra el cloruro de litio y de telurito que inhiben el crecimiento de otras bacterias, permitiendo la identificación presuntiva de *Staphylococcus aureus* cuando se observan colonias brillantes de color negro grisáceo (Valket, 2020).

- **Agar Mac Conkey**

Es un medio de cultivo utilizado para aislar bacilos Gram negativos que presentan un fácil desarrollo de bacterias aerobias y anaerobias facultativas a partir de muestras de aguas y alimentos. En su composición está presente la peptona y la bilis de buey que fomentan el crecimiento de bacterias coliformes e inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas. El púrpura de bromocresol actúa como un indicador de pH cuando se produce el cambio de color a púrpura amarillo, esto debido a la fermentación de la lactosa que producen los coliformes (Aryal, 2015; citado en Calderón et al., 2017).

- **Agar verde Bilis Brillante**

Es un medio de cultivo que se utiliza para la determinación de coliformes totales, como por ejemplo salmonella, la cual se puede identificar a partir de muestras de productos lácteos y alimentos. En su composición está presente el verde brillante el cual asegura la inhibición de la mayoría de las otras bacterias (BioCen, 2018).

Este medio de cultivo está fundamentado en la dilución de la muestra en múltiples tubos, donde el resultado positivo se observa cuando existe la presencia de gas o crecimiento bacteriano (Maranto, 2020, p.29). La identificación de *Escherichia Coli* se realiza por medio de los tubos de caldo EC, los cuales se procede a sembrar por agotamiento en Agar Maconkey y eosina azul de metileno, para posteriormente realizar las pruebas bioquímicas necesarias (Haro, 2016, p.31).

- **Agar PCA**

Es un medio de cultivo que se utiliza para la enumeración de bacterias en aguas residuales, productos lácteos y otros alimentos. Posee mayor ventaja debido a la facilidad que brinda para la lectura de las placas (BioCen, 2018).

El Agar de Recuento en Placa está basado en una serie de diluciones decimales de la muestra a analizar. El tiempo y la temperatura de incubación se debe establecer según el tipo de microorganismo que se va a enumerar (Scharlau, 2022).

- **Agar Mueller**

Es un medio de cultivo que se utiliza para realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, dentro de su composición contiene la concentración requerida de los cationes Ca^{++} y Mg^{++} que son necesarios para la susceptibilidad de los microorganismos (Uribe, 2017).

Para aplicar la técnica de difusión para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se debe emplear el patrón 0,5 de McFarland, la siembra de la cepa bacteriana se debe realizar por medio de hisopos de algodón humedecidos con la suspensión del microorganismo, posteriormente se debe colocar sobre la superficie del agar los discos de papel que contengan la concentración específica de antibióticos, esto se debe incubar por 18-24 horas a una temperatura de 37°C (BioCen, 2018).

2.2.13. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana ocurre cuando las bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren modificaciones que provocan que los antibióticos dejen de tener un efecto sobre éstos, es decir,

dejan de tener efectividad debido a que los microorganismos son capaces de inhibir o anularla respuesta terapéutica. Cuando un microorganismo es resistente a varios medicamentos este se conoce como ultrarresistente, lo que incrementa los costos médicos y la estadía de los pacientes a nivel hospitalario, y además produce un aumento de la mortalidad, tal como se ha observado a lo largo de estos últimos años (Serra, 2017, pp.402-403).

- **Mecanismos de resistencia**

En los últimos años los microorganismos han ido desarrollando sistemas de resistencia a diferentes agentes antibacterianos a través de la información genética compartida en el proceso de replicación y la interacción entre ellos (Gastelo, 2018, p.82). Existen diferentes mecanismos de resistencia bacteria, algunos de ellos se mencionan a continuación:

- **Resistencia intrínseca:** se presenta cuando un antimicrobiano no tiene actividad terapéutica sobre el microorganismo debido a que este carece de la diana molecular para que se produzca la acción, también ocurre cuando el fármaco es incapaz de ingresar al microorganismo. Algunas bacterias presentan enzimas que pueden inactivar el fármaco y de esta manera evitar que este cumpla su función.
- **Resistencia circunstancial:** es que aquella que ocurre cuando existe diferencia entre la respuesta in vitro e in vivo del microorganismo, esto debido a que el fármaco no puede penetrar el líquido cefalorraquídeo o cuando el pH es bajo y el fármaco se inactiva perdiendo su efecto terapéutico función.
- **Resistencia adquirida:** se presenta cuando los microorganismos se adaptan genéticamente para inhibir la acción terapéutica de los agentes microbianos. Este tipo de resistencia implica que se generen múltiples alteraciones en una amplia gama de genes bacterianos, como por ejemplo la resistencia del estafilococo a la meticilina función (Bisso-Andrade, 2018, pp.50-51).

- **Resistencia en las bacterias Gram positivas**

Dentro de este género de bacterias se encuentra a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pneumoniae* las cuales son las especies Gram positivas que presentan mayor resistencia, sin embargo, la prevalencia de la resistencia varía en función del microorganismo (Lozano y Torres, 2017).

Los mecanismos de resistencia en las bacterias Gram positivas se dan mediante la degradación enzimática del antibiótico por producción de betalactamasas o aminoglicósidos, por disminución de la afinidad del fármaco con su diana molecular o por bombas de expulsión como las quinolonas

o macrólidos (Mesa, 2020).

- **Resistencia en las bacterias Gram negativas**

Dentro de la lista de prioridades de urgencia publicada por la OMS se encuentran las *Enterobacteriaceas* resistentes a carbapenémicos o productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Su mecanismo de acción consiste en la producción de betalactamasas las cuales hidrolizan el anillo betalactámico inhibiendo la actividad antibacteriana (Lepe et al., 2022).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de la investigación

El presente trabajo posee un enfoque de tipo cuantitativo donde se recolectan los datos obtenidos de la evaluación microbiológica de quesos frescos para su posterior análisis.

3.2. Nivel de la investigación

El nivel de investigación del presente trabajo tiene carácter observacional descriptivo cuya finalidad es detallar los datos obtenidos en la evaluación microbiológica de cada muestreo realizado a los quesos frescos que se expenden en los puestos en el mercado Privado de la ciudad de Macas.

3.3. Diseño de la investigación

3.3.1.1. Según la manipulación o no de la variable

El presente trabajo posee un diseño no experimental debido a que no se va a manipular ninguna variable independiente, sino que está enfocado en la cuantificación de microorganismos patógenos y no patógenos que se pueden encontrar presentes en queso, para establecer el grado de calidad que posee el alimento.

3.3.1.2. Según la intervención en el trabajo de campo

La investigación posee un carácter transversal dado que la evaluación microbiológica de los quesos frescos se realizó dentro del tiempo establecido a partir de muestras de diferentes puestos de venta.

3.3.2. Tipo de estudio

El presente trabajo está basado en un estudio de campo que se desarrolló mediante la recolección de datos obtenidos de cada muestra de queso analizada.

3.4. Población y Planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra

3.4.1. Población y planificación

El lugar donde se llevó a cabo la investigación es el mercado Privado de la ciudad de Macas, ubicado en la provincia de Morona Santiago, donde se efectuó la toma de muestras.

La experimentación de la presente investigación se realizó en la ESPOCH en el laboratorio de microbiología de alimentos.

3.4.2. Selección de la muestra

En el presente trabajo para la selección de la muestra se tomó en cuenta los criterios de inclusión los cuales permitieron la elección de 5 muestras de quesos frescos que se expenden en el mercado Privado de Macas, mientras que los criterios de exclusión permitieron descartar aquellos que no sean expandidos en éste. Para la evaluación microbiológica de los 5 quesos frescos se realizó un muestreo aleatorio por triplicado.

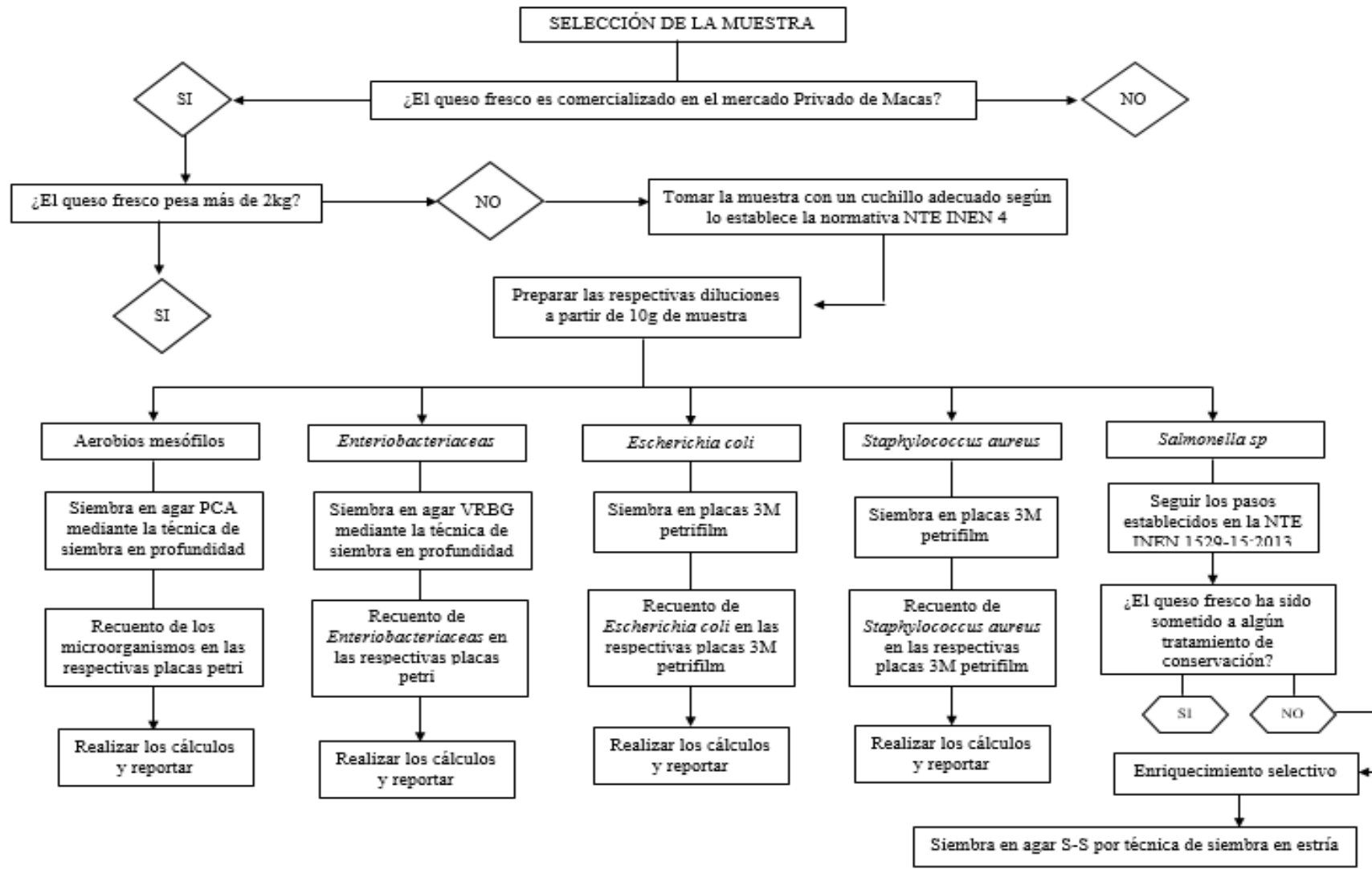
3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

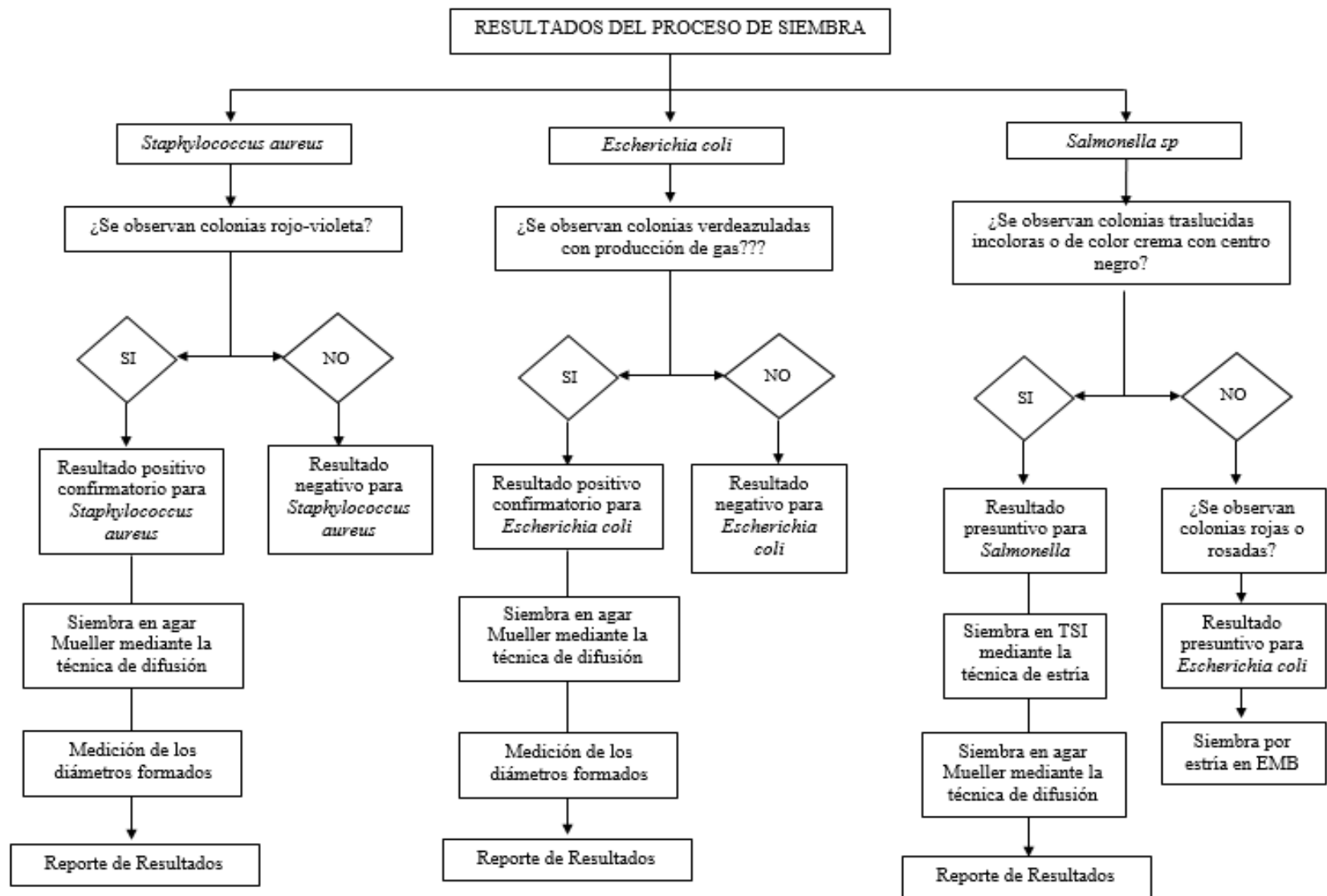
Para el cumplimiento del muestreo se tomó en cuenta la norma NTE INEN 4 para leche y productos lácteos, la muestra fue tomada en condiciones de asepsia y con un cuchillo adecuado tal y como se especifica en la normativa para quesos con una masa menor a 2 kg.



Ilustración 3-1: Etapas de la evolución microbiológica

Realizado por: Shica M.,2023





3.6. Materiales, reactivos, equipos e instrumentos de investigación

Tabla 3-1: Materiales utilizados en la investigación

	Cofia
	Guantes desechables
	Mascarilla
	Algodón
	Toallas absorbentes
	Cooler con bolsas de gel
	Baja lenguas
	Cinta maski
	Puntas azules
	Alcohol industrial
	Papel aluminio
	Tubos de 25 ml
	Matraz Erlenmeyer 125ml
	Matraz Erlenmeyer 250ml
	Matraz Erlenmeyer 1L
MATERIALES	Asa de platino
	Lámpara de alcohol
	Probeta de 50 y 100 ml
	Placas portaobjetos
	Reverbero
	Cajas Petri
	Placas Microfast para Coliformes/ <i>E.coli</i>
	Placas Microfast para <i>Staphylococcus aureus</i>
	Envases de vidrio estériles
	Marcador negro
	Discos para antibiograma
	Cuchillo de metal estéril
	Bolsas ziploc
	Pero de succión

Realizado por: Shica M.,2023

Tabla 3-2: Reactivos utilizados en la investigación

REACTIVOS	Agar PCA
	Agar VRBG
	Agar S-S
	Agar EMB
	Agar TSI
	Agar LIA
	Agar XLD
	Agar Mueller
	Agar MaConkey
	Cristal Violeta
	Lugol
	Alcohol cetona
	Safranina
	Verde brillante 1%
Agua destilada	
Peptona 1%	

Realizado por: Shica M.,2023

Tabla 3-3: Equipos e Instrumentos utilizados en la investigación

EQUIPOS E INSTRUMENTOS	Cámara de flujo laminar
	Estufa
	Microscopio
	Autoclave
	Baño maría
	Refrigeradora

Realizado por: Shica M.,2023

CAPITULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Las muestras de queso fresco fueron llevadas al laboratorio de biología molecular y genética dentro de un contenedor para mantener la cadena de frío, cada muestra fue almacenada en una bolsa ziploc y conservada con bolsas de gel frías, durante el trayecto de 6 horas hasta el lugar de análisis. Se marcó cada una de las bolsas ziploc con la información necesaria para el correspondiente análisis, como se muestra en la ilustración 4-1.

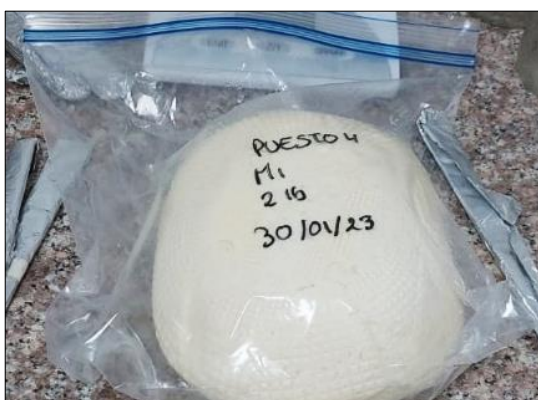


Ilustración 4-1: Identificación de la muestra

Fuente: Shica M.,2023

En esta sección se muestran los resultados que corresponden a los valores obtenidos en la cuantificación de cada una de las muestras analizadas en los 5 puestos de comercialización de queso fresco.

4.1. Cuantificación de aerobios mesófilos

Se realizó la cuantificación de aerobios mesófilos por triplicado de 5 puestos de queso fresco entre los meses de enero-febrero del 2023, como se observa en la tabla 4-1.

Tabla -1: Recuento de bacterias aerobias mesófilas

Fecha de muestreo	Número de Puesto	Número de muestra	Unidades formadoras de colonias (UFC/mL)	Media	Desviación estándar
03-01-2023	P1	M1	4.57×10^7	4.35×10^7	3.06×10^6
		M2	4.48×10^7		
		M3	4.00×10^7		

		M1	4.26 x 10 ⁷		
16-01-2023	P2	M2	4.38 x 10 ⁷	4.67 x 10 ⁷	5.92 x 10 ⁶
		M3	5.34 x 10 ⁷		
		M1	4.36 x 10 ⁷		
15-01-2023	P3	M2	3.70 x 10 ⁷	4.05 x 10 ⁷	3.32 x 10 ⁷
		M3	4.09 x 10 ⁷		
		M1	3.19 x 10 ⁷		
29-01-2023	P4	M2	3.30 x 10 ⁷	3.67 x 10 ⁷	4.29 x 10 ⁶
		M3	4.50 x 10 ⁷		
		M1	5.41 x 10 ⁷		
07-02-2023	P5	M2	4.0 x 10 ⁷	4.02 x 10 ⁷	1.38 x 10 ⁷
		M3	2.65 x 10 ⁷		

Realizado por: Shica M.,2023

El análisis cuantitativo de queso fresco evidenció que el 100% de las muestras analizadas presentaron un recuento de aerobios mesófilos de 10⁷ (UFC/mL), este valor es superior al encontrado en la evaluación microbiológica realizada por Calampa (2018), donde se obtuvieron valores mayores a 10⁵ UFC/g correspondientes al 81,25% de las muestras. Los aerobios mesófilos son microorganismos capaces de incrementar su número a temperaturas entre los 20 – 35°C y se pueden encontrar en los diferentes ambientes donde se realiza la recolección de la materia prima, por lo que su identificación en una muestra de alimento es un indicativo de calidad e inocuidad alimentaria. Cuando se reportan valores elevados esto refleja que existen prácticas de manufacturas inadecuadas y una ausencia de higiene en los materiales utilizados en el proceso de elaboración del queso fresco artesanal. Tomando esto en cuenta, el valor obtenido de aerobios mesófilos en las muestras de queso fresco se encuentra fuera de los límites permisibles demostrando que las buenas prácticas de manufactura influyen directamente en la calidad del producto alimenticio. De igual manera, si los productos comercializados no están sometidos a una refrigeración adecuada, la proliferación de aerobios mesófilos aumentará significativamente, tal y como se observa en los datos recogidos en la tabla 4-1.

4.2. Cuantificación de *Enterobacteriáceas*

Los resultados obtenidos del conteo de *Enterobacteriáceas* mostraron variedad entre las diferentes muestras de queso fresco analizadas, como se observa en la tabla 4-2.

Tabla 4-2: Recuento de *Enterobacteriáceas*

Fecha de muestreo	Numero de Puesto	Numero de muestra	Unidades formadoras de colonias (UFC/mL)	Media	Desviación estándar
03-01-2023	P1	M1	4.54×10^5	3.63×10^7	4.27×10^7
		M2	3.18×10^6		
		M3	7.27×10^5		
16-01-2023	P2	M1	8.27×10^4	2.44×10^5	1.08×10^5
		M2	1.22×10^5		
		M3	3.90×10^4		
15-01-2023	P3	M1	1.81×10^4	9.67×10^4	1.07×10^5
		M2	8.18×10^3		
		M3	2.72×10^3		
29-01-2023	P4	M1	0	8.5×10^3	1.47×10^4
		M2	0		
		M3	2.55×10^4		
07-02-2023	P5	M1	2.09×10^4	2.88×10^4	6.87×10^3
		M2	3.36×10^4		
		M3	3.18×10^4		

Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad ($m = 2 \times 10^2$)

Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. ($M = 10^3$)

Realizado por: Shica M., 2023

La cuantificación de *Enterobacteriáceas* en las muestras de queso fresco evidenció que el 73.33% superó el límite de 10^3 (UFC/ mL) establecido en la normativa NTE INEN 1528 como requisito para que el producto sea considerado de aceptable calidad, este resultado es similar al encontrado por Moreano (2021) en la evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos en la ciudad de Latacunga, donde se obtuvieron valores entre 10^4 y 10^5 (UFC/g).

En el estudio realizado por Espinoza et al. (2020), indica que uno de los factores que determinan la vida útil e inocuidad de un alimento es la presencia de Enterobacterias, por lo que una inadecuada preservación del producto puede dar lugar a valores elevados de este género bacteriano. De igual manera, Moreano (2021) menciona que cuando el producto se encuentra expuesto a temperatura ambiente se produce mayor desarrollo bacteriano, influyendo directamente en la calidad alimentaria del producto a comercializar. Por otro lado, la presencia de Enterobacterias también se relaciona con la contaminación fecal, un mínimo grado de limpieza

durante el proceso de ordeño y la no pasteurización de la leche (Flores et al., 2020).

4.3. Cuantificación de *Escherichia coli*

Los resultados obtenidos en el recuento de *Escherichia coli* mostraron variedad entre las diferentes muestras de queso fresco analizadas, como se observa en la tabla 4-3.

Tabla 4-3: Recuento de *Escherichia coli*

Fecha de muestreo	Numero de Puesto	Numero de muestra	Unidades formadoras de colonias (UFC/mL)	Media	Desviación estándar
03-01-2023	P1	M1	2.0×10^4	3.01×10^5	2.15×10^6
		M2	8.55×10^5		
		M3	2.81×10^4		
16-01-2023	P2	M1	9.09×10^2	3.03×10^2	5.24×10^2
		M2	0		
		M3	0		
15-01-2023	P3	M1	0	2.12×10^3	3.67×10^4
		M2	0		
		M3	6.36×10^3		
29-01-2023	P4	M1	2.01×10^4	1.03×10^4	1.00×10^4
		M2	1.09×10^4		
		M3	0		
07-02-2023	P5	M1	1.09×10^4	1.12×10^4	5.19×10^2
		M2	1.18×10^4		
		M3	1.09×10^4		

Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad. (m = <10)

Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. (M = 10)

Realizado por: Shica M.,2023

La cuantificación de *Escherichia coli* en las muestras de queso fresco evidenció que el 100% superó el límite de 10 (UFC/ mL) establecido en la normativa NTE INEN 1528 como requisito para que el producto sea considerado de aceptable calidad. El valor más alto obtenido en el análisis fue de 10^5 (UFC/ mL) el cual coincide con los valores obtenidos en el estudio realizado por Montes (2019, p.30), acerca de quesos artesanales de la ciudad de Guayaquil donde se encontró un valor mínimo de 3×10^5 y un máximo de 3×10^7 UFC/g.

La presencia de *Escherichia coli* en los quesos frescos artesanales es un indicador de contaminación fecal, debido a que estas bacterias se encuentran habitualmente en las heces de los animales y prolifera en el tracto intestinal tanto de animales y humanos (Magallanes, 2018, p.1). En otro estudio realizado por Gaibor (2018, p.15), menciona que los valores elevados de *Escherichia coli* corresponde a una contaminación en la leche por la secreción intramamaria a la hora de la recolección de esta o también por contaminación fecal de la ubre de la vaca, y en otras ocasiones por una mala higiene del equipo de ordeño.

Dentro del proceso de elaboración del queso fresco se utiliza la salmuera, la cual es una fuente importante para el crecimiento de diferentes agentes bacterianos, entre los cuales se encuentra *Escherichia coli*. En el estudio realizado por Arguello et al. (2020) sobre la calidad microbiológica de la salmuera utilizada en la elaboración de quesos frescos se halló una alta carga microbiana de esta bacteria como consecuencia de la capacidad de *Escherichia coli* para crear una coraza que permite su desarrollo en medios salinos, es por eso que cuando no existe una adecuada limpieza de las superficies de tinajas de salmuera entre otros utensilios se ve afectada la vida útil del producto alimenticio.

4.4. Cuantificación de *Staphylococcus aureus*

Los resultados obtenidos del recuento de *Staphylococcus aureus* evidenciaron poca variabilidad entre las diferentes muestras de queso fresco analizadas, como se observa en la **tabla 4-4**.

Tabla 4-4: Recuento de *Staphylococcus aureus*

Fecha de muestreo	Numero de Puesto	Numero de muestra	Unidades formadoras de colonias (UFC/mL)	Media	Desviación estándar
03-01-2023	P1	M1	4.18×10^5	7.85×10^5	8.16×10^6
		M2	2.18×10^5		
		M3	1.72×10^6		
16-01-2023	P2	M1	2.18×10^6	2.62×10^6	4.13×10^5
		M2	2.67×10^6		
		M3	3.00×10^6		
15-01-2023	P3	M1	2.54×10^6	2.42×10^5	2.67×10^6
		M2	2.27×10^6		
		M3	2.45×10^6		

		M1	0		
29-01-2023	P4	M2	0	3.03×10^4	6.04×10^6
		M3	9.09×10^4		
		M1	4.34×10^6		
07-02-2023	P5	M2	3.09×10^6	3.54×10^6	6.97×10^5
		M3	3.18×10^6		

Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad. ($m = 10$)

Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. ($M = 10^2$)

Realizado por: Shica M.,2023

El análisis cuantitativo de queso fresco evidenció que el 66.66% de las muestras analizadas presentaron un valor de *Staphylococcus aureus* de 10^6 (UFC/mL), que se encuentra fuera de los límites permisibles establecidos en la normativa NTE INEN 1528, donde el índice máximo para alcanzar un nivel de aceptable calidad es de 10^2 UFC/g. En el estudio realizado por Arteaga (2021), se encontraron valores de 10^6 UFC/g los cuales son similares a los reflejados en los resultados obtenidos en la investigación. La presencia de esta bacteria gran positiva en las muestras de quesos corresponde a una deficiencia en las buenas prácticas de manufactura, debido a que habitualmente se hallan en las manos, en la piel, las fosas nasales, faringe y boca de los manipuladores del producto; siendo el ser humano la principal fuente de contaminación (Vasquez et al., 2018).

De igual manera, Merchán et al. (2019) menciona que *Staphylococcus aureus* tiene su habitad frecuentemente en la región nasofaríngea de las personas y en la ubre de las vacas, y que además cuando el pH es ácido aumenta la proliferación de organismo en el queso fresco.

En los últimos años se ha visto un incremento de enfermedades provocadas por *Staphylococcus aureus*, debido a que este es el principal factor causante de los brotes por intoxicación alimentaria (Orozco, 2018, p.17), por lo que una manipulación inadecuada del producto o de la materia prima puede ser una fuente de contaminación.

Al encontrarse un valor de 10^6 (UFC/mL) superior al límite permisible de 10^2 UFC/g establecido en la NTE INEN 1528 se puede sugerir que el personal implicado en la elaboración del queso no utilizó el equipamiento adecuado y que además no se tuvo un proceso de pasteurización de la leche.

4.5. Análisis cualitativo de Salmonella

En las 12 muestras analizadas de queso fresco no se detectó la presencia de Salmonella, mientras que en el puesto 5 se determinó la presencia presuntiva de esta bacteria patógena.

Tabla 4-5: Resultados cualitativos de *Salmonella*

Fecha de muestreo	Numero de puesto	Numero de muestra	Ausencia/Presencia
03-01-2023	P1	M1	Ausencia
		M2	Ausencia
		M3	Ausencia
16-01-2023	P2	M1	Ausencia
		M2	Ausencia
		M3	Ausencia
15-01-2023	P3	M1	Ausencia
		M2	Ausencia
		M3	Ausencia
29-01-2023	P4	M1	Ausencia
		M2	Ausencia
		M3	Ausencia
07-02-2023	P5	M1	Presencia presuntiva
		M2	Presencia presuntiva
		M3	Presencia presuntiva

Realizado por: Shica M.,2023

La principal causa de presencia de *Salmonella* en el queso fresco es el uso de leche no pasteurizada como materia prima en su elaboración. En el presente estudio se identificó presuntivamente *Salmonella* en el 20% de las muestras examinadas, por lo que el 80% de las muestras restantes si cumplen con los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 1528 para este microorganismo. Existen diversos factores como el pH ácido y la baja disponibilidad de azúcares que influyen en el desarrollo de *Salmonella spp.*, además la capacidad que poseen las bacterias ácido – lácticas para inhibir el crecimiento de enterobacterias puede afectar directamente en la proliferación de estos patógenos (Vázquez et al., 2018).

4.6. Aislamiento de microorganismos presente en las muestras de queso fresco

Los microorganismos presentes en el queso se aislaron en los siguientes medios de cultivo: Macconkey, Manitol salado, Eosina azul de metileno, Salmonella-shigella y MRS. La cepa presuntiva de *Escherichia coli* se observó con una coloración rosada debido a la fermentación de la lactosa y una zona de precipitación de bilis que rodea a las colonias, como se observa en la **Ilustración 4-2**. La cepa presuntiva de *Staphylococcus aureus* se observó con una coloración amarilla dorada, con colonias de tamaño mediano, como se observa en la **Ilustración 4-3**. La cepa presuntiva de *Shigella* se observó colonias incoloras lactosa negativas, como se observa en la **Ilustración 4-4**. Además, se observaron otras cepas presuntivas de *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*, bacterias ácido-lácticas y *Staphylococcus epidermitis*.



Ilustración 4-2: Morfología de colonias en agar MacConkey

Fuente: Shica M.,2023



Ilustración 4-3: Morfología de colonias en agar Manitol salado

Fuente: Shica M.,2023

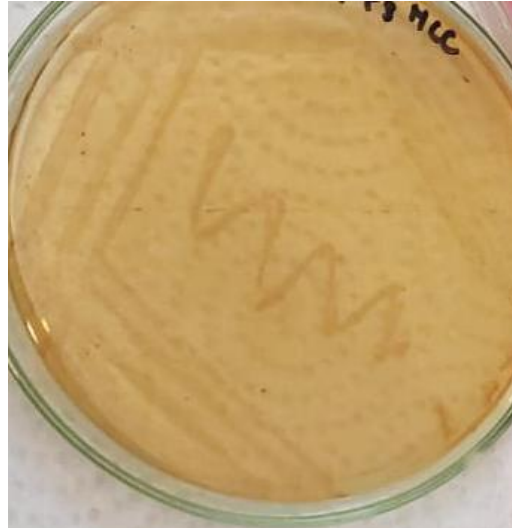


Ilustración 4-4: Morfología de colonias en agar MacConkey

Fuente: Shica M.,2023

La tinción de Gram realizada a los diferentes cultivos permitió comprobar su pureza y por lo tanto se procedió a realizar las respectivas pruebas bioquímicas para identificación bacteriana. En la **Ilustración 4-5.** se observó cocos grampositivos agrupados en racimos a los cuales posteriormente se les realizó las pruebas de catalasa y coagulasa. En la **Ilustración 4-6,** se observó bacilos gramnegativos no esporulados, que se identificaron en agar Eosina azul de metileno donde las colonias observadas fueron de color verde brillante metálico. Además, se observaron bacterias ácido-lácticas en las tinciones Gram realizadas a los cultivos de agar salmonella-shigella. Se observó bacilos Grampositivos y no esporulados como se observa en la **Ilustración 4-7.**

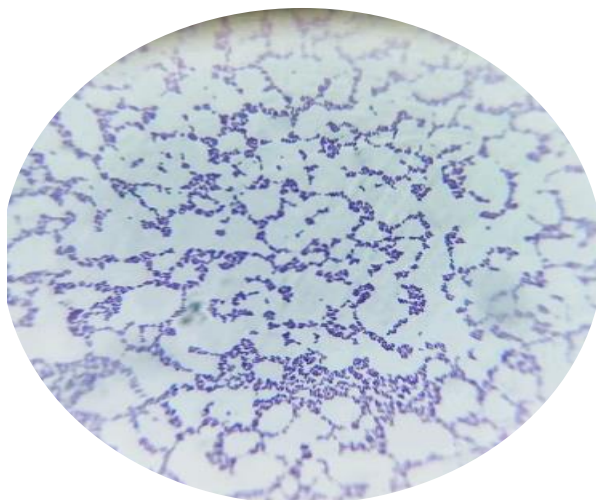


Ilustración 4-5: Tinción gram de cultivo *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado

Fuente: Shica M.,2023

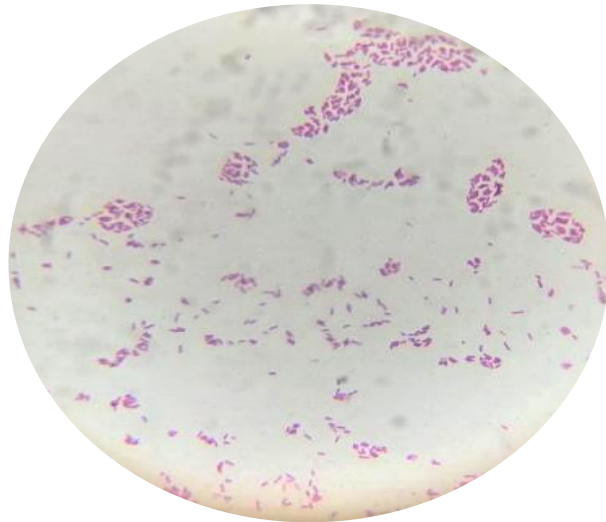


Ilustración 4-6: Tinción Gram de cultivo *Escherichia coli* en agar MacConkey

Fuente: Shica M.,2023

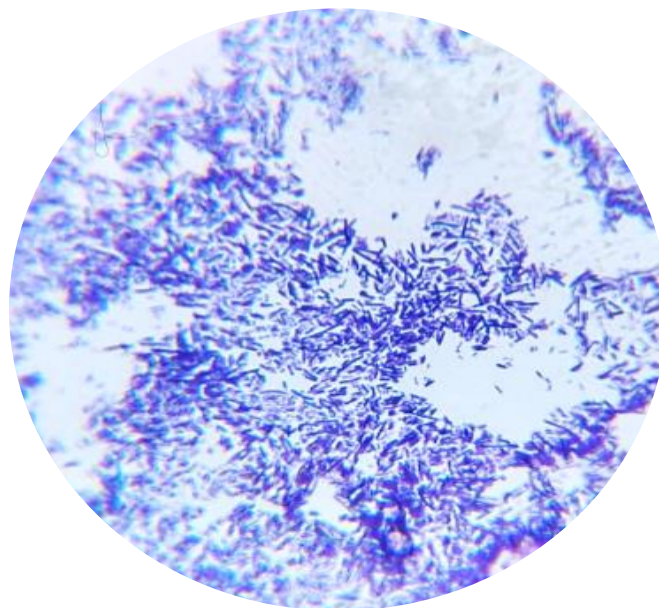


Ilustración 4-7: Tinción Gram de cultivo *Acido lácticas* en agar Salmonella-shigella

Fuente: Shica M.,2023

4.7. Identificación de microorganismos patógenos en el queso fresco

En la investigación realizada se aislaron un total de 25 microorganismos entre los cuales se identificaron las siguientes cepas gramnegativas; *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella*, *Salmonella paratyphi A (2)*, *Enterobacter agglomerans* (Tabla 4-6), las siguientes cepas Grampositivas: *Staphylococcus aureus*, (Tabla 4-7) y diversas cepas de bacterias ácido-lácticas

Tabla 4-6: Resultados de bacterias gramnegativas aisladas de muestras de queso fresco

Medio de aislamiento	Microorganismo identificado	Manitol	Pruebas Bioquímicas						
			TSI	LIA	Indol	Citrato	Urea	Movilidad	SH ₂
MacConkey	<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	Glucosa: +	Lisina: -	-	+	-	-	-
			Lactosa: +	Arginina: -					
			Sacarosa: -						
	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	Glucosa: +	Lisina: -	-	+	+	+	-
			Lactosa: +	Arginina: -					
			Sacarosa: -						
	<i>Shigella</i>	-	Glucosa: +	Lisina: -	+	-	-	-	-
			Lactosa: -	Arginina: -					
			Sacarosa: -						
	<i>Salmonella paratyphi A (2)</i>	+	Glucosa: +	Lisina: -	-	-	-	+	-
			Lactosa: -	Arginina: -					
			Sacarosa: -						
EMB	<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	Glucosa: +	Lisina: +	-	-	-	-	-
			Lactosa: +	Arginina: -					
			Sacarosa: -						

Realizado por: Shica M.,2023

Los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas evidenciaron que el 12 % de las cepas aisladas corresponden a *Enterobacter aerogenes*, el 8% corresponde a *Enterobacter cloacae*, el 16 % a *Escherichia coli*, el 32% corresponde a *Staphylococcus aureus*, el 28% corresponde a bacterias ácido lácticas, y en menor porcentaje se identificaron cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella*, *Salmonella* y *Enterobacter agglomerans*.

Las especies del género *Enterobacter* se encuentran de forma habitual en el medio ambiente, en la piel, las manos y en el tracto intestinal de animales y humanos. Las cepas *Enterobacter cloacae* y *E. aerogenes* tiene importancia clínica porque producen diversas infecciones nosocomiales, por lo que su detección en las muestras de queso indica una deficiente calidad del producto lácteo analizado. Por otro lado, *Shigella* es una bacteria Gramnegativa que se encuentra en el intestino

humano, su transmisión ocurre a través de la ingesta de alimentos contaminados con materia fecal, por esta razón la detección de este patógeno en las muestras de queso fresco analizadas es un indicativo de condiciones higiénicas deficientes en la elaboración del producto alimenticio. (Lopardo et al., 2016: p.132).

En la investigación realizada por Rivera de la Cruz (2017), se menciona que *Salmonella spp.* se ha encontrado en muestras de quesos frescos que utilizan leche cruda y pasteurizada para su elaboración, las cuales pueden proceder de diversas fuentes de contaminación como falta de inocuidad en el producto, malas prácticas de manufactura y un control deficiente en la cadena de distribución que puede ocasionar contaminación. Sin embargo, la existencia de cepas nativas bacterias ácido lácticas aisladas de muestras de queso fresco artesanal pueden inhibir las cepas de *Salmonella spp.* mediante fermentación ácido láctica.

Tabla 4-7: Resultados de cocos gran negativos aislados de muestras de queso fresco

Medio de aislamiento	Microorganismo identificado	Catalasa	Coagulasa	Manitol	Resistencia a novobiocina
Manitol	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-
Salado	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	-	-	-

Realizado por: Shica M., 2023

En las investigaciones llevadas a cabo sobre quesos artesanales se sugiere que la detección del género *Staphylococcus* sea habitual dado que el queso fresco posee las condiciones idóneas para su desarrollo (Paco y Espada, 2018: p. 27).

4.8. Análisis de la resistencia bacteriana de las cepas Gramnegativas y Grampositivas identificadas en la muestra de queso fresco

Los resultados obtenidos del antibiograma sugieren de manera general que el 33.33% de cepas aisladas son resistentes a ampicilina, el 20% presentan resistencia a tetraciclina y el 10% de las cepas presentan resistencia a oxacilina, mientras que el 36.67% presentaron sensibilidad a ceftriaxona, azitromicina, ciprofloxacino, eritromicina y cloranfenicol. Como se observa en la siguiente tabla (Tabla 4-8).

Tabla 4-8: Resultados del antibiograma realizado a los microorganismos identificados en las muestras de queso fresco

Microorganismo	Antimicrobiano	Disco (mcg)	Zona de inhibición (mm)			Resultado	
			R (<)	I	S (>)		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ampicilina	10 mcg	13	14 - 16	17	10 mm	Resistente
	Ceftriaxona	30 mcg	19	20 - 22	23	26 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	10	11 - 15	16	12 mm	Intermedio
	Tetraciclina	30 mcg	11	12 - 14	15	16 mm	Sensible
	Ciprofloxacino	5 mcg	21	22 - 25	26	34 mm	Sensible
<i>Escherichia coli</i>	Ampicilina	10 mcg	13	14 - 16	17	12 mm	Resistente
	Ceftriaxona	30 mcg	19	20 - 22	23	30 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	10	11 - 15	16	14 mm	Intermedio
	Tetraciclina	30 mcg	11	12 - 14	15	9 mm	Resistente
	Ciprofloxacino	5 mcg	21	22 - 25	26	25 mm	Sensible
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina	10 mcg	20	21-28	29	12 mm	Resistente
	Tetraciclina	30 mcg	14	15- 18	19	26 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	13	14 - 17	18	25 mm	Sensible
	Ciprofloxacino	5 mcg	15	16 - 20	21	30 mm	Sensible
	Oxacilina	1 mcg	21	-	22	19 mm	Resistente
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ampicilina	10 mcg	21	22 - 25	26	35 mm	Sensible
	Tetraciclina	30 mcg	20	21-28	29	25 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	14	15- 18	19	18 mm	Intermedio
	Ciprofloxacino	5 mcg	13	14 - 17	18	30 mm	Sensible
	Oxacilina	1 mcg	15	16 - 20	21	17 mm	Intermedio
<i>Enterobacter cloacae</i>	Ampicilina	10 mcg	13	14 - 16	17	15 mm	Intermedio
	Ceftriaxona	30 mcg	19	20 - 22	23	26 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	10	11 - 15	16	15 mm	Intermedio
	Tetraciclina	30 mcg	11	12 - 14	15	20 mm	Sensible
	Ciprofloxacino	5 mcg	21	22 - 25	26	33 mm	Sensible
Bacterias lácticas	Eritromicina	15mcg	15	14-17	18	20 mm	Sensible
	Tetraciclina	30mcg	14	15-18	19	7 mm	Resistente
	Ciprofloxacino	5mcg	13	14-17	18	21 mm	Sensible
	Cloranfenicol	30mcg	12	13-17	18	32 mm	Sensible
	Ampicilina	10 mcg	13	14 - 16	17	17 mm	Sensible
<i>Salmonella paratyphi A (2)</i>	Ceftriaxona	30 mcg	19	20 - 22	23	25 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	10	11 - 15	16	15 mm	Intermedio
	Tetraciclina	30 mcg	11	12 - 14	15	23 mm	Sensible
	Ciprofloxacino	5 mcg	21	22 - 25	26	30 mm	Sensible
	Ampicilina	10 mcg	13	14 - 16	17	15 mm	Intermedio
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Ceftriaxona	30 mcg	19	20 - 22	23	23 mm	Sensible
	Azitromicina	15 mcg	10	11 - 15	16	17 mm	Sensible
	Tetraciclina	30 mcg	11	12 - 14	15	24 mm	Sensible
	Ciprofloxacino	5 mcg	21	22 - 25	26	32 mm	Sensible

Realizado por: Shica M.,2023

Se obtuvieron 3 aislamientos de *Escherichia coli* del total de las 15 muestras examinadas. Esta cepa bacteriana tiene una gran importancia en el área clínica puesto que es la principal causa de infecciones en vías urinarias e infecciones del tracto gastrointestinal. Los resultados obtenidos para *Escherichia coli* resistente a ampicilina coinciden con los reportados por Ross et al. (2020), quien menciona que el 92,5 % de las cepas aisladas mostraron resistencia a ampicilina.

Según el estudio de sensibilidad de *Escherichia coli* realizado por Losada et al. (2020: p.464) uno de los fármacos más utilizados para el tratamiento de ITU es la ampicilina. Este betalactámico interfiere en las últimas etapas de la síntesis de peptidoglucano, un componente necesario para la formación de la pared bacteriana. El mecanismo de resistencia ocurre cuando las betalactamasas hidrolizan el núcleo betalactámico inactivando el antibiótico (Meriño, 2021, pp.122-123).

De igual manera Conogasi (2018), menciona que en México el 70% de las infecciones producidas por cepas de *Escherichia coli* patógenas presentan resistencia bacteriana a penicilina, ampicilina, tetraciclina y trimetoprima-sulfametoxazol, resultados que son coincidentes con los obtenidos en esta investigación.

Con respecto a las cepas de *Staphylococcus aureus* todas presentaron resistencia a oxacilina, resultados coincidentes con los hallados por Pineda et al. (2020) donde 28,5% del total de las muestras analizadas son resistente a oxacilina. Este coco Grampositivo es un productor de enterotoxinas, por esto es causante de gran parte de las intoxicaciones alimentarias. Las cepas de *Staphylococcus aureus* que producen penicilinas poseen resistencia a todas las penicilinas, debido a que tienen una estructura molecular que las protege frente a la acción de las betalactamasas; datos coincidentes con los obtenidos en esta investigación para este género bacteriano (Fuentes, 2018, p.3).

Las bacterias ácido-láctica correspondieron al 24% del total de las cepas aisladas, las cuales reflejaron resistencia a tetraciclina. Según un estudio de sensibilidad y resistencia a antibióticos elaborado por May-Torruco (2020), la capacidad de un probiótico para ser sensible a los antibióticos debe ser evaluada y buscada, debido a que estos se ingieren de manera voluntaria y con el propósito de fortalecer la flora intestinal. Sin embargo, existen algunas cepas que pueden transferir los genes de resistencia a bacterias patógenas a través de plásmidos o transposones.

CONCLUSIONES

- Los resultados de la evaluación microbiológica de los quesos frescos procedentes del mercado Privado de Macas, evidenciaron que ninguna de las muestras analizadas cumplió con los requisitos microbiológicos para alcanzar un nivel de calidad aceptable del producto lácteo elaborado. Es importante mencionar que las muestras de queso frescos presentan bacterias resistentes a antimicrobianos betalactámicos como ampicilina, oxacilina y tetraciclina.
- Los estándares enmarcados en la norma NTE INEN 4 para el muestreo de leche y productos lácteos permitió realizar la recolección de las muestras de manera inocua evitando así interferir en la evaluación microbiológica de los quesos frescos, además la información solicitada por la norma (fecha, peso y número de puesto) permitió obtener una identificación adecuada de cada muestra analizada.
- Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas, Enterobacteriaceas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* exceden los límites establecidos en la normativa NORMA NTE INEN 1528. En las 12 muestras de queso fresco analizadas no se detectó presencia de *Salmonella*, sin embargo, se identificó presencia presuntiva de esta cepa bacteriana en las 3 últimas muestras analizadas.
- Las cepas bacterianas aisladas e identificadas corresponden a *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella paratyphi A (2)*, *Enterobacter agglomerans* y bacterias ácido-lácticas. El mayor porcentaje de resistencia antimicrobiana se encontró para ampicilina, oxacilina y tetraciclina. Otras de las cepas aisladas fueron las bacterias ácido – lácticas, nativas de la microbiota del producto lácteo evaluado. Los resultados obtenidos en estas cepas reflejaron resistencia a tetraciclina, esto sugiere que poseen una cualidad positiva para ser utilizadas como probióticos.

RECOMENDACIONES

- Realizar una adecuada conservación del producto a comercializar mediante refrigeración y la no exposición a ambientes con temperaturas entre 20-40°C debido a que este factor aumenta la proliferación de bacterias aerobias mesófilas.
- Aplicar normas de Buenas Prácticas de Manufactura durante el proceso de elaboración del queso fresco para evitar la presencia de patógenos bacterianos causantes de intoxicaciones alimentarias. Utilizar mascarilla, guantes y el equipo de trabajo adecuada para mantener la inocuidad del alimento.
- Llevar a cabo un constante control microbiológico de la materia prima a utilizar mediante el pasteurizado de la leche para garantizar una mayor vida útil del producto e incrementar la calidad del mismo.
- Brindar capacitaciones al equipo de ordeño, de producción y de transporte acerca de la contaminación cruzada y su importancia en la calidad alimentaria para la salud humana del consumidor.
- Se sugiere ampliar la investigación acerca del potencial biotecnológico de las diversas cepas de bacterias ácido-lácticas aisladas para inhibir cepas bacterianas patógenas de interés clínico presentes en los alimentos que son fuentes causales de las intoxicaciones alimentarias.

BIBLIOGRAFÍA

ALBUJA, Ana; et al. “Evaluación de la calidad microbiológica del queso de hoja tradicional de Ecuador elaborado artesanal e industrialmente”. ANALES RANF; Real Academia Nacional de Farmacia [en línea], 2020, (Ecuador) 86(2), pp. 117-124. [Consulta: 26 octubre 2022]. Disponible en: <https://analesranf.com/articulo/>

AMAZARÁ, E.; et al. Microbiología de alimentos recuento de los microorganismos aerobios mesófilos. ResearchGate [en línea], 2022, (Colombia). [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/361449495>

ARETAGA, R.; et al. “Calidad sanitaria de la leche y quesos artesanales elaborados en la provincia de Manabí, Ecuador”. Rev. prod. anim. [en línea], 2021, (Ecuador) 33(3). [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e3925>

ARGUELLO, P.; et al. “Calidad microbiológica de la salmuera utilizada en el proceso de elaboración de quesos frescos artesanales en una quesera de Quimiag-Chimborazo”. Perfiles [en línea], 2020, (Ecuador) 1(24), p. 50. [Consulta: 15 febrero 2023]. ISSN 2477-9105. Disponible en: <https://ceaa.esPOCH.edu.ec/ojs/index.php/perfiles/article/view/78/47>

ARISPE, Ivelio & TAPIA, María Soledad. “Inocuidad y calidad: requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores”. Agroalimentaria [en línea], 2007, (Venezuela) 12(24), pp. 105-118. [Consulta: 11 noviembre 2022]. ISSN 1316-0354. Disponible: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-03542007000100008

ARSCA. *Normativa Sanitaria Control y Vigilancia Alimentos de Consumo Humano.*

BIOLCATI, Federica; et al. “Microbiological analysis of the Robiola di Roccaverano cheese by means of traditional culturing methods”. Iatlian Journal of Food Safety [en línea], 2019, (Italia) 8, pp 209-212. [Consulta: 25 octubre 2022]. Disponible en: doi:10.4081/ijfs.2019.8574

BISSO-ANDRADE A. “Resistencia a antimicrobianos”. Rev Sociedad Peru Med Interna [en línea], 2018, (Perú) 31(2), pp. 50-59. [Consulta: 11 noviembre 2022]. Disponible en: <http://51.79.48.69/index.php/spmi/article/view/32/31>

BRITANIA S.A. *Manitol Salado Agar* [en línea]. Buenos Aires-Argentina, 2021. [Consulta: 01 de noviembre de 2022]. Disponible en:

https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607073c954fa9.pdf

CALAMPA, L.; et al. “Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de queso fresco en las cuencas lecheras de la Región Amazonas, Perú”. *Agroindustrial Science* [en línea], 2018, (Perú) 8(2). pp. 117-121. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>

CALDERON, Roberto; et al. “Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la universidad politécnica salesiana-sede quito, campus el girón”. *La Granja* [en línea], 2017, (Ecuador), 25(17), pp. 71-84. [Consulta: 11 noviembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.07>

CAMPOS, D. *Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas*. RIPDA-CYTED, 1993, pp. 225-226.

CARRILLO, María; et al. “Avances en la Microbiología de Alimentos”. *Revista Académica de Investigación TLATEMOANI* [en línea], 2021, (España) 36, pp. 75-76. [Consulta: 27 octubre 2022]. ISSN: 19899300. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7958806>

CASTRO, Ernestina. & GUEVARA, Zoila. “Evaluación microbiológica de quesos frescos artesanales comercializados en la ciudad de Chachapoyas-Amazonas”. *UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería* [en línea], 2018, (Perú) 1(1), p. 38-43. [Consulta: 11 noviembre 2022]. ISSN 2414-8822 / ISSN (e) 2520-0356. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v1i1.263>

Constitución de la República del Ecuador (CRE) [en línea], 2008, Ecuador – Quito. [Consulta: 26 octubre 2022]. Disponible en: <https://educacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/08/Constitucion.pdf>

CONTERO RAMOS, Verónica Yesenia. Evaluación higiénico-sanitaria de la Quesera Artesana ubicada en la parroquia Químiag, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo (Trabajo de Titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2017. p. 27. [Consulta: 26 octubre 2022]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/6931>

ESPINOZA, F.; et al. “Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo”. *Journal of Science and Research* [en línea], 2020, (Ecuador) 5, p. 341. [Consulta:

15 febrero 2023]. E-ISSN: 2528-8083. Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4432656>

FLORES, Y.; et al. “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de los quesos frescos artesanales de la provincia Mayabeque, Cuba”. *Rev Salud Anim* [en línea], 2020, (Cuba) 42 (2), [Consulta 15 febrero 2023]. ISSN 0253-570X. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2020000200007&lng=es&nrm=iso.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS (FAO). *Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods* [en línea]. Roma – Italia: World Health Organization, 2016. [Consulta: 30 octubre 2022]. Disponible en: <https://higieneambiental.com/sites/default/files/images/pdf/criterios-microbiologicos-fao-oms.pdf>

FUENTES, X. Resistencia a β -lactámico por *Staphylococcus aureus* (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Universidad de La Laguna, Facultad de Ciencias, Biología. (Tenerife-España). 2018, p. 3. [Consultado: 16 febrero 2023]. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/9607/Resistencia%20a%20C3%9F-lactamico%20por%20Staphylococcus%20aureus.pdf?sequence=1>

GAIBOR, M. Incidencia de *E. coli* O157 y *Salmonella spp.* en queso semiseco y quesillo artesanal en seis puntos de venta en Tegucigalpa (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Agrícola Panamericana, Agroindustria Alimentaria. (Zamorano Honduras). 2018. p. 15. [Consulta: 15 febrero 23]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11036/6242>

GARCÍA DEL VALLE, Araceli; et al. *Manual de Bacteriología y Micología Médicas* [en línea]. México – Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma De México, Facultad De Estudios Superiores Zaragoza, 2020. [Consulta: 1 noviembre 2022]. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/manuales/8Manual_Bacteriologia_Micologia_Medicinas.pdf

GIONO-CEREZO, Silvia; et al. “Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla”. *Gac. Méd. Méx* [en línea], 2020, (México) 156 (2), pp.172-180. [Consulta: 22 febrero 2023]. ISSN 2696-1288. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S001638132020000200172&lng=es&nrm=iso. <https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>.

GONZÁLES, A. “Resistencia epigenética de las bacterias a los antibióticos: Parte 1”. Conogasi, Conocimiento para la vida [en línea], 2018, (México). [Consulta: 21 febrero 2023]. Disponible en: <https://conogasi.org/articulos/resistencia-epigenetica-de-las-bacterias-a-los-antibioticos-parte-1/>

HARO CARRASCO, Jessica Lorena. Análisis Microbiológico de los quesos frescos comercializados en el mercado Simón Bolívar (San Alfonso) de la ciudad de Riobamba (Trabajo de Titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2016. pp. 23-35. [Consulta: 21 febrero 2023]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/4986>

HERRERA, B. & JABIB, R. “Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenicidad muy particular”. Revista Electrónica Veterinaria. REDVET [En línea], 2015, (España-Málaga) 1(16), pp.1-2. [Consulta: 27 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63638739002>

IDÁRRAGA, Melissa; et al. “Análisis microbiológico de queso cuajada en municipios del departamento del Quindío”. Revista Ion [en línea], 2018, (Colombia) 31(1), pp. 49-54. [Consulta: 27 octubre 2022]. ISSN: 2145-8480. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018008>.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. “Las enfermedades transmitidas por Alimentos-ETA”. *BES (Boletín Epidemiológico Semanal)*. (2018), (Colombia). pp. 1-31.

LEPE, J. A & MARTINEZ, L. “Mecanismos de resistencia en bacterias gramnegativas”. Medicina Intensiva [en línea], 2022, (España) 46(7), pp. 392-402. [Consulta: 11 noviembre 2022]. Disponible en: [10.1016/j.medin.2022.02.004](https://doi.org/10.1016/j.medin.2022.02.004)

LOPARDO, H. *Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: enterobacterias* [en línea]. Buenos Aires – Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2016. [Consulta: 16 febrero 2023]. Disponible en: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>

LÓPEZ, Franklin. Influencia del uso de los inhibidores naturales en la calidad microbiológica de quesos frescos (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería en Industrias Pecuarias. (Riobamba-Ecuador). 2016. p. 15. [Consulta: 16 febrero 2023]. Disponible:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15522>

LOSADA, I.; et al. “Estudio de sensibilidad de *Escherichia coli* productores de infecciones del tracto urinario comunitarias en Galicia. Período: 2016-2017”. *Atención primaria* [en línea]. 2020, (España) 52 (7), pp. 462-468. Disponible en: [10.1016/j.aprim.2019.06.007](https://doi.org/10.1016/j.aprim.2019.06.007)

MAGALLANES, J. Determinación de los niveles de Coliformes totales y *Escherichia coli* en suero y leche cruda (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Ingeniería Ambiental. (Guayaquil – Ecuador). 2018. p. 15. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/29509>

MARTÍNEZ, Ailín; et al. “Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba”. *Revista de Salud Animal* [en línea], 2013, (Cuba) 35 (3), pp. 210-213. [Consulta: 15 febrero 2023]. ISSN 0253-570X. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0253-570x2013000300011

MAY- TORRUCO, A.; et al. “Sensibilidad y Resistencia a Antibióticos de Cepas Probióticas Empleadas en Productos Comerciales”. *European Scientific Journal* [en línea]. 2020, (México) 16 (18), pp. 45-47. [Consulta: 16 febrero 2023]. ISSN: 1857-7881. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.19044/esj.2020.v16n18p43>

MERCHAN, N.; et al. “Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016”. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* [en línea]. 2019, (Colombia) 56. [Consulta: 15 febrero 2023]. ISSN 1561-3003. Disponible en: <https://revidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171>

MERIÑO, M.; et al. “Resistencia antimicrobiana en infección del tracto urinario con bacteriuria en el servicio de urgencia de un hospital comunitario de la región de Ñuble, Chile”. *Rev. virtual Soc. Parag. Med. Int* [en línea]. 2021, (Chile) 8 (1), pp. 122-123. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.18004/rvspmi/2312-3893/2021.08.01.117>

MESA, Juan. “Resistencia bacteriana en cocos Grampositivos: aspectos prácticos para toma de decisiones clínicas”. *LARed: Red Colaborativa Pediátrica de Latinoamérica* [en línea]. 2020, (Colombia). [Consulta: 11-11-2022]. Disponible en: <https://www.la-red.net/single-post/2020/09/07/resistencia-bacteriana-en-cocos-gram-positivos-aspectos-pr%C3%A1cticos-para-la-toma-de-decisio>

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR (MSP). *Plan Intersectorial de Alimentación y Nutrición 2018-2025* [en línea]. Quito-Ecuador, 2018. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/08/PIANE-2018-2025-final-compressed.pdf>

MONTES, D. Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en quesos artesanales expendidos en la ciudad de Guayaquil (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Ingeniería Ambiental. (Guayaquil–Ecuador). 2019. p. 30. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39661>

MORALES, J. & MÉNDEZ, F. “Caracterización microbiológica de algunos Quesos tipo Chihuahua elaborados en Rio Grande, Zacatecas”. *Investigación y Desarrollo en Ciencias y Tecnología de Alimentos* [en línea], 2022 (México) 7, pp. 354-358. [Consulta: 26 octubre 2022]. Disponible:<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume7/7/11/58.pdf>

MOREANO, N. Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga (Trabajo de titulación) (Maestría). [En línea]. Universidad Técnica de Cotopaxi. Dirección de posgrado. Maestría en Agroindustria Mención Tecnología de Alimentos. (Latacunga- Ecuador). 2021. pp. 56-72. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8182>

MORENO, Manuel & ALARCÓN, Alejandra. “Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas”. *Revista médica clínica las Condes* [En línea], 2010, (Chile) 21(5), pp. 749-755. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible: DOI: 10.1016/S0716-8640(10)70596-4

NACIONES UNIDAS. *La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe* [en línea]. Santiago-Chile, 2018. [Consulta: 26 octubre 2022]. ISBN: 978-92-1-058643-6 (versión PDF).

NTE INEN 2688. *Norma Técnica Ecuatoriana. Leche y Productos Lácteos.*

PALACIOS Vargas. Caracterización microbiológica de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hidalgo (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Pecuarias, Ingeniería Agroindustrial. (Hidalgo-México). 2006. pp. 38-39. [Consulta: 15 febrero 2023]. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/handle/123456789/10866>

PINEDA-HIGUITA, S; et al. “Resistencia a antibióticos del *Staphylococcus aureus* en estudiantes de una facultad de odontología”. Revista Habanera de Ciencias Médicas [en línea], 2020, (Colombia) 19(6). [Consulta: 16 febrero 2023]. ISSN 1729 -519X. Disponible en: <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2931>

PINTO, Karol. Optimización de mezclas lácteas para la elaboración de queso ácido (Trabajo de titulación) (Grado). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Educación Técnica Para el Desarrollo, Ingeniería Agroindustrial. (Guayaquil-Ecuador). 2020. [Consulta: 01 noviembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/14291/1/T-UCSG-PRE-TEC-CIA-59.pdf>

RIVERA DE LA CRUZ, Jovany Fortino; et al. “Identificación de bacterias acidolácticas antagonicas de *Salmonella enterica* var. Typhimurium aisladas de queso artesanal”. Rev. Mex. Cienc. Agríc [en línea], 2017, (México) 8(4), pp. 785-797. [Consulta: 16 febrero 2023], Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000400785&lng=en&nrm=iso>.ISSN2007-0934

ROBLEZ, Jessenia. Descripción de las buenas prácticas de manufactura (BPM) en la elaboración de quesos para obtener un producto de calidad (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. UTMACH, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootecnia. (Machala-Ecuador). 2020. p. 22. [Consulta: 1 noviembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16118/1/ECUACA-2020-MV-DE00008.pdf>

RODRÍGUEZ Javier; et al. “Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia”. Revista cubana de Higiene y Epidemiología [en línea], 2016, (Colombia) 53(3). Disponible en: <https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/47>

ROSS, J.; et al. “Evolución de la Resistencia a los antibióticos en una zona rural de Ecuador”. Práctica Familiar Rural [en línea], 2020, (Ecuador) 5(1). Disponible: <https://doi.org/10.23936/pfr.v5i1.144>

SCHARLAU. *Plate Count Agar (PCA)*. Barcelona-España, 2022, pp. 1-2.

SERRA VALDES, Miguel Ángel. “La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana”. Revista Habanera

de Ciencias Médicas [en línea], 2017, (Cuba) 16(3), pp. 402-403. [Consultado: 31 octubre 2022], Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011

TORRES-LÓPEZ, Francisco. & ALCÁNTAR-CURIEL, María Dolores. “Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla”. Gaceta Médica de México [en línea], 2020, (México) 156(2), pp. 172-180. [Consultado: 10 octubre 2022], Disponible en: <https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>.

TRUJILLO CHÁVEZ, Alexandra Andrea. Análisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos del queso fresco que se expende en el mercado de santa rosa, ciudad de Riobamba (Trabajo de Titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2016. pp. 28-32. [Consulta: 1 noviembre 2022]. Disponible: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/6330>

URIBE, María Luisa. Manual de Procedimientos. Laboratorio Clínico ESE Salud Pereira [en línea], 2017. [Consulta: 1 noviembre 2022]. Disponible en: http://www.saludpereira.gov.co/medios/Archivos/Manuales_2019/Manual_de_procedimientos_microbiologia.pdf.




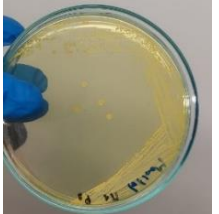


VASQUEZ, Víctor; et al. “Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca”. Ecología Aplicada [en línea], 2018, (Perú) 17(1), pp. 45-51 [Consulta: 16 febrero 2023]. ISSN 1726-2216. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162018000100005&lng=es&nrm=iso

VILLACÍS MACHADO, Andrea Fernanda. Evaluación higiénico-sanitaria de la quesera artesanal COD.Q6, ubicada en la parroquia Químiag, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo (Trabajo de titulación) (Grado). [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador). 2017. pp. 30-45. [Consulta: 1 noviembre 2022]. Disponible: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/6931>

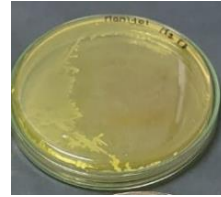
VALKET S.A. *Agar Bair-Parker*. Santiago-Chile, 2020. [Consulta: 11 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.valtek.cl/wp-content/uploads/2020/02/Agar-Baird-Parker-Valtek-1.pdf>

ANEXOS

ANEXO A: AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE QUESO FRESCO CORRESPONDIENTES AL PUESTO 1

Numero de puesto	Medio de aislamiento	Imagen
M1	MacConkey	
	Salmonella -Shigella	
	EMB	
	Manitol Salado	
M2	MacConkey	
	Salmonella -Shigella	

Manitol Salado



MacConkey

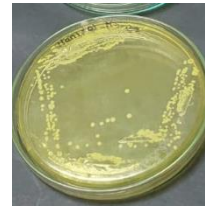


M3

Salmonella -Shigella



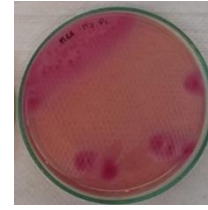
Manitol Salado



ANEXO B: AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE QUESO FRESCO CORRESPONDIENTES AL PUESTO 2

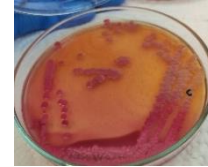
Numero de puesto	Medio de aislamiento	Imagen
M1	MacConkey	
	Salmonella -Shigella	
	Manitol Salado	
	MacConkey	
M2	Salmonella -Shigella	
	Manitol Salado	

MacConkey

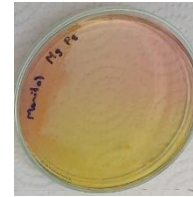


M3

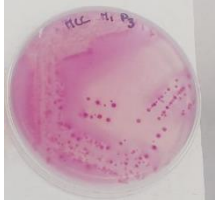

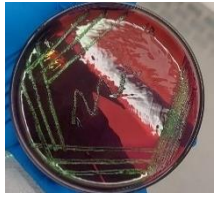


Salmonella -Shigella



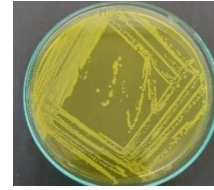
Manitol Salado



**ANEXO C: AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE QUESO FRESCO
CORRESPONDIENTES AL PUESTO 3**

Numero de puesto	Medio de aislamiento	Imagen
M1	MacConkey	
	Salmonella - Shigella	
	EMB	
	Manitol Salado	
M2	MacConkey	
	Salmonella - Shigella	

Manitol Salado



MacConkey

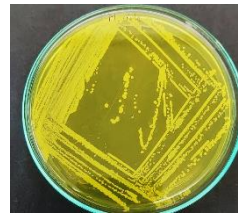


M3

Salmonella -
Shigella



Manitol Salado



ANEXO D: EVIDENCIA DE PROCESO DE ANÁLISIS EMPLEADO EN LA INVESTIGACIÓN

Etapas de la metodología empleada para la evaluación microbiológica de quesos frescos



Preparación de medios de cultivo



Preparación de la muestra



Colocación de la muestra en agua peptonada



Hominización de la muestra



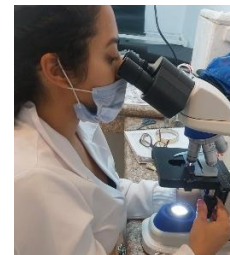
Preparación de las diluciones



Siembra de las respectivas diluciones



Aislamiento de microorganismos



Observación de la tinción gram obtenida de los cultivos



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 30 / 11 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Merari Tahyri Shicay Chavez
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica Farmacéutica
Título a optar: Bioquímica Farmacéutica
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1648-DBRA-UPT-2023

