

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESILLOS QUE SE  
EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA  
CIUDAD DE LOJA.**

Trabajo de tesis previo a la obtención del título de  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

**AUTOR**

Briggette Dayanna Tenezaca Cabrera

**DIRECTOR**

Dr. Segundo Barragán, Mg. Sc.

**LOJA - ECUADOR**  
2019

## CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Dr. Segundo Barragán, Mg. Sc.  
**DIRECTOR DE TESIS**

### CERTIFICA

Que he revisado la presente tesis titulada “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESILLOS QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA CIUDAD DE LOJA.” realizada por la Srta. Egresada **Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera**, la misma que **CULMINÓ DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO**, cumpliendo con todos los lineamientos impuestos por la Universidad Nacional de Loja, por lo cual, **AUTORIZO QUE SE CONTINÚE CON EL TRÁMITE DE GRADUACIÓN.**

Loja, 20 de Marzo de 2019

Atentamente



---

Dr. Segundo Barragán, Mg. Sc.  
Director de Tesis

# CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

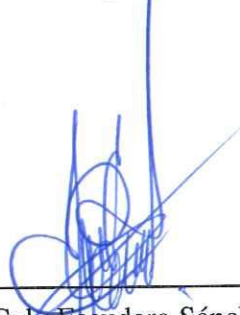
POR

Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera

Tesis presentada al tribunal de grado como requisito previo a la obtención del título de:  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

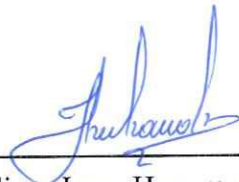
HA SIDO APROBADO

Agosto 2019



---

Dr. Galo Escudero Sánchez Mg.Sc  
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



---

MVZ. Jhuliana Luna Herrera, Mg.Sc.  
VOCAL



---

MVZ. Patricio Carrera Játiva MSc.  
VOCAL

## AUTORÍA

Yo, **Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera**, declaro ser autora del presente trabajo de tesis que ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma; los conceptos, ideas, resultados, conclusiones, y recomendaciones vertidos en el desarrollo del presente trabajo de investigación, son de absoluta responsabilidad de su autor.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

**AUTOR:** Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera

**FIRMA:**



**CÉDULA:** 1105907339

**FECHA:** 08 Agosto 2019

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO**

Yo **Briggette Dayanna Tenezaca Cabrera**, declaro ser la autora de la tesis titulada "ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESILLOS QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA CIUDAD DE LOJA.", como requisito para optar al grado de Médica Veterinaria Zootecnista, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional (RDI): Las Personas puedan consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero, con fines académicos. Para constancia de esta autorización, firmo en la ciudad de Loja, a los 08 días del mes de Agosto del 2019.

**FIRMA:**



**Autor:** Briggette Dayanna Tenezaca Cabrera  
**Cédula de identidad:** 1105907339  
**Dirección:** Loja, Berlín y Atenas, Las Palmas  
**Correo electrónico:** briggettedayanna@gmail.com  
**Teléfono:** 0993117805

**DATOS COMPLEMENTARIOS**

**Director de Tesis:**

Dr. Segundo Barragán, Mg. Sc.

**Tribunal de Grado:**

Dr. Galo Escudero Sánchez, Mg.Sc (Presidente)  
MVZ. Jhuliana Luna Herrera, Mg.Sc. (Vocal)  
MVZ. Patricio Carrera Játiva, MSc. (Vocal)

## **AGRADECIMIENTOS**

*Dejo constancia de mi sincero agradecimiento a Dios, quien me ha dado salud y sabiduría a lo largo de esta travesía. Mi más profundo agradecimiento a mi madre que me impulsó a seguir adelante e hizo posible el logro de esta meta.*

*Quiero expresar mi gratitud a la Universidad Nacional de Loja, especialmente a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a sus docentes al Dr. Segundo Barragán, Director de Tesis por su asesoría; así también al Dr. Roberto Bustillos por su invaluable aporte y predisposición para la realización de este trabajo investigativo.*

*Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera*

## **DEDICATORIA**

*Dedico este logro a mi madre Carmen María Cabrera Achupallas por su gran amor y sobre todo por su apoyo incondicional. A mis primos más queridos Yostin Torres y Viviana Manitio quienes de una u otra forma me apoyaron siempre.*

*Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera*

# Índice general

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>XI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>XIII</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>XV</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XVI</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1. Leche . . . . .	3
2.1.1. Componentes de la Leche . . . . .	3
2.1.2. Características Organolépticas de la Leche . . . . .	4
2.2. Quesos . . . . .	4
2.2.1. Clasificación de los Quesos . . . . .	4
2.2.2. Quesillo o Queso Fresco . . . . .	5
2.3. Requisitos importantes para la calidad de los Quesillos . . . . .	6
2.3.1. Requisitos para la Elaboración de Quesillos . . . . .	6
2.3.2. Requisitos Microbiológicos . . . . .	7
2.3.3. Requisitos Complementarios . . . . .	7
2.4. Bacterias que afectan la calidad de Quesos frescos . . . . .	8
2.4.1. Enterobacterias . . . . .	8
2.4.2. <i>Escherichia coli</i> . . . . .	10
2.4.3. <i>Salmonella spp.</i> . . . . .	12
2.4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .	14



2.4.5.	Listeria . . . . .	16
2.4.6.	Sistema 3M Petrifilm . . . . .	18
2.5.	TRABAJOS RELACIONADOS . . . . .	26
<b>3.</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>29</b>
3.1.	MATERIAL Y MÉTODOS . . . . .	29
3.1.1.	Ubicación . . . . .	29
3.1.2.	Descripción del Experimento . . . . .	29
3.1.3.	Tamaño de la Muestra . . . . .	30
3.1.4.	Toma de las Muestras . . . . .	30
3.1.5.	Variables de Estudio . . . . .	32
3.1.6.	Análisis Estadístico . . . . .	33
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>34</b>
4.1.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO . . . . .	34
4.1.1.	Presencia de Enterobacterias en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	34
4.1.2.	Presencia de <i>E.coli</i> en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	35
4.1.3.	Presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	35
4.1.4.	Presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	36
4.1.5.	Presencia de <i>Salmonella spp.</i> en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	36
4.2.	QUESILLO QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA SEGÚN LA NORMA INEN 1528. . . . .	36
4.2.1.	Muestras de queso que no cumplen con la norma INEN 2012, según la procedencia. . . . .	38

4.3.	PROPUESTA PARA MEJORAR EL ESTADO HIGIÉNICO SANITARIO DEL QUESILLOS QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA CIUDAD DE LOJA . . . . .	39
4.3.1.	Antecedentes . . . . .	39
4.3.2.	Justificación . . . . .	39
4.3.3.	Objetivos . . . . .	40
4.3.4.	Metodología . . . . .	40
4.3.5.	Resultados esperados . . . . .	42
4.3.6.	Presupuesto . . . . .	42
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>43</b>
5.1.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO . . . . .	43
5.2.	COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON LAS NORMA INEN 1528 del 2012 . . . . .	44
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>46</b>
<b>7.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>47</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>51</b>

## Índice de tablas

1.	Componentes de la leche . . . . .	3
2.	Requisitos microbiológicos para quesos frescos no maduros . . . . .	7
3.	Clasificación de las Enterobacterias . . . . .	9
4.	Clasificación de <i>E.coli</i> . . . . .	11
5.	Análisis microbiológico de los quesillos que se expenden en el Mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja . . . . .	34
6.	Resultado del aislamiento y conteo de las bacterias presentes en el quesillo ofertado en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja y su cumplimiento con la Norma INEN 1528 del 2012. . . . .	37
7.	Porcentaje total de las muestras que cumplen y las que no con la Norma INEN. . . . .	38
8.	Presupuesto para la elaboración de una propuesta alternativa para mejorar el estado microbiológico de los quesillos que se expenden en el mercado Gran Colombia . . . . .	42

## Índice de figuras

1.	Pasos para almacenamiento y conservación de las Placas Petrifilm . . . . .	18
2.	Pasos para preparar y mezclar la muestra . . . . .	19
3.	Pasos para inocular . . . . .	20
4.	Pasos para incubar e interpretar . . . . .	20
5.	Placa Petrifilm positivas para enterobacterias . . . . .	21
6.	Placa Petrifilm positivas para <i>E.coli</i> . . . . .	21
7.	Placa Petrifilm positivas para <i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .	22
8.	Placa Petrifilm positivas para <i>Listeria monocytogenes</i> . . . . .	22
9.	Peso del suplemento . . . . .	22
10.	Pasos para el procedimiento de Enriquecimiento . . . . .	23
11.	Procedimiento de enriquecimiento . . . . .	24
12.	Procedimiento de Hidratación . . . . .	24
13.	Inoculación de la placa . . . . .	25
14.	Inoculación, Incubación e Interpretación de la placa . . . . .	25
15.	Porcentaje de muestras positivas y negativas para enterobacterias ; n=35 . . . . .	35
16.	Porcentaje de muestras positivas y negativas para <i>E.coli</i> ; n=35 . . . . .	35
17.	Porcentaje de muestras positivas y negativas para <i>Staphylococcus au-</i> <i>reus</i> ; n=35 . . . . .	36
18.	Porcentaje de las muestras que no cumplen con la Noma INEN 2012 según su procedencia ; n=10 . . . . .	38
19.	Esterilización de los materiales. . . . .	52
20.	Muestras de queso . . . . .	52

21.	Dilución, inoculación e incubación para enterobacterias <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> . . . . .	53
22.	Enriquecimiento e Hidratación para <i>Salmonella</i> . . . . .	53
23.	Inoculación e incubación para <i>Salmonella</i> . . . . .	53
24.	Lectura de resultados de las Placas Petrifilm . . . . .	54
25.	Confirmación de resultados . . . . .	54
26.	Entrega de trípticos ilustrativos a las personas que expenden quesillo en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja. . . . .	55
27.	Impartición sobre el correcto proceso de elaboración, almacenamiento y comercialización del quesillo. . . . .	55

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESILLOS QUE SE  
EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA  
CIUDAD DE LOJA**

## RESUMEN

La leche y sus derivados son alimentos completos que poseen proteínas, lípidos y glúcidos, además son fuente de calcio y vitaminas. Uno de los derivados de la leche es el quesillo artesanal que es elaborado a partir de la leche sin pasteurizar, por lo tanto, puede existir la presencia de microorganismos que ponen en riesgo la salud del consumidor. El objetivo de esta investigación fue realizar un análisis microbiológico del quesillo que se expenden en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja para determinar si cumplen con la norma INEN 1528 del 2012 y son aptos para el consumo directo. Se utilizó una muestra de 4 onzas por cada puesto de expendio, con un total de 35 muestras. Se empleó Placas Petrifilm 3M para identificar enterobacterias, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*; se hicieron diluciones (1/10, 1/100, 1/1000), inoculación, incubación (37°C por 24 horas) y conteo de colonias; mientras que para *Salmonella* spp. se realizó un enriquecimiento previo, hidratación, inoculación, incubación (37°C por 24 horas) y conteo de colonias. Se hizo una repetición a las muestras positivas para confirmar el resultado, obteniendo lo siguiente: *Staphylococcus aureus* en el 63 % (22/35), enterobacterias en el 54 % (19/35), *Escherichia coli* en el 23 % (8/35), *Listeria monocytogenes* 0 % (0/35), y *Salmonella* spp. 0 % (0/35). Del total de los quesillos analizados el 71 % (25/35) no cumplen con las normas INEN 1528 del 2012, de los cuales provienen de la parroquia Jimbilla (40 %) del cantón Loja. Se concluye que la mayoría de los quesillos del mercado Gran Colombia no pueden ser consumidos de forma directa. Además, que los lugares de expendio no cumplen con las medidas adecuadas para su mantenimiento y comercialización.

**Palabras claves:** Quesillo, Enterobacterias, Mercado, Loja.

## ABSTRACT

Milk and its derivatives are complete foods that have proteins, lipids and carbohydrates, they are also a source of calcium and vitamins. One of the milk derivatives is artisanal cheese that is made from unpasteurized milk, therefore, there may be the presence of microorganisms that can put the health of the consumer at risk.

The objective of this research was to carry out a microbiological analysis of the cheese that is sold in the Gran Colombia market in the city Loja to determine if they have with the INEN Standard 1528 of the 2012 and can be used direct consumption. A sample of 4 ounces was used for each stall, with a total of 35 samples. It was used Petrifilm Plates to identify enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp., dilutions were made (1/10, 1/100, 1/1000). Inoculation, incubation 37°C by 24 hours and counts of colonies. A repetition of the positive Samples was done to confirm the result getting the following *Staphylococcus aureus* in the 63 % (22/35) enterobacteriaceae in the 54 % (19/35), *Escherichia coli* in the 23 % (8/35), *Listeria monocytogenes* in the 0 % (0/35) and *Salmonella* spp. in the 0 % (0/35). Of the total cheese analyzed 71 % (25/35) no complied with the standards INEN 1528 of 2012, of which they come from the Jimbilla parish (40 %) of the Loja canton. It is concluded that most of the cheeses The Gran Colombia market cannot be consumed directly. further that the places of sale do not comply with the appropriate measures for their maintenance and commercialization.

**Key words:** Cheese, Enterobacteriaceae, Market, Loja.



# 1. INTRODUCCIÓN

La leche y sus derivados se encuentran en la dieta básica de la población del Ecuador y del mundo, por sus beneficios en la nutrición, motivo por el cual, su elaboración, ha sido una iniciativa para muchos países en vías de desarrollo generando ganancias sustentables. La región sierra aporta la mayor producción láctea (64,31 %) a nivel nacional Salazar *et al.* (2017). La Provincia de Loja produce 103.152 litros de leche Salazar *et al.* (2017) pero solo el (20 %) llega a las plantas de industrialización; lo demás es destinado a la elaboración de los derivados lácteos (22 %) y para la venta directa (58 %) (Torres Gutiérrez *et al.*, 2018).

En un estudio realizado recientemente, en el cantón Quilanga de la Provincia de Loja, se reportó que el 100 % de la población consume productos lácteos, el 40 % leche sin pasteurizar y el 41 % queso de mesa debido a su excelente sabor y precio cómodo (Calva Abad, 2017).

Por tal motivo su elaboración se convierte en una de las actividades productivas de mayor importancia en la región. El principal inconveniente que presenta este producto es su deficiente calidad microbiológica, por cuanto en su gran mayoría se elabora con leche cruda, es decir sin pasteurizar o recibir un tratamiento para eliminar los microorganismos patógenos presentes. Entre las bacterias patógenas más comunes que afectan gravemente la salud de las personas son *Salmonella* spp, *E. coli* y *Listeria monocytogenes*, especialmente a los niños menores de 5 años, personas mayores a 65 años e inmunodeprimidas (Castillo *et al.*, 2008).

El Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial (CET-TIA) de la Universidad Técnica Particular de Loja realizó un estudio sobre la calidad sanitaria del “Quesillo lojano” en el cual se reveló la presencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y levaduras, lo que corrobora el riesgo de consumo de estos alimentos que se fabrican

bajo condiciones inadecuadas León (2016). Es por ello, que ante las investigaciones realizadas anteriormente se desea comprobar si efectivamente los quesillos que se expende en la ciudad de Loja cumplen con las normas estipuladas. Por tanto, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos

- Establecer la presencia de enterobacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp de los quesillos.
- Determinar si los quesillos que expenden en el mercado Gran Colombia cumplen con la norma establecida INEN 1528 del 2012.
- Formular una propuesta de control de calidad de quesillos que se distribuye en el mercado Gran Colombia.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Leche

La leche es la secreción normal de la glándula mamaria, obtenida por uno o varios ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos. Es un producto que aporta nutrientes básicos para la alimentación humana como la proteína en mayor proporción la caseína. Entre las vitaminas que contiene son: la vitamina B12 (riboflavina) la B1 (tiamina), y las vitamina A, D, E y K liposolubles. La composición de la leche no es estable a lo largo de la lactancia y puede verse afectada por factores internos y externos del animal, afectando en gran medida la calidad del producto (Agudelo y Bedoya, 2005).

#### 2.1.1. Componentes de la Leche

Los porcentajes de la leche pueden variar, principalmente la grasa, por lo que pueden influir diferentes factores como son: raza, edad, etapa de lactancia, método de ordeño, estado de salud, alimentación y clima. A continuación en la Tabla 1 se detallan los componentes de la leche (Gómez y Mejía, 2005).

**Tabla 1.** Componentes de la leche

<b>Componentes</b>	<b>Porcentaje ( %)</b>
Proteínas	2,8-4,9
Grasa	2,6-4,8
Carbohidratos	3,7-5,4
Sales minerales	0,6-1,0
Agua	85,6-89,5

Fuente: Vargas (2000)

### **2.1.2. Características Organolépticas de la Leche**

- Olor: la leche fresca es ligeramente perceptible debido a la presencia de compuestos orgánicos volátiles de bajo peso molecular como ácidos, aldehídos, cetonas y trazas de sulfato de metilo. (Vargas, 2000).
- Sabor: la leche fresca tiene un sabor medio dulce, neutro debido a la lactosa que contiene (Vargas, 2000).

## **2.2 Quesos**

Es el producto lácteo que se obtiene por la separación del suero, después de la coagulación de la leche. El queso contiene en forma concentrada, muchos de los nutrientes de la leche: proteína, sales, grasa y vitaminas liposolubles (Ramírez y Vélez, 2012).

### **2.2.1. Clasificación de los Quesos**

Según el contenido de la humedad:

- Duro: Es preparado con leche entera, semidescremada o descremada, cuajada con cultivos lácticos y enzimas el porcentaje de grasa es menor a 55 %.
- Semiduro: Aquellos en los que el contenido de humedad sin materia grasa es mayor a 55 % y menor a 65 %.
- Blando: Aquellos en los que el contenido de humedad sin materia grasa es igual o mayor a 65 %, está listo para su consumo después de su elaboración (Ramírez y Vélez, 2012).

Según el contenido de grasa láctea:

- Rico en Grasa: 60 % de grasa.
- Graso: Es menor a 60 % y mayor a 45 %.
- Semidescremado: menor a 25 % de grasa.
- Descremado: menor a 10 % de grasa (Ramírez y Vélez, 2012).

## **2.2.2. Quesillo o Queso Fresco**

El quesillo es un alimento elaborado a partir de leche de vaca sin pasteurizar, característico de gran parte de las zonas rurales y semirurales de países de Sudamérica (Castillo *et al.*, 2008).

Actualmente el 50 % del abastecimiento de quesillo en los mercados de la ciudad proviene de los sectores de: Saraguro, Santiago, San Lucas, Jimbilla, Zalapa, Yanganá, Chinguilanchi, Manú, Mazaca, Las Palmas, Cenen, Imbana, Celica; el otro 50 % lo cubren Cuenca y Zamora Chinchipe (Ordoñez *et al.*, 2014).

### **2.2.2.1. Elaboración del Quesillo**

La elaboración artesanal del quesillo, expandido en los mercados de la ciudad de Loja es de la siguiente manera:

- Acondicionar la leche a una temperatura de 37°C, no dejar que hierva la leche.
- Agregar el cuajo a la leche y homogenizar todo el contenido.
- Dejar en reposo entre 30 y 40 minutos, manteniendo la temperatura de 37°C.
- Revisar la formación del coágulo o cuajo.

- Cortar el cuajo con la ayuda de una lira o un cuchillo en cuadrados de 1cm x 1cm y dejar reposar durante cinco 5 minutos.
- Agitar suavemente y proceder a eliminar el suero.
- Desuerar utilizando telas finas y coladores.
- Dejar en los moldes hasta el día siguiente para prensarlo y desmoldarlo (Mena, 2017).

## **2.3 Requisitos importantes para la calidad de los Quesillos**

### **2.3.1. Requisitos para la Elaboración de Quesillos**

- Leche: Para la fabricación del queso debe contar con los requisitos de la norma INEN 10 y su procesamiento se realizará de acuerdo a los principios del Reglamento de Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública. Los límites máximos de plaguicidas no deben superar los establecidos en el Codex Alimentarius CAC/MLR en su última edición. Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios no deben supera los establecidos en el Codex CAC/MLR 2 (INEN, 2012).
- Ingredientes: Para la elaboración de cultivos de fermentos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico y cultivos de otros microorganismos inocuos, cloruro de sodio, vinagre y cuajo u otras enzimas coagulantes todo lo antes mencionado deben estar evaluadas por Codex Alimentarius (INEN, 2012).
- Materiales: Todos los materiales que se utilizan para su elaboración y comercialización deben ser esterilizados para garantizar el estado higiénico (INEN, 2012).

### 2.3.2. Requisitos Microbiológicos

Los quesos frescos de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Requisitos microbiológicos para quesos frescos no maduros

Requisitos	Número de colonias	
	Mínimo	Máximo
Enterobacterias	200	1000
<i>Escherichia coli</i>	< 10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	100
<i>Listeria monocytogenes</i>	ausencia	ausencia
<i>Salmonella</i> spp.	ausencia	ausencia

Fuente: INEN (2012)

### 2.3.3. Requisitos Complementarios

Los quesos frescos deben mantenerse en cadena de frío durante el almacenamiento, distribución y comercialización a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y su transporte debe ser realizado en condiciones idóneas que garanticen el mantenimiento del producto. Las unidades de comercialización de este producto deben cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema de Calidad (INEN, 2012).

- **Envasado:** Los quesos frescos no maduros deben expendirse en envases asépticos y herméticamente cerrados, que aseguren conservación y calidad del producto. Los quesos frescos no maduros deben acondicionarse en envases cuyo material de contacto con el producto sea resistente a su acción y no altere las características organolépticas del mismo (INEN, 2012).
- **Embalado:** El embalaje debe hacerse en condiciones que mantengan las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento,

trasporte y expendido (INEN, 2012).

- Rotulado: El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos (INEN, 2012).
- Designación: El queso se designa por su nombre, seguido de la indicación del contenido de humedad, contenido de grasas láctea en extracto seco y características del proceso, adicionalmente puede designarse por un nombre regional reconocido o por un nombre comercial específico (INEN, 2012).

## **2.4 Bacterias que afectan la calidad de Quesos frescos**

Para la elaboración de los quesillos o quesos frescos como se conoce se realiza con la leche sin pasteurizar y mantenidos a temperatura durante varios días, estos pueden contener bacterias de los siguientes géneros: *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Coliformes*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y otros (Gómez, 2017).

Las que son capaces de crecer a bajas temperaturas de almacenamiento se encuentran en un número muy reducido. En el análisis microbiológico de quesillos se exigen 5 bacterias que se deben tener en cuenta para aceptar o rechazar el producto según la norma INEN; a continuación se detalla cada una de ellas (Gómez, 2017).

### **2.4.1. Enterobacterias**

#### **2.4.1.1. Generalidades**

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos se pueden encontrar de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la



flora intestinal normal de muchos animales además del hombre (García y Rodríguez, 2010).

#### 2.4.1.2. Características Microbiológicas

Son microorganismos con forma de bastón, por lo general de 1-3 um largo y 0,5 um de diámetro. Como en otras bacterias gramnegativas, su envoltura celular se caracteriza por una estructura multilaminar. Son anaerobios facultativos, reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones) y no forman esporas. (García y Rodríguez, 2010).

#### 2.4.1.3. Clasificación de las Enterobacterias

Dentro de esta Familia se reconocen más de 30 géneros diferentes y se han clasificado según como se encuentran localizados en el ser humano como indica la Tabla 3.

**Tabla 3.** Clasificación de las Enterobacterias

<b>Localización</b>	<b>Enterobacterias</b>
Sistema Nervioso central	Escherichia
Tracto respiratorio inferior	Klebsiella, Enterobacter, Escherichia
Torrente sanguíneo	Escherichia, Klebsiella, Enterobacter
Tracto digestivo	Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia.
Tracto urinario	Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella

Fuente: García y Rodríguez (2010)

#### 2.4.1.4. Epidemiología

En los últimos años se ha producido un incremento de las infecciones por enterobacterias en hospitales, favorecido por el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas

y terapéuticas agresivas, el empleo de potentes inmunosupresores y las estancias hospitalarias prolongadas, entre otros factores (García y Rodríguez, 2010).

## **2.4.2. *Escherichia coli***

### **2.4.2.1. Generalidades**

Es una bacteria que normalmente vive en los intestinos de las personas y los animales. La mayoría de *E. coli* se encuentra de forma natural en los intestinos y desempeña un papel importante en ayudar a nuestro cuerpo a digerir los alimentos. Sin embargo, algunos tipos de *E. coli* pueden provocar diarrea y otras enfermedades cuando se ingieren (Rodríguez, 2002).

### **2.4.2.2. Características Microbiológicas**

Es un bacilo gram negativo, no forma esporas, anaerobio facultativo de la familia Enterobacterias y miden 0,5  $\mu\text{m}$  de ancho por 3  $\mu\text{m}$  de largo. Las colonias de *E. coli* en agar eosina y azul de metileno tienen 2 a 4 mm de diámetro, un centro grande de color oscuro e incluso negro, y tienen brillo verde metálico cuando se observan con luz refleja. En agar MacConkey las colonias son rojas con halo turbio (Rodríguez, 2002).

### **2.4.2.3. Clasificación de *Escherichia coli* que afectan al hombre**

Las cepas de *E. coli* que afectan al ser humano se han agrupado en cinco tipos patógenos, cada uno definido por sus propiedades de virulencia, a continuación describimos en la Tabla 4 cada una de ellos:

**Tabla 4.** Clasificación de *E.coli*

<b>Grupos Patógenos</b>	<b>Lugar de Acción</b>	<b>Síntomas</b>
Enteropatógeno	Intestino Delgado	Diarrea infantil en especial en los sitios de poca higiene.
Enteroinvasiva	Intestino Grueso	Disentería tipo shigelosis ocasionado diarrea mucoide sanguinolenta.
Enterohemorrágica	Intestino Grueso	Diarrea hemorrágica intensa y síndrome uréico hemorrágico.
Enteroagresiva	Intestino Delgado	Diarrea infantil con moco y sangre(dura mas de 14 días)
Enterotoxigénica	Intestino Delgado	Conocida como diarrea de viajero se presenta con vómito,diarreaacuosa, espasmos abdominales náuseas y febrícula (dura de 4 a 5 días).

Fuente: Bravo *et al.* (2007)

#### **2.4.2.4. Epidemiología**

Esta enfermedad ha sido la responsable de brotes de diarrea en diferentes partes del mundo en especial en países en desarrollo afectando a niños y turistas. Diferentes estudios realizados en México, Brasil, y África del Sur refieren que el 30 y 40 % de los casos de personas que llegan a los hospitales es por *E.coli* (Bravo *et al.*, 2007).

#### **2.4.2.5. Diagnóstico**

Se aísla en muestras de heces en medios selectivos y diferenciales, como el agar de MacConkey o el agar de eosina y azul de metileno. Para determinar el grupo patógeno se debe utilizar las siguientes metodologías: Serotipificación, ensayo de adherencia con células HEp-2, prueba de FAS (tinción fluorescente para actina) y técnicas de biología molecular que amplifican genes que codifican a proteínas de virulencia (García, 2011).

#### **2.4.2.6. Prevención**

Para prevenir la infección hay que aplicar medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agropecuaria en la granja hasta la elaboración, fabricación y preparación de los alimentos en las cocinas tanto de establecimientos comerciales como de los hogares (Rodríguez, 2002).

#### **2.4.3. *Salmonella spp.***

##### **2.4.3.1. Generalidades**

El género bacteriano *Salmonella spp.* perteneciente a la familia de las Enterobacterias, un microorganismo ubicuo y es causante de la mayoría de los brotes de toxiinfecciones alimentarias y de alteraciones gastroentéricas en el mundo (Uribe y Suárez, 2006).

##### **2.4.3.2. Características Microbiológicas**

Los miembros del género *Salmonella spp.* comprenden bacilos Gram-negativos pequeños (0,7-1,5 um de ancho x 2-5 um de largo) rectos, la mayoría móviles con flagelos peritricos. Reducen los nitratos a nitritos, en general fermentan la glucosa con producción de gas, producen sulfuro de hidrógeno y son capaces de desarrollar en medios de cultivo que sólo disponen de citrato como única fuente de carbono. Además no hidrolizan el indol ni la urea, no fermenta la lactosa, sacarosa, salicina e inositol y descarboxilan la lisina y ornitina (Uribe y Suárez, 2006).

##### **2.4.3.3. Clasificación de la *Salmonella spp.***

El género abarca 2 especies diferentes *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori*, a continuación explicaremos cada una de ellas:

*Salmonella entérica*: Dividida en seis subespecies aisladas:

- Subespecie I: *S.entérica*.
- Subespecie II: *S.salamae*.
- Subespecie IIIa: *S.arizonae*.
- Subespecie IIIb: *S.diarizonae*.
- Subespecie IV: *S.houtenae*.
- Subespecie VI: *S.indica*.

Se estima que el 99 % de los casos de salmonelosis humana están causados por cepas de la subespecie I por lo que se da más en humanos y animales de sangre caliente (Barreto *et al.*, 2016).

*Salmonella bongori*: Contiene la Subespecie V, no constituye un patógeno para los humanos pero han sido implicadas en algunas patologías en animales por lo que las subespecies se aíslan fundamentalmente de reptiles y se asocian con muy baja frecuencia a infecciones (Barreto *et al.*, 2016).

#### **2.4.3.4. Epidemiología**

La *Salmonella* spp. afecta a todas las personas sin importar edad o sexo a nivel mundial, en especial en los países menos desarrollados la magnitud real es desconocida pero sigue siendo un problema importante para la salud, como es el caso de diversos países de la antigua URSS, del Sureste de Asia, de África y de Sudamérica (Uribe y Suárez, 2006).

#### **2.4.3.5. Diagnóstico de *Salmonella* spp.**

La detección de *Salmonella* spp. se realiza generalmente mediante el cultivo microbiológico pero ahora en la actualidad se han desarrollado diversos métodos rápidos que se basan en las características inmunológicas y en la secuencia de bases de los nucleótidos en los ácidos nucleicos (Uribe y Suárez, 2006).

#### **2.4.3.6. Prevención**

Tener control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agrícola hasta la elaboración, fabricación y preparación de alimentos, tanto en establecimientos comerciales como en los hogares (Sinisterra Castro *et al.*, 2018).

En los hogares la prevención comienza con un buen almacenamiento de los alimentos y continúa con aspectos como lavarse las manos antes de cocinar y usar guantes al manipular los excrementos de los animales domésticos (Sinisterra Castro *et al.*, 2018).

### **2.4.4. *Staphylococcus aureus***

#### **2.4.4.1. Generalidades**

Los *Staphylococcus aureus* pertenece al género *Staphylococcus* contiene poderosas enzimas como la coagulasa y catalasa que protegen y ayudan a combatir contra el sistema inmune. Además contiene toxinas como la Enterotoxina que es termoestable por lo cual es muy difícil destruirse por cocción. Finalmente la intoxicación alimentaria se presenta con mayor frecuencia debido a la toxina A (Cervantes, 2014).

#### **2.4.4.2. Características Microbiológicas**

Está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0,5 a 1,5 um, agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son bacterias no móviles, no esporulados, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre) (Rodríguez, 2002).

#### **2.4.4.3. Epidemiología**

El incremento de infecciones por *S. aureus* en los últimos 20 años (1º y 2º lugar causantes de bacteremias en hospitales de tercer nivel). Así también se encuentra el 16 y 22 % por intoxicaciones alimentarias (Rodríguez, 2002).

#### **2.4.4.4. Diagnóstico**

Deberá hacerse la prueba de coagulasa lenta en tubo y la de producción de DNAsa o termonucleasa, lo que demora otras 24 horas. Actualmente hay disponibles test de aglutinación de partículas de látex cubiertas de IgG, que diagnostican con mucha especificidad *S. aureus* en base a la propiedad de la proteína A de esta bacteria de aglutinarla IgG (Betancourt *et al.*, 2005).

#### **2.4.4.5. Prevención**

Evitar la propagación de estas bacterias lavándose siempre minuciosamente las manos con agua y jabón o con gel antibacteriano desinfectante para manos. Las personas con una infección cutánea por estafilococos no deben manipular alimentos (Cervantes, 2014).

## **2.4.5. Listeria**

### **2.4.5.1. Generalidades**

Listeria es una bacteria que puede causar infecciones invasivas muy graves en el hombre y los animales y sobrevivir sin dificultad en medios inanimados, adaptándose rápida y eficazmente a cambios extremos en las condiciones ambientales, lo que explica su gran capacidad para la transmisión. (Boland, 2001).

### **2.4.5.2. Características Microbiológicas**

Bacilo Corto (Cocobacilo), Gram positivo, Aerobio y Anaerobio facultativo. No posee cápsula, ni forma esporas, pero presenta movilidad (a 22°C) y es Catalasa positiva. Se disponen en cadenas cortas o en empalizada. (Remacha *et al.*, 2002).

### **2.4.5.3. Epidemiología**

Es un microorganismo de distribución universal, relativamente resistente a la refrigeración, la sequedad y el calor extremo, también tolera el pH de 3,6 a 9,5 y altas concentraciones de cloruro sódico.

Los principales reservorios son el suelo, el forraje, el agua, los silos y el tracto gastrointestinal de aves, peces y mamíferos incluyendo el hombre. La infección se adquiere generalmente mediante la ingesta de alimentos contaminados, aunque no siempre puede identificarse la fuente. La mayoría de los casos se asocian a la ingestión de carne, pescado y vegetales crudos y lácteos no pasteurizados; también se han descrito brotes con distintas preparaciones de quesos, embutidos, patés, helados y, en general, productos refrigerados, sin requerimientos de cocción o calentamiento previo al consumo. Los recién nacidos habitualmente adquieren la infección por vía vertical, a través de la placenta o del canal del parto infectado. Puede haber brotes



nosocomiales en unidades neonatales o relacionados con alimentos (Remacha *et al.*, 2002).

#### **2.4.5.4. Diagnóstico**

El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento de *L. monocytogenes* en la sangre, el líquido cefalorraquídeo, líquido articular, la placenta u otros líquidos o tejidos habitualmente estériles. Los medios de cultivo habituales para aislar teropatógenos no permiten el crecimiento de *Listeria*. Para realizar estudios de portadores, deben inocularse las heces en un medio de enriquecimiento selectivo también hoy en día se encuentran disponibles test rápidos para la determinación de esta bacteria. (Boland, 2001).

#### **2.4.5.5. Prevención**

Buenas prácticas de fabricación, procedimientos eficaces de limpieza y desinfección y la aplicación de programas de control de peligros, que minimicen la contaminación ambiental y prevengan la contaminación cruzada en plantas de procesado, despique y venta. Un programa intensivo de muestreo para detectar la contaminación ambiental en plantas de procesado de los alimentos de mayor riesgo y de evitar su propagación a los alimentos preparados. Controles eficaces de tiempo y temperaturas de distribución y almacenamiento para los alimentos preparados, incluyendo la determinación de un tiempo razonable de vida útil de aquellos alimentos que permiten el desarrollo de números elevados de *Listeria*. Utilizar tratamientos tras el envasado de los alimentos que permitan la inactivación de células viables de esta bacteria (Boland, 2001).

## 2.4.6. Sistema 3M Petrifilm

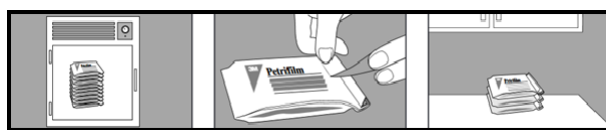
En la actualidad para los análisis microbiológicos se han empleado nuevas pruebas que se efectúan de forma más rápida y confiable entre ellas tenemos las innovadoras Placas de Petrifilm 3M que estas son capaces de dar resultados de forma rápida y segura.

### 2.4.6.1. 3M™ Placas Petrifilm™ para enterobacterias, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*

Para la realización de estas pruebas se debe seguir los siguientes pasos:

#### a. Almacenamiento

- Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8^{\circ}$  C. Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.
- Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad como observamos en la Figura 1.
- Mantenga los paquetes cerrados según se indica en el punto 2 a temperatura  $\leq 25^{\circ}$ C y una humedad relativa *leq* 50 %.

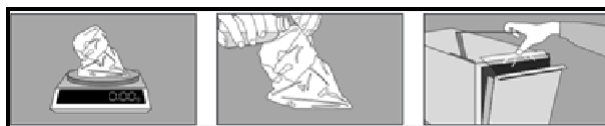


**Figura 1.** Pasos para almacenamiento y conservación de las Placas Petrifilm

**Fuente:** (3M, 2006)

## b. Preparación de la muestras

- Preparar al menos una dilución de 1:10 de la muestra de alimento. Pese o pipetee la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado. Vea las indicaciones para productos lácteos y jugos como se observa en la Figura 2.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: Buffer de fosfatos de Butterfield (IDF Buffer fosfato,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.0425 g/L, pH 7.2), Diluyente de Peptona al 0,1 %, Diluyente de Sal Petona (Método ISO6887-1), Agua Peptonada Bufferada (ISO 6887-1), Solución Salina, Caldo Lethen Libre de bisulfito o agua destilada.
- Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.



**Figura 2.** Pasos para preparar y mezclar la muestra  
**Fuente:** (3M, 2006)

## c. Inoculación

- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.
- En forma perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).
- Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.
- Con el lado liso hacia abajo, coloque el dispersor en la película superior sobre el inóculo.

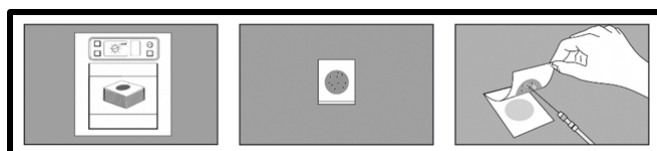
- Presione suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. No gire ni deslice el difusor como se observa en la Figura 3.
- Levante el dispersor y espere por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.



**Figura 3.** Pasos para inocular  
**Fuente:** (3M, 2006)

#### d. Incubación

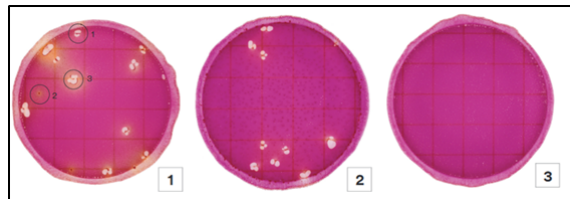
- Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad Figura 4.



**Figura 4.** Pasos para incubar e interpretar  
**Fuente:** (3M, 2006)

e. **Recuento de colonias para Enterobacterias**

- Para distinguir a las enterobacterias se debe observar lo siguiente: Colonias rojas asociadas a burbujas de gas y sin zonas ácidas, como en el círculo 1. Colonias rojas con zonas ácidas y sin burbujas de gas, como en el círculo 2. Colonias que producen como se demuestra en la Figura 5.

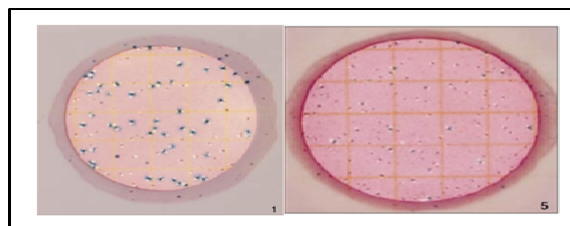


**Figura 5.** Placa Petrifilm positivas para enterobacterias

**Fuente:** (3M, 2006)

f. **Recuento de colonias para *E. coli***

- El color azul indica la presencia de *E.coli* como se demuestra en la Figura 6. En ocasiones primero se tiñe de color rojo y después se colorea azul.

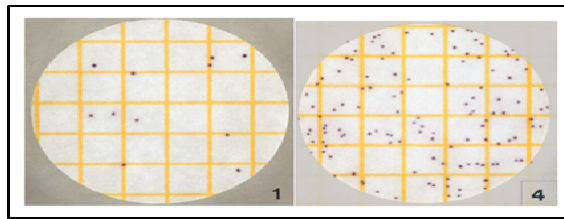


**Figura 6.** Placa Petrifilm positivas para *E.coli*

**Fuente:** (3M, 2006)

g. **Recuento de colonias para *Staphylococcus aureus***

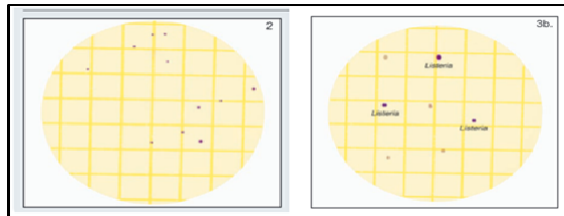
- Se considera todas las colonias rojo-violetas como *Staphylococcus aureus* como se aprecia en la Figura 7.



**Figura 7.** Placa Petrifilm positivas para *Staphylococcus aureus*  
**Fuente:** (3M, 2006)

**h. Recuento de colonias para *Listeria monocytogenes***

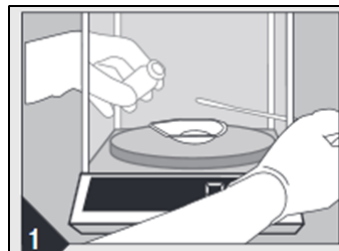
- Se considera todas las colonias rojo-violeta intenso como *Listeria monocytogenes* como podemos ver en la Figura 8.



**Figura 8.** Placa Petrifilm positivas para *Listeria monocytogenes*  
**Fuente:** (3M, 2006)

**2.4.6.2. 3M™ Placas Petrifilm™ para *Salmonella***

- Pese asépticamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento Enriquecimiento de *Salmonella* Figura 9.



**Figura 9.** Peso del suplemento  
**Fuente:** (3M, 2006)

## b. Procedimiento de Enriquecimiento

- Agregue de manera aséptica el 3M TM Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella* , preparado y esterilizado en el autoclave.
- Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con una pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para homogenizar u otro contenedor.
- Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella* más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la bolsa o el contenedor de la muestra como se demuestra en Figura 10.

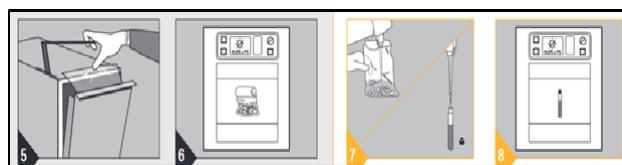


**Figura 10.** Pasos para el procedimiento de Enriquecimiento

**Fuente:** (3M, 2006)

## c. Procedimiento de Enriquecimiento cont.

- Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual como indica Figura 11.
- Incube las muestras enriquecidas a  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante de 18 a 24 horas.
- Después de la incubación del enriquecimiento, transfiera 0,1 ml a 10 ml de R-V R10.
- Incube el caldo R-V R10 a  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  de 8 a 24 horas.



**Figura 11.** Procedimiento de enriquecimiento  
**Fuente:** (3M, 2006)

#### d. Procedimiento de Hidratación

- Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 ml de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.
- Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.
- Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme que llegue a toda el área antes que se forme el gel. No debe deslizar el difusor a través de la película.
- Coloque la Placa 3M Petrifilm en una superficie plana durante 1 hora a temperatura ambiente protegida de la luz para que se forme el gel como indica Figura 12.



**Figura 12.** Procedimiento de Hidratación  
**Fuente:** (3M, 2006)

#### e. Inoculación de la placa

- Use una asa estéril de 10 ul y retire un volumen completo de muestra a fin de sembrar por estriado en la placa.



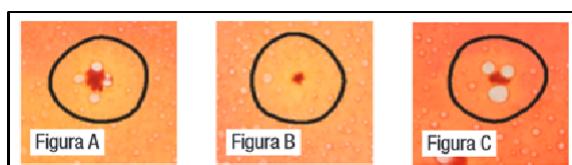
- Realice una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas como indica en Figura 13.



**Figura 13:** Inoculación de la placa  
**Fuente:** (3M, 2006)

#### f. Inoculación, Incubación e Interpretación de la placa

- Baje la película superior para cerrar la Placa Petrifim asegúrese de usar guantes.
- Incube las placas a  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 más o menos 2 horas en posición horizontal con el lado correcto hacia arriba en pilas de no más de 20 placas Figura 14.



**Figura 14.** Inoculación, Incubación e Interpretación de la placa  
**Fuente:** (3M, 2006)

## 2.5 TRABAJOS RELACIONADOS

### **Contaminación microbiológica del queso en tres sistemas de distribución en Tegucigalpa, Honduras.**

En el siguiente trabajo realizado por López *et al.* (2002) consistió en conocer el grado de contaminación del queso comercializado en tres diferentes sistemas de distribución. Para el estudio se escogieron tres categorías de establecimientos: mercados populares, pulperías y supermercados tomando muestras de queso de cada establecimiento, cada 15 días por 3 veces. Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el Centro de evaluación de alimentos de Zamorano y comprenden tres tipos de pruebas microbiológicas cómputo total de mesófilos aerobios, cómputo de coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus*. Las tres pruebas se llevaron a cabo utilizando placas Petrifilm. Obteniendo los siguientes resultados todas las muestras sobrepasaron el límite establecido para el cómputo total de mesófilos aerobios. El cómputo de coliformes de las muestras de la pulpería sobrepasó el límite permitido, pero en los demás establecimientos, el 50 % de las muestras se encontraron dentro de los límites. El 50 % de las muestras de los tres medios de comercialización fueron positivas a la presencia de *E. coli*. Además todas las muestras de queso no sólo sobrepasaron el límite permitido de *S. aureus*, sino que, se encontraron en cantidades que podían producir suficiente toxina como para causar intoxicaciones gastrointestinales estos resultados fueron normados con División de Control de Alimentos de la Secretaría de Salud Pública de Honduras y para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistical Analysis System 8.0.

### **Estudio microbiológico del suero de queso fresco pasteurizado de los productores lácteos del cantón Mejía de la parroquia Aloasí.**

En el trabajo realizado por Burbano (2016) se planteó el objetivo de analizar microbiológicamente el suero de queso fresco pasteurizado de los productores lácteos de la parroquia Aloasí del cantón Mejía. Se aplicó el método de siembra directa y por

diluciones (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-6</sup>) así también se utilizó la tinción Gram de los microorganismos que crecieron en los diferentes medios de cultivo. Como resultado de la investigación se obtuvo lo siguiente: *Escherichia coli* (2.90\*10<sup>8</sup>UFC/MI), *Streptococcus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes* y levaduras presentan crecimiento promedio de 107UFC/mL; estos resultados fueron comparados con la Norma INEN 2594 (2011).

### **Determinación de la calidad microbiológica de productos lácteos elaborados en una institución de educación superior**

Gracias a la investigación de García (2016) se analizaron un total de 105 muestras de 5 diferentes productos lácteos, siendo 21 muestras de los siguientes productos: queso panela, queso tipo Oaxaca, queso ranchero, leche y rompopo por 21 días; los cuales fueron adquiridos del taller de lácteos de una institución de nivel superior. Para las pruebas de laboratorio se utilizaron medios de cultivo específicos para cada tipo de microorganismo: agar nutritivo, agar papa/dextrosa, agar verde brillante, agar sal/manitol. Finalmente se obtuvo los siguientes resultados: 73 muestras (76 %) para Mesófilos, 85 muestras (17,85 %) para Coliformes, 66 muestras (13,86 %) para *Staphylococcus*, 10 muestras (2,1 %) para Mohos y Levaduras y finalmente el porcentaje de muestras no aptas para consumo humano, sumando los 4 microorganismos evaluados son: queso panela 100 %, queso Oaxaca 100 %, queso ranchero 90 %, leche 95 % y rompopo 19 %. Todos estos resultados fueron comparados con NOM-121-SSA1-1994 Bienes y Servicios Quesos Frescos, Madurados y Procesados. NOM-142-SSA1-1995. Bienes y Servicios. Bebidas Alcohólicas Especificaciones Sanitarias Etiquetado Sanitario y Comercial. NOM-091-SSA1-1994, Bienes y Servicios.

### **Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en Supermercados de la Ciudad de Guayaquil, Determinando la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella* spp.**

En el siguiente trabajo realizado por Plaza (2013) se analizó la presencia de *Listeria* spp y *Salmonella* en quesos frescos, mozzarella y quesos maduros que se expenden en supermercados del cantón Samborondón de la ciudad de Guayaquil para ello se

analizó 51 muestras de 6 supermercados. Para el análisis se realizó por dos métodos rápida detección y convencional. Obteniendo lo siguiente: con la prueba de rápida detección se encontró muestras positivas para *Listeria* (24) y para *Salmonella* (5). Y por el método convencional para *Listeria* (27) y *Salmonella* (10) de 51 muestras analizadas. Estos resultados fueron tabulados por el programa estadístico Minitab 15.0 y finalmente fueron comparados con la norma INEN NTE 1528 para demostrar si son aptos para el consumo humano.

**Evaluación de la calidad higiénico – sanitaria y determinación de las características organolépticas y físico – químicas del queso que se expende en los mercados de la ciudad de Loja.**

En la presente investigación realizada por Castillo *et al.* (2008) analizaron muestras de queso que se expende en los mercados de Loja (Tebaida, San Sebastián, Central, Gran Colombia y Nueva Granada) para determinar los microorganismos patógenos; se analizaron 120 muestras en las instalaciones del Laboratorio CETTIA de la Universidad Técnica Particular de Loja acreditado bajo la Norma ISO 17025, empleando métodos normalizados del INEN y de la AOAC obteniendo los siguientes resultados: *Staphylococcus Aureus* (65,8 %) siendo este el microorganismo predominante en la mayoría de muestras, Levaduras (28,3 %) *Listeria s.p.p* (15.8 %) y se evidenció la ausencia de *Salmonella*. Concluyendo que los quesos que se expenden en los mercados de la ciudad de Loja tienen un elevado riesgo para la salud humana.

## **3. METODOLOGÍA**

### **3.1 MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1.1. Ubicación**

El presente estudio se realizó en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja y los análisis microbiológicos se efectuaron en el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja. Las características meteorológicas de la ciudad de Loja son: altitud 2100 m.s.n.m, temperatura 12°C-18°C, precipitación 700 mm/año, humedad relativa media de aproximada 70 y cuenta con una topografía ondulada.

#### **3.1.2. Descripción del Experimento**

##### **3.1.2.1. Fase de Campo**

Para la fase de campo de esta investigación consistió en la recolección de muestras de queso en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja.

##### **3.1.2.2. Fase de Laboratorio**

En esta segunda fase se procedió a realizar el análisis de las muestras de queso utilizando las Placas Petrifilm 3M para la identificación de enterobacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*

### **3.1.3. Tamaño de la Muestra**

En el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja cuenta con 35 puestos de venta de quesillo en la cual se tomarón una muestra de cada uno abarcado el 100 % de la población.

### **3.1.4. Toma de las Muestras**

Toma de muestras se realizó cada semana, obtenido 5 muestras de 0,23 kg todos los días lunes a las 7 de la mañana; luego fueron llevadas a los laboratorios de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja. Este procedimiento se realizó por 7 semanas.

Para determinar la presencia de enterobacterias, *E.coli* , *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en las muestras de quesillo se realizarón los siguientes pasos:

#### **a. Preparación de las Muestras**

Se peso 1g de quesillo de cada muestra. Se hace una dosolución con 9ml de solución salina y 1g de quesillo en un tubo de ensayo estéril obtenido las diluciones (1:10/1:100/1:1000)

#### **b. Inoculación**

De la última dilución (1/1000) descrita en la preparación de la muestra , se toma 1 ml con una jeringuilla estéril y colocamos en el centro de la película cuadrículada inferior de la Placa Petrifilm. Se retira con mucho cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. Con el lado liso hacia abajo se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo. Se presionó suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. Finalmente se dejó reposar la placa de uno a dos minutos.

**c. Incubación**

Las Placas Petrifilm se incubaron a una temperatura (37°C) ahí permanecieron por 24h.

**d. Interpretación**

Luego de la incubación se procedió a realizar el conteo de las colonias con la ayuda de una lupa y con la guía de Placas Petrifilm 3M las que se encontraban coloreadas, se registrarán como positivas y en el caso de no presentar ninguna coloración negativa. En el caso de las placas positivas se volvió a realizar todo el procedimiento para confirmar los resultados.

Para determinar la presencia de *Salmonella spp.* en las muestras de queso se realizarán los siguientes pasos:

**a. Procedimiento de Enriquecimiento**

Se pesó asepticamente 16,65 gr de 3M Caldo Base *Salmonella* y se suspendió en 450 de agua destilada. Se homogenizó el medio y se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Se pesó 0,0225mg de Suplemento para enriquecimiento de *Salmonella* y se homogenizó con el 3M Caldo Base preparado anteriormente a una temperatura de 41,5°C ±1°C durante de 18 a 24 horas. Luego se procedió a presar 10g de queso y se colocó en una bolsa estéril ziploc y se agregó 102 ml de la combinación del Caldo Base y del Suplemento y se mezcló por 5 minutos. Se incubaron a 41,5°C ±1°C durante de 18 a 24 horas. Después de la incubación del enriquecimiento, se transfirió 0,1 ml a 10 ml de R-V R10. Se incubó el caldo R-V R10 a 41,5°C ±1°C de 8 a 24 horas.

**b. Procedimiento de Hidratación de Placas 3M**

Se instaló la Placa 3M Petrifilm sobre una superficie nivelada y plana. Con una jeringuilla estéril se colocó 2,0 ml de diluyente estéril sobre el centro de la

película inferior. Se dejó caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire. Se ubicó el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa y se presionó ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme que llegue a toda el área antes que se forme el gel. Finalmente a la Placa 3M Petrifilm se situó en una superficie plana durante 1 hora a temperatura ambiente protegiendo de la luz para que se forme el gel.

**c. Inoculación de la Placa**

Se empleó una asa estéril de 10 ul y se retiró el volumen completo de muestra a fin de sembrar por estriado en la placa. Se realizó una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.

**d. Incubación**

Se bajó la película superior para cerrar la Placa Petrifilm y se incubó las placas a  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 más o menos 2 horas en posición horizontal con el lado correcto hacia arriba.

**e. Interpretación**

Para la interpretación se la realizó basándose en el Manual de Placas Petrifilm y con la ayuda de una lupa.

### **3.1.5. Variables de Estudio**

- Presencia de Enterobacterias.
- Presencia de *Escherichia coli*
- Presencia de *Staphylococcus aureus*



- Presencia de *Salmonella spp.*
- Presencia de *Listeria monocytogenes*
- Procedencia

### **3.1.6. Análisis Estadístico**

Por medio de estadística descriptiva se estimaron proporciones de muestras que cumplen con las normas INEN y las negativas que no cumplen con estas normas. Luego los datos se resumirán por medio de cuadros y gráficas. Para esto se utilizó el programa informático RStudio versión 3.6.2 de libre acceso.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

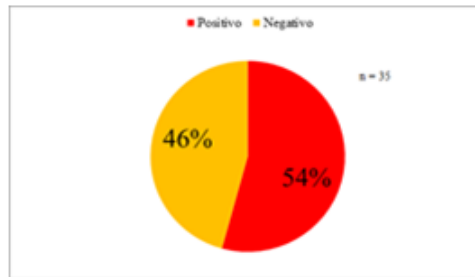
Se analizaron 35 muestras de queso para detectar enterobacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* obteniendo los siguientes resultados explicados en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Análisis microbiológico de los quesillos que se expenden en el Mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja

Bacteria	Casos	Número	%
Enterobacterias	Positivo	19	54
	Negativo	16	46
<i>Escherichia coli</i>	Positivo	8	23
	Negativo	27	77
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positivo	22	63
	Negativo	13	37
<i>Listeria monocytogenes</i>	Positivo	0	0
	Negativo	35	100
<i>Salmonella spp.</i>	Positivo	0	0
	Negativo	35	100

#### 4.1.1. Presencia de Enterobacterias en quesillos expandidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja

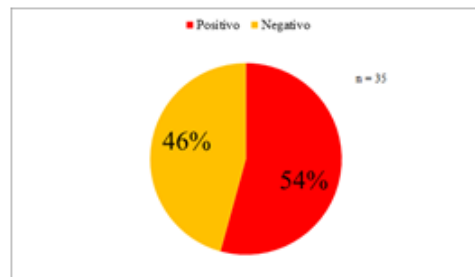
Realizando el análisis microbiológico el 54 % (19/35) son positivos para enterobacterias demostrado en la Figura 15.



**Figura 15:** Porcentaje de muestras positivas y negativas para enterobacterias ; n=35

#### 4.1.2. Presencia de *E.coli* en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja

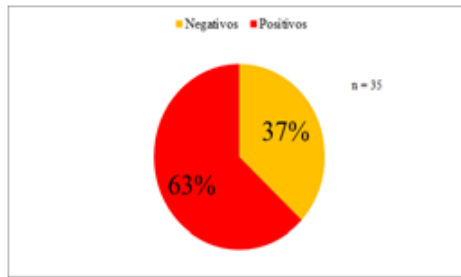
El 23 % (8/35) son positivos para *E.coli* como se indica en la Figura 16.



**Figura 16:** Porcentaje de muestras positivas y negativas para *E.coli* ; n=35

#### 4.1.3. Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja

Casos positivos para *Staphylococcus aureus* es 63 % (22/53) como se muestra en Figura 17.



**Figura 17:** Porcentaje de muestras positivas y negativas para *Staphylococcus aureus* ; n=35

#### **4.1.4. Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja**

En las 35 muestras analizadas no se encontró *Listeria monocytogenes*.

#### **4.1.5. Presencia de *Salmonella spp.* en quesillos expendidos en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja**

No se encontró *Salmonella* en las muestras analizadas.

### **4.2 QUESILLO QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA SEGÚN LA NORMA INEN 1528.**

Para este resultado se comparó las 35 muestras analizadas con la Norma INEN 1528 del 2012; obteniendo los siguientes resultados explicados en Tabla 6

**Tabla 6.** Resultado del aislamiento y conteo de las bacterias presentes en el queso ofertado en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja y su cumplimiento con la Norma INEN 1528 del 2012.

Muestras	Enterobacterias (1000 colonias)	<i>E.coli</i> (10 colonias)	<i>S.aureu</i> (100 colonias)	Listeria y Salmonella (ausencia)	Cumplimiento Norma INEN
1	Incontable	-	100	-	X
2	Incontable	-	100	-	X
3	Incontable	-	1600	-	X
4	1700	18	Incontable	-	X
5	Incontable	56	Incontable	-	X
6	Incontable	Incontable	500	-	X
7	Incontable	Incontable	500	-	X
8	Incontable	30	5400	-	X
9	Incontable	7	Incontable	-	X
10	-	-	2600	-	X
11	-	-	Incontable	-	X
12	Incontable	-	-	-	X
13	-	-	-	-	√
14	-	-	-	-	√
15	-	-	-	-	√
16	-	-	60	-	√
17	-	-	-	-	√
18	-	-	2300	-	X
19	-	-	-	-	√
20	Incontable	-	5000	-	X
21	Incontable	Incontable	2500	-	X
22	-	-	Incontable	-	X
23	-	-	100	-	√
24	2000	-	100	-	X
25	-	-	-	-	√
26	Incontable	-	3600	-	X
27	Incontable	-	Incontable	-	X
28	-	-	100	-	√
29	Incontable	18	Incontable	-	X
30	Incontable	6	5100	-	X
31	Incontable	-	5700	-	X
32	-	-	-	-	√
33	Incontable	-	2200	-	X
34	Incontable	-	Incontable	-	X
35	Incontable	3	700	-	X

(-) Ausencia de bacterias

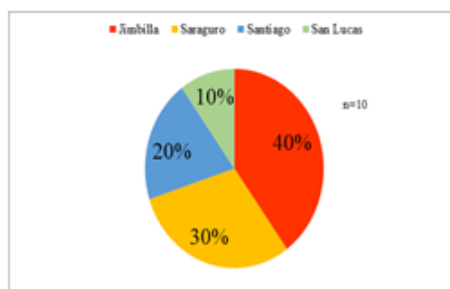
**Tabla 7.** Porcentaje total de las muestras que cumplen y las que no con la Norma INEN.

<b>Norma INEN</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
Cumple	10	29
No cumple	25	71

El 29 % (10/35) de las muestras cumple con la norma y puede ser consumidos de forma directa como se puede observar en la Tabla 7.

#### **4.2.1. Muestras de queso que no cumplen con la norma INEN 2012, según la procedencia.**

Para la obtención de este resultado se tomó en cuenta las muestras de queso que no cumplen y se verificó el lugar de su procedencia.



**Figura 18:** Porcentaje de las muestras que no cumplen con la Norma INEN 2012 según su procedencia ; n=10

Como podemos observar en la Figura 18 el porcentaje más alto según su procedencia le corresponde a la parroquia Jimbilla (cantón Loja) con un 40 % (4/10), seguido del cantón Saraguro 30 % (3/10), parroquia Santiago 20 % (2/10) y en un menor porcentaje parroquia San Lucas 10 % (1/10), estas dos últimas pertenecientes también al cantón Loja.

## **4.3 PROPUESTA PARA MEJORAR EL ESTADO HIGIÉNICO SANITARIO DEL QUESILLOS QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO GRAN COLOMBIA DE LA CIUDAD DE LOJA**

### **4.3.1. Antecedentes**

Desde la antigüedad el quesillo ha sido un producto muy consumido por la población lojana por su exquisito sabor y textura, ganando mercado. En la actualidad se sigue consumiendo este producto en diferentes formas cocido o en forma directa. Pero con los estudios realizados anteriormente se ha demostrado que el quesillo que se expende en los mercados de la ciudad de Loja presenta debilidades en su gestión; debido, al desconocimiento sobre los procesos técnicos de la calidad del quesillo y los aspectos relacionados con la inocuidad. El sistema de causas de variación es grande, algunas de las más importantes son: la calidad y manejo de la leche, el proceso en la producción, almacenamiento y la resistencia al cambio por parte de los productores y vendedores.

### **4.3.2. Justificación**

Los productores artesanales de quesillo lo hacen como una forma rentable para sobrevivir en un medio cada vez más competitivo; sin embargo, la acción más importante consiste en alinear los esfuerzos dispersos para construir una visión compartida por todos los interesados. Para ello se formuló una propuesta para mejorar la higiene sanitaria de los quesillos, incrementar la competitividad y lograr que nuestros quesillos pueden ser expandidos nacional e internacionalmente.

Para la obtención de estos resultados es importante tener en cuenta algunos aspectos; como es la higiene durante el proceso es decir desde la obtención de la materia

prima (leche) utilizada; hasta el producto final elaborado. Otro factor importante es el control de salud y la aparición de posibles enfermedades contagiosas por parte de los trabajadores con la manipulación; por eso es fundamental el lavado de manos de manera frecuente y minuciosa, con un agente de limpieza autorizado, con agua potable y con cepillo. Debe realizarse antes y después de realizar el trabajo. Con todos estos aspectos se logrará obtener un quesillo saludable y libre de bacterias.

### **4.3.3. Objetivos**

#### **Objetivo General**

- Informar a los productores y vendedores del quesillo sobre las medidas de bioseguridad y normas INEN, mediante la presentación de trípticos y charlas. Para disminuir el índice de contaminación de bacterias patógenas.

### **4.3.4. Metodología**

#### **4.3.4.1. Organización del equipo**

Para la organización del equipo se debe contar con las autoridades responsables (Municipio de Loja y Jefatura de salud) de la inspección de alimentos e informar lo siguiente:

- En la investigación realizada por la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja se encontró 71 % muestras que no cumplen con la norma INEN 1528 del 2012 debido a contener un elevado porcentaje de bacterias en las muestras de quesillo es por ello que se debe realizar mejoras en la higiene y almacenamiento de estos productos



#### **4.3.4.2. Preparación de las charlas para los productores y vendedores**

Luego de haber sido analizado el problema se procederá a realizar charlas por parte de las autoridades incluyendo los siguientes temas:

- Control de la materia prima (leche).
- Almacenamiento y transporte de las materias primas.
- Adecuado alojamiento e instalaciones.
- Preparación higiénica del quesillo.
- Manipulación y transporte
- Almacenamiento para la venta
- Enseñanza de la higiene personal de los trabajadores y vendedores
- Fortalecimiento de las organizaciones de los productores.
- Dar a conocer las normas vigentes y los parámetros que se evalúan.
- Finalmente incentivar a las personas a trabajar mancomunadamente para que sus productos ser comercializados en nuevos mercados con mejores precios.

#### **4.3.4.3. Para los trípticos deberá contener lo siguiente**

- Imágenes emotivas demostrado el correcto ordeño, elaboración , almacenamiento y comercialización del quesillo e informar sobre los problemas que pueden causar al consumir alimentos contaminados por bacterias patógenas ver (AnexoIII).
- Los trípticos serán entregados a cada propietario de puesto de expendio de quesillo del mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja.

### 4.3.5. Resultados esperados

- El conocimiento de las personas acerca de las normas INEN.
- Tener un enfoque más claro sobre la preparación, almacenamiento y transporte del producto,
- Se espera obtener quesillo de mejor calidad.
- Vendedores y productores capacitados.

### 4.3.6. Presupuesto

**Tabla 8.** Presupuesto para la elaboración de una propuesta alternativa para mejorar el estado microbiológico de los quesillos que se expeden en el mercado Gran Colombia

<b>Actividades</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo Unitario(USD)</b>	<b>Costo Total(USD)</b>
Difusión	100	3	300
Conferencista	5	20	100
Folletos	200	3	600
Refrigerio	200	0,5	100
Materiales	varios	500	500
		<b>Total</b>	<b>1600</b>

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El quesillo es un producto fabricado artesanalmente por lo cual contiene microrganismos patógenos y pueden causar problemas al ser consumidos de forma directa. Es por ello que se ha realizado varios estudios acerca de la inocuidad de los derivados lácteos a nivel nacional e internacional. En 2016 en un trabajo sobre quesillo artesanal expandido en el mercado de Chillán (Chile), se encontró *E. coli* valores máximos para enterobacterias y presencia *L. monocytogenes* con un 8.8 %; sin evidenciar *Salmonella* y *S. aureus*. Costa *et al.* (2016). En la investigación, se obtuvo resultados similares con la presencia de *E. coli*; pero el mercado de Chillán encontró todas las muestras fueron positivas mientras que en la ciudad de Loja se halló solamente el 23 % Costa *et al.* (2016). No se halló en las dos investigaciones Costa *et al.* (2016) la presencia de *Salmonella* en las muestras de quesillo. Una de las razones para no encontrar esta bacteria, es porque habita en mayor frecuencia en huevos y el organismo de las aves (Calva Abad, 2017).

En Tegucigalpa (Honduras) se encontró *Staphylococcus aureus* en muestras de quesillos comercializados en los mercados. Además estos productos no solo sobrepasan los límites establecidos por las normas de División de Control de Alimentos de la secretaria de Salud Pública de Honduras ;sino que podían producir suficiente toxinas como para causar intoxicación gastrointestinal al ser consumido López *et al.* (2002). En el presente trabajo se detectaron 22, 85 % (n=35) de las muestras de quesillo incontable para *Staphylococcus aureus* este porcentaje es muy bajo y no existiría la probabilidad de una intoxicación alimentaria. Debido a que pudo haber existido contaminación en el proceso de las diluciones López *et al.* (2002).

Ecuador es uno de los países que consume mayormente derivados lácteos espe-

cialmente el queso ya que es realizado sin la pasteurización (Calva Abad, 2017). Es por ello que en el 2008 se realizaron análisis de los quesillos en todos los mercados de la ciudad de Loja y se obtuvieron como resultados: *Staphylococcus aureus* (65,8 %), *Listeria* (15,8 %), y ausencia de *Salmonella*. En esta investigación se obtuvo un porcentaje de 63 % de *Staphylococcus aureus*, valores que son aproximados en los dos estudios. Los altos porcentajes de *Staphylococcus aureus* en mercados de la ciudad de Loja, se podrían deber a contaminación por la manipulación y almacenamiento inadecuada (Salazar *et al.*, 2017).

## **5.2 COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON LAS NORMA INEN 1528 del 2012**

La inocuidad de los alimentos es un conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento y distribución de alimentos para asegurar que una vez ingeridos, no representen un riesgo para la salud. Siendo razón válida para la creación de requisitos a nivel mundial que regulen la elaboración de estos productos de tal forma que garanticen la calidad. En base a estos reglamentos han sido comparados con investigaciones como García (2016) que analizó quesos adquiridos del taller de lácteos de una institución de nivel superior de Querétaro (México) estos resultados fueron comparados con NOM-121-SSA1-1994 Bienes y Servicios Quesos Frescos, Madurados y Procesados. Concluyendo que el mayor porcentaje de muestras analizadas no son aptas para consumo humano.

En Ecuador se creó el 28 de agosto de 1970 el Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, para garantizar la inocuidad de los alimentos con la aplicación de normas y reglamentos establecidos. En vista de esto se tomaron para ser compararlos con trabajos investigativos como Burbano (2016) que analizó el queso fresco pasteurizado de los productores lácteos de la parroquia Aloasí del cantón Mejía (Ecuador). Encontrado que estos productos no cumplen en su totalidad con la Norma INEN 2594 (2011). Este problema puede deberse a dos factores que resalta Vásquez *et al.*

(2007) la falta de aseo para la preparación de dichos productos y el otro factor es la leche que se utilizan para la elaboración de quesos. En el cantón Samborondón de la ciudad de Guayaquil Plaza (2013) analizó la presencia de *Listeria* y *Salmonella spp* en quesos frescos, mozzarella y quesos maduros utilizando la norma INEN NTE 1528. Concluyendo que los quesillos de este sector no cumplen con dicha norma ya que existe una elevada carga microbiana. Así también Conlago (2019) determinó la presencia de *Escherichia coli* en 35 muestras de quesos frescos sin marca provenientes de siete mercados ubicados al centro norte de la ciudad de Quito. Tras la realización de los ensayos correspondientes se obtuvo que el 100 % de las muestras presentan *Escherichia coli* y no cumplen con lo establecido por la NTE INEN 1528 norma general para quesos frescos no madurados.

En esta investigación concuerda con Plaza (2013) y con Conlago (2019) la cual se utiliza la norma INEN 1528 del 2012 para evaluar la calidad microbiológica del quesillo. Así también concordamos que los productos que se expenden en los mercados del Ecuador en su gran mayoría no cumplen con los reglamentos establecidos. Una de las causas es la falta de higiene para la preparación y el desconocimiento por parte del personal de dichas normas.

## 6. CONCLUSIONES

En el quesillo que se expende en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja, predominan los *Staphylococcus aureus* (63 %), enterobacterias (54 %) y *Escherichia coli* (23 %).

El 71 % de quesillo que se expende en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja no cumplen con la norma INEN 1528, principalmente los que provienen de la parroquia Jimbilla (40 %) del cantón Loja y del cantón Saraguro (30 %). Por lo tanto, no pueden ser consumidos de forma directa y deben pasar un proceso de cocción a una temperatura de 100° C.

Por lo se debe tomar en cuenta que el quesillo al ser consumido sin tratamiento térmico se convierte en un vehículo de alto riesgo para la salud; debido a que existe peligro de intoxicación microbiológica.

Se informó de manera efectiva sobre las medidas de manejo sanitario y normas INEN del quesillo en toda la cadena productiva a los expendedores de todo el mercado Gran Colombia mediante la presentación de trípticos.

## **7. RECOMENDACIONES**

Realizar otros estudios (microbiológicos, químicos, genéticos) sobre la calidad de quesillo expendido en mercados ubicados en Loja y otras provincias del Ecuador.

Solicitar colaboración al personal administrativo del Municipio de Loja para motivar a los propietarios a responder las encuestas realizadas por los investigadores sobre el manejo sanitario de quesos expendidos en mercados en la ciudad de Loja.

Emplear pruebas microbiológicas que permitan establecer la especie de bacteria a la que pertenece para estudio de cotramición y trazabilidad.

## Bibliografía

- 3M, P. (2006). *Guía práctica de placas petrifilm para reconocimiento de bacterias*.
- Agudelo, y Bedoya, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de investigación*, 2(1).
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., y Retamal, P. (2016). Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista chilena de infectología*, 33(5), 547–557.
- Betancourt, O. H., Cuesta, Y. U., del Río Méndez, D., y del Carmen Galdós, M. (2005). Staphylococcus aureus y su identificación en los laboratorios microbiológicos. revisión bibliográfica. *Archivo Médico de Camagüey*, 9(1).
- Boland, V. (2001). Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical microbiology reviews*, 14(3), 584–640.
- Bravo, E. C., Gómez, L. E. M., Ramírez, M. L. C., Juárez, C. G., Flores, F. A., y Roldan, E. I. C. (2007). Identificación de cepas de Escherichia coli enterotoxigénicas en diferentes ambientes. *Enfermedades infecciosas y Microbiología*, 27(3), 70–74.
- Burbano, M. (2016). *Estudio microbiológico del suero de queso fresco pasteurizado de los productores lácteos del cantón Mejía-parroquia Aloag* (Tesis Doctoral no publicada). Tesis de Grado. Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias.
- Calva Abad, F. M. (2017). *Estudio de factibilidad para la creación de una microempresa productora y comercializadora de productos lácteos en el cantón Quilanga, provincia de Loja, año 2015* (B.S. thesis).
- Castillo, M., Tandazo, D., Landázuri, V., y Cumbicus, E. (2008). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y determinación de las características organolépticas y



- físico-químicas del quesillo que se expende en los mercados de la ciudad de Loja. *Universidad Técnica Particular de Loja. Proyecto de tesis.*
- Cervantes. (2014). Características generales del staphylococcus aureus. *Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*, 61(1), 28–40.
- Conlago. (2019). *Determinación de escherichia coli o157: H7 en quesos frescos sin marca de los mercados del centro norte de la ciudad de quito* (B.S. thesis). Quito: UCE.
- Costa, M., Retamal, J., Rodríguez, A., Chavarría, P., Parra, J., Contreras, A., y Forsythe, S. (2016). Inocuidad microbiológica de quesillos comerciales y artesanales expendidos en chillan. *Revista chilena de nutrición*, 43(2), 172–179.
- García. (2011). Bacteriemias por escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido (blee): significación clínica y perspectivas actuales. *Revista española de quimioterapia*, 24(2).
- García. (2016). Determinación de la calidad microbiológica de productos lacteos elaborados en una institución de educación superior.
- García, y Rodríguez. (2010). Enterobacterias. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(51), 3426–3431.
- Gómez. (2017). Presencia de staphylococcus aureus en quesos comercializados en la ciudad de milagro, octubre–noviembre 2013. *Cumbres*, 2(2), 25–29.
- Gómez, y Mejía, O. B. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de investigación*, 2(1), 38–42.
- INEN. (2012). *Nte inen 1528: Norma general para quesos frescos no madurados. requisitos.*
- León, C. (2016). *Área biológica* (Tesis Doctoral no publicada). Universidad Técnica Particular de Loja.

- López, Z., Arturo, E., y cols. (2002). *Contaminación microbiológica del quesillo en tres sistemas de distribución en tegucigalpa, honduras* (B.S. thesis). Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014.
- Mena. (2017). *Evaluación microbiológica de productos lácteos artesanales: Leche cruda, queso fresco, quesillo y cuajada elaborados en la finca san diego, del municipio de cuapa (chontales), noviembre-diciembre 2016* (Tesis Doctoral no publicada). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua.
- Ordoñez, T., y cols. (2014). *Proyecto de factibilidad para la creación de una empresa productora de queso seco en el cantón celica y su comercialización en la provincia de loja* (B.S. thesis).
- Plaza. (2013). Análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de guayaquil, determinando la presencia y ausencia de listeria y salmonella (tesis doctoral) guayaquil. *Ecuador: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción Ecuador*.
- Ramírez, C., y Vélez, J. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(2), 131–148.
- Remacha, M., Herrera, J., Esteban, A., Roiz, V., Quiroga, L., y Parra, I. (2002). Bacteriemia por listeria monocytogenes. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 51(3), 111–112.
- Rodríguez. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de escherichia coli. *Salud pública de México*, 44, 464–475.
- Salazar, D., Cuichán, M., Ballesteros, C., Márquez, J., y Orbe, D. (2017). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua espac 2017. *Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador : Quito, Ecuador*.
- Sinisterra Castro, C. E., Perla, A., Botero, M., Aguirre Cuaican, D., y Patiño Hernandez, F. A. (2018). *Aplicación del análisis del riesgo a un caso de intoxicación*

*alimentaria, ocasionada por entero toxinas estafilocócicas en canelones de verduras.*

Torres Gutiérrez, X. E., y cols. (2018). *Estudio de la producción de la industria láctea del cantón cayambe en el período 2009-2015* (Tesis de Master no publicada). Universidad Andina Simón Bolívar, Sede Ecuador.

Uribe, C., y Suárez, M. C. (2006). Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia médica*, 37(2), 151–158.

Vargas, T. (2000). Calidad de la leche: Visión de la industria láctea. En *Memorias del x congreso venezolano de zootecnia* (pp. 297–302).

Vásquez, F. C. M., Martínez, G. R., Mancera, V. M. M., Ávila, L. E. O., y Vargas, M. R. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del alto de chicamocha (departamento de boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*(14), 61–83.

## Anexo I: Trabajo de laboratorio



**Figura 19:** Esterilización de los materiales.



**Figura 20:** Muestras de queso



**Figura 21:** Dilución, inoculación e incubación para enterobacterias *E.coli*, *S.aureus* y *Listeria monocytogenes*



**Figura 22:** Enriquecimiento e Hidratación para *Salmonella*



**Figura 23:** Inoculación e incubación para *Salmonella*

## Anexo II: Interpretación de resultados



**Figura 24:** Lectura de resultados de las Placas Petrifilm



**Figura 25:** Confirmación de resultados

## Anexo III: Plan de mejoramiento a la calidad de quesillos de la hoya de Loja



**Figura 26:** Entrega de trípticos ilustrativos a las personas que expenden quesillo en el mercado Gran Colombia de la ciudad de Loja.



**Figura 27:** Impartición sobre el correcto proceso de elaboración, almacenamiento y comercialización del quesillo.

# ALMACENAMIENTO Y COMERCIALIZACIÓN



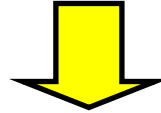
Mantener el quesillo en congeladores a una temperatura de 4 -5 °C



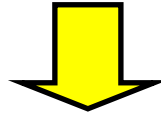
Para la comercialización usar guantes y mascarilla .

## TEN ENCUESTA

Las malas prácticas de higiene y almacenamiento



Pueden ocasionar la proliferación de microorganismos patógenos, y



Afectar la salud del consumidor.

## RECUERDA

Todas estas recomendaciones para la elaboración y comercialización del quesillo, así las personas tendrán la confianza de consumirlo y mejorarás tus ventas .



## UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CARRERA DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA



PLAN DE MEJORAMIENTO DE LA  
CALIDAD DEL QUESILLO DE LA HOYA DE LOJA.

Director

Dr. Segundo Barragán, Mg. Sc.

Tesista

Brigette Dayanna Tenezaca Cabrera

LOJA-ECUADOR



## PASOS PARA UN BUEN ORDEÑO



Lavarse las manos con abundante jabón y agua.

Lavar las ubres de la vaca.



Se debe utilizar guantes para el ordeño y la leche debe caer en un recipiente limpio.



Después del ordeño se debe sellar los pezones para evitar proliferación de bacterias.



## ELABORACIÓN DEL QUESILLO



Los materiales para utilizar deben estar limpios y deben ser lavados con agua a una temperatura de (95-100°C) para eliminar la presencia de bacterias.



Lavarse las manos con abundante agua y jabón antes de preparación del quesillo.



Se debe emplear guantes, mascarilla y gorro para evitar la contaminación.



Para desuerar el quesillo se debe usar telas limpias y cada dos meses deben ser remplazadas.

## ENVASADO



Embolsar en fundas o empaques estériles utilizando siempre guantes

## TRANSPORTE



Trasladar el producto en bandejas plásticas estas deben estar limpias libre de residuos.