



Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

Evaluación microbiológica de queso fresco artesanal en mercados de la ciudad de Loja

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Médico Veterinario

AUTOR:

Bryan Alexander Ramírez Luna

DIRECTORA:

BqF. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana, MSc

Loja – Ecuador

2025

Educamos para Transformar





CERTIFICADO DE CULMINACIÓN Y APROBACIÓN DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, VALDIVIESO TITUANA JESSICA ILENIA, director del Trabajo de Integración Curricular denominado Evaluación microbiológica de queso fresco artesanal expendido en mercados de la ciudad de Loja, perteneciente al estudiante BRYAN ALEXANDER RAMIREZ LUNA, con cédula de identidad N° 1105799108.

Cortifica

Que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular**, habiendo realizado una revisión exhaustiva para prevenir y eliminar cualquier forma de plagio, garantizando la debida honestidad académica, se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de Integración Curricular, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 7 de Febrero de 2825



DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



Certificado TIC/TT.: UNL-2025-000672

Educamos para Transformar

Autoría

Yo, **Bryan Alexander Ramírez Luna**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular o de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

Cédula de identidad: 1105799108

Fecha: 11/03/2025

Correo electrónico: bryan.ramirez@unl.edu.ec

Teléfono: 0983530099

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o

publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Integración Curricular

Yo, Bryan Alexander Ramírez Luna, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular

denominado: Evaluación microbiológica de queso fresco artesanal expendido en

mercados de la ciudad de Loja, como requisito para optar por el título Médico Veterinario,

autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines

académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de

su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, 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 del Trabajo de

Integración Curricular o de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los once días del mes de marzo

de dos mil veinticinco.

Bunpa Jung

Autor/a: Bryan Alexander Ramírez Luna

Cédula: 1105799108

Dirección: Loja, Época, calle Jamaica entre Brasil y Gibraltar

Correo electrónico: bryan.ramirez@unl.edu.ec

Teléfono: 0983530099

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Integración Curricular: BqF. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana,

MSc.

iv

Dedicatoria

Dedicado de manera muy especial a mi madre Andrea Luna por siempre apoyarme y ayudarme a salir adelante, a mi abuelito Servio quien ha sido como un padre para mí y un pilar fundamental en mi vida, a mi abuelita Ofelia que me ha querido como un hijo brindándome todo su cariño y apoyo.

Bryan Alexander Ramírez Luna

Agradecimiento

Agradezco de manera muy especial a mi madre Andrea luna y a mis abuelitos Servio y Ofelia, quienes siempre creyeron en mí y me brindaron su apoyo para terminar con esta etapa de mi vida.

María José gracias por haberme apoyado en este tramo final de esta una etapa importante en mi vida, tu apoyo y cariño han sido fundamentales para estar donde estoy hoy.

A la Universidad Nacional de Loja y de manera especial a la carrera de Medicina Veterinaria, a sus docentes los cuales han compartido sus conocimientos conmigo.

De igual manera a mi directora, BqF. Jessica Valdiviezo por la paciencia y orientación constante desde el inicio hasta la culminación de este trabajo de investigación.

Agradecer también a los técnicos del Centro de Biotecnología, de manera especial a la Mvz. Melania Uchuari por su guía y paciencia durante la realización del trabajo de laboratorio.

Finalmente agradezco a todos los amigos que he hecho durante mi estancia en la carrera, en especial a Jennifer, Soledad, Luis y Maycol, por hacer más llevadero este proceso, quedo infinitamente agradecido con todos y cada uno.

Bryan Alexander Ramírez Luna

Índice de contenido

Porta	da		ii
Certif	ficacio	ón	ii
Autor	ría		iii
Carta	de aı	ıtorización	iv
Dedic	atoria	1	v
Agrac	decim	iento	vi
,		guras	
		nexos	
1. T	'ítulo .		1
2. R	Resum	en	2
2.1	Abstr	act	3
3. In	ntrod	ucción	4
4. N	Iarco	Teórico	6
4.1.	Qı	ieso fresco	6
4.2.	Ca	racterísticas organolépticas queso fresco	6
4.3.	Ca	lidad físico-química del queso fresco	6
4.4.	Ca	lidad microbiológica	7
4.5.	In	ocuidad alimentaria	8
4	.5.1.	Enfermedades transmitidas por alimentos	8
4	.5.2.	Contaminación directa	8
4	.5.3.	Contaminación cruzada	9
4	.5.4.	Factores extrínsecos e intrínsecos de contaminación del queso	9
4	.7.1.	Staphylococcus aureus	10
4	.7.2.	Enterobacterias	11
4	.7.3.	Escherichia coli	12
4	.7.4.	Salmonella spp	13
5. N	/steri	al v Métodos	14

5	.2. Pro	ocedimiento	14
	5.2.1.	Enfoque metodológico	14
	5.2.2.	Diseño de la investigación	14
	5.2.3.	Tamaño de la muestra y tipo de muestreo	15
	5.2.4.	Técnicas	15
	5.2.5.	Variables de estudio	17
	5.2.6.	Procesamiento y análisis de la información	17
	5.2.7.	Consideraciones éticas	18
6.	Resulta	ndos	19
6	.1. Ca	racterísticas organolépticas	19
6	.2. Ca	lidad microbiológica	19
	6.2.1.	Escherichia coli	19
	6.2.2.	Staphylococcus aureus	20
	6.2.3.	Salmonella spp.	20
	6.2.4.	Enterobacterias	20
	6.2.5.	pH asociado a la presencia de bacterias	21
7.	Discusi	ón	22
8.	Conclu	siones	27
9.	Recom	endaciones	28
10.	Bibli	ografía	29
11	Anov		24

Índice de tablas

Tabla 1. Tipos de queso según composición físico-química	6
Tabla 2. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no maduros	7
Tabla 3. Clasificación taxonómica de Staphylococcus aureus	10
Tabla 4. Toxinas patógenas de Staphylococcus aureus	11
Tabla 5. Clasificación taxonómica de Escherichia coli	12
Tabla 6. Lugar de acción y patogenia de los diferentes tipos de E.coli	12
Tabla 7. Clasificación taxonómica de Salmonella spp.	13
Tabla 8. Factores que afectan el crecimiento de Salmonella spp.	13
Tabla 9. Número de muestras de los distintos mercados municipales de Loja	15
Tabla 10. Variables de estudio	17
Tabla 11. Características organolépticas y pH	19
Tabla 12. Presencia de bacterias sospechosas de Escherichia coli	20
Tabla 13. Presencia de Staphylococcus aureus	20
Tabla 14. Recuento de enterobacterias	21
Tabla 15. pH asociado a la presencia de bacterias	21

Índice de figuras

Índice de anexos

Anexo 1. Flujograma aislamiento de Staphylococcus aureus	34
Anexo 2. Flujograma de aislamiento de enterobacterias	34
Anexo 3. Flujograma de aislamiento de Salmonella spp.	35
Anexo 4. Flujograma de aislamiento de Escherichia coli	35
Anexo 5. Procedimientos realizados para Staphylococcus aureus	36
Anexo 6. Procedimientos realizados para Escherichia coli	36
Anexo 7. Crecimiento en placa de Enterobacterias	37
Anexo 8. Pruebas Bioquímicas para Staphylococcus aureus	38
Anexo 9. Pruebas bioquímicas confirmatorias de Escherichia coli	40
Anexo 10. Crecimiento en placa de Enterobacterias en agar MacConkey	42
Anexo 11. Porcentaje de Escherichia coli presente en quesos frescos	43
Anexo 12. Porcentaje de crecimiento de Staphylococcus aureus en quesos frescos	43
Anexo 13. Certificado de traducción del resumen	44

1. Título

T 1 '/	1 1 1 1 / 1	1 (C , 1	1' 1	1 1	1 ' 1 1	1 T	•
HUGHIGGION	microbiologica	da anaca t	tracco artacanal	avnandida an	marcadae de	La chiidad	40 I	010
ravanuacion	-HHClODHOIO91Ca	HE HIESU I	fresco artesanal	こえいたいいいいい たい	THEICAUUS U	z ia Ciuuau	UC 1.4	ма

2. Resumen

El queso fresco es un derivado lácteo, con un consumo per cápita de 1.7 kilos al año en Ecuador y apreciado por su gran valor nutricional, su elaboración se da comúnmente en zonas rurales en base a métodos tradicionales y el uso de materia prima sin procesamiento previo. Por lo que es esencial garantizar que el proceso de producción cumpla con los estándares de higiene. En este estudio se realizó la evaluación microbiológica de 40 muestras de quesos frescos expendidos en los mercados de la ciudad de Loja, siguiendo la normativa INEN 1528:12. Se pudo observar que las características organolépticas como el olor, el color, la textura y el pH son normales. En cuanto a calidad microbiológica se determinó la ausencia de *Salmonella* spp., la presencia de bacterias como *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, y un alto recuento de Enterobacterias, superando los límites establecidos por la normativa. Se obtuvo la presencia de otros microorganismos como: *Staphylococcus coagulasa negativa, Micrococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, donde se pone en evidencia una falta de control en la cadena de producción poniendo en riesgo la salud del consumidor.

Palabras clave: Cultivos microbiológicos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Quesos frescos, Enterobacterias

2.1 Abstract

Fresh cheese is a dairy product, with a per capita consumption of 1.7 kilos per year in Ecuador and appreciated for its high nutritional value, and is commonly produced in rural areas using traditional methods and raw materials without prior processing. It is therefore essential to ensure that the production process complies with hygiene standards. In this study, a microbiological evaluation of 40 samples of fresh cheeses sold in the markets of the city of Loja was carried out in accordance with INEN 1528:12 standards. In terms of microbiological quality, the absence of *Salmonella* spp. was determined, as well as the presence of bacteria such as *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, and a high count of Enterobacteriaceae, exceeding the limits established by the regulations. The presence of other microorganisms such as: *coagulase-negative Staphylococcus, Micrococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, where a lack of control in the production chain is evidenced, putting the health of the consumer at risk.

Keywords: Microbiological cultures, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, Fresh cheese, Enterobacteriaceae.

3. Introducción

El queso es un derivado lácteo formado en base al uso de cuajo o sustancias similares, lo que descompone la lactosa y separa el suero. Para la fabricación de este producto se emplea leche de vaca ya sea entera o descremada, en regiones mediterráneas, se opta por utilizar leche de oveja o de cabra (Licata, 2020). En 2020, el mercado del queso en Ecuador experimentó un gran crecimiento, al ser uno de los derivados lácteos preferidos por los ecuatorianos (Pardillos, 2020).

El queso fresco es un producto bastante consumido en Ecuador, el proceso de fabricación y distribución representan un dilema cuando se trata de calidad y seguridad alimentaria especialmente cuando se trata de pequeños productores (Zambrano, 2014). El consumo per cápita en el país de queso fresco se encuentra en 1.7 kilos anuales, la producción de este tipo de queso es predominante en el país y gran parte es de elaborado de manera artesanal siendo las condiciones sanitarias variables (Solís, 2022).

La producción de este derivado lácteo es comúnmente realizada en zonas rurales, donde a menudo existe una falta de conocimiento con respecto a las normas higiénico - sanitarias, debido a que no existe un control necesario para la obtención de un producto de calidad comercial, como consecuencia se convierte en un ambiente favorable para el crecimiento de bacterias causando problemas al consumidor (Arteaga *et al.*, 2021).

La presencia de bacterias patógenas en el queso fresco artesanal, mediante las malas prácticas de manufactura, aumenta significativamente el riesgo de contraer enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) (Pedro, 2017). El queso presenta una microbiota normal compuesta de bacterias lácticas que son comunes como *Lactobacilus* spp., *Bacillus* spp. y *Lueconostoc* spp. cuando existe la presencia de microorganismos como: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, entre otras, aunque están permitidas en menor medida una vez que sobrepasan los límites establecidos ya son capaces de generar problemas de salud (Merchán *et al.*, 2019).

En varios estudios realizados en algunas ciudades del Ecuador siendo una de ellas la ciudad de Latacunga donde evaluaron la calidad microbiológica en quesos frescos artesanales, en cuanto a enterobacterias se supera los parámetros establecidos (LPM) ufc/g 2x 10² ufc/g obteniendo valores de entre 10⁴ a 10⁵, en cuanto a *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* de igual manera se superan los límites permisibles del nivel de buena calidad se encuentran entre 10⁴ a 10⁵ ufc/g, el 100% de las muestras están contaminadas con *Salmonella* (Moreano, 2021).

En la ciudad de Guayaquil, se realizó un estudio para determinar la presencia de *Listeria y Salmonella* en quesos frescos. A través de pruebas rápidas de detección se refleja la falta de inocuidad de los quesos, determinando la presencia de *Listeria y Salmonella*, mostrando una mayor incidencia de *Listeria*. También se realizó por método tradicional donde de 51 muestras analizadas 27 muestras fueron positivas para *Listeria* y 10 muestras fueron positivas para *Salmonella* (Plaza, 2013).

Un estudio realizado en quesillo en 2007 y 2008 en Loja por el Centro de Transferencia de Tecnología e investigación Agroindustrial (CETTIA) de la Universidad Técnica Particular de Loja, de 120 muestras el 65.8% estaban contaminadas con *Staphylococcus aureus*, el 28.3% levaduras y el 15.8% de *Listeria* spp. (Plaza, 2013).

Existen numerosos estudios dentro del país, sin embargo, la ciudad de Loja no cuenta con estudios a profundidad de la calidad microbiológica y físico química del queso fresco. Los estudios realizados en diferentes partes del Ecuador muestran como los quesos frescos artesanales en su gran mayoría se encuentran contaminados por bacterias, mostrando el poco conocimiento y manejo de las normas de calidad higiénico sanitaria por partes de los productores o de quienes lo comercializan.

Con este trabajo se pretende obtener información con respecto a la salubridad del queso artesanal que es expendido en los mercados de la ciudad de Loja, mediante el análisis microbiológico de los microorganismos presentes en los mismos, además de determinar la calidad higiénico sanitaria. Con los siguientes objetivos:

- Evaluar las características organolépticas en muestras de queso fresco artesanal de los mercados de la ciudad Loja.
- Identificar la presencia de microorganismos en queso fresco artesanal comercializado en los mercados de la ciudad de Loja.

4. Marco Teórico

4.1. Queso fresco

Hace referencia al queso no maduro, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, leventemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos generalmente sin cultivos lácticos, también conocidos como queso blando (INEN, 2012).

Son conocidos como quesos blandos y se caracterizan por poseer un alto porcentaje de humedad por lo que su vida en anaquel es corta sin la presencia de refrigeración (Franklin *et al.*, 2011).

4.2. Características organolépticas queso fresco

Las características organolépticas son un atributo sensorial que resultan de la combinación de las propiedades físicas, estas combinaciones son percibidas por los órganos de los sentidos (Castro *et al*, 2010). Con una textura suave, homogénea y ligeramente húmeda, un sabor levemente ácido, lácteo y fresco, un aroma fresco, suave y lácteo, un color blanco o ligeramente amarillento (Cacuango & Santafé, 2010).

4.3. Calidad físico-química del queso fresco

Los quesos frescos tienen una característica importante que es un alto contenido de agua, lo que les confiere un sabor leche fresca o ligeramente acidificada, presentan una textura pastosa y color blanco, su temperatura de conservación es de 2 a 5 °C (De la Haba, 2016).

Tabla 1. Tipos de queso según composición físico-química

Tipo o clase	Humedad % máx.	Contenido de grasa en extracto seco %m/m
Semiduro	55	
Duro	40	
Semiblando	65	
Blando	80	
Rico en grasa	5	60
Entero o graso	-	45
Semidescremado	-	20
Descremado o		0.1
magro	-	0.1

Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2012

4.4. Calidad microbiológica

La calidad microbiológica de los quesos frescos está dada por Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1528, donde se establece que la leche utilizada para su fabricación debe de cumplir con los requisitos establecidos en la norma NTE INEN 10, en la cual se indica que la leche debe pasar por un proceso de pasteurización, es decir que sea sometida a un proceso térmico el cual garantice la destrucción total de los microorganismos patógenos y microorganismos banales (saprofitos) sin que se llegue a alterar las características fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas de la misma (INEN, 2012).

Tabla 2. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no maduros

Requisito	n	m	M	С	Método de ensayo
Enterobacterias, UFC/g	5	$2x10^{2}$	10 ³	1	NTE INEN1529-13
Escherichia coli, UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
Staphylococcus aureus UFC/g	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
Listeria monocytogenes /25g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
Salmonella en 25 g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15

Nota: Adaptado de Normativa del Instituto Ecuatoriano de Normalización 1338 (p.6), por INEN, 2012

Donde:

n= número de muestras a examinar

m= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M= índice máximo permisible para identificar para identificar nivel aceptable de calidad c= número de muestras permisibles con resultados entre m y M (INEN, 2012).

4.5. Inocuidad alimentaria

La inocuidad alimentaria es aquella que garantiza que los alimentos estén libres de sustancias que puedan llegar a ser perjudiciales para el ser humano. Lo que implica eliminar la presencia de peligros biológicos, químicos o físicos, para que los alimentos sean seguros para el consumo humano (Garzón, 2009).

Para garantizar la inocuidad es necesario que todos aquellos que participan en toda la cadena de producción desde el ordeño hasta los encargados de los puntos de venta, además de los organismos de control involucrados garanticen la inocuidad de los alimentos haciendo respetar los buenos procesos de manufactura, realizando inspecciones rutinarias y promoviendo prácticas de manipulación de alimentos, con la finalidad de que se mantenga la inocuidad de los alimentos producidos (Organización Mundial de la Salud, 2021).

4.5.1. Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se provocan a partir de la ingesta de alimentos o agua contaminados por microorganismos patógenos, sustancias químicas tóxicas o agentes parasitarios. Los síntomas pueden ser diversos, está asociada a las malas prácticas en la cadena de producción (Ospina *et al.*, 2021).

Los síntomas más comunes son diarrea, vómitos, dolor abdominal, fiebre, náuseas, síntomas neurológicos, la duración e intensidad varía dependiendo del tipo y la cantidad de patógenos o toxinas ingeridas (González & Rojas, 2005).

Para prevenir estas infecciones se debe tener buenas prácticas de higiene y manipulación en todas las etapas, tener en cuenta los siguientes factores higiene de los alimentos, manipulación adecuada, educación y capacitación (Ministerio de educación, 2018).

4.5.2. Contaminación directa

Es un tipo de contaminación en la cual los alimentos entran en contacto y se contaminan entre sí, se puede producir al momento de mezclar diferentes tipos de alimentos, el goteo de sangre procedente de carne cruda, goteo de líquidos de alimentos en descongelación (CSA, 2020).

4.5.3. Contaminación cruzada

Hace referencia al proceso en el que bacterias, virus, alergenos o sustancias químicas pasan de un alimento, utensilio o superficie, por lo que se puede llegar a poner en peligro la seguridad alimentaria de los consumidores. Es considerada una de las principales causas de enfermedades relacionadas con los alimentos (OMS, 2023).

4.5.4. Factores extrínsecos e intrínsecos de contaminación del queso

Factores intrínsecos son factores propios del queso, como pH, la actividad del agua, presencia de nutrientes la presencia de conservantes naturales, entre otros. Los factores extrínsecos son condiciones externas en las cuales se favorezca la presencia de microorganismos, como pueden ser la temperatura, humedad, presencia de microganismos ajenos al microbiota normal del queso, la manipulación inadecuada, entre otros (Rosas, 2007).

4.6. Calidad higiénico sanitario

Calidad higiénico sanitaria es el conjunto de condiciones y medidas necesarias en todas las etapas de la producción de alimento para garantizar su salubridad e inocuidad, lo que da la confiabilidad para ver si el producto es apto (OMS, 2018).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) alerta que la elaboración de alimentos en áreas rurales, las condiciones higiénico sanitarias carecen del seguimiento y control requeridos para asegurar la obtención de productos de calidad (FAO, 2017).

Además, se señala que la comprobación de la calidad e inocuidad de los alimentos es de cumplimiento obligatorio por los productores y son controlados por los gobiernos (Komada et al., 2020). Puesto que los riesgos asociados al ingerir un alimento contaminado, tiene incidencia directa a brotes de enfermedades, provocados por diferentes bacterias patógenas y parásitos, conocidas como enfermedades de transmisión alimentaria, ETA's (Zúñiga & Lozano, 2017).

Como parte del sistema de control de calidad, los productores de alimentos deben verificar materias primas, limpiar y desinfectar de manera constante todo aquello que entra en contacto con el producto (Moretro & Langsrud, 2017), para reducir la carga bacteriana equivalente a la acumulación diaria de bacterias y para eliminar los patógenos que se introducen en el entorno de producción, ya que estas bacterias pueden transferirse directamente, desde cuchillos rebanadoras o

cintas transportadoras o indirectamente desde pisos o paneles de control a los alimentos durante el día de producción (García, 2018).

4.7. Características de los Organismos Indicadores y su patogenicidad

4.7.1. Staphylococcus aureus

Tabla 3. Clasificación taxonómica de Staphylococcus aureus

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Género	Staphylococcus
Especie	Staphylococcus aureus

Es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, productora de catalasa, coagulasa, inmóvil y no esporulada, se encuentra distribuida por todo el mundo por lo que se estima que cada una de tres personas la posee, aunque no resultan afectadas por ella. (Castillo, 2013). Forma parte de la microbiota normal de mucosas y piel, en especial nasal, encontrándose en 20%. El problema radica cuando su hábitat se ve alterado, cuando se convierte en oportunista (Torres *et al*, 2021).

Microorganismo patógeno tanto para el hombre como para los animales, al cual que atribuyen gran cantidad de infecciones, posee un alto rango de gravedad, se puede manifestar desde lesiones en piel localizadas, intoxicaciones alimentarias, hasta infecciones invasivas, estas afecciones pueden llegar a ser potencialmente mortales (Parra, 2022).

Esta bacteria es asociada con gran frecuencia en productos frescos, carnes, aves, pescados, mariscos, leche refrigerada, producción de pastelería y productos con alto contenido de sal (carne cruda), (López *et al.*, 2019).

Tabla 4. Toxinas patógenas de Staphylococcus aureus

Toxinas	Patologías
Toxinas TSST-1	Síndrome del shock tóxico
	Cuadros de enterocolitis, enfermedad
Enterotoxinas A-O	diarreica aguada, vómitos e intoxicaciones
	alimentarias
	Intoxicaciones alimentarias, producción
Enterotoxina A-E, G-I, K-M	síntomas como vómitos, diarrea acuosa,
Enterotoxina A-E, G-I, K-M	dolor abdominal náuseas, sudoración cefalea
	sin fiebre
Toxinas exfoliativas A/B	Enfermedad de Ritter

Nota: Adaptado de *Patología clínica: Características generales de Staphyloccocus aureus;* 61 (1): 28-40, por E. Cervantes et al., 2014, Rev. Latinoam Patol Clin Me. (Cervates et al., 2014)

4.7.2. Enterobacterias

Es un grupo de bacterias Gram negativas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*; son la familia más grande y heterogénea de bacilos gran negativos con un tamaño de (0,3 a 1,0 x 1,0 a 6,0 µm) pueden ser móviles o inmóviles con flagelos perítricos y no forman esporas (Murray *et al.*, 2002). En este grupo se encuentra *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Shigella*. Estos géneros son asociados con infecciones cuya severidad está influenciada principalmente por la capacidad patogénica o el nivel de virulencia de la especie implicada. Las infecciones transmitidas por alimentos llegan a generar problemas intestinales (Murray *et al.*, 2002).

Se desarrolla en agar MacConkey, las enterobacterias pueden crecer en ambientes aerobios como en anaeróbicos, además utilizan la fermentación en lugar de oxidación para metabolizar la glucosa, generalmente produciendo gas; son catalasa positiva, oxidasa negativa y su temperatura ideal de crecimiento varía entre 22 y 37 °C (Carroll *et al* 2017).

Se asocian en verduras frescas, carnes, aves, pescado, huevos, productos lácteos, carnes procesadas y pan debido a las bajas temperaturas, pH bajo, y por limpiadores o desinfectantes durante el saneamiento y después si el enjuague es insuficiente (López *et al.*,2019).

4.7.3. Escherichia coli

Tabla 5. Clasificación taxonómica de Escherichia coli

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacterias
Clase	Gammaproteobacterias
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacterias
Género	Escherichia
Especie	E. coli

Es una bacteria gran negativa, es encontrada en el intestino tanto de humanos y animales, son parte del microbiota normal, en ganado vacuno también se encuentra en el intestino, aunque puede colonizar la ubre y causar una infección, llega a la leche por medio del entorno, la ubre, el equipo de ordeño y durante o después del ordeño (Metz *et al.*, 2020).

Se caracteriza por ser anaerobio facultativo no forma esporas, tiene movilidad por medio de flagelos y produce indol mediante triptófano, no utiliza citrato como fuente de carbono y no produce acetoína, también fermenta glucosa y lactosa con la producción de gas. Se desarrolla fácilmente a temperaturas de 6 a 50 °C (Investigación, 2022).

La forma de contagio se desarrolla por medio del contacto directo con alimentos o superficies contaminadas, asi mismo por vectores como el contacto de mano a mano por vía fecaloral (OMS, 2018).

Tabla 6. Lugar de acción y patogenia de los diferentes tipos de E.coli

Toxinas	Patologías
Enteropatógenas (ECEP)	Mala absorción de las microvellosidades que
Enteropatogenas (ECEF)	da lugar a diarrea
Enterotoxígena (ECET)	Hipersecreción gástrica
Enteroinvasiva (ECEI)	Pérdida de células que recubren el colon
	Reducción de las microvellosidades,
Enteroagregativas (ECEA)	infiltración mononuclear y hemorragia,
	depresión de la absorción de líquidos

Nota: Adatado de Murray et al., (2006)

4.7.4. Salmonella spp

Tabla 7. Clasificación taxonómica de Salmonella spp.

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	Salmonella

Bacteria gram negativa, anaerobio facultativo, no forman esporas, móviles por flagelos perítricos, su tamaño varía de 0,7 a 1,5 μm (ancho) x 0,2 a 5 μm (largo), pertenece a la familia Enterobacteriaceae, al momento de colonizar al ser humano provoca salmonelosis, esto se produce cuando se consume alimentos contaminados con esta bacteria (Stanchi, 2007).

El 99% de las salmonelosis son relacionadas con *Salmonella entérica*, esta se encuentra presenten en especies de sangre caliente, el resto de las subespecies están presentes en reptiles y en el medio ambiente con menor potencialidad (Villaruel, 2021). Requiere algunas condiciones para su crecimiento.

Tabla 8. Factores que afectan el crecimiento de Salmonella spp.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	7 °C	35 °C	46,2 °C
pН	3,8	7	9,5

Fuente: Renapra, (2018).

Fermentan glucosa, maltosa y manitol, pero no fermentan lactosa ni sacarosa, silicina ni sacarosa, forma ácido y gas, no produce indol tampoco hidroliza la urea, es rojo-metilo positivo, Voges-Proskauer negativo y citrato positivo, produce H_2S (Merchant & Packer, 1980).

5. Material y Métodos

5.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Loja, ubicada en el sur de Ecuador, tiene altitud de 2100 m.s.n.m, temperatura 12°C-18°C, precipitación 700 mm/año, humedad relativa media de aproximada de 70.

La investigación se realizó tomando muestras de queso en los diferentes mercados municipales de la ciudad de Loja.

MAPA DE UBICACIÓN DE LOS SITIOS DE ESTUDIO

PPP (I)

NG (II)

ME (II)

LEYENDA

Morcados

Ligis

Cisco urbano

Figura 1. Ubicación geográficas de los Mercados municipales de la ciudad de Loja

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque metodológico

El enfoque metodológico fue de carácter cuantitativo.

5.2.2. Diseño de la investigación

La investigación fue observacional de corte transversal.

5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo

Se tomaron 40 muestras de queso, una por cada puesto de expendio del producto. Este número es en base a una observación previa del lugar y considerando todos los puestos que se dedican a la distribución de este producto dentro de los mercados.

Tabla 9. Número de muestras de los distintos mercados municipales de Loja

Mercados	Número de puestos	
Mercado 1	2	
Mercado 2	1	
Mercado 3	15	
Mercado 4	17	
Mercado 5	3	
Mercado 6	2	
Total	40	

5.2.4. Técnicas

5.2.4.1. Fase de observación

Se estableció los puntos de expendio fijos en cada uno de los mercados y se determinó el número de muestras a recolectar (**Tabla 10**).

5.2.4.2.Toma de muestras

Para realizar la toma de muestras se basó en los protocolos de la norma de INEN 1529-2, para el análisis microbiológico, el traslado al laboratorio de Microbiología del centro de "Biotecnología de la UNL" se dio bajo la normativa NTE INEN 1529-15, para su respectivo análisis.

5.2.4.3. Fase de laboratorio

Se realizó el análisis de:

Físico químico

Se evaluaron las variables en base a la escala:

• Color: blanco puro - amarillo cremoso

Olor: lácteo, nata y yogurt, mantequilla fresca

• Textura: blanda, granulosa, elástica, cremosa, firme o dura

• pH: neutro, acido o básico.

Se usaron los órganos de los sentidos y el uso del Peachímetro para el análisis del pH

- Análisis microbiológico

Para el análisis microbiológico se basó en la Norma General para quesos frescos no maduros NTE INEN 1528:12

• Cultivo de enterobacterias

Se realizo la dilución madre y se preparó diluciones seriadas hasta la 10^{-3} para la inoculación por método vertido en placa (**Anexo 3**).

• Recuento de enterobacterias

El recuento de unidades formadoras de colonias se basó en la normativa INEN 1529-13, aplicar un control negativo para evidenciar la esterilidad de los medios de cultivo, se debe aplicar la siguiente formula:

$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0, 1n_2)d}$$

En donde:

 Σc : suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas:

V: volumen inoculado en cada caja Petri

 n_1 : Número de placas de la primera dilución seleccionada

 n_2 : Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d: Factor de dilución de la primera dilución seleccionada (d = 1 cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

• Cultivo de Escherichia coli

Para el cultivo de *Escherichia coli*, la toma de muestras se basó en la norma NTE INEN 1529-8, se realizó la dilución madre a partir de 10 g de muestra en 90 ml de agua peptonada, se realizó diluciones seriadas hasta 10^{-2} y se inoculo en medios diferenciales Mc Conkey y EMB

por medio de la técnica de sembrado en estría, se incubó por 24 horas a 37 grados centígrados. Por último, se realizó pruebas confirmatorias de SIM, TSI y citrato. (**Anexo 4**)

• Cultivo de Staphylococcus aureus

Para el cultivo de *Staphylococcus aureus* se basó en la normativa NTE INEN 1529-14-1R, se realizó dilución madre de 10 g de muestra en 90 ml agua peptonada, se realizó diluciones seriadas hasta 10^{-2} , se hizo la inoculación en medios diferenciales Sal manitol y Baird Parker por método de estría, se incubo durante 24 horas a 37 grados centígrados. Se realizo pruebas confirmatorias de coagulasa, catalasa y oxidasa. (**Anexo 1**).

• Cultivo de Salmonella spp.

Para realizar el cultivo de *Salmonella* spp. se basó en la normativa NTE INEN-ISO 6579, se realizó la dilución madre con 10 g de muestra en 90 ml de agua peptonada, se hizo el enriquecimiento con rappaport y se procedió a la siembra en agar Salmonella Shigella (SS) y agar XLD por método de sembrado en estría, se incubo por 24 horas a 37 grados centígrados, se realizó pruebas confirmatorias de SIM, TSI y citrato (**Anexo 3**).

5.2.5. Variables de estudio

Tabla 10. Variables de estudio

Variable	Categoría	Unidad	Instrumento	
Enterobacterias	Presencia	UFC/g	Cultivo microbiológico	
Enterobacterias	Ausencia	Of C/g		
Escherichia coli	Presencia	UFC/g	Cultivo microbiológico	
Escherichia con	Ausencia	Orc/g	Pruebas bioquímicas	
Carrier I and a second second	Presencia	LIEC/~	Cultivo microbiológico	
Staphylococcus aureus	Ausencia	UFC/g	Pruebas bioquímicas	
Calman II a care	Presencia	HEC/-	Cultivo microbiológico	
Salmonella spp.	Ausencia UFC/g		Pruebas bioquímicas	
Características	Acepta		Mediante evaluación	
organolépticas	No acepta		sensorial	

5.2.6. Procesamiento y análisis de la información

Se presentarán las variables de forma descriptiva se usarán para evaluar calidad microbiológica medidas de tendencia central (media).

5.2.7. Consideraciones éticas

No se requieren de consideraciones éticas debido es un estudio observacional, de corte transversal y no se trabaja con animales.

6. Resultados

De las 40 muestras recolectadas en los mercados de la ciudad de Loja se obtuvieron los siguientes resultados:

6.1. Características organolépticas

Se realizo el análisis sensorial de textura, olor y color, en las 40 muestras de queso fresco, donde se obtuvo una textura blanda, un olor lácteo y un color cremoso.

De igual manera se analizó el pH de cada una de las 40 muestras donde se obtuvo valores que van desde 5,54 a 6,35. (Tabla 12).

Tabla 11. Características organolépticas y pH

Mercados	Textura	Olor	Color	Ph
1	Blanda	Olor lácteo	Blanco	5.95
1	Diana	Offi facted	cremoso	3.73
2	Blanda	Olor lácteo	Blanco	5.97
2	Diana	Office factor	cremoso	3.71
3	Blanda	Olor lácteo	Blanco	5.8
3	Branda	Offi facted	cremoso	5.0
4	Blanda	Olor lácteo	Blanco	5.73
•	Branda	Offi factico	cremoso	5.75
5	Blanda	Olor lácteo	Blanco	6.35
5	Diana Old lucto	cremoso	0.55	
6	Blanda	Olor lácteo	Blanco	5.54
	Diana		cremoso	

6.2. Calidad microbiológica

6.2.1. Escherichia coli

Se realizo la selección de las placas sospechosas, obteniendo 30% (12 muestras) de *Klebsiella pneumoniae*, 25% (10 muestras) de *Escherichia coli*, 17,5% (7 muestras) de *Proteus vulgaris*, 27,5% (11 muestras) con ausencia de crecimiento. (Tabla 13)

Tabla 12. Presencia de bacterias sospechosas de Escherichia coli

	Placas sospechosas	
Escherichia coli	10	25%
Klebsiella pneumoniae	12	30%
Proteus vulgaris	7	17.5%
Sin presencia	11	27.5 %
Total	40	100 %

6.2.2. Staphylococcus aureus

De 24 placas sospechosas se obtuvo: 22,5% (9 muestras) de *Staphylococcus coagulasa* negativa, 20% (8 muestras) de *Staphylococcus aureus*, 17,5 % (7 muestras) de *Micrococcus* sp., 40% (16 muestras) con ausencia de crecimiento. (Tabla 14)

Tabla 13. Presencia de Staphylococcus aureus

Placas sospechosas				
Staphylococcus coagulasa negativa	9	22.5%		
Micrococcus sp.	7	17.5%		
Staphylococcus aureus	8	20%		
Sin presencia	16	40%		
Total	40	100		

6.2.3. Salmonella spp.

No se obtuvo crecimiento de Salmonella spp. en las 40 muestras

6.2.4. Enterobacterias

De acuerdo a la normativa INEN 1528-12, donde el índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad es $2x10^2$ UFC/mg y el índice máximo permisible para identificar

nivel aceptable de calidad es $2x10^3$ UFC/mg, el 100% de las muestras (40) no cumplen con los requisitos máximos impuestos en la normativa. (Tabla 15)

Tabla 14. Recuento de enterobacterias

Microorganismos	Muestras	%
Recuento Enterobacterias		
Cumple	0	0%
No cumple	40	100%
Total	40	100%

6.2.5. pH asociado a la presencia de bacterias

El mayor porcentaje de crecimiento de *Escherichia coli* 15% y *Staphylococcus aureus* 10% se da en un pH de 5,95, también se observa un 5% de crecimiento en un pH de 6,35. (Tabla 16)

Tabla 15. pH asociado a la presencia de bacterias

Mercados	pН	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Enterobacterias
1	5.95	15%	10%	No cumple
2	5.97	10%	2,50%	No cumple
3	5.8	0%	2,50%	No cumple
4	5.73	0%	0%	No cumple
5	6.35	0%	5%	No cumple
6	5.54	0%	0%	No cumple

7. Discusión

Se realizo el análisis de 40 puntos de expendio dentro de los mercados de la ciudad de Loja en los cuales se obtuvo en la evaluación sensorial de los quesos una textura blanda, igual que lo mencionado por Saca (2011), en su estudio realizado en quesos de diferentes cantones de la provincia de Loja, este tipo de textura se debe al alto contenido de humedad que ronda entre el 60% y 80%, la falta de maduración ayuda conservar la cantidad de agua en el queso otorgándole la suavidad característica (Ramírez & Vélez, 2012).

Se obtuvo un color blanco cremoso el cual coincide con lo descrito por Licata (2015), y Allaica, (2016) en su investigación donde no observo cambios en el color de los quesos analizados. Paredes (2018), encontró coloraciones que oscilan entre blanco y cremoso, lo cual lo atribuyo a la presencia de carotenoides en la leche. Estos compuestos que son derivados principalmente de la dieta de las vacas, se ven influenciados por alimentos ricos en carotenoides como lo son el kikuyo, alfalfa, raigrás y trébol. Además, factores como el contenido de grasa puede variar de acuerdo a la raza y los métodos de producción. Núñez, (2023) destaca que un alto porcentaje de humedad puede llegar a diluir la concentración de carotenos dando como resultado el color blanco o ligeramente amarillento

Referente al olor se obtuvo un aroma lácteo en las muestras, de igual manera Nuñez, (2023), menciona que en quesos frescos producidos en las ciudades de Carchi e Ibarra tienen una tipicidad de olor a leche cocida. Sulca, (2019) junto con la ayuda de panelista no encontraron variación en el olor del queso.

Pinchao & Viteri, (2024), concluyeron, mediante un análisis por consenso que los quesos evaluados emitían un aroma lácteo, este olor es típico de quesos que no han sido curados y refleja la calidad de la leche utilizada, además el proceso de elaboración juega un papel importante en el olor (Sánchez, 2014). Una buena calidad de la leche es primordial ya que esta puede absorber el olor del entorno, por lo que realizar buenas prácticas de manejo pueden evitar olor ajenos e indeseables (Hidrobo, 2008).

El pH es una medida que indica el grado de acidez o alcalinidad en un producto alimenticio, importante para determinar su calidad, seguridad y conservación (Carrión, 2019). Se registro valores de pH que van desde 5.54 a 6.35, siendo similares a los obtenidos por Pachar, (2020) quien determino un promedio de 5.7 ± 0.1 , al contrario de Paute, (2022) el cual obtuvo valores que van

desde 6.47 a 6.88, de igual manera Macías *et al.*, (2019), valores que van desde 5.56 a 7.22. Espinoza *et al.*, (2020), entre 4.7 a 6.6 manteniéndose en condiciones normales.

La mayoría de los quesos tiene un pH ácido que va desde 5.1 hasta 5.9, estos rangos se los atribuye al proceso de elaboración como la pasteurización y el tipo de cuajo utilizado (Puente, 2022). Según la Normativa Peruana para quesos frescos, el rango normal de pH suele estar entre 4.6 y 5.5 (NTP, 2020). El pH adecuado contribuye a un sabor más equilibrado y una textura más deseable, además es esencial para garantizar una excelente calidad (Maquilón, 2015).

Los atributos como olor, sabor y textura influyen en la percepción y aceptación de los alimentos en los consumidores y representan un riesgo microbiológico debido a que se les atribuye el crecimiento de bacterias al momento en el que se presentan cambios (Carrasco *et al.*, 2020), mantener un sabor agradable, una textura optima, y un nivel bajo de microorganismos es de gran importancia al momento de satisfacer las expectativas del cliente y su bienestar (Etchevers *et al.*, 2010).

La leche contiene microorganismos los cuales cumplen un papel fundamental en la calidad y seguridad del alimento, las bacterias consideras benéficas como los *Lactobacillus* spp. que son predominantes y tienen la función de convertir la lactosa en ácido láctico, aportando mejoras en la salud digestiva y también protegiendo al producto contra otros patógenos (Cobos & Pulla, 2019). *Bacillus* spp. cuentan con propiedades probióticas y *Lueconostoc* spp. puede mejorar las propiedades y el sabor de productos fermentados (Medina & Aragundi, 2007).

La normativa INEN 1528:2012, menciona que los requisitos microbiológicos para quesos frescos no maduros, de acuerdo a las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con un índice máximo permisible para identificar un nivel aceptable de calidad: Enterobacterias $2x10^3$ UFC/g, Escherichia coli 10 UFC/g, Staphylococcus aureus 10^2 , Salmonella en 25g ausencia.

Según Aguilera *et al.*, (2014), los microorganismos patógenos en la leche son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, todas con un gran potencial de provocar graves infecciones gastrointestinales con síntomas como diarrea, dolor abdominal, fiebre, y vómitos en humanos, por lo que es de gran importancia el control para asegurar un producto saludable y seguro.

El Ministerio de Salud Pública en el año 2024, menciona que hasta el cierre de la semana epidemiológica 4 se ha notificado 9765 casos de intoxicación alimentaria en el país, de los cuales

14 son en la provincia de Loja, algunos de los ellos han sido descritos en varios tipos de quesos, debido a las practicas inadecuadas llevadas a cabo desde el ordeño de las vacas hasta el empaquetado del producto, por lo que se requiere una especial atención al momento de la fabricación (Roldan *et al.*, 2023).

El 100% de las muestras analizadas para enterobacterias no cumple con lo establecido por la normativa INEN 1528:2012, de igual manera Molleda (2016), obtuvo valores elevados en el recuento de enterobacterias, por lo que tampoco llegan cumplir con el límite máximo establecido en la normativa. Espinoza *et al.*, (2020) reportó valores en un rango de 200 y 1019 UFC g el 100% de las muestras se encuentran fuera del rango permisible de carga bacteriana.

La presencia de enterobacterias se debe a varios factores relacionados con la producción, manipulación y almacenamiento; en el caso de los quesos frescos uno de los principales causantes de la contaminación es el uso de leche sin pasteurizar, ya que este proceso elimina muchos patógenos (León, 2018). Gonzales, (2022) menciona que si las condiciones sanitarias durante el ordeño, el almacenamiento y la fabricación de los quesos son deficientes pueden llegar a ser un factor crucial al momento que se produzca contaminación y el crecimiento de microorganismos patógenos.

De las principales enterobacterias identificadas se encuentra *Klebsiella pnueomoniae* donde se registró un 30% de presencia siendo mayor a lo obtenido por Merchán *et al*, (2019), destaca un 17.2 % debido a que esta bacteria no es parte del microbiota normal del queso. La presencia de esta bacteria se asocia a la contaminación fecal durante el ordeño o la manipulación de la leche, otro factor es la falta de pasteurización, un almacenamiento inadecuado a temperatura ambiente lo que lo hace propicio para el crecimiento de este microorganismo (Escobar *et al.*, 2023).

Se obtuvo un 25% de presencia de *Escherichia coli* en este estudio siendo inferior a los resultados obtenidos por Carrasco (2016), en su estudio en la ciudad de Riobamba obtuvo un 43% de presencia, Chambillo (2019), en Huamanga registró un 85.9% y Vásquez (2018), determino un 33.3% de muestras positivas para *Escherichia coli*, los tres autores confirman una evidente contaminación de origen fecal por la escasa higiene al momento de la elaboración o manipulación del producto.

Rodriguez *et al.*, (2015) mencionan que una alta prevalencia de *E.coli* implica un gran riesgo para la salud del consumidor al ser la causantes de las ETA's. Bintsis & Papademas (2002),

relacionan la alta presencia de *Escherichia coli* con malas prácticas de ordeño, por lo que sugiere un control más estricto desde el comienzo de la producción hasta el momento de la comercialización.

En esta investigación no se obtuvo presencia de *Salmonella* spp. este se encuentra dentro de lo establecido por la normativa INEN 1528:12. Vásquez *et al.*, (2018), no obtuvo presencia en las muestras analizadas y Fuentes (2003), indica que esto se puede deber a factores como el pH ácido, una baja disponibilidad de azucares que afectan su desarrollo además de la competencia existente con otros microorganismos, que poseen una tasa de multiplicación mayor. Por el contrario de Plaza & Morales (2013), en su estudio obtuvo un 13.71% de presencia, por lo que establece que la incidencia de *Salmonella* es asociada a las condiciones de expendio en los mercados.

Las bacterias gram positivas juegan un papel dual ya que en este grupo se encuentran microorganismos benéficos como *Lactobacillus*, pero también se encuentran patógenos potenciales con *Staphylococcus aureus* que es capaz de generar toxinas y sobrevivir a condiciones adversas convirtiéndolo en un riesgo para la seguridad alimentaria (Ramos, 2017).

El género de las enterobacterias tolera rangos de pH entre 6.5 y 7.5 (Vázquez, 2012), aunque también se ha reportado que toleran rangos de pH más ácidos entre de 4.7 a 5.5 (Rodríguez *et al.*, 2016), el pH de los quesos obtenido en este trabajo tiene un rango entre 5.54 y 6.35 el cual puede ser un ambiente propicio para la proliferación de estas bacterias. Vásquez (2013), en su estudio realizado en el departamento de Lara, también obtuvo valores de 5.5 a 5.8. En el caso de *Salmonella* spp. Fuentes, (2003), indica que su crecimiento se ve limitado en un ambiente relativamente acido. *Salmonella* spp., se clasifica como una bacteria neutrófila tiniendo un rango de crecimiento de 6.0 a 7.5, necesario para realizar sus funciones naturales (Cervantes *et al.*, 2014), concordando con lo obtenido en este estudio donde no se obtuvo crecimiento de esta bacteria relacionándolo con el rango de pH relativamente ácido obtenido.

En el estudio realizado por Haro (2016) en Riobamba, registro 40% de presencia de *Staphylococcus aureus* siendo más alto que el 20% registrado en este estudio, además el autor argumenta que esto se puede deber a la falta de asepsia en los lugares de producción de los quesos, la manipulación inadecuada durante el proceso de venta representa un factor crítico, dado que implica el contacto directo del personal, riesgo de contaminación cruzada con otros tipos de alimentos y lugares que pueden estar potencialmente contaminados (Barron, 2022).

Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli y Staphylococcus aureus son considerados como agentes etiológicos de mastitis tanto clínica como subclínica en vacas lecheras de todo el mundo, es un patógeno de gran importancia debido a su fácil transmisión y su dificultad para ser tratado por antibióticos (Peña & Uffo, 2013). Se puede asociar la falta de higiene en las zonas de ordeño con la presencia de estas bacterias en la leche destinada a la producción de quesos frescos para el consumo humano.

Se obtuvo la presencia de otros microorganismos como: *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Micrococcus* spp., *Proteus vulgaris*, se encuentran asociados falta de condiciones higiénicas en el proceso de producción, contaminación ambiental, contaminación cruzada (Orozco, 2018). La presencia de todos estos microorganismos puede llegar a tener un impacto en la salud pública, por lo que se debe dar cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura y aplicar normas de higiene siguiendo los lineamientos, para así evitar el crecimiento de microorganismos en el queso, mejorando su calidad.

8. Conclusiones

- En las características organolépticas evaluadas se obtuvo un pH relativamente ácido, color blanco, textura blanda y un olor lácteo característicos de los quesos analizados en los mercados de la ciudad de Loja.
- En base a la norma INEN 1528:12 se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y un alto recuento de Enterobacterias en los quesos analizados en los mercados de la ciudad de Loja.
- Se aisló microorganismos patógenos que son de importancia para la salud pública como:
 Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris,
 Micrococcus spp. y Staphylococcus coagulasa negativa
- El pH, la forma de fabricación, el uso de cuajo artesanal, falta de pasteurización y falta higiene influyen en la presencia de microorganismos en quesos frescos.

9. Recomendaciones

- 1. Evaluar la cadena de producción desde le ordeño hasta la fabricación del queso para garantizar la calidad sanitaria de los productos en los puestos de expendio.
- 2. Realizar una evaluación de los puestos expendio en base a las normas de limpieza, uso de utensilios adecuados, superficies de contacto y el equipamiento del personal.
- 3. Realizar monitoreos en las granjas de producción lechera, con la finalidad de verificar si se cumplen con normas de higiene al momento del ordeño y si se realizan controles rutinarios para verificar si se respetan tiempos de retiro, uso correcto de antibióticos
- 4. Evaluar residuos de antibióticos y resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de derivados lácteos y su identificación por técnicas moleculares.

10. Bibliografía

- Aguilera, A., Urbano, E., Jaimes, C., (2014). Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud pública e inocuidad alimentaria. *Ciencia y Agricultura*, 11(2), 83-93. https://doi.org/10.19053/01228420.3860
- Allaica, N., (2016). Utilización de polvo de *Rosmarinus officinalis* (romero) como saborizante natural en la elaboración del queso fresco. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6095/1/27T0325.pdf
- Barón, K., Padilla, A., Franco, Piedad., (2019). Staphylococcus coagulasa positivo en quesos y factores asociados a la contaminación. https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/dc7a39de-e1d9-4491-a307-8dc22307a9cb/content
- Barrón, N., (2022). ¿Qué es la microbiología sanitaria y cual es su importancia? https://www.diagnose.com.mx/blog/que-es-la-microbiologia-sanitaria-y-cual-es-su-importancia/
- Bintsis, T., & Papademas, P. (2002). Microbiological quality of white-brined cheeses: A review. En International Journal of Dairy Technology (Vol. 55, Número 3, pp. 113-120). https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00054.x
- Calva, Y., (2019). Propiedades organolépticas de los alimentos. https://www.ocetif.org/post/propiedades-organol%C3%A9pticas-de-los-alimentos
- Castillo, G., 2013. PREVALENCIA DE BACTERIAS PATÓGENAS Listeria monocytogenes Y Staphylococcus aureus, EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS ARTESANALMENTE EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA.", Riobamba: s.n.
- Carrión, (2019). Importancia del pH de los alimentos. https://www.terrafoodtech.com/la-importancia-del-ph-de-los-alimentos/
- Carrasco, D., Espinoza, R., Alejandro, G., Martínez, J., Santamaría, J., Zuñiga, F., Endara, P., Terán., (2020). Evaluación de la calidad microbiológica de productos naturales procesados de uso medicinal comercializados en Quito, Ecuador. http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v37n3/1726-4642-rins-37-03-431.pdf
- Cervantes, E., García, R., Salazar, P., (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf

- Chambillo, J., (2018). Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos artesanales comercializados en los mercados de la ciudad de Huamanga, 2018. https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/294c88a9-ad32-474b-8644-b53b53cce329/content
- Cobos, E., Pulla, H., (2019). Caracterización de bacterias ácido-lácticas a partir de leche bovina del cantón Cayambe con potencial probiótico en animales. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16555/4/UPS-QT13597.pdf
- Cruz, Z., (2022). Requisitos sanitarios en quesos. https://repositorio.sierraexportadora.gob.pe/bitstream/handle/SSE/536/PPT%20REQ UISITOS%20SANITARIOS%20EN%20OUESOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Escobar, S., Albuja., Tene, K., Jara, H., Ramírez J., (2023). Analisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos del queso fresco que se expende en un mercado, de la ciudad de Riobamba. http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2477-91052023000200013
- Espinoza, F., Filian, A., Filian, M., Cuenca, G., (2020). Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo. https://zenodo.org/records/4432656
- Fuentes L. 2003. Estudio de parámetros Microbiológicos que afectan la calidad del Queso tipo Gouda. Valparaiso Chile.
- Haro, J., (2016). Análisis microbiológico de los quesos frescos comercializados en el mercado Simón Bolívar (San Alfonso) de la ciudad de Riobamba. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4986/1/56T00631%20UDCTFC.pdf
- Hidrobo, H., (2008). Determinación del índice de aceptabilidad de queso fresco de leche de vaca del cantón Chone elaborado y comparado con productos que están en el mercado nacional. https://repositorio.uleam.edu.ec/bitstream/123456789/1193/1/ULEAM-POSG-CTA-0010.pdf
- INEN, (2012). Norma general para quesos frescos no maduros. Requisitos. https://pdfcoffee.com/norma-inen-1528-queso-fresco-3-pdf-free.html
- León, L., (2018). Principales enterobacterias en la maduración de quesos de pasta blanda en Extremadura.
 - https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/8076/1/TFGUEX_2018_Leon_Silva.pdf

- Licata, M. (2015) Quesos frescos, los más recomendados. Disponible. http://www.zonadiet.com/comida/quesos-frescos.htm.
- Maquilón, D., (2015). Probiotico y estabilizante en la elaboración de queso fresco como alimento funcional Quevedo Ecuador 2014. https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/62319c17-c3ff-4f75-a763-4ba0349e0b63/content
- Merchán, Nuri., Zurymar, S., Niño, L. & Urbano, E., (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182019000300288&script=sci arttext&utm source
- Nuñez, M., (2023). Evaluación de las características organolépticas y fisicoquímicas de los quesos frescos de mesa que se comercializan en la sierra norte del Ecuador.https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/14128/2/03%20EIA%20595%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf
- Ospina Gallego, D. F., & Gómez Quinto, C. A. (2021). Análisis de las estrategias de prevención y control de enfermedades transmitidas por alimentos: Scoping review 2005-2020
- Orozco, B., (2018). Incidencia de Enterobacterias y *Staphylococcus aureus* en quesos frescos en empresas del cantón Cayambe. https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9974/1/UDLA-EC-TIAG-2018-23.pdf
- Pachar, L., (2020). Evaluación de las caracteriticas fisicoquímicas de queso fresco para determinar su grado de inocuidad y aceptación. https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16346/1/E-10591_PACHAR%20SOLANO%20LUIS%20STALIN.pdf
- Paredes, C., (2018). Caracterización sensorial y perfil de textura del queso amasado de la provincia del Carchi. https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9542/1/UDLA-EC-TMACSA-2018-15.pdf
- Peña, J & Uffo, O., (2013). Producción de biofilme en genotipos de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina en Cuba. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2013000300007&script=sci_arttext
- Plaza, L., (2013). Análisis microbiológica en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de *Listeria y Salmonella*.

- https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25404/1/TEsis%20LUIS%20ANTO
 NIO%20PLAZA%20IBARRA.pdf
- Puente, B., (2022). Análisis físico-químico y microbiológico del queso fresco elaborado en con diferentes niveles de cebollín shuar. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/18415/1/17T01828.pdf
- Ramos, Ó. L., et al. (2017). "Microestructura del queso: influencia en las propiedades del queso procesado". Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16 (4), 873-888
- Rodríguez Pacheco, J., Borras Sandoval, L., Pulido Medellín, M., & García Corredor, D. (2016). Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 53(3). Recuperado de https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/47/56
- Rodríguez, R. & Muñoz E., (2017). Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis en bovinos de un establo de Trujillo, Perú. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172017000400025&script=sci_arttext
- Sánchez, E., (2014). Evaluación de dos métodos de determinación de acidez de la leche para elaborar quesos frescos y mozzarella, en la finca experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja.

 https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/12333/1/Edison%20Rodrigo%20S%C

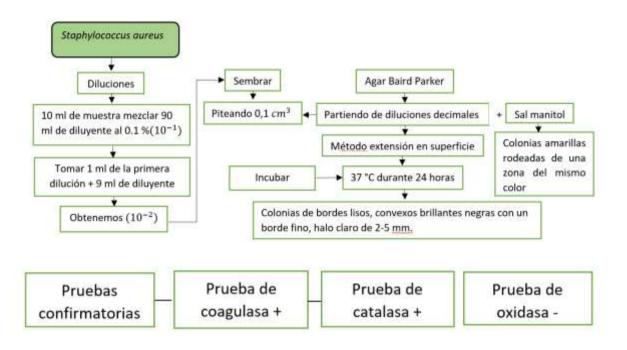
3% A1nchez% 20 Capa.pdf

- Solís, J., (2022). Estudio de la factibilidad de la creación de una empresa de fabricación de queso mozarella tipo pizza en la asociación agropecuaria "17 de junio" de Porotog del cantón Cayambe de la provincia de Pichincha. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4614/1/UPS-QT02391.pdf
- Stanchi, N., (2007). microbiología veterinaria. https://es.scribd.com/document/446667171/Stanchi-Microbiologia-Veterinaria
- Sulca, C., (2019). Efecto de la incorporación de las proteinas séricas en el procesado de queso fresco.https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/ddc3c229-4b77-4a90-b525-25dbbae91984/content
- Tacuri, G., Zhunio, W., & Segarra, S. (2024). Determinación de Staphylococcus aureus en quesos frescos del mercado 9 de octubre de la ciudad de Cuenca, Agosto 2023. *Tesla Revista Científica*, 4(1), e295. https://doi.org/10.55204/trc.v4i1.e295

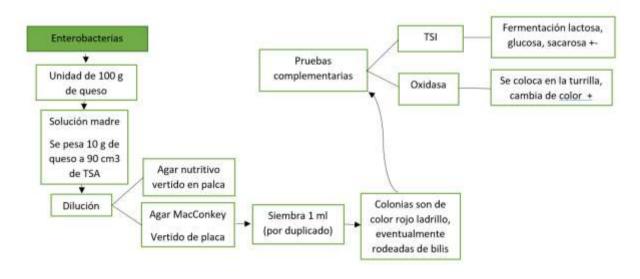
- Torres-Gregorio M, Santiago-López L, Vallejo-Cordoba B, González-Córdova AF, Garcia HS, Hernandez-Mendoza A.,(2021) Evaluation of acrylamide-removing properties of bacterial consortia under simulated gastrointestinal conditions.
- Vásquez, N., Duran, L., Sánchez, C., Acevedo, I., (2013). Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso blanco a nivel de distribuidores, estado Lara, Venezuela. https://ve.scielo.org/pdf/zt/v30n3/art01.pdf
- Váquez, V., Salhuana, J., Jiménez, L., Abanto, L., (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v17n1/a05v17n1.pdf
- Zambrano, M., (2014). Determinación de la presencia de *Salmonella* spp. en queso fresco comercializado en el cantón Chone provincia de Manabí entre mayo y julio del 2014. http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/2592/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-47.pdf

11. Anexos.

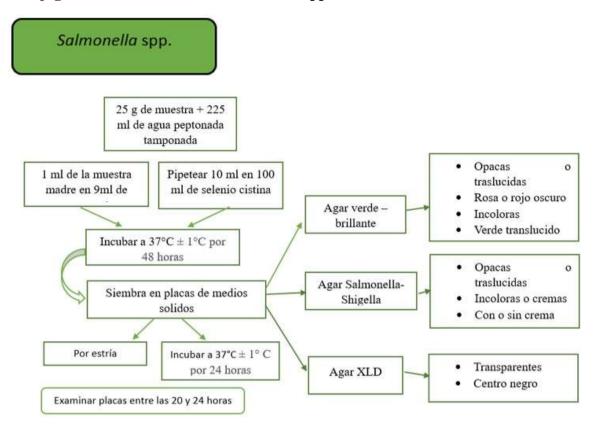
Anexo 1. Flujograma aislamiento de Staphylococcus aureus



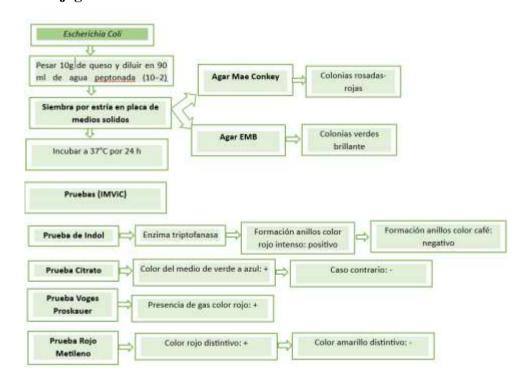
Anexo 2. Flujograma de aislamiento de enterobacterias



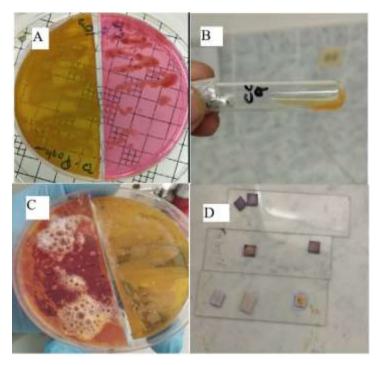
Anexo 3. Flujograma de aislamiento de Salmonella spp.



Anexo 4. Flujograma de aislamiento de Escherichia coli

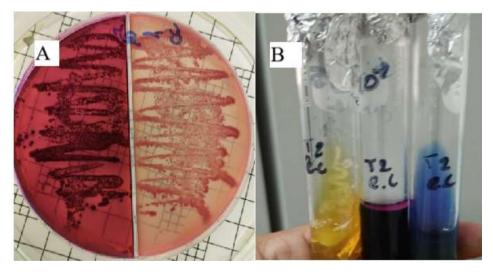


Anexo 5. Procedimientos realizados para Staphylococcus aureus



Nota: Determinación de *S. aureus* **A:** Crecimiento microbiológico en agar Sal manitol y Bird Parker, **B:** Prueba de Coagulasa, **C:** Prueba de Catalasa, **D:** Prueba de Oxidasa

Anexo 6. Procedimientos realizados para Escherichia coli



Nota: Crecimiento sospechosa de *E. coli.* **A.** Crecimiento microbiológico en agar EMB y Mac Conkey **B.** Pruebas bioquímicas confirmatorias

Anexo 7. Crecimiento en placa de Enterobacterias



Disolución 10²

Disolución 10³

Anexo 8. Pruebas Bioquímicas para Staphylococcus aureus

Pruebas Bioquímicas confirmatorias						
Staphylococcus aureus						
Posibles		Catalasa	C			
positivas	+/-	+/-	+/-			
C.C 1	-	+	+			
C.C 2	+	+	-			
C.C 3	-	+	-			
C.C 8	-	+	+			
C.C 9	+	+	-			
C.C 11	-	+	+			
C.C 12	-	+	-			
C.C 13	+	+	-			
C.C 14	-	+	-			
C.C 15	-	+	+			
M. 1	-	+	-			
M. 6	-	+	-			
M. 7	+	+	-			
M.8	-	+	-			
M. 9	-	+	-			
M. 11	-	+	-			

M. 12	-	+	+
M. 13	+	+	-
M. 16	+	+	-
S.S 1	+	+	-
S.S 3	-	+	+
T. 2	-	+	-
N.G 1	-	+	+
N.G 2	-	+	+

Anexo 9. Pruebas bioquímicas confirmatorias de Escherichia coli

Pruebas Bioqu	uímicas confir	matorias								
Muestra	Citrato -/+	TSI Glucosa	Lactosa	Sacarosa	Gas	SH2	SIM Mobilidad	Indol	SH2	Resultado
C.C 1	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E.coli
C.C 4	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
C.C 5	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E. coli
C.C 6	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E. coli
C.C 7	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E. coli
C.C 8	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E. coli
C.C 9	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E.coli
C.C 10	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
C.C 11	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
M.2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteus vulgaris
M.3	-	+	+	+	+	-	+	+	_	E.coli
M.5	-	+	+	+	+	-	_	-	-	E.coli
M.6	-	+	+	+	+	-	+	+	-	E.coli
M.7	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
M.9	-	+	+	+	+	-	+	+	_	E. coli
M. 11	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteus vulgaris
M. 12	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae

M. 13	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
M.14	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteus vulgaris
M.15	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
M. 16	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteus vulgaris
N.G 1	-	+	+	+	+	+	+	+	-	Proteus vulgaris
N.G 2	+	+	-	-	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
S.S 1	+	+	-	-	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
S.S 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Proteus vulgaris
S.S 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Proteus vulgaris
T. 1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
T. 2	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae
P. 1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	Klebsiella pneumoniae

Anexo 10. Crecimiento en placa de Enterobacterias en agar MacConkey

	Crecimiento er	ı placa	Resultado		
Muestra	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	
C.C 1	448	IN	4.93E+04	IN	
C.C 2	IN	IN	IN	IN	
C.C 3	888	480	9.68E+04	5.28E+05	
C.C 4	IN	IN	IN	IN	
C.C 5	112	38	1.23E+04	4.18E+04	
C.C 6	IN	264	IN	2.90E+05	
C.C 7	IN	IN	IN	IN	
C.C 8	IN	IN	IN	IN	
C.C 9	IN	IN	IN	IN	
C.C 10	1200	636	1.32E+05	7,00E+05	
C.C 11	IN	IN	IN	IN	
C.C 12	IN	IN	IN	IN	
C.C 13	IN	IN	IN	IN	
C.C 14	IN	IN	IN	IN	
C.C 15	IN	IN	IN	IN	
M. 1	IN	IN	IN	IN	
M.2	IN	IN	IN	IN	
M. 3	IN	IN	IN	IN	
M.4	IN	IN	IN	IN	
M. 5	IN	IN	IN	IN	
M. 6	IN	IN	IN	IN	
M.7	IN	IN	IN	IN	
M.8	IN	IN	IN	IN	
M. 9	IN	IN	IN	IN	
M.10	IN	IN	IN	IN	
M.11	IN	IN	IN	IN	
M.12	IN	IN	IN	IN	

M.13	IN	IN	IN	IN	
M.14	IN	IN	IN	IN	
M.15	IN	IN	IN	IN	
M.16	IN	IN	IN	IN	
M.17	IN	IN	IN	IN	
N.G 1	IN	IN	IN	IN	
N.G 2	IN	IN	IN	IN	
SS 1	IN	IN	IN	IN	
SS2	IN	IN	IN	IN	
SS 3	IN	IN	IN	IN	
T 1	IN	IN	IN	IN	
T 2	IN	IN	IN	IN	
P 1	IN	IN	IN	IN	

Anexo 11. Porcentaje de Escherichia coli presente en quesos frescos

Microorganismo	N de muestra	(%)
Escherichia coli		
Presencia	7	17.5%
Ausencia	33	82.5%
Total	40	100%

Anexo 12. Porcentaje de crecimiento de Staphylococcus aureus en quesos frescos

Microorganismo	N de muestra	(%)
Staphylococcus aureus		
Presencia	9	22.5%
Ausencia	31	77.5%
Total	40	100%

Anexo 13. Certificado de traducción del resumen

CERTIFICACIÓN DE TRADUCCIÓN

Loja, 04 de febrero de 2025

Lic. Viviana Valdivieso Loyola Mg. Sc.

DOCENTE DE INGLÉS

A petición verbal de la parte interesada:

CERTIFICA:

Que, desde mi legal saber y entender, como profesional en el área del idioma inglés, he procedido a realizar la traducción del resumen, correspondiente al Trabajo de Integración Curricular titulado Evaluación microbiológica de queso fresco artesanal en mercados de la ciudad de Loja, de la autoría de: Bryan Alexander Ramírez Luna, portador de la cédula de identidad número 1105799108

Para efectos de traducción se han considerado los lineamientos que corresponden a un nivel de inglés técnico, como amerita el caso.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando al portador del presente documento, hacer uso del mismo, en lo que a bien tenga.

Atentamente. -



Lic. Viviana Valdivieso Loyola Mg. Sc. 1103682991

N° Registro Senescyt 4to nivel **1031-2021-2296049** N° Registro Senescyt 3er nivel **1008-16-1454771**